



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

T/PH/N/2004/64

*doublé*

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY 1  
2004



FACULTE DE PHARMACIE

Devenir des sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS)  
dans les milieux environnementaux.

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement

le 30 septembre 2004

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Aurore CADORET  
*née le 6 mars 1975*

*33 3484*

Membres du jury :

- Président : M. Jean-Claude BLOCK (Professeur, UHP)  
Juges : M. Frédéric JORAND (Maître de conférences, UHP)  
M<sup>me</sup> Emmanuelle MONTARGES-PELLETIER (CR2, CNRS, INPL)  
M<sup>me</sup> Maria WELLMAN-ROUSSEAU (Maître de conférences, UHP)

BU PHARMA-ODONTOL



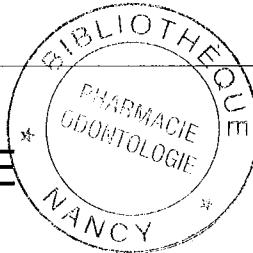
104 067984 8



UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY 1  
2004

---

FACULTE DE PHARMACIE



Devenir des sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) dans  
les milieux environnementaux.

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement

le 30 septembre 2004

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Aurore CADORET

DR 3M84

Membres du jury :

Président : M. Jean-Claude BLOCK (Professeur, UHP)  
Juges : M. Frédéric JORAND (Maître de conférences, UHP)  
M<sup>me</sup> Emmanuelle MONTARGES-PELLETIER (CR2, CNRS, INPL)  
M<sup>me</sup> Maria Wellman-Rousseau (Maître de conférences, UHP)



**Membres du personnel enseignant 2004/2005****Doyen**

Chantal FINANCE

**Vice Doyen**

Francine PAULUS

**Président du Conseil de la Pédagogie**

Pierre LABRUDE

**Responsable de la Commission de la Recherche**

Jean-Claude BLOCK

**Directeur des Etudes**

Gérald CATAU

**Responsable de la Filière officine**

Gérald CATAU

**Responsables de la Filière industrie**

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Isabelle LARTAUD

**Responsable de la Filière hôpital**

Jean-Michel SIMON

**DOYEN HONORAIRE**

M. VIGNERON Claude

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Mme BESSON Suzanne

M. MARTIN Jean-Armand

Mme GIRARD Thérèse

M. MORTIER François

M. JACQUE Michel

M. MIRJOLET Marcel

M. LECTARD Pierre

M. PIERFITTE Maurice

M. LOPPINET Vincent

**PROFESSEURS EMERITES**

M. BONALY Roger

M. HOFFMAN Maurice

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Mme FUZELLIER Marie-Claude

Mme POCHON Marie-France

Mle IMBS Marie-Andrée

**PROFESSEURS**

M.	ASTIER Alain	Pharmacie clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie cardiovasculaire
M	AULAGNER Gilles	Pharmacie clinique
M.	BAGREL Alain	Biochimie
Mle	BATT Anne-Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean-Claude	Santé publique
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON Christine	Pharmacologie cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Virologie, immunologie
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Mathématiques, physique, audioprothèse
Mle	GALTEAU Marie-Madeleine	Biochimie clinique
M.	HENRY Max	Botanique, mycologie
M.	JOUZEAU Jean-Yves	Bioanalyse du médicament
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie, orthopédie, maintien à domicile
Mme	LAURAIN-MATTAR Dominique	Pharmacognosie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LEROY Pierre	Chimie physique générale
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MERLIN Jean-Louis	Biologie cellulaire oncologique
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique
M.	REGNOUF de VAINS Jean-Bernard	Chimie Thérapeutique
M.	RIHN Bertrand (Professeur associé)	Biochimie
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie, parasitologie
M.	SIEST Gérard	Biochimie
M.	SIMON Jean-Michel	Droit officinal, législation pharmaceutique
M.	VIGNERON Claude	Hématologie, physiologie



## MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - virologie
Mme	BANAS Sandrine	Parasitologie
M.	BOISBRUN Michel	Chimie Thérapeutique
Mme	BOITEUX Catherine	Biophysique, Audioprothèse
M.	BONNEAUX François	Chimie thérapeutique
M.	CATAU Gérald	Pharmacologie
M.	CHEVIN Jean-Claude	Chimie générale et minérale
M.	CHILLON Jean-Marc	Pharmacologie
M	CLAROT Igor	Chimie analytique
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie, conseils vétérinaires
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Mycologie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, audioprothèse, acoustique
M.	DUVAL Raphaël	Microbiologie clinique
Mme	FAIVRE Béatrice	Hématologie
M.	FERRARI Luc	Toxicologie
Mle	FONS Françoise	Biologie végétale, mycologie
M.	GANTZER Christophe	Virologie
M.	GIBAUD Stéphane	Pharmacie clinique
Mle	HINZELIN Françoise	Mycologie, botanique
M.	HUMBERT Thierry	Chimie organique
M.	JORAND Frédéric	Santé, environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie galénique
Mle	LAMBERT Alexandrine	Biophysique, biomathématiques
M.	LAMPRECHT Alf	Pharmacie galénique
Mme	LARTAUD Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
Mme	LIVERTOUX Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Communication et santé
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MONAL Jean-Louis	Chimie thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDICAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PERRIN-SARRADO Caroline	Pharmacologie
Mme	PICHON Virginie	Biophysique
Mme	SAUDER Marie-Paule	Mycologie, botanique
Mle	THILLY Nathalie	Santé publique
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacologie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

## PROFESSEUR ASSOCIE

Mme	GRISON Geneviève	Pratique officinale
-----	------------------	---------------------

## PROFESSEUR AGREGE

M.	COCHAUD Christophe	Anglais
----	--------------------	---------

## ASSISTANTS

Mme	BEAUD Mariette	Biologie cellulaire
Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie, phytothérapie
Mme	PAVIS Annie	Bactériologie



# **SERMENT DES APOTHICAIRES**



**J**e jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

**D**'honorier ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

**D**'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

**D**e ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

**Q**ue les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

**Q**ue je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.





« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDERES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».



## REMERCIEMENTS

Je remercie vivement les membres de ce jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Je remercie Emmanuelle Montarges-Pelletier qui a bien voulu apporter un autre point de vue à ce travail.

Je remercie Maria Wellman-Rousseau qui a accepté de juger ce travail et qui m'a toujours encouragée.

Je remercie vivement Jean-Claude Block qui a encadré ce travail et bien d'autres avec toujours beaucoup d'enthousiasme.

Je remercie Frédéric Jorand pour son soutien scientifique et technique et sa gentillesse.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et de mon amitié.



## TABLE DES MATIERES

1. PRESENTATION DE LA PROBLEMATIQUE.....	7
2. LES SULFONATES D'ALKYLBENZENE LINEAIRES (LAS).....	15
21. Propriétés et utilisation des détergents. ....	17
22. Les tensio-actifs .....	17
221. Consommation des tensio-actifs ou surfactants .....	17
222. Propriétés physico-chimiques des tensio-actifs ou surfactants .....	17
23. Utilisation des LAS .....	19
24. Caractéristiques physico-chimiques des LAS .....	19
241. Structure chimique des LAS.....	19
242. La concentration micellaire critique (CMC).....	21
243. Propriétés physico-chimiques des LAS.....	21
2431. Solubilité des LAS .....	21
2432. Adsorption des LAS .....	23
25. Analyse des sulfonates d'alkylbenzène linéaires.....	28
251. Choix de la méthode d'analyse .....	28
252. Méthode colorimétrique au bleu de méthylène .....	29
253. Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	29
254. Chromatographie gazeuse (CG).....	31
255. Spectrométrie de masse (SM) .....	31
3. LES AGREGATS MICROBIENS (BOUES ACTIVEES).....	33
3.1. Les traitements d'épuration biologiques.. .....	35
3.1.1. Traitements à boues activées .....	35
3.1.2. Autres traitements d'épuration biologiques .....	36
3.2. Organisation et composition des agrégats bactériens .....	36
3.2.1. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des flocs de boues activées .....	36
3.2.2. Populations bactériennes des flocs de boues activées .....	38
3.3. Les polymères extracellulaires des flocs de boues activées.....	40
3.3.1. Caractérisation de la matrice de polymères extracellulaires. ....	40
3.3.2. Fonctions des polymères extracellulaires (EPS). .....	41
4. DEVENIR DES LAS AU COURS DU TRAITEMENT D'EPURATION BIOLOGIQUE.....	45
4.1. Occurrence des LAS dans les eaux usées urbaines .....	47
4.2. Bilan des traitements d'épuration .....	49
4.2.1. Abattement global.....	49
4.2.2. Biodégradation des LAS .....	50
4.2.2.1. Quantification de la biodégradation des LAS dans l'environnement.....	50

4.2.2.2	Influence des conditions environnementales sur la biodégradation .....	52
4.2.2.3	Voies métaboliques .....	54
4.3.	Occurrence des LAS dans les effluents traités .....	56
4.4.	Occurrence des LAS dans les boues .....	57
5.	OCCURRENCE DES LAS DANS LES MILIEUX ENVIRONNEMENTAUX .....	59
51.	Occurrence des LAS dans les milieux aquatiques .....	61
5.1.1.	Occurrence des LAS dans eaux douces .....	61
5.1.2.	Occurrence des LAS dans eaux marines .....	62
5.2.	Occurrence des LAS dans les sédiments .....	63
5.3.	Occurrence des LAS dans sols .....	64
6.	ECOTOXICOLOGIE.....	65
61.	Grandeurs caractéristiques de l'effet toxique .....	67
62.	Paramètres influençant la toxicité des LAS.....	67
621.	Caractéristiques de la molécule toxique .....	67
622.	Caractéristiques des organismes étudiés .....	68
623.	Paramètres environnementaux influençant la toxicité des LAS .....	68
63.	Toxicité aiguë des LAS .....	70
631.	Toxicité des LAS pour cellules eucaryotes .....	70
632.	Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques .....	70
633.	Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des bactéries .....	72
64.	Toxicité chronique des LAS .....	75
641.	Toxicité chronique des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques..	75
642.	Toxicité chronique des LAS vis-à-vis des bactéries .....	76
643.	Bioconcentration des LAS dans les organismes aquatiques .....	77
7.	CONCLUSION.....	79
8.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	85

---

## **1 . PRESENTATION DE LA PROBLEMATIQUE.**

---



Les sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) sont des surfactants possédant à la fois des propriétés hydrophiles conférées par une tête polaire (groupement sulfonate) et des propriétés hydrophobes conférées par une chaîne alkyle de 10 à 14 atomes de carbone en général. La propriété caractéristique des LAS est de se concentrer aux interfaces et de réduire la tension superficielle. Ce sont les LAS qui confèrent aux lessives la propriété de détergence. Les détergents utilisés les plus couramment dans les pays industrialisés pour des applications industrielle et domestiques contiennent environ 10 % de LAS sous forme d'un mélange d'homologues.

La haute biodégradabilité de ces molécules est largement reconnue et souvent mise en avant par les industriels du savon. Ainsi, l'utilisation des LAS n'a pas cessé de croître depuis les années soixante et atteint des tonnages considérables aujourd'hui dans les pays industrialisés. L'augmentation des quantités de détergents déversées dans le milieu naturel ne semble pourtant pas alerter la communauté scientifique qui s'intéresse à l'évaluation des risques des molécules chimiques.

Quoiqu'il en soit, les problèmes que peut engendrer la présence de LAS dans les milieux environnementaux ne sont de toute façon pas uniquement inhérents à la quantité de produit présent. L'objectif de cette synthèse bibliographique est de présenter au lecteur les facteurs qui influencent le devenir des LAS dans l'environnement. En effet, prendre en compte les différents paramètres qui modifient la précipitation, l'adsorption ou la biodégradation des LAS, c'est comprendre que l'évaluation du risque toxique de ces molécules doit intégrer la notion de complexité et de diversité environnementale.

Le problème d'éventuels effets toxiques engendrés par les LAS ne se pose évidemment pas directement en termes de Santé Publique, hormis de manière quasi anecdotique sur certains sites industriels, où l'exposition aux LAS présente un risque de toxicité aiguë pour la main d'œuvre. La toxicité des LAS concerne d'une part la faune et la micro-faune aquatiques qui sont exposées via les effluents urbains et industriels. D'autre part, l'épandage des boues d'épuration sur les sols agricoles constitue une voie d'exposition majeure aux LAS qui sont concentrés dans ces boues.

La protection de l'environnement est une préoccupation transversale, qui concerne aujourd'hui tous les secteurs professionnels. La protection de l'environnement est aussi la mission du pharmacien, qui s'investit de manière spécifique en tant qu'écotoxicologue, ou de manière générale de par ses missions de sensibilisation et de prévention.

Cette analyse bibliographique comprend cinq parties, qui présentent, en s'appuyant sur la littérature récente, les différents acteurs et les phénomènes physico-chimiques impliqués dans le devenir des LAS dans l'environnement et les effets toxiques qui en découlent :

### 1) Les sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS)

Cette première partie s'intéresse à la présentation de la molécule tensio-active. L'accent est porté sur sa propriété détergente inhérente à son caractère amphiphile. L'amphiphilie confère aux LAS des propriétés de solubilité et d'adsorption bien particulières. L'étude de ces propriétés est essentielle pour aborder la distribution et la mobilité des LAS dans les différentes phases des milieux environnementaux. De plus, une brève revue des différentes méthodes analytiques disponibles mettra en lumière la nécessité d'utiliser des méthodes spécifiques et permettant la séparation des différents homologues. En effet, la complexité du comportement des LAS dans l'environnement réside aussi dans le fait que les différents homologues possèdent des propriétés différentes. En particulier les homologues de masse molaire élevée sont les plus hydrophobes (Garcia *et al.*, 2002; Saez *et al.*, 2001; Traina *et al.*, 1996) et par conséquent les plus toxiques (Hampel et Blasco, 2002; Verge *et al.*, 2001).

### 2) Les agrégats biologiques (boues activées)

Ce paragraphe a pour objectif de décrire brièvement les traitements d'épuration biologiques principalement utilisés, et en particulier les traitements à boues activées, afin de pouvoir appréhender la lecture des paragraphes suivants concernant l'élimination des LAS par ces traitements, et notamment les paragraphes concernant la comparaison de l'efficacité de différents traitements. Les boues activées sont des agrégats microbiens qui se forment de manière spontanée au cours du procédé d'épuration dans des conditions particulières de brassage et d'aération.

De plus, l'organisation et la composition des agrégats microbiens fait l'objet de ce paragraphe de manière détaillée. Les références bibliographiques concernant ces agrégats sont principalement issues de la littérature concernant les boues activées pour des raisons de richesse d'information disponible sur le sujet. Cependant, qu'elles soient issues des stations d'épuration ou des milieux aquatiques environnementaux, ces entités biologiques sont le siège des phénomènes d'adsorption des LAS et l'activité microbienne et à l'origine de leur biodégradation.

Les agrégats sont composés d'une communauté microbienne complexe (Amann *et al.*, 1998), piégée dans une matrice de polymères extracellulaires qui assure la cohésion de la structure agrégée (Flemming *et al.*, 2000). Des zones fortement apolaires aux sein des agrégats pourraient être à l'origine de l'accumulation de polluants hydrophobes et amphiphiles.

L'organisation des agrégats est variable dans le temps et dans l'espace (Droppo *et al.*, 1997), entraînant par conséquent des variations de leurs capacités d'adsorption, de biodégradation et de décantation. En particulier, la présence de surfactants peut être à l'origine de modifications importantes de l'organisation des agrégats et d'un dysfonctionnement du procédé d'épuration.

### 3) Devenir des LAS au cours du traitement d'épuration biologique.

De nombreuses campagnes de prélèvements ont été menées afin de déterminer la teneur en LAS dans les effluents urbains et dans les milieux naturels, en particulier les eaux de rivière et leurs sédiments. Elles permettent d'estimer l'abattement obtenu au cours des procédés d'épuration biologiques ou du transport en milieux aquatiques. En particulier, les articles de Holt *et al.*, (2003), McAvoy *et al.*, (1993) et Rapaport et Eckhoff (1990) constituent des revues très complètes des valeurs répertoriées dans la littérature.

La majorité des LAS utilisés rejoint les traitements d'épuration. La concentration de LAS dans les eaux usées est de l'ordre de 1 à 10 mg.L<sup>-1</sup> (McAvoy *et al.*, 1993; McEvoy *et al.*, 1998; Djellal *et al.*, 1997). Dans les effluents urbains, les LAS sont majoritairement retrouvés en association avec les particules en suspension (Prats *et al.*, 1993). Au cours du traitement par boues activées, une large fraction (15 %) est éliminée par adsorption sur les agrégats bactériens et par précipitation avec le calcium ou le magnésium (Brunner *et al.*, 1988). Les LAS possédant une longue chaîne de carbone (C<sub>13</sub> et C<sub>14</sub>-LAS) présentent une plus grande capacité à s'adsorber et à précipiter que les LAS ayant une masse molaire plus faible (Garcia *et al.*, 2002). La biodégradation par les micro-organismes des boues activées est cependant le principal processus responsable de l'élimination des LAS (Brunner *et al.*, 1988).

Au cours du traitement, les LAS subissent des transformations qui modifient leur distribution entre les phases dissoute et particulaire, leur biodégradabilité et leur toxicité. La biodégradation des LAS entraîne une modification de la distribution des homologues (Perales *et al.*, 1999). Globalement, le mélange s'enrichit en composés plus solubles, mais plus résistants à la biodégradation. La biodégradation des LAS est rarement complète. Elle a lieu préférentiellement en aérobiose et sous l'action de différents micro-organismes dont les activités hydrolytiques sont complémentaires (Jimenez *et al.*, 1991).

Le taux d'abattement est tributaire du bon fonctionnement du procédé d'épuration. Lors de périodes de dysfonctionnement, le taux d'abattement est réduit à moins de 90 %, voire 65 % (Brunner *et al.*, 1988). Si la séparation par décantation des boues de l'eau épurée n'est pas efficace, des agrégats bactériens s'échappent de la station. Les LAS sont ainsi libérés dans le milieu récepteur non seulement sous forme dissoute mais aussi sous forme adsorbée par les agrégats bactériens. L'adsorption des LAS sur les agrégats biologiques est fortement réversible (Conrad *et al.*, soumis). Ces agrégats pourraient jouer ainsi le rôle de transporteur transitoire et contribuer à la dispersion des LAS sur de grandes distances.

L'accumulation des LAS dans les boues a fait l'objet de nombreuses études, car elle constitue une voie majeure de contamination des sols *via l'amendement agricole* (McAvoy *et al.*, 1993; Prats *et al.*, 1993). La part soluble déversée dans le milieu récepteur est considérée comme négligeable au vu des flux de détergents dans les effluents en entrée de station d'épuration (Brunner *et al.*, 1988). Cependant, s'ajoute à ces flux la part de LAS adsorbée sur les agrégats bactériens qui s'échappent de la station lors de dysfonctionnement de la décantation. Cependant, ni la part de LAS déversée dans le milieu aquatique par cette voie, ni l'intensité de ces phénomènes n'ont jamais été quantifiées.

#### 4) Occurrence des LAS dans les milieux environnementaux

Les LAS sont retrouvés dans tous les milieux environnementaux et en particulier dans les rivières et les sols. Dans les milieux aquatiques, ils sont distribués aussi bien dans la phase dissoute que dans les matières en suspension et dans les sédiments.

Dans les milieux environnementaux, les LAS subissent encore une fois les phénomènes de biodégradation, adsorption et précipitation. L'intensité de chacun de ces phénomènes dépend aussi nettement des conditions environnementales et des caractéristiques du milieu récepteur. Ainsi la biodégradation est plus importante dans les eaux douces que les eaux marines. L'accumulation dans les sédiments et les sols limite l'accèsibilité des LAS aux micro-organismes et leur demi-vie est nettement plus longue dans les phases solides que dans les milieux aquatiques (Prats *et al.*, 1993). *A contrario* l'adsorption des LAS sur les phases solides limite aussi leur toxicité (Lewis *et al.*, 1992).

Dans les effluents de station d'épuration, la quantité de LAS représente 0,7 % du flux d'entrée (Brunner *et al.*, 1988). Les traitements d'épuration à boues activées permettent ainsi un abattement de la concentration en LAS en général supérieur à 99 %. En conséquence, la concentration déversée dans le milieu aquatique récepteur est comprise entre 0,01 et 1 mg.L<sup>-1</sup> (De Ferrer *et al.*, 1997; Di Corcia *et al.*, 1999). Ce niveau de concentration est considéré de manière consensuelle comme suffisamment inférieur aux concentrations toxiques pour la faune aquatique. Les concentrations létales 50 % répertoriées dans la littérature sont pourtant comprises entre 0,6 et 30 mg.L<sup>-1</sup> pour les daphnies et entre 0,7 et 18 mg.L<sup>-1</sup> pour les poissons (Verge *et al.*, 2001; Traina *et al.*, 1996). Les effluents les plus chargés posent donc réellement un problème de toxicité aiguë pour certains organismes.

Au cours du traitement d'épuration, les LAS se concentrent dans les boues. La principale voie d'élimination des boues en excès étant l'amendement agricole, les LAS sont aussi par conséquent retrouvés en grande quantité dans les sols. Les boues appliquées sur les sols subissent généralement une stabilisation, c'est-à-dire un traitement secondaire, comme une digestion aérobie ou anaérobie, un séchage ou une centrifugation. La digestion aérobie est le procédé le plus efficace pour l'élimination des LAS. La concentration en LAS des boues de

digestion aérobie est de l'ordre de 0,1 à 0,5 g.kg<sup>-1</sup>, alors qu'elle atteint 5 à 15 g.kg<sup>-1</sup> dans les boues de digestion anaérobie (McAvoy *et al.*, 1993). La quantité annuelle de LAS qui entre dans les sols agricoles *via* l'amendement a été estimée à 1 g.m<sup>-2</sup> (Brunner *et al.*, 1988). La demi-vie des LAS dans les sols est nettement plus longue que dans les milieux aquatiques, en particulier du fait de la présence de zone d'anaérobie et de la forte adsorption des LAS qui limite leur biodisponibilité pour les micro-organismes des sols (Mogensen *et al.*, 2002).

### 5) Ecotoxicologie

Les LAS ont démontré des effets délétères sur tous les organismes aquatiques exposés, micro-organismes, algues, invertébrés, insectes, mollusques, poissons... Ils sont capables de s'accumuler dans les organismes, en particulier la bioconcentration a été démontrée chez les poissons (Tolls *et al.*, 2003).

Les études de toxicité sont principalement centrées sur l'évaluation de la toxicité aiguë, c'est-à-dire l'évaluation de la concentration létale 50 %. Très peu d'études s'intéressent aux effets que peut engendrer l'exposition des organismes aux LAS à des concentrations sublétales. La toxicité chronique est pourtant le principal problème qui peut être posé par la présence des LAS dans les milieux environnementaux. Très peu de données sont disponibles concernant la toxicité chronique des LAS vis-à-vis des poissons, bien que des effets physiologiques et sur leur comportement ont été observés, comme la réaction de fuite.

Les concentrations létales 50 % des LAS ont été évaluées vis-à-vis de différents organismes aquatiques en particuliers, comme les algues, les daphnies et quelques poissons. Le principal défaut de ces études est de ne pas tenir compte des paramètres environnementaux qui modifient considérablement la concentration et la distribution des LAS dans les différentes phases, et par conséquent l'effet toxique (Lewis *et al.*, 1992). En particulier, les phénomènes de biodégradation, de précipitation et d'adsorption sont rarement pris en compte dans les études de toxicité. De plus, les organismes étudiés ne sont réellement représentatifs de l'ensemble des organismes présents. Le stade de développement et le mode de vie des organismes influencent nettement l'effet toxique.

La toxicité des LAS s'exerce aussi sur les organismes et les micro-organismes des sols, qui constituent un compartiment d'accumulation pour les LAS. La toxicité des LAS vis-à-vis des micro-organismes est difficile à évaluer étant donné l'importante capacité d'adaptation des bactéries. Néanmoins, les techniques les plus récentes ont permis de confirmer les hypothèses de modifications structurales des communautés bactériennes par les LAS (Brandt *et al.*, 2004).



---

## **2. LES SULFONATES D'ALKYLBENZENE LINEAIRES.**

---



## **2.1. PROPRIETES ET UTILISATION DES DETERGENTS.**

Selon la définition du Journal Officiel (décret n°77-1554 du 28 décembre 1997), "On entend par détergent tout produit dont la composition a été spécialement étudiée pour concourir au développement des phénomènes de détergence et dont les composants essentiels sont des agents de surface". Les détergents sont des produits de nettoyage constitués principalement de surfactants ou tensio-actifs, et en moindre proportion d'adjuvants (phosphates et zéolites), d'agents de blanchiment (perborate) et de divers additifs (enzymes, parfums).

Les premiers détergents synthétiques ont vu le jour après la première guerre mondiale, lorsque les graisses se faisaient rares pour l'industrie du savon. Le plein essor des détergents s'est manifesté après la deuxième guerre mondiale, lorsque des adjuvants, comme les phosphates et les zéolites (aluminosilicate de sodium), ont été rajoutés dans leur formulation. Ceux-ci permettent de réduire la dureté de l'eau par des phénomènes de chélation ou d'échange d'ion, inhibant la formation de précipité entre les surfactants et les ions Ca ou Mg.

## **2.2. LES TENSIO-ACTIFS OU SURFACTANTS.**

### **2.2.1. Consommation des tensio-actifs.**

Environ la moitié des tensio-actifs est consommée par les industries et les collectivités, l'autre moitié est consommée par les besoins ménagers (2/3) et la toilette corporelle (1/3). En 1987, la consommation totale de tensio-actifs en Europe de l'Ouest s'élevait à 2,5 millions de tonnes, soit plus de 6 kg par habitant (Thoumelin, 1995). Les surfactants anioniques représentent 65 % de la totalité des surfactants utilisés.

Ces chiffres ne vont certainement pas augmenter de manière exponentielle dans les années à venir, la croissance de la demande en surfactants ayant été estimée à 4,3 % (*Focus on surfactants* (2), 2003). Cependant la consommation des LAS est en pleine expansion dans les pays en voie de développement. Ce qui risque d'augmenter rapidement les tonnages. La consommation de surfactants pourrait ainsi atteindre 14,3 millions de tonnes en 2010 (*Focus on surfactants* (2), 2003).

### **2.2.2. Propriétés physico-chimiques des tensio-actifs ou surfactants.**

Les tensio-actifs ou surfactants sont des molécules qui possèdent un corps hydrophobe, en général constitué par une chaîne carbonée, et une tête hydrophile, qui peut être non ionique (polymère d'oxyde d'éthylène ou de propylène), anionique (carboxyle, sulfate ou sulfonate),

cationique (amines quaternaires) ou amphotère. On distingue ainsi quatre types de surfactants selon leur charge ionique dans l'eau : les surfactants anioniques (sulfonates d'alkylbenzène linéaires, savons), les surfactants non ionique (alcools éthoxylés), les surfactants cationiques (sels d'ammonium quaternaires) et les surfactants amphotères (imidazolines et bétaïnes).

Du fait de ces deux propriétés hydrophile/hydrophobe, les tensio-actifs vont se trouver à l'interface de phases ayant des polarités et des degrés de formation de liaisons hydrogène différents, comme c'est le cas des mélanges eau/huile ou air/eau. La formation d'un film moléculaire ordonné à l'interface abaisse l'énergie interfaciale, constituant la propriété remarquable des surfactants. La tension interfaciale minimum résulte de nombreuses interactions moléculaires et dépend non seulement du surfactant mais aussi de la température et de la force ionique (Doe *et al.*, 1977). La partie n-alkylbenzene sulfonate et la chaîne n-alkyl contribuent de manière indépendante à cette propriété.

L'émulsification et la micellisation sont ainsi les mécanismes qui contribuent à séparer les souillures de la surface à nettoyer (Fig. 2.1).

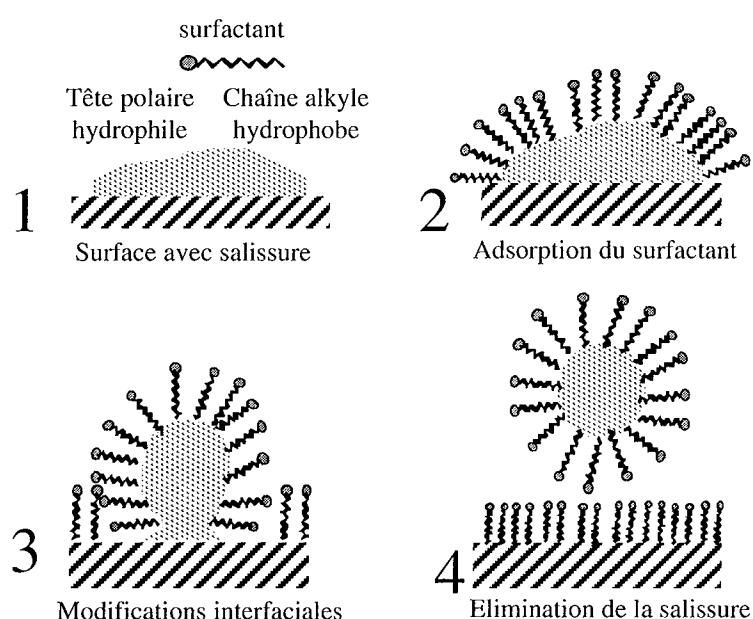


Figure 2.1. Mécanisme de détergence des surfactants.

## **2.3. UTILISATION DES SULFONATES D'ALKYLBENZENE LINEAIRES (LAS).**

Les LAS ont été développés comme substituts biodégradables des sulfonates d'alkylbenzène branchés (BAS). Ce remplacement résulte en partie d'un problème de mousse observée dans les rivières dans les années soixante dues à l'utilisation intensive des BAS.

Actuellement, les LAS sont les tensio-actifs les plus utilisés au monde dans les détergents ménagers ou en applications industrielles. 80 à 85 % des LAS sont utilisés dans les détergents ménagers, comme les lessives en poudre ou liquide, les produits vaisselles et autres produits de nettoyage. Une très faible proportion est utilisée dans les produits de toilette corporelle, en particulier les dentifrices. Ils sont aussi utilisés comme émulsifiant, des herbicides en particulier, et comme agent mouillant. Les produits chimiques ignifuges contiennent aussi une proportion importante de LAS. C'est une source à ne pas négliger, en particulier pour les risques toxicologiques, puisque ces produits sont appliqués directement dans l'environnement par voie aérienne.

Les LAS présentent l'avantage de posséder de bonnes performances techniques pour un coût de fabrication relativement faible. Proposés par les lobbies industriels comme des molécules hautement biodégradables, leur utilisation est largement répandue aujourd'hui dans les pays industrialisés. La consommation totale des LAS pour les Etats-Unis, l'Europe de l'Ouest et le Japon atteint 746 milles tonnes en 2002 (Modler *et al.*, 2003). C'est pourquoi leur devenir, leur persistance dans le milieu naturel sous forme de métabolites réfractaires à la biodégradation en particulier, et leur action毒ique éventuelle, suscitent le débat du milieu scientifique.

## **2.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES LAS.**

### **2.4.1. Structure chimique des LAS.**

Les sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) sont des surfactants de type anionique composés d'une chaîne alkyle linéaire sur laquelle est branchée un cycle benzénique possédant un groupement sulfophényle ( $\text{SO}_3^-$ ) en position para (Fig. 2.2).

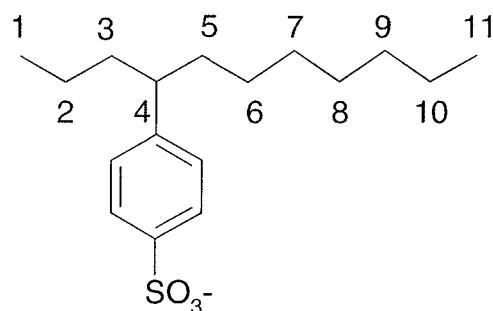


Figure 2.2. Structure chimique d'un sulfonate d'alkylbenzène linéaire, le 4 C<sub>11</sub>-LAS.

La synthèse de ces composés s'effectue à partir d'hydrocarbures de type alkylbenzène linéaire (LAB). L'alkylation du benzène à partir d'oléfines de 10 à 14 atomes de carbone ( $R_1-CH=CH-R_2$ ) se produit simultanément à l'isomérisation de l'oléfine par déplacement de la double liaison. Il en résulte une distribution statistique du noyau benzénique à l'exception des carbones terminaux. Les LAB sont ensuite sulfonés par de l'acide sulfurique sous pression. Les LAS commerciaux sont ainsi constitués d'un mélange d'homologues et d'isomères de positions (Fig. 2.3).

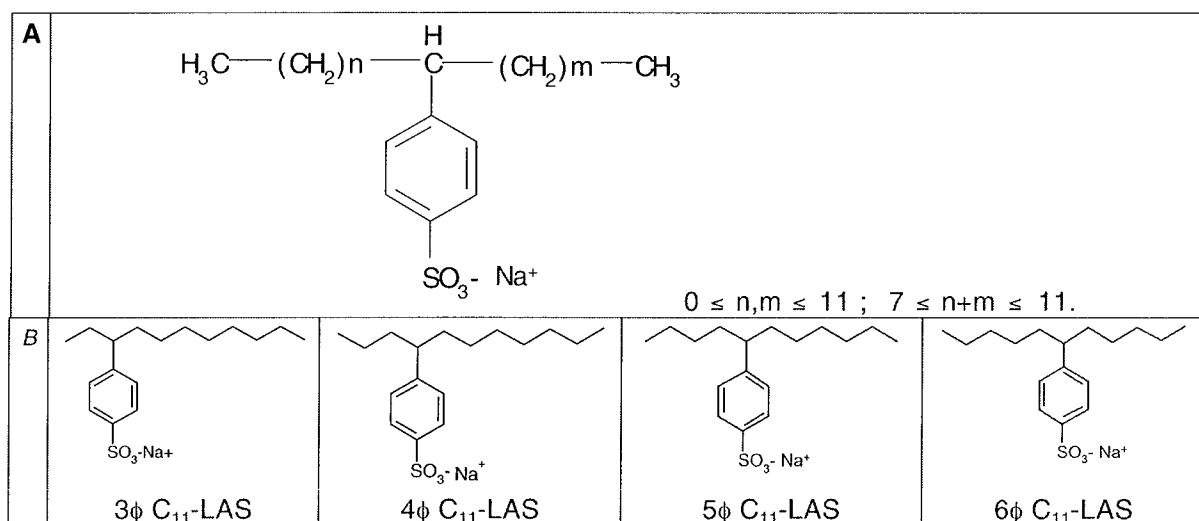


Figure 2.3. Structure des sulfonates d'alkylbenzène linéaires avec des longueurs de chaînes alkyles variables (A) et principaux isomères de position du C<sub>11</sub>-LAS (B) (φ: position du groupe sulfophényle sur la chaîne alkyle).

Les homologues sont caractérisés par le nombre d'atomes de carbone ( $C_n$ ) de la chaîne alkyle. À chaque homologue correspondent plusieurs isomères, qui se différencient selon la position (m) d'attachement du cycle benzénique sur la chaîne alkyle. Les LAS sont ainsi caractérisés par la formule générale  $m C_n$ . Les isomères qui ont un cycle benzénique branché sur un atome de carbone proche de l'extrémité de la chaîne alkyle sont dit externes, en opposition aux isomères internes, qui ont un cycle benzénique branché en milieu de chaîne alkyle.

Les LAS commerciaux sont constitués d'un mélange d'homologues dont la chaîne alkyle comporte généralement de 10 à 14 atomes de carbone, avec une prédominance des C<sub>11</sub> et C<sub>12</sub>-LAS. Ceci est le résultat d'un compromis entre le pouvoir nettoyant et la toxicité des produits.

#### **2.4.2. La concentration micellaire critique (CMC).**

En solution aqueuse, les tensio-actifs ont tendance à s'associer afin de minimiser la surface de contact entre le corps hydrophobe et le solvant. Au-dessous d'une concentration critique caractéristique du tensio-actif considéré, les molécules se disposent de manière tête-bêche, cette organisation en solution permettant une minimisation de l'enthalpie libre. Au-dessus de cette concentration critique, les molécules s'associent en micelles, ce qui permet une minimisation de l'énergie du point de vue électrostatique et du point de vue aire de contact solvant/soluté, sans création d'une deuxième phase. Le nombre de molécules par micelle dépend de la taille de la tête polaire et de la longueur de la chaîne hydrophobe. Plus la tête polaire est petite et la chaîne hydrophobe longue, plus le nombre de molécules par micelle est élevé. Une augmentation de la longueur de la chaîne hydrophobe se traduit ainsi par une plus grande facilité à former des micelles et donc par une diminution de la concentration micellaire critique (CMC). Par contre, l'ajout de sel conduit à une diminution de la CMC, par écrantage des charges des têtes polaires.

#### **2.4.3. Propriétés physico-chimiques des LAS.**

L'étude de la solubilité et de l'adsorption des LAS mérite le plus grand intérêt, car ces propriétés régissent pour une grande partie la distribution des LAS dans les milieux environnementaux. Il est en effet essentiel d'estimer la proportion précipitée et/ou adsorbée : de cette proportion dépendent la mobilité et la biodégradabilité des LAS, et par conséquent leur distribution dans les différentes phases des milieux environnementaux et leur éventuelle action toxique.

##### **2.4.3.1. Solubilité des LAS.**

La solubilité des LAS en solution aqueuse atteint  $250 \text{ g.L}^{-1}$  sous forme de sel de sodium  $\text{Na}^+ \text{LAS}^-$ . De manière classique, la solubilité dépend de la température (Fig. 2.4). En ce qui concerne les surfactants ioniques, le diagramme de phase des LAS révèle deux domaines : à une température inférieure au point de Krafft ( $T_K$ ), la solubilité décrit la concentration de saturation d'un cristal hydraté en équilibre avec des monomères en solution, au dessus de  $T_K$ , la courbe traduit l'équilibre entre le cristal et la forme micelle.

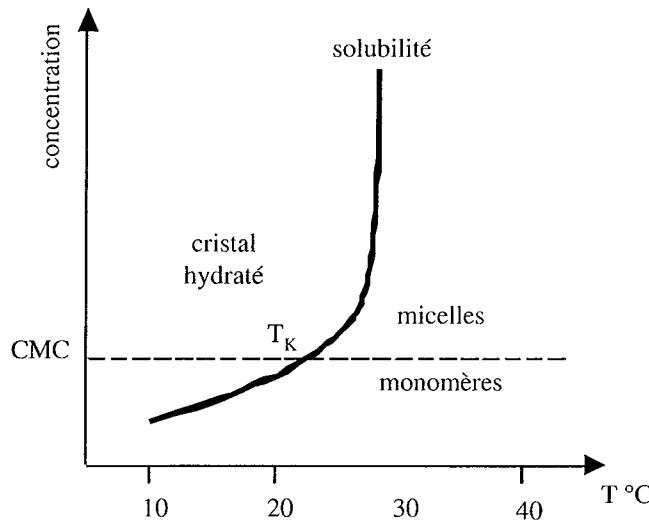


Figure 2.4. Représentation schématique de la solubilité des surfactant ioniques en fonction de la température montrant le point de Krafft  $T_K$  (diagramme de phase d'après Cases et Villieras, 1992).

Sous forme de sel de calcium, la solubilité est de  $4 \text{ mg.L}^{-1}$ . En présence d'un excès de calcium, les LAS précipitent sous forme de sel de calcium  $\text{Ca(LAS)}_2$  non toxique. La forme observée dans les milieux environnementaux aquatiques dépend ainsi fortement de la concentration en ions calcium et magnésium du milieu. Les diagrammes de limite de précipitation permettent d'évaluer les interactions surfactant anionique –  $\text{Ca}^{2+}$ , incluant une estimation de la CMC, le produit de solubilité et l'interaction des ions  $\text{Ca}^{2+}$  avec les micelles en solution (Fig. 2.5). Ces diagrammes sont des diagrammes de phase pour les LAS en fonction de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$ . Les lignes représentent les points à partir desquels la précipitation est observée. Le diagramme est divisé en trois zones:

- au-dessous la ligne OP, la zone des monomères. Les solutions sont transparentes car le produit de solubilité  $\text{Ca(LAS)}_2$  n'est pas atteint,
- au-dessus de la ligne OR, la zone des micelles. Les solutions sont transparentes car il y a suffisamment de micelles pour séquestrer les ions  $\text{Ca}^{2+}$  présents,
- entre les lignes OP et OR, la zone de précipitation. Les solutions sont turbides (monomères et micelles).

Les courbes représentent l'évolution d'un point donné dans la zone de précipitation jusqu'à atteindre l'équilibre (lignes OP et OR) correspondant à une solution saturée.

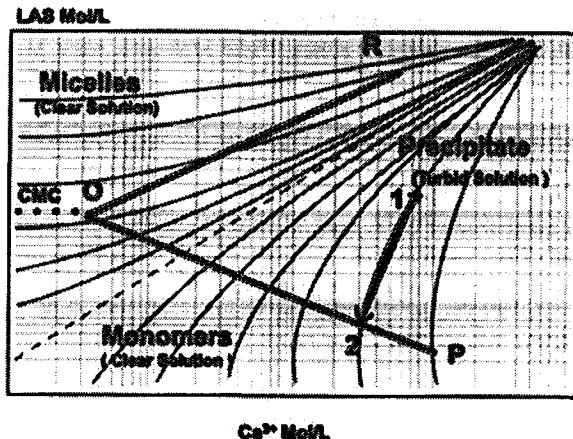


Figure. 2.5. Diagramme de limite de précipitation du  $\text{Ca}(\text{LAS})_2$  (Verge *et al.*, 2001).

#### 2.4.3.2. Adsorption des LAS.

L'adsorption correspond à un phénomène de rétention à la surface de différents constituants. De par leurs propriétés physico-chimiques, les sulfonates d'alkylbenzène linéaires s'adsorbent rapidement et en grande quantité sur différentes surfaces, de nature minérale comme le charbon actif, la silice, l'alumine, l'hydroxyde d'aluminium (Hartmann et Mosebach, 1966), les argiles (Matthijs et de Henau, 1985; Ou *et al.*, 1996; Westall *et al.*, 1999), de nature organique, comme les substances humiques (Traina *et al.*, 1996), la matière organique des sols (Ou *et al.*, 1996; Broberg Kritiansen *et al.*, 2003) et des sédiments (Urano *et al.*, 1984; Matthijs et de Henau, 1985; Marchesi *et al.*, 1991; Westall *et al.*, 1999), et différentes entités biologiques, comme des bactéries (Urano et Saito, 1984), des micro-algues (Sáez *et al.*, 2001) ou les boues activées (Kerr *et al.*, 2000).

L'adsorption des LAS augmente avec la longueur de la chaîne alkyle hydrophobe et lorsque le noyau benzène est placé en fin de chaîne (Hand et Williams, 1987; Traina *et al.*, 1996; Sáez *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2002). Ces propriétés ont pour conséquence l'enrichissement des phases solides en LAS à longue chaîne alkyle. Cette répartition a été observée pour les matières en suspension des milieux aquatiques (eaux usées, eaux douces, mer), les sédiments, les sols et les boues (Rapaport et Eckhoff, 1990; McAvoy *et al.*, 1993; Prats *et al.*, 1993; De Ferrer *et al.*, 1997; González-Mazo *et al.*, 1998).

D'une manière générale, les phénomènes d'adsorption des LAS sont décrits dans la littérature à l'aide de différents modèles d'adsorption, utilisés de manière empirique, puisqu'ils ont été initialement construits pour décrire les équilibres des transferts gaz/solide.

L'aptitude d'une surface à fixer les LAS est déterminée par de nombreux auteurs à partir du coefficient de partage de la molécule entre une phase solide et une phase liquide ( $K_D$ ) (Tableau 2.1).  $K_D$  détermine la distribution de la molécule entre les deux phases.

$$K_D = \frac{Q_e}{C_e}$$

avec  $Q_e$  la quantité adsorbée ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),  
 $C_e$  la concentration en solution ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  
et  $K_D$  le coefficient de partage ( $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

Tableau 2.1. Coefficient de partage ( $K_D$ ) des LAS déterminé pour divers adsorbants.

Adsorbants	LAS	Kd ( $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	Références
Substances humiques	C10	8300 à 12900	Traina <i>et al.</i> 1996
	C12	38000 à 83200	
	C14	204004 à 490000	
Sol argileux/sableux		24,7 ± 19	Broberg Kritiansen <i>et al.</i> 2003
Sol sableux		24,2 ± 5	
Sol argileux	[LAS] < 90 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1,2 à 2	Ou <i>et al.</i> 1996
	[LAS] > 90 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Coopérativité positive	
Sols sableux	Sol 1 (coordonnées 0; 0) Sol 2 (0; 0) Sol 3 (-0,5; + 6,1)	2,54 ± 1,31 0,94 ± 0,10 0,73 ± 0,20	Doi <i>et al.</i> 2002
Boues activées	COT <sup>(1)</sup> radioactivité	324 163	Kerr <i>et al.</i> 2000
Sédiment	COD <sup>(2)</sup> = 3,65 mg.L <sup>-1</sup> COD = 7,44 mg.L <sup>-1</sup>	4,9 ± 0,5 23,9 ± 3,5	Cano <i>et al.</i> 1996
MES/eau Sédiment/pores		> 1000 à > 5700 11 à > 24	Hand <i>et al.</i> 1990
Sédiment	C10 C11 C12 C13	14,9 54 315 23500	Marchesi <i>et al.</i> 1991
Sédiment	C10 C12 C14	44 500 à 950 470 à 3000	Hand <i>et al.</i> , 1987

<sup>(1)</sup>COT : carbone organique total

<sup>(2)</sup>COD : carbone organique dissous

Le phénomène de partage implique plusieurs hypothèses (Schwarzenbach *et al.*, 1993):

- 1) l'isotherme d'adsorption est linéaire, de la forme:  $Q_e = K_D \times C_e$
- 2) il existe une corrélation linéaire entre  $K_D$  et la concentration en matière organique
- 3) il n'y a pas de phénomènes de compétition pour l'adsorption de plusieurs composés,
- 4) il n'y a pas de sites spécifiques d'adsorption.

Cette approche partitionnelle permet de déterminer par exemple la concentration libre dans l'eau interstitielle  $[\text{LAS}]_{\text{eau}}$  des LAS non liés aux composés des sédiments ou des sols  $[\text{LAS}]_s$  ou la concentration libre dans l'eau des LAS non liés aux matières en suspension  $[\text{LAS}]_{\text{MS}}$ . La valeur de  $K_D$  calculée pour les sédiment est comprise entre 11 à 24  $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$  pour  $K_D = [\text{LAS}]_s/[\text{LAS}]_{\text{eau}}$  et entre 1000 et 5700  $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$  pour  $K_D = [\text{LAS}]_{\text{MS}}/[\text{LAS}]_{\text{eau}}$  (Hand *et al.*, 1990). Ces valeurs doivent être considérées avec précaution, car  $K_D$  varie considérablement

d'un homologue à l'autre. A titre d'exemple, la valeur du  $K_D$  d'un C13-LAS est 75 fois plus importante que celle d'un C12-LAS (Marchesi *et al.*, 1991). Cela renforce aussi l'hypothèse que des interactions hydrophobes sont impliquées dans l'adsorption des LAS.

L'adsorption décrite seulement par le mécanisme de partage est cependant contredite par les expérimentations. En effet, l'observation d'isothermes non linéaires et de phénomènes de compétition suggère l'existence de sites d'adsorption spécifiques.

Le modèle de Freundlich (Freundlich et Heller, 1939, *J. Amer. Chem. Soc.* 61, 22) est ainsi largement utilisé dans la littérature pour décrire l'adsorption des LAS sur des sites de surfaces :

$$Q_e = K_F \times C_e^{\frac{1}{n}}$$

avec  $K_F$  la constante de Freundlich caractérisant le pouvoir adsorbant qui est exprimée en  $\text{mg}^{1-1/n} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}^{1/n}$ , et  $n$  le paramètre énergétique caractérisant l'affinité de l'adsorbant (Tableau 2.2).

Tableau 2.2. Constantes de Freundlich déterminées pour les LAS et différents adsorbants.

Adsorbants	LAS	$K_F$	$n$	Références
<i>Dunaliella salina</i>	C11	176 ± 0,02	0,964 ± 0,02	Sáez <i>et al.</i> , 2001
		66	1,39	Gonzales-Mazo <i>et al.</i> , 1998
Boues activées		5200	1	Sweeney et Foote, 1964 cité par Urano et Saito, 1984
Boues activées		890	1,04	Hartman et Mosebach, 1966 cité par Urano et Saito, 1984
Boues activées		940	1,37	Oba <i>et al.</i> , 1971 cité par Urano et Saito, 1984
Boues activées	C12	4000± 800	1,1	Urano et Saito, 1984
Boues activées	C10	380	1,12	Garcia <i>et al.</i> , 2002
	C11	1349	1,00	
	C12	2239	1,45	
	C13	12303	1,04	
	C14	21878	2,07	
Sédiment		237 ± 77	1,2 ± 0,09	Matthijs et De Henau, 1985
Sédiment	C12	6 à 91	0,7 à 1,2	Urano <i>et al.</i> , 1984
Sédiment	C10	3,8	0,90	Westall <i>et al.</i> , 1999
	C12	9,5	0,86	
	C14	186	0,83	
Sol argileux/sableux		0,049	2,91 ± 0,11	Broberg Kritiansen <i>et al.</i> , 2003
Sol sableux		415	1,60 ± 0,11	

Le modèle de Freundlich obéit à une loi empirique qui suppose que tous les sites d'adsorption ne sont pas équivalents au niveau énergétique, c'est-à-dire que les surfaces et les énergies d'adsorption sont hétérogènes. Il admet l'interaction entre les molécules adsorbées. La constante  $n$  est une mesure de la non-linéarité de la courbe. Lorsque  $n$  est inférieur à 1, l'affinité d'adsorption diminue de manière exponentielle avec l'avancement de la

réaction. Lorsque  $n$  est supérieur à 1, l'affinité augmente avec l'avancement de la réaction, des phénomènes de coopérativité entrent en jeu. Le modèle de Freundlich ne prévoyant pas de limite supérieure à l'adsorption, son utilisation est à limiter à des milieux dilués.

Le modèle de Langmuir (Langmuir, 1915, *J. Amer. Chem. Soc.* 37, 1139) est alors préféré à forte concentration par certains auteurs (Matthijs et de Henau, 1985) :

$$Q_e = \frac{K \times Q_{\max} \times C_e}{1 + K \times C_e}$$

avec  $K$  la constante d'adsorption ( $\text{L.mol}^{-1}$ ),

et  $Q_{\max}$  la quantité maximale adsorbée ( $\text{mol.kg}^{-1}$ ).

Le modèle de Langmuir suppose une distribution homogène des sites d'adsorption énergétiquement équivalents et aucune interaction entre les molécules adsorbées. L'adsorption maximale correspond à un recouvrement monocouche de toute la surface.

A titre d'exemple, concernant l'adsorption des LAS sur les sédiments,  $K$  a été estimé à  $100 \pm 10 \text{ L.mol}^{-1}$  et  $Q_{\max}$  à  $2902 \pm 1060 \text{ mol.kg}^{-1}$  (Matthijs et De Henau, 1985).

Il est clair qu'aucun de ces modèles ne répond exactement à toutes les questions qui peuvent être posées sur l'adsorption des LAS sur des adsorbants de nature très diverse et très hétérogène, et en présence d'autres adsorbats.

Ayant observés une corrélation positive entre la capacité d'adsorption et la teneur en carbone organique ( $f_{OC}$ ) (Urano et Saito, 1984; Matthijs et de Henau, 1985) ou la teneur en argile ( $f_c$ ) (Ou *et al.*, 1996) des adsorbants, en particulier les sols et les sédiments, certains auteurs ont proposé de tracer les isothermes en concentrations réduites, à savoir  $C_e/f_{OC}$  ou  $C_e/f_c$ . Les coefficients de partages qui en dérivent sont alors respectivement  $K_{OC} = 100 \times K_D/f_{OC}$  et  $K_c = 100 \times K_D/f_c$ . Les caractéristiques de l'adsorption sont ainsi standardisées pour obtenir des constantes d'adsorption ne dépendant que de la fraction organique ou minérale de l'adsorbant, indépendamment de sa composition. De plus, la normalisation des concentrations par rapport à  $f_{OC}$  sous-entend que  $K_{OC}$  dépend uniquement des propriétés hydrophobes de la molécule et inversement que  $K_c$  dépend uniquement des propriétés électrostatiques de la molécule. Ce qui pourtant reste encore loin de la réalité expérimentale (Hand *et al.*, 1990; Westall *et al.*, 1999).

C'est pourquoi, Di Toro *et al.* (1990) ont proposé de tracer les isothermes d'adsorption en concentration réduites rapportées à la CMC, paramètre qui correspond pour les composés amphiphiles au coefficient de partage  $K_{ow}$  des composés hydrophobes non ioniques. Ce modèle empirique montre que l'adsorption augmente lorsque la CMC diminue (Di Toro *et al.*, 1990).

En résumé, l'adsorption des LAS est très certainement régie à la fois par des interactions hydrophobes non spécifiques dues à la chaîne carbonée et des interactions électrostatiques de la tête polaire anionique sur des sites d'adsorption spécifiques, qui résultent en des isothermes d'adsorption non linéaires. L'établissement de ces interactions dépendant à la fois de la concentration en LAS et de la nature et de la structure de l'adsorbant. Si les phases minérales sont plutôt électronégatives en milieu basique, des cations compensateurs de charge sont présents à leur surface, favorisant les interactions avec les LAS chargés négativement. Lorsque le pH est voisin de la neutralité, les minéraux portent des radicaux hydroxyles qui interviennent dans la formation de liaisons hydrogènes avec les LAS.

Les interactions hydrophobes résultent des forces d'attraction entre les molécules d'eau qui doivent être surmontées. Les interactions électrostatiques ont lieu entre deux molécules possédant un dipôle permanent ou un dipôle induit. Elles incluent par exemple les interactions électrostatiques du groupement sulfonate avec des groupes chargés positivement (comme les fonctions  $\text{NH}_3^+$  de la matière organique ou les oxydes minéraux) des sols et des sédiments. Pour des adsorbants peu chargés en matière organique, comme les sols argileux, les LAS s'adsorberaient préférentiellement par leur tête hydrophile établissant des interactions de surface site-spécifiques ou des liaisons hydrogènes entre le groupement sulfonate et des molécules possédant un groupement polaire (hydroxyle ou phénol) comme les substances humiques ou les surfaces des minéraux et des oxydes (Ou *et al.*, 1996).

De plus, deux niveaux d'interaction seraient impliqués dans l'adsorption des surfactants ioniques à l'interface solide/solution aqueuse (Cases *et al.*, 2002) :

- 1) des interactions fortes conduisant à l'adsorption des surfactants ioniques sous forme d'agrégats lamellaires, de monocouches ou de bicouches à forte concentration
- 2) des interaction faibles conduisant à l'adsorption des surfactants ioniques sous forme de micelles globulaires sur la surface si la concentration est voisine de la CMC et la température est supérieure à  $T_{\text{Krafft}}$ , sous forme de bicouches lamellaires si la température est inférieure à  $T_{\text{Krafft}}$ , ou une condensation si la température est inférieure à  $T_{\text{Krafft}}$  et si des cations sont présents.

Des modifications du milieu, comme une augmentation de la force ionique, affectent le coefficient de partage, soit *via* une diminution de la CMC, soit *via* l'écrantage de la surface adsorbante et la diminution des interactions électrostatiques. Par conséquent, l'augmentation de la force ionique entraînerait des phénomènes de compétition entre les anions minéraux et les LAS chargés négativement.

De plus, un changement de la force ionique entraîne des changements de configuration des phases adsorbantes.

## **2.5. ANALYSE DES SULFONATES D'ALKYLBENZENE LINEAIRES.**

### **2.5.1. Choix de la méthode d'analyse.**

Les méthodes d'analyse des LAS sont de deux types : elles reposent soit sur l'analyse globale des anioniques totaux, soit sur le dosage individuel des différents homologues et/ou isomères appartenant à cette famille de tensio-actifs.

Les méthodes d'analyse globale sont généralement simples et rapides, ce qui permet leur utilisation en routine. Ainsi la quantification des surfactants anioniques proposée par les méthodes standard d'analyse de l'eau repose sur leur capacité à former une paire d'ions avec le bleu de méthylène (dosage des substances actives au bleu de méthylène, MBAS) (Clesceri *et al.*, 1998). Cependant l'utilisation de la méthode MBAS pour des échantillons issus des milieux environnementaux, comme les eaux usées ou les eaux de rivière, est critiquable en raison des nombreuses interférences. Aussi, elle ne peut pas être utilisée pour doser spécifiquement les LAS, en particulier lorsque ces derniers sont présents à l'état de traces.

Une alternative intéressante à cette méthode a été proposée par Fujita *et al.* (1998). Il s'agit d'un dosage par une méthode ELISA utilisable en routine, qui ne donne pas la distribution des homologues mais dont la réponse est spécifique des LAS et très sensible (20 à 500 ng.L<sup>-1</sup>). De plus, elle a montré des résultats comparables à ceux obtenus par des méthodes spécifiques (Castillo *et al.*, 2000).

Cependant, les méthodes plus sensibles et sélectives, comme la chromatographie liquide haute performance (CLHP) et la CPG (chromatographie en phase gazeuse), sont les méthodes de choix pour déterminer les concentrations en LAS, qui sont relativement faibles dans certains milieux environnementaux, et pour séparer les différents homologues (Matthijs et de Henau, 1987), en particulier dans les études concernant l'adsorption, la biodégradation ou la toxicité, puisque le comportement des LAS est variable selon les homologues impliqués. Ces méthodes offrent aussi la possibilité de séparer les LAS de leurs métabolites (Sarrazin *et al.*, 1997). De plus, la nécessité de déterminer les concentrations de LAS dans la phase aqueuse plutôt que d'utiliser les concentrations nominales, pour estimer les grandeurs toxiques par exemple, a créé le besoin de techniques d'extraction, qui sont basées sur les principes de séparation chromatographiques. Les méthodes chromatographiques sont les méthodes d'analyse de référence, même si des méthodes beaucoup moins lourdes, comme la spectrophotométrie UV avec déconvolution des spectres, ont été développées pour suivre *in situ* la concentration des LAS et de leurs sous-produits (Boudenne *et al.*, 2001).

### **2.5.2. Méthode colorimétrique au bleu de méthylène.**

La méthode la plus employée, car c'est une méthode standard de l'analyse des eaux (Clesceri *et al.*, 1998), est la méthode au bleu de méthylène ou dosage des MBAS. Elle est basée sur la formation d'une paire d'ions entre le bleu de méthylène et un surfactant anionique. La paire d'ions est extraite au chloroforme et dosée en spectrophotométrie à 650 nm. La limite de détection est de 10 µg.L<sup>-1</sup> en équivalent LAS.

Les principaux inconvénients de cette méthode sont les nombreuses interférences possibles, en particulier les produits organiques qui donnent des résultats par excès, comme les sulfonates, les sulfates, les phosphates organiques, les phénols, les cyanates, les thiocyanates. Les amines et les protéines constituent des interférences négatives car elles peuvent entrer en compétition avec le bleu de méthylène.

Les teneurs en MBAS sont souvent confondues avec les teneurs en LAS, puisque ce sont les tensio-actifs anioniques les plus utilisés dans les détergents commerciaux. Néanmoins, les LAS ne représentent qu'une fraction des MBAS. La proportion de LAS pris en compte dans le dosage par le bleu de méthylène est très variable. Les LAS représentent en effet seulement 10 % en moyenne des MBAS dans les sédiments, 30 % dans les eaux de rivière, 38 % dans les effluents de station d'épuration, 75 % dans les eaux usées, 5 % dans les boues activées, 52 % dans les boues anaérobies et 6 % dans les sols (Matthijs et de Henau, 1987). Il apparaît que l'essentiel de la réponse au bleu de méthylène en milieu considéré comme peu pollué est dû à des interférences.

### **2.5.3. Chromatographie liquide haute performance (CLHP).**

Lorsque l'échantillon est relativement peu chargé en matière organique, comme c'est le cas des eaux de rivière, il est parfois simplement filtré ou centrifugé avant l'injection sur la colonne (Nakae *et al.*, 1981). Cependant, dans la plupart des cas, une étape préliminaire d'extraction et de préconcentration est pratiquée. Elle est principalement effectuée par une extraction en phase solide (SPE) sur cartouche de silice greffée par des radicaux C8 (Matthijs et de Henau, 1987) ou C18 (Sigoillot et Nguyen, 1987; Sarrazin *et al.*, 1997; Morales-Muñoz *et al.*, 2004). D'autres méthodes de préconcentration ont été utilisées, comme une résine échangeuse d'anion (Matthijs et de Henau, 1987), l'extraction par le chloroforme (Wang *et al.*, 2001) ou à l'eau par la méthode Soxhlet (Morales-Muñoz *et al.*, 2004). L'extraction par co-acervation en milieu acide a montré un rendement d'extraction très élevé permettant l'analyse des LAS dans les boues (Ruiz *et al.*, 2004)

La CLHP utilisée pour déterminer la concentration de LAS est une chromatographie à polarité de phases inversée (Tableau 2.3). La phase stationnaire est généralement une silice greffée par des chaînes alkyles de 18 atomes de carbone (C18). La phase mobile est

constituée d'un mélange méthanol/eau ou acétonitrile/eau. L'élution a lieu en mode isocratique ou en mode gradient, ce qui permet d'augmenter l'efficacité de la séparation des différents homologues (Tolls *et al.*, 2003). La détection est généralement réalisée en UV ou en fluorescence.

Deux types d'analyse par CLHP sont utilisés, l'appariement d'ions ou l'utilisation d'une phase mobile à force ionique élevée. Dans le premier cas, l'addition d'un contre-ion de nature cationique permet la formation d'une paire d'ions avec la molécule de LAS anionique. Dans le second cas, l'ajout d'un électrolyte fort comme NaClO<sub>4</sub>, permet la rétention du groupement benzène des LAS sur la colonne apolaire.

Tableau 2.3. Méthodes d'analyse des sulfonates d'alkylbenzène linéaires par CLHP (A), CLHP par appariement d'ions (B) et CLHP à phase mobile à force ionique élevée (C). (LD : limite de détection, FL : fluorescence, SM : spectrométrie de masse, A : température ambiante, CTMA : cétyltriméthylammonium, G : gradient, I : isocratique, REA : résine échangeuse d'anions, SPE : extraction en phase solide).

A)

Extraction	Elution	détection	LD	Références
SPE C18	I	UV $\lambda = 215$ nm	0,1 mg.L <sup>-1</sup>	Sarrazin <i>et al.</i> , 1997
		FL $\lambda_{ex} = 232$ nm $\lambda_{em} = 290$ nm	7,69 ng	Wang <i>et al.</i> , 2001
		SM	0,03 à 0,07 mg.L <sup>-1</sup>	Lunaret <i>et al.</i> , 2004

B)

Extraction	Contre-ion	Elution	détection	LD	Références
SPE C18	CTMA	I	UV $\lambda = 230$ nm		Sigoillot et Nguyen, 1987
Chloroforme	BM		FL $\lambda_{ex} = 232$ nm $\lambda_{em} = 290$ nm	1,96 ng	Wang <i>et al.</i> , 2001
Soxhlet/eau/US	CP+	I	FL $\lambda_{ex} = 225$ nm $\lambda_{em} = 295$ nm	4,4 µg.g <sup>-1</sup>	Morales-Muñoz, <i>et al.</i> , 2004
SPE C18			FL $\lambda_{ex} = 232$ nm $\lambda_{em} = 290$ nm	7,69 ng	Wang <i>et al.</i> , 2001

C)

Extraction	Electrolyte	Elution	détection	LD	Références
	NaClO <sub>4</sub>	G	SM	300 pmol.g <sup>-1</sup>	Tolls <i>et al.</i> , 2003
Coacervation Milieu acide	NaClO <sub>4</sub>	G	FL $\lambda_{ex} = 225$ nm $\lambda_{em} = 295$ nm		Ruiz <i>et al.</i> , 2004
SPE C18				10 µg.L <sup>-1</sup> (eau) 100 µg.L <sup>-1</sup> (boues)	De Henau <i>et al.</i> , 1989
REA + SPE C8	NaClO <sub>4</sub>	G	UV $\lambda = 250$ nm		Matthijs et De Henau, 1987
aucune	NaClO <sub>4</sub>	I	UV $\lambda = 225$ nm		Nakae <i>et al.</i> , 1981

#### 2.5.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).

L'analyse des LAS par CPG nécessite aussi une phase de préconcentration/extraction. Les techniques les plus performantes sont l'extraction liquide sous pression (Ding et Fann, 2000) et l'extraction en phase solide (Trehy *et al.*, 1996; Alzaga *et al.*, 2003) car elles peuvent être couplées directement au procédé chromatographique. D'autres techniques ont été utilisées, comme l'extraction par le chloroforme (McEvoy et Giger, 1986) ou sur charbon actif (Ding et Chen, 1999).

Les LAS ne peuvent pas être injectés directement dans la colonne car ils ne sont pas assez volatiles, mais doivent être dérivés au préalable, sous forme de chlorure de sulfonyles (McEvoy et Giger, 1986) ou de butylsulfonates (Ding et Chen, 1999; Ding et Fann, 2000; Alzaga *et al.*, 2003) ou de trifluorosulfonates (Trehy *et al.*, 1996) (Tableau 2.4).

Tableau 2.4. Méthodes d'analyse des sulfonates d'alkylbenzène linéaires par CPG. ( $\emptyset$  : symbole du cycle benzène ; BM : bleu de méthylène ; LD : limite de détection ; PLE : extraction en phase liquide sous pression ; SM : spectrométrie de masse ; SPE : extraction en phase solide ; SPME : micro-extraction en phase solide).

Extraction	dérivés	détection	LD	Références
BM-chloroforme	R- $\emptyset$ -SO <sub>2</sub> Cl	FID SM		McEvoy et Giger, 1986
SPE C8	R- $\emptyset$ -SO <sub>3</sub> CF <sub>3</sub>	SM	20 µg.L <sup>-1</sup> 1 µg.g <sup>-1</sup>	Trehy <i>et al.</i> , 1996
Charbon actif	R- $\emptyset$ -SO <sub>3</sub> C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	SM	0,1 µg.L <sup>-1</sup>	Ding et Chen, 1999
PLE	R- $\emptyset$ -SO <sub>3</sub> C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	SM	0,05 µg.g <sup>-1</sup>	Ding et Fann, 2000
SPME	R- $\emptyset$ -SO <sub>3</sub> C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	SM	0,16 à 0,8 µg. L <sup>-1</sup>	Alzaga <i>et al.</i> , 2003

#### 2.5.5. Spectrométrie de masse (SM).

La spectrométrie de masse est une méthode d'analyse plutôt dédiée à l'identification qu'à la quantification des LAS. Elle est généralement couplée aux méthodes quantitatives.

La séparation des homologues est généralement possible par CLHP (Matthijs et de Henau, 1987) ou par CPG (Trehy *et al.*, 1996), avec une meilleure résolution pour la CPG. En pratique, la CLHP est généralement préférée pour les échantillons aqueux et la CPG pour les échantillons solides. Cependant, quelle que soit la technique chromatographique employée, la séparation des différents isomères pour chaque homologue n'est pas toujours obtenue, en particulier sur les colonnes C8 et pour les isomères internes qui sont co-élués s'ils ont la même masse molaire.

La SM couplée à la CPG permet de séparer avec une bonne résolution les isomères pour chacun des homologues (Ding et Fann, 2000). L'inconvénient majeur de la CPG, la dérivation, peut être évité en couplant la SM à la CLHP (Tolls *et al.*, 2003; Lunar *et al.*, 2004).



---

### **3. LES AGRÉGATS MICROBIENS ( BOUES ACTIVÉES)**

---



### 3.1. LES TRAITEMENTS D'EPURATION BIOLOGIQUE.

#### 3.1.1. Traitements à boues activées.

Le procédé d'épuration à boues activées est l'un des procédés d'épuration biologique le plus fréquemment utilisé pour éliminer la pollution organique des eaux usées urbaines (Fig. 3.1). Les micro-organismes naturellement présents dans les eaux usées sont maintenus dans des bassins aérés et brassés. Le procédé d'épuration est basé sur la croissance de la biomasse bactérienne à partir de la matière organique apportée par les eaux usées. Dans ces conditions, les micro-organismes se développent sous forme d'agrégats, appelés flocs de boues activées (Fig. 3.2). L'intérêt de la formation de ces agrégats pour l'exploitant de la station d'épuration est de permettre leur séparation de l'eau épurée simplement par décantation dans un clarificateur. Une fraction de la biomasse est régulièrement soutirée et subit un traitement secondaire (digestion aérobie ou anaérobiose, déshydratation) avant d'être utilisée pour l'amendement des sols agricoles. Dans certaines stations d'épuration, une décantation primaire a lieu en tête de traitement, donnant lieu à un soutirage de boues primaires.

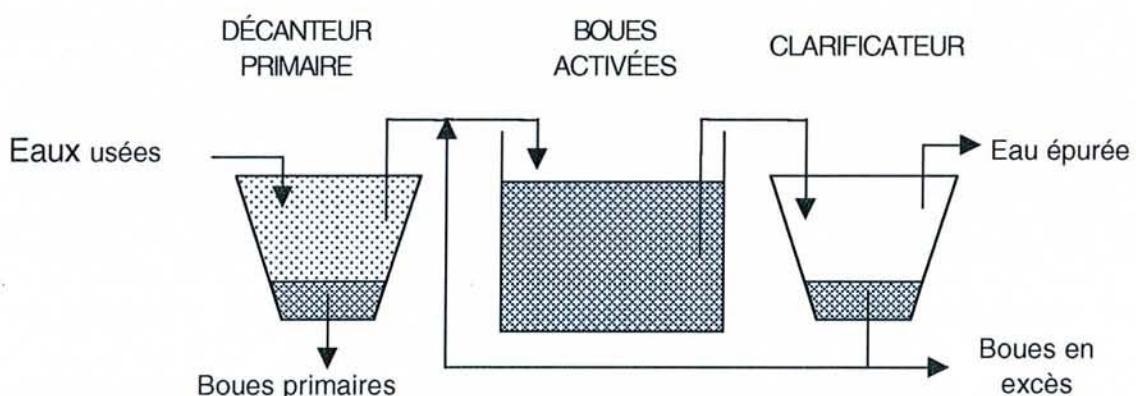


Figure 3.1. Schéma du traitement des eaux usées par le procédé à boues activées, montrant les trois principales étapes de l'épuration des eaux usées urbaines: la décantation primaire, l'adsorption et la biodégradation de la matière organique par les agrégats bactériens et la séparation des boues de l'eau épurée par clarification.



Figure 3.2. Observation microscopique de flocs de boue activées (B), montrant un protozoaire (P) du genre *Vorticella* et des bactéries filamenteuses (f) (photographie réalisée par F. Jorand).

### 3.1.2. Autres traitements d'épuration biologiques.

D'autres traitements que les boues activées sont parfois rencontrés, comme les lits bactériens et les disques biologiques. Les lits bactériens sont constitués d'un lit de pierre ou de sable sur lequel est fixé la biomasse bactérienne. Les eaux usées sont déversées sur ce lit et s'écoulent lentement. Les disques biologiques sont des systèmes tournant à biomasse fixée, qui permettent de submerger la biomasse dans la solution à traiter, puis de l'exposer à l'air pour permettre l'oxydation des substrats par les micro-organismes.

## 3.2. ORGANISATION ET COMPOSITION DES AGRÉGATS BACTÉRIENS

### 3.2.1 Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des flocs de boues activées.

Les flocs de boues activées sont composés d'une communauté microbienne complexe, piégée dans une matrice de polymères extracellulaires, qui assure la cohésion des agrégats. Les bactéries hétérotrophes sont les micro-organismes qui dominent en nombre et en masse et sont les principaux acteurs de la biodégradation. Des bactéries filamenteuses (Ericksson *et al.*, 1992), des algues, des protozoaires (Gschlößl *et al.*, 1997) et des métazoaires sont aussi étroitement associés aux flocs de boues activées. Des polymères organiques (Liss *et al.*, 1996) et des particules minérales comme l'argile (Droppo *et al.*, 1997) sont systématiquement observés au sein des flocs de boues activées. L'eau est aussi un constituant essentiel des flocs (90 à 95%) en raison de leur degré de porosité important.

Le contour des flocs est très irrégulier et l'observation en microscopie optique permet de mettre en évidence de nombreux pores. Le degré de porosité augmente avec la taille du floc

(Droppo *et al.*, 1997). La distribution de taille des flocs est très large, allant de quelques micromètres à plusieurs millimètres de diamètre. L'analyse granulométrique par diffraction laser montre que les agrégats de 68 à 183 µm de diamètre occupent 44% du volume des boues activées brutes (Jorand *et al.*, 1995). Les flocs de petite taille sont majoritaires en nombre, mais la majeure partie du volume total est occupée par des flocs de grande taille (Li et Ganczarczyk, 1991; Jorand *et al.*, 1995; Droppo *et al.*, 1996; Droppo *et al.*, 1997). La distribution de taille des flocs résulte des phénomènes dynamiques d'agrégation et de désagrégation des particules ou parties entre elles. Le modèle d'agrégat proposé par Jorand *et al.* (1995) est basé en partie sur l'observation de ces phénomènes, à savoir que les agrégats sont composés de macroflocs (125 µm de diamètre en moyenne) qui peuvent se dissocier en microflocs (13 µm) plus cohésifs et en particules assimilées à des microcolonies bactériennes (2,5 µm).

L'organisation des agrégats apparaît relativement variable dans l'espace et dans le temps (Droppo *et al.*, 1997). La morphologie des agrégats est influencée par les conditions du milieu comme la charge organique et le temps de séjour des boues (Eriksson *et al.*, 1992). Ainsi, des structures lâches et en forme de chaîne sont préférentiellement observées lorsque le temps de séjour des boues dans la station d'épuration est court, en opposition à des structures agrégées plus compactes et plus denses, observées lorsque l'âge des boues est élevé (Fig. 3.3.).

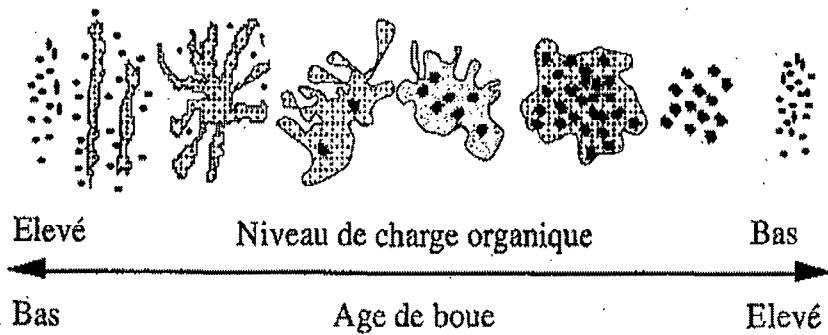


Figure 3.3. Représentation schématique de la morphologie générale des flocs de boues activées en fonction de l'âge des boues (temps de séjour) et de la charge organique des eaux usées (Eriksson *et al.*, 1992).

Les changements morphologiques des flocs en fonction de l'âge des boues pourraient s'expliquer par des forces d'interactions différentes entre les particules. Ainsi, la faible cohésion des agrégats a été corrélée à la prédominance d'interactions de type ionique lorsque le temps de séjour est court (4 à 9 jours), alors qu'ils sont plus cohésifs lorsque le temps de séjour est long (16 à 20 jours) probablement en relation avec un caractère

hydrophobe et un enchevêtrement des particules plus marqués (Liao *et al.*, 2002). La taille et la morphologie des agrégats influencent nettement l'efficacité de décantation de la biomasse (Schmid *et al.*, 2003; Toh *et al.*, 2003). En clair, la composition des flocs de boues activées dépend du lieu et de la date de prélèvement (Urbain *et al.*, 1993b), et en particulier de la composition des eaux usées. Par exemple, l'augmentation du ratio N/C du substrat conduit à une augmentation de la population bactérienne nitrifiante (Liu *et al.*, 2003).

### **3.2.2. Populations bactériennes des flocs de boues activées.**

Les populations microbiennes agrégées forment des communautés très complexes. Il est classiquement reconnu que seulement 1 à 10 % des bactéries des boues activées poussent sur milieu nutritif gélosé, ce qui rend difficile l'identification et la quantification des espèces présentes par les méthodes traditionnelles d'analyse bactériologique (Amann *et al.*, 1998). Ainsi, les bactéries de genres appartenant au sous-groupe des  $\gamma$ -*Proteobacteria*, comme *Aeromonas* spp. et *Acinetobacter* spp., majoritairement isolées au sein des boues activées (plus de 50 % des genres isolés sur R2A-Agar) représenteraient en réalité une très faible proportion de la communauté bactérienne totale (Kämpfer *et al.*, 1996). De la même manière, *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, ont longtemps été considérées comme les espèces représentatives des bactéries nitrifiantes des système d'épuration mais des résultats récents ont montré que *Nitrosococcus mobilis* et *Nitrospira* sp. sont les espèces dominantes à forte concentration en ammonium (Juretschko *et al.*, 1998) et *Nitrosospira* sp. et *Nitrospira* sp. sont les espèces dominantes à faible concentration en ammonium (Schramm *et al.*, 1998).

Les techniques d'analyse moléculaire récemment développées sont essentielles pour appréhender la diversité, la dynamique et les activités spécifiques des différentes populations microbiennes qui composent l'écosystème (Kämpfer *et al.*, 1996; Mobarry *et al.*, 1996; Wagner *et al.*, 1996; Amann *et al.*, 1998; Juretschko *et al.*, 1998; Schramm *et al.*, 1998; Boon *et al.*, 2002; Dabert *et al.*, 2002; Yuan et Blackall, 2002; Eschenhagen *et al.*, 2003; Jeon *et al.*, 2003). Deux approches différentes sont utilisées. Elles sont basées essentiellement sur la détection des molécules d'ARN ribosomal bactérien (ARNr 16 S) ou sur l'analyse des gènes codants l'ARN ribosomal bactérien (ADNr). La première approche est un marquage de l'ARNr 16S, par des sondes oligonucléotidiques fluorescentes spécifiques, soit *in situ* (FISH) (Kämpfer *et al.*, 1996; Mobarry *et al.*, 1996; Wagner *et al.*, 1996; Eschenhagen *et al.*, 2003), soit après extraction des acides nucléiques (dot-blot) (Jeon *et al.*, 2003). Ce marquage cible généralement un groupe bactérien mais le développement de sondes spécifiques d'un genre bactérien contribue nettement à la compréhension de l'organisation des différentes populations (Mobarry *et al.*, 1996; Juretschko *et al.*, 1998; Schramm *et al.*, 1998). La seconde approche repose sur l'extraction des acides nucléiques, l'amplification des

séquences d'ADNr par PCR, puis leur séparation. La séparation des acides nucléiques est basée sur la stabilité de l'ADN double-brin dans un gradient dénaturant chimique (DGGE) (Boon *et al.*, 2002) ou thermique (TGGE), sur la taille des fragments de restrictions (T-RLFP) (Eschenhagen *et al.*, 2003) ou sur la structure secondaire de l'ADN simple-brin. Cette seconde approche permet éventuellement l'identification des micro-organismes par comparaison des séquences obtenues avec une base de données (Eschenhagen *et al.*, 2003; Jeon *et al.*, 2003).

Les résultats de l'approche par sondes moléculaires (FISH) montrent une légère prédominance dans les boues de bactéries appartenant au groupe des  $\beta$ -*Proteobacteria* (20 à 33 % des bactéries dénombrées en épifluorescence après marquage au DAPI), par rapport au groupe des  $\alpha$ -*Proteobacteria* (15 %), au groupe des bactéries à Gram positif et faible contenu en bases G+C (15 %), au groupe *Cytophaga-Flavobacteria* (15 %) et au groupe des  $\gamma$ -*Proteobacteria* (moins de 10 %) (Kämpfer *et al.*, 1996; Eschenhagen *et al.*, 2003). Les résultats de l'approche par analyse des séquences d'ADNr montrent une prédominance des bactéries du groupe des  $\alpha$ -*Proteobacteria* (22 à 30 %) et des bactéries à réaction de Gram positive (23 à 31 %), avec seulement 8 % de bactéries appartenant au groupe des  $\beta$ -*Proteobacteria* (Eschenhagen *et al.*, 2003). Ces résultats suggèrent que les connaissances actuelles sur la communauté bactérienne des boues activées sont encore loin de la réalité et que la combinaison des différentes techniques moléculaires est essentielle pour appréhender la diversité des populations bactériennes présentes. De plus, l'efficacité de biodégradation ne repose certainement pas sur la dominance de quelques espèces bactériennes mais sur la coopération de la multitude de populations. C'est pourquoi l'étude des activités spécifiques des populations bactériennes présentes est certainement plus intéressante que de détecter simplement la dominance d'un groupe bactérien au sein des boues.

Il est en effet possible d'attribuer une activité métabolique *in situ* à une population bactérienne grâce à l'utilisation simultanée des techniques de détection et des techniques permettant la caractérisation de l'activité métabolique, comme la micro-autoradiographie qui a permis d'étudier l'assimilation de substrats radioactifs par une bactérie filamenteuse sous différentes conditions (Nielsen *et al.*, 1999). La combinaison de la détection *in situ* (FISH) avec des techniques dynamiques comme la microscopie à balayage laser et des micro-électrodes a révélé une image précise de la dynamique des populations nitrifiantes d'un biofilm, avec la présence de bactéries oxydant l'ammonium (*Nitrosomonas*) plutôt à l'extérieur du biofilm et la présence de bactéries oxydant les nitrites (*Nitrobacter*) à l'intérieur du biofilm (Schramm *et al.*, 1996).

### 3.3. LES POLYMIÈRES EXTRACELLULAIRES DES FLOCS DE BOUES ACTIVÉES.

#### 3.3.1. Caractérisation de la matrice de polymères extracellulaires.

Les bactéries des agrégats bactériens sont piégées dans une matrice de polymères extracellulaires qui assure la cohésion des agrégats. D'une manière générale, l'ensemble de ces macromolécules extracellulaires est désigné par le terme EPS, c'est-à-dire substances polymériques extracellulaires. L'observation des agrégats en microscopie électronique montre un aspect hétérogène correspondant à des polymères plus ou moins denses autour des bactéries (Fig. 3.4).



Figure 3.4. Photographie d'une coupe ultrafine de floc de boues activées observé en microscopie électronique après marquage des polysaccharides (Bleich et Nehrkorn, 1989) montrant des bactéries ① entourées de zones d'aspects différents correspondant à des polymères plus ou moins denses ② et ③ ou des lysats cellulaires ④. Barre = 0,5 µm.

La microscopie confocale à balayage laser permet l'observation dynamique de la structure en trois dimensions des biofilms et des agrégats bactériens sous leur forme hydratée et l'étude de la composition des polymères extracellulaires, en particulier par le marquage des polysaccharides à l'aide de sondes fluorescentes de nature lectinique (Lawrence *et al.*, 1998; Wolfaardt *et al.*, 1998; Neu et Lawrence, 1999; Johnsen *et al.*, 2000). Toutefois la spécificité des lectines vis-à-vis des polysaccharides extracellulaires est encore difficilement assurée dans le milieu complexe que sont les cultures mixtes (Johnsen *et al.*, 2000).

La matrice extracellulaire des agrégats bactériens est composée de divers polymères organiques, comme des protéines, des polysaccharides, des acides nucléiques, des lipides et des substances humiques (Jorand *et al.*, 1995; Frølund *et al.*, 1996; Bura *et al.*, 1998; Liu et Fang, 2002; Conrad *et al.*, 2003). Une partie des protéines possède une activité hydrolytique (enzymes extracellulaires). Les polysaccharides sont composés d'oses neutres et d'acides uroniques. L'analyse des lipides montre des glycolipides (61 %), des phospholipides (21 %),

des lipides neutres (16 %) et des lipopolysaccharides (2 %), composés essentiellement d'acides gras de 16 et 18 carbones (Conrad *et al.*, 2003). La plupart de ces composés seraient associés sous forme d'hétéropolymères comme des glycolipides résultant de l'association d'oligosaccharides et d'acides gras et des glycoprotéines résultant de l'association de protéines et d'oligosaccharides. De plus, des composés inorganiques et des ions divalents sont systématiquement mis en évidence. L'hétérogénéité de la composition de cette matrice s'explique par les origines multiples des molécules qui la composent, à savoir le métabolisme bactérien, la lyse cellulaire et l'adsorption de composés issus des eaux usées.

La composition de la matrice de polymères extracellulaires des boues activées varie considérablement en fonction de l'origine de l'échantillon (Urbain *et al.*, 1993a; Bura *et al.*, 1998; Sponza, 2002, 2003) et en particulier en fonction de la composition des eaux usées. En effet, la prédominance des protéines dans les EPS a été mise en évidence lorsque le ratio C/N des eaux usées est faible (5 à 20), alors que la prédominance des polysaccharides a été observée pour une déficience en azote (ratio C/N de 40 à 100) (Bura *et al.*, 1998; Durmaz et Sanin, 2001). Ainsi, l'analyse des EPS extraits de cultures mixtes comme les boues activées (Urbain *et al.*, 1993a; Frølund *et al.*, 1996; Bura *et al.*, 1998; Jorand *et al.*, 1998; Sponza, 2002, 2003; Wilen *et al.*, 2003), les biofilms en eaux usées (Jahn et Nielsen, 1995), ou les boues méthanogènes (Grotenhuis *et al.*, 1991) montre systématiquement une quantité de protéines supérieure à la quantité de polysaccharides (de 3 à 6 fois en moyenne) en relation avec la concentration limitante en carbone généralement observée dans ces systèmes.

### **3.3.2 Fonctions des polymères extracellulaires (EPS).**

Les polymères extracellulaires sont les éléments clefs responsables de l'adhésion des bactéries aux surfaces solides, de la stabilité des biofilms et de la cohésion des agrégats bactériens (Tay *et al.*, 2001; Tsuneda *et al.*, 2003). Les polysaccharides produits par de nombreuses bactéries agissent comme des bioflocculants (Deng *et al.*, 2003). Si les bactéries expriment à la surface de leur membrane externe des fonctions chimiques qui leur permettent d'adhérer entre elles ou sur des surfaces par le biais d'interactions électrostatiques, seule la production de polymères extracellulaires permettrait une adhésion irréversible (Azeredo *et al.*, 1999). Ainsi, des *E. coli* K12 acquièrent la capacité à coloniser des surfaces inertes grâce à la synthèse de structures fibrillaires d'adhérence de type pili, les curli (Vidal *et al.*, 1998). Les *E. coli* K12, incapables de produire des EPS, peuvent adhérer sur une surface mais ne peuvent pas se développer sous forme de biofilm comme le font les micro-organismes non déficients en EPS (Danese *et al.*, 2000). Les EPS participent à l'agrégation de bactéries appartenant à une même espèce et de bactéries appartenant à des

espèces différentes, formant alors de véritables consortiums, voire l'agrégation de micro-organismes producteurs d'EPS avec des bactéries incapables de produire des EPS (Allison *et al.*, 2000).

La cohésion des agrégats bactériens est assurée par les nombreuses interactions qui ont lieu entre les bactéries, entre les polymères et les bactéries et entre les polymères. C'est la multiplicité de ces interactions qui crée la force de cohésion de la matrice. La plupart des molécules présentes portent des fonctions chargées négativement à pH 7, par exemple, des fonctions carboxyles qui sont portées par les protéines et les polysaccharides, et des groupements phosphates, portés par les acides nucléiques. Les polysaccharides, du fait de leur nature fibreuse, forment ainsi un maillage dense (Fig. 3.5.) voire un gel par rétention d'eau (Hart *et al.*, 1999) et de calcium (Gregor *et al.*, 1996). Les forces de cohésion qui existent entre ces macromolécules poly-anioniques sont principalement des interactions physico-chimiques de faible énergie, comme les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogènes et les forces de dispersion de London (Flemming *et al.*, 2000; Chen et Steward, 2002). De plus, le rôle des ions multivalents a été clairement démontré dans le mécanisme de flocculation : ils forment des ponts entre les différentes macromolécules portant des charges négatives. En effet, le piégeage du calcium (Bruus *et al.*, 1992; Keiding et Nielsen, 1997; Sanin et Vesilind, 2000) et du fer (Novak *et al.*, 2001) entraîne rapidement la déflocculation des agrégats et une désorption de matière.

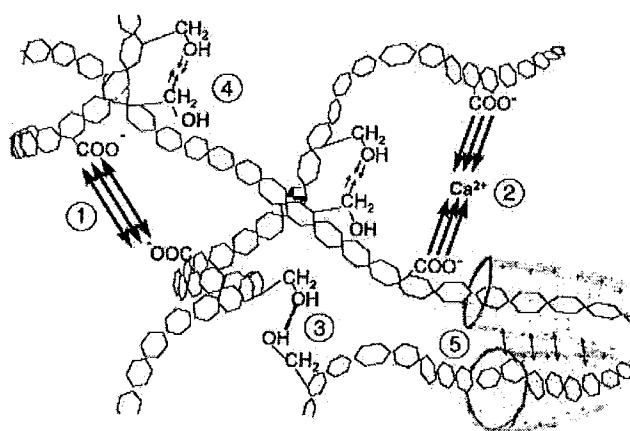


Figure 3.5. Schéma des interactions entre les polysaccharides qui composent les EPS : ① répulsion entre deux groupes carboxyles ; ② attraction entre deux groupes carboxyles par le biais d'un cation divalent ; ③ liaison hydrogène ; ④ interaction électrostatique ; ⑤ forces de dispersion (Flemming *et al.*, 2000).

Cependant, la théorie DLVO, qui prend en compte les interactions électrostatiques à faible distance, ne suffit pas à interpréter les mécanismes de flocculation irréversibles et les interactions hydrophobes doivent être prises en compte (Azeredo *et al.*, 1999).

Expérimentalement, deux types de polymères ont été mis en évidence, des composés chargés, participant aux interactions électrostatiques, et des composés qui ne sont pas ou faiblement chargés (Eriksson *et al.*, 1992), qui participeraient aux interactions hydrophobes. Le caractère hydrophobe des agrégats, mis en évidence par un test d'agrégation au sulfate d'ammonium, a été corrélé avec la capacité des flocs à décanter (Urbain *et al.*, 1993a). Il semble que le rôle des protéines dans ce type d'interaction soit essentiel. En effet, l'efficacité de la décantation est corrélée positivement à la concentration en protéines totales des boues et des EPS (Wilen *et al.*, 2003). 12 % des protéines des EPS extraits font partie des molécules qualifiées d'hydrophobes par analyse chromatographique d'interaction hydrophobe (Jorand *et al.*, 1998). De plus, la modification de la fluorescence d'un composé hydrophobe (pyrène) lorsqu'il est adsorbé dans des agrégats bactériens, issus de boues activées ou de sols, a démontré la présence de zones plus apolaires au sein des agrégats (Ganaye *et al.*, 1997). La présence de zones fortement hydrophobes a été confirmée par une mise en évidence directe, avec l'adsorption de bactéries fluorescentes fortement hydrophobes au sein des flocs de boues activées (Zita et Hermansson, 1997b, a; Olofsson *et al.*, 1998), et l'adsorption d'un polluant organique fluorescent (diclofop) dans un biofilm bactérien (Wolfaardt *et al.*, 1998).

Par ailleurs, d'autres interactions plus spécifiques contribueraient à la flocculation bactérienne, en particulier par l'intermédiaire de certaines protéines, les lectines, capables de former des liaisons spécifiques avec les sucres portés par l'enveloppe bactérienne. Ainsi, l'addition de sucres simples a montré un effet réversible sur l'agrégation de certaines bactéries aquatiques, suggérant le rôle de ces lectines dans la formation des agrégats bactériens (Buswell *et al.*, 1997; Rickard *et al.*, 2000). De la même manière, l'addition de sucres simples a provoqué la déflocculation des flocs de boues activées et une protéine dont la séquence en acides aminés serait comparable à celle d'une lectine a été mise en évidence au sein des EPS (Higgins et Novak, 1997).

Les capacités d'adhésion et d'accumulation des EPS des micro-organismes conditionnent parfois leur aptitude à biodégrader certains composés aromatiques hydrophobes. C'est le cas des *Mycobacterium* spp., qui adhèrent à ces substrats particulaires peu solubles par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes avec l'acide mycolique qu'elles expriment à leur surface (Wick *et al.*, 2002). La production d'EPS permet aussi la solubilisation de ces composés aromatiques hydrophobes. Ainsi la production de certaines macromolécules spécifiques (gluco-sphingolipides), jouant le rôle de bio-surfactants, augmente considérablement la solubilité des substrats hydrophobes et par conséquent leur biodégradabilité. Cette propriété a été observée chez *Sphingomonas* (Johnsen et Karlson, 2003), chez *Rhodococcus rodochrous* S-2 (Iwabuchi *et al.*, 2002) et dans un biofilm mixte (Wolfaardt *et al.*, 1994; Woolfaardt *et al.*, 1995).

Les EPS assurent d'une manière générale la rétention de nombreuses molécules, substrats ou produits d'hydrolyse, à proximité des bactéries agrégées. Certains polysaccharides extracellulaires assurent la rétention d'une importante quantité d'eau (Hart *et al.*, 1999) et par conséquent une protection contre la dessiccation. La production de polysaccharides extracellulaires est parfois stimulée par des conditions de dessiccation chez *Pseudomonas* sp. isolée d'un sol (Roberson et Firestone, 1992). Les polysaccharides sont aussi responsables du piégeage des ions, comme le calcium et le magnésium. Ainsi, les EPS augmenteraient la biodisponibilité des minéraux et des ions métalliques, comme le fer. Ils piègent aussi des polluants, comme des pesticides ou des détergents, et des métaux lourds, par interaction avec les fonctions carboxyliques des polysaccharides en particulier.

L'activité hydrolytique des bactéries qui adhèrent sur des particules en suspension est nettement supérieure à celle des bactéries planctoniques. En effet, les polymères extracellulaires concentrent à proximité des cellules des enzymes hydrolytiques extracellulaires. Les activités enzymatiques extracellulaires des agrégats bactériens seraient stabilisées par la présence du gel hydraté et des ions nécessaires à leur fonctionnement. A titre d'exemple, la production de lipase extracellulaire par *Pseudomonas aeruginosa* est significativement stimulée par la présence d'alginate qu'il soit produit par la cellule ou apporté de manière exogène (Wingender et Winkler, 1984; Wicker-Böckelmann *et al.*, 1987; Wingender *et al.*, 1987; Wingender, 1990).

En résumé, les EPS constituent un micro-environnement propice à la croissance microbienne, permettant à la fois l'adsorption de composés macromoléculaires au sein des agrégats et la concentration à proximité des cellules d'enzymes extracellulaires hydrolytiques. La présence de domaines hydrophobes au sein des EPS autoriserait la mobilisation de polluants hydrophobes ou amphiphiles comme les surfactants. La mise en commun par les différents micro-organismes des communautés microbiennes agrégées de différentes activités enzymatiques extracellulaires permet une biodégradation plus efficace par un phénomène de coopération enzymatique.

---

#### **4. DEVENIR DES LAS AU COURS DU TRAITEMENT D'EPURATION BIOLOGIQUE.**

---



#### 4.1. OCCURRENCE DES LAS DANS LES EAUX USEES URBAINES.

Après utilisation, les détergents et leurs composants, les LAS, sont transportés d'une manière classique par les voies d'égouts et parviennent dans les stations d'épuration des eaux usées urbaines ou les systèmes d'épuration domestiques (fosses septiques). Dans certains cas, les LAS sont déversés directement dans les milieux environnementaux, en particulier en absence de système de collecte des eaux usées.

D'une manière générale, la concentration en LAS dans les eaux usées urbaines est inférieure à 10 mg.L<sup>-1</sup> (Tableau 4.1).

Tableau 4.1. Concentration en LAS dans les eaux usées urbaines.

[LAS] mg.L <sup>-1</sup> (moyenne)	% associé aux MES <sup>(1)</sup>	Références
15,7	58 %	Prats <i>et al.</i> , 1997
0,54 à 12,4 (4,0)		Matthijs et de Henau, 1987
7		Trehy <i>et al.</i> , 1996
0,285 à 1,041	11 à 59 %	Terzic et Ahel, 1994
8,375 à 4,050 (6,9)		De Ferrer <i>et al.</i> , 1997
4 à 15,1		Waters et Feijtel, 1995
1,8 à 6,1 (4,4 ± 1,5)		McEvoy <i>et al.</i> , 1998
6,8 à 8,4		Matthijs et de Henau, 1987
2,7		Trehy <i>et al.</i> , 1996
5,2		Trehy <i>et al.</i> , 1996
8,5 à 23,4		Djellal <i>et al.</i> , 1997
3,1 à 7,2		Feijtel <i>et al.</i> , 1995
4,89	96 %	Sanchez Leal <i>et al.</i> , 1994
3,42 à 8,4		Di Corcia <i>et al.</i> , 1999
3,32 à 6,08		
3,14 à 7,26		
6,8		Brunner <i>et al.</i> , 1998
13		Ruiz-Bevia <i>et al.</i> , 1989 cité par Mörsche et Meyer, 2002
1,3 à 6,9		Rapaport et Eckhoff, 1990
5,0 ± 1,9		McAvoy <i>et al.</i> , 1993
4,5 ± 2,7		
5,7 ± 0,8		
4,7 ± 2,5		
4,2 ± 1,7		

<sup>(1)</sup> MES : matières en suspension

La concentration en LAS des eaux usées varie très fortement en fonction du lieu et de la date de prélèvement. Comme pour d'autres composés organiques, la teneur en LAS des eaux usées montre des variations journalières, en relation avec l'utilisation des détergents au cours de la journée, avec une concentration maximale observée vers midi, qui est environ 4 fois plus importante que celle observée plus tôt dans la matinée (Takada *et al.*, 1994).

La proportion de LAS retrouvée en association avec les matières en suspension est généralement supérieure à la proportion dissoute (Fauser *et al.*, 2003). Ainsi la proportion de

LAS associée aux matières en suspension (MES) des eaux usées a été estimée selon les échantillons à 11 à 59 % des LAS totaux (Terzic et Ahel, 1994; Prats *et al.*, 1997) et jusqu'à 96 % (Sánchez Leal *et al.*, 1994). Les homologues de LAS sont distribués de manière différente dans la fraction dissoute et dans la fraction particulaire, à savoir que les homologues ayant une longue chaîne alkyle (C12 et C13) sont retrouvés préférentiellement associés aux MES, alors que les homologues ayant une chaîne alkyle courte sont plutôt présents dans la phase dissoute (Prats *et al.*, 1993) (Fig 4.1). Ces observations sont en accord avec les propriétés d'adsorption et de précipitation plus importante pour les LAS ayant une masse molaire élevée.

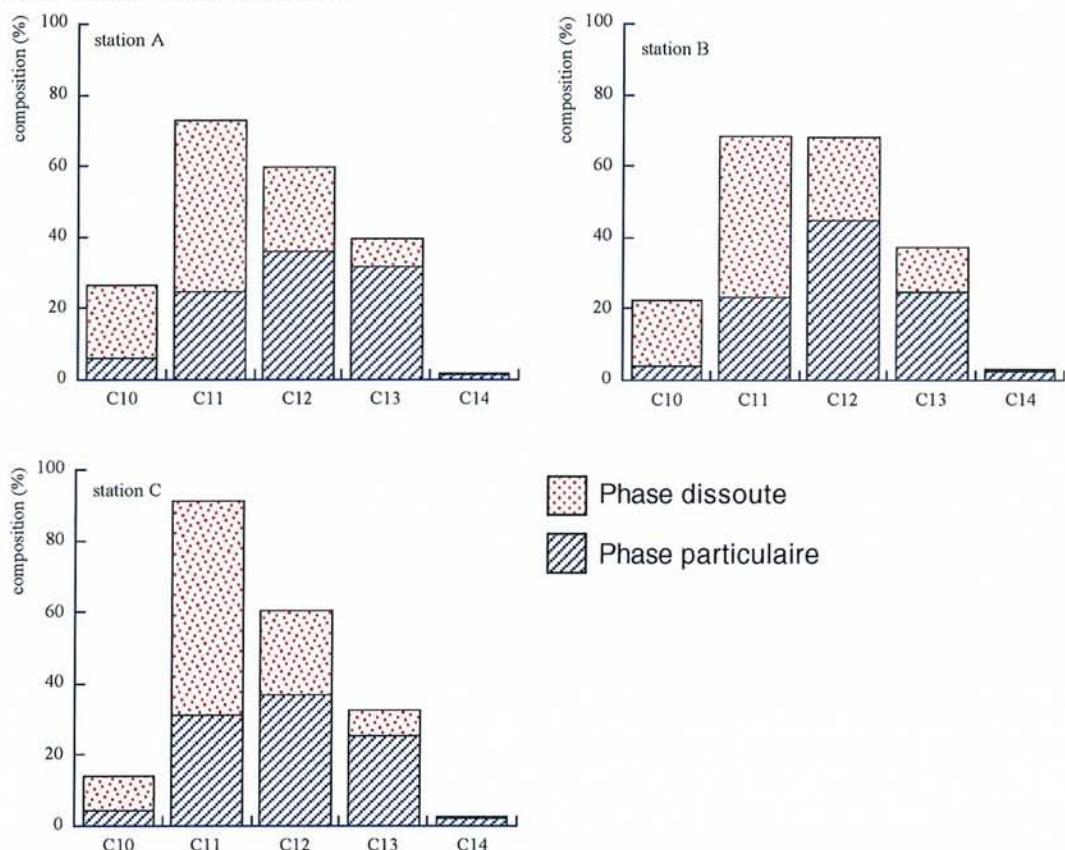


Fig. 4.1. Répartition des différents homologues de LAS dans les phases dissoute et particulaire des eaux usées de trois stations d'épuration différentes (Prats *et al.*, 1993).

La teneur en LAS et le pourcentage des différents homologues présents dans les eaux usées sont aussi dépendants de la nature et de l'activité de la communauté microbienne présente dans le milieu. En effet, la biodégradation des LAS est initiée dans les eaux usées (Sánchez Leal *et al.*, 1994) et peut atteindre une élimination de 58 % (De Ferrer *et al.*, 1997).

## 4.2. BILAN DES TRAITEMENTS D'EPURATION.

### 4.2.1. Abattement global

Le taux d'abattement moyen des LAS dans les stations d'épuration biologiques est en moyenne pour tout système confondu supérieur à 75 % et en général supérieur à 98 % pour le système à boues activées (Tableau 4.2). Cette élimination inclut principalement la biodégradation, mais aussi l'adsorption , ainsi qu'une faible volatilisation (Struijs *et al.*, 1991; Temmink *et al.*, 2004).

Tableau 4.2. Abattement des LAS par les traitements d'épuration biologiques.

Procédé	Abattement moyen (%)	Références
Décantation primaire	0 à 54 (27 ± 19)	Rapaport et Eckhoff, 1990
	37	Prats <i>et al.</i> , 1997
	17 à 21	Matthijs et de Henau, 1987
	-145* à 38 ± 9	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
	14 à 38	Waters et Feijtel, 1995
Boues activées	97,2 à 97,8	Matthijs et de Henau, 1987
	> 96	Field <i>et al.</i> , 1992
	99,5	Trehy <i>et al.</i> , 1996
	99,3 ± 0,61	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
	99,9 ± 0,1	McEvoy <i>et al.</i> , 1998
	84,7 à 91,2	Djellal <i>et al.</i> , 1997
	93 * à 99,8	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
	> 98,5	Sanchez Leal <i>et al.</i> , 1994
	98,6 ± 0,6	Di Corcia <i>et al.</i> , 1999
	65,4** à 99,8	Brunner <i>et al.</i> , 1988
	> 99 %	Temminck <i>et al.</i> , 2004
	90 à 100 (98 ± 2)	Rapaport et Eckhoff, 1990
Lit bactérien	98,5 à 99,9 (99,2)	Waters et Feijtel, 1995
	82,3 ± 9,5	McEvoy <i>et al.</i> , 1998
	77,4 ± 15,5	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
	48 à 93 (80 ± 13)	Rapaport et Eckhoff, 1990
Lagune	82,9	Trehy <i>et al.</i> , 1996
Fossé d'oxydation	98,5 ± 1,81	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Disques biologiques	98,0 ± 4,24	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
	96,2 ± 6,10	McAvoy <i>et al.</i> , 1993

\* événement pluvieux

\*\* station en surcapacité

Les systèmes d'épuration à boues activées sont les plus efficaces pour éliminer les LAS (98,5 % d'élimination en moyenne). Les LAS seraient même éliminés plus efficacement que les composés biodégradables, mesurés dans leur totalité en termes de demande biologique en oxygène (BOD) (Rapaport et Eckhoff, 1990; McAvoy *et al.*, 1993; Waters et Feijtel, 1995;

Prats *et al.*, 1997). Dans certains cas, des taux d'abattement beaucoup plus faibles, ne dépassant pas 65 % d'élimination, ont été observés pour les traitements à boues activées (Brunner *et al.*, 1988). Ces résultats s'expliqueraient du fait du dysfonctionnement des stations d'épurations étudiées, en particulier du fait que ces stations fonctionnaient en surcharge. Un abattement nul, voire négatif, a parfois été observé lors d'un événement pluvieux (Feijtel *et al.*, 1995). L'augmentation des LAS entre la sortie et l'entrée du traitement s'expliquerait par un temps de résidence trop court du fait du débit accru et une désorption des LAS de la phase particulaire vers la phase aqueuse en raison des modifications ioniques du milieu.

D'autres systèmes, comme les disques biologiques et les lagunes, montrent des taux d'élimination moyen quasiment comparables à ceux des boues activées (McAvoy *et al.*, 1993). Les procédés les moins efficaces sont les lits bactériens avec 80 % d'élimination en moyenne. Le faible temps de rétention hydraulique pourrait expliquer ces faibles rendements.

La biodégradation est le processus principal responsable de l'élimination des LAS dans les stations d'épuration, avec un taux d'élimination moyen de 83 % pour la seule étape de biodégradation par les boues activées (Brunner *et al.*, 1988). L'élimination par adsorption dans les boues est indissociable de la biodégradation et atteint plus de 15 %.

L'adsorption dans les boues du décanteur primaire n'est pas négligeable car elle correspond en moyenne à un taux d'élimination qui peut atteindre 54 % (Matthijs et de Henau, 1987; Rapaport et Eckhoff, 1990; Feijtel *et al.*, 1996; Prats *et al.*, 1997) (Tableau 4.3). Le transfert des LAS dans les boues primaires représente ainsi en moyenne 16 % du flux d'entrée. La biomasse des lits bactériens adsorbe environ 23 mg.g<sup>-1</sup> soit 3 % des LAS appliqués (Kolbener *et al.*, 1995). Une élimination complémentaire de 3 % par infiltration dans les eaux sous-terraines a pu être observée, résultant en une concentration dans l'eau de l'ordre de 10 à 20 µg.L<sup>-1</sup> (Field *et al.*, 1992).

#### **4.2.2. Biodégradation des LAS.**

##### **4.2.2.1 Quantification de la biodégradation des LAS dans l'environnement.**

En termes de biodégradation, deux niveaux peuvent être considérés. La biodégradation primaire ou fonctionnelle constitue une altération de la molécule suffisante pour faire disparaître ses propriétés spécifiques, en particulier la propriété tensio-active. Ainsi, les méthodes d'analyse globale des surfactant anioniques ou les méthodes analytiques ne mettant en évidence que la molécule de LAS initiale déterminent la biodégradation primaire. Ce type d'information n'est évidemment pas suffisant pour étudier le devenir des LAS dans

l'environnement et leur toxicité. La biodégradation totale correspond à la transformation totale de la molécule en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ , appelée aussi minéralisation.

Les LAS sont reconnus facilement biodégradables par les micro-organismes des milieux environnementaux. Les taux de biodégradation primaire rapportés dans la littérature pour des études effectuées en laboratoire sont toujours supérieurs à 90 %. C'est la valeur seuil au-dessous de laquelle les surfactants ne peuvent pas être commercialisés. Cependant, l'extrapolation de ces valeurs au milieu naturel est très discutée car ce type d'étude ne permet pas de prévoir le comportement des LAS dans le milieu naturel, beaucoup plus complexe.

La minéralisation des LAS par les boues a été estimée à seulement 41 à 44 % de la quantité initiale et 24 à 33 % seraient transformés en biomasse (Federle et Itrich, 1997). Seul 1 à 2 % des LAS initiaux sont retrouvés sous leur forme initiale. La majeure partie des LAS non métabolisés est retrouvée sous forme d'intermédiaires de biodégradation (SPC) pour 10 à 15 %.

La minéralisation des LAS en conditions aérobies est de l'ordre de 50 à 80 % dans un sol amendé par des boues de station d'épuration (Gejlsberg *et al.*, 2001; Doi *et al.*, 2002). Les demi-vies des LAS sont généralement beaucoup plus longues dans les phases solides (sols et sédiments) que dans la phase aqueuse (Tableau 4.3). Le temps nécessaire à la minéralisation est d'environ 24 h en moyenne dans les sédiments de rivière (Larson, 1990), avec une demi-vie de 0,23 j. Cela s'explique par plusieurs raisons, en particulier l'activité accrue des micro-organismes phytoplanctoniques et l'élimination concomitante par adsorption et précipitation dans les phases aqueuses. De plus, dans les sols, des zones d'anoxie sont très fréquemment rencontrées et elles limitent nettement la biodégradation (McAvoy *et al.*, 2002). Le lessivage des sols ne semble pas être un facteur participant à l'élimination des LAS.

Tableau 4.3. Demi-vie des LAS dans différents milieux environnementaux.

Milieu		Demi vie	Références
Biofilm rivière polluée		0,4 à 1,6 h	Takada <i>et al.</i> , 1994
Rivière		2,23 h	Fox <i>et al.</i> , 2000
Boues activées	Biodegradation primaire Biodegradation totale	0,96 à 1,10 h 0,50 à 0,53 h	Federle et Itrich, 1997
Eau salée		1,5 j	Sarrazin <i>et al.</i> , 1997a
Sédiment rivière		0,23 j	Larson et Payne, 1981
sol		1-4 j	Elsgaard <i>et al.</i> , 2003
Sol amendé		7 à 22 j	Holt <i>et al.</i> , 1989
Sol amendé		19,3 j	De Ferrer <i>et al.</i> , 1997
Sol sableux	Sol 1 (coordonnées 0; 0) Sol 2 (0; 0) Sol 3 (-0,5; + 6,1)	1,57 ± 0,7 j 0,46 ± 0,16 0,088 ± 0,008	Doi <i>et al.</i> , 2002

#### 4.2.2.2. Influence des conditions environnementales sur la biodégradation.

La biodégradation des LAS dépend en effet des conditions environnementales, comme la nature des communautés microbiennes et leur état d'adaptation ou d'inhibition, la concentration initiale de LAS et la nature des homologues, la présence d'impuretés, la présence d'oxygène et la présence de matières organiques et minérales. Ces différents points sont discutés dans ce paragraphe.

La biodégradation des LAS résulte de l'association de différents micro-organismes (Sigoillot et Nguyen, 1987; Jiménez *et al.*, 1991). Seules quelques souches sont capables de réaliser à la fois l'oxydation de la chaîne alkyle et la désulfonation, comme des souches appartenant aux genres *Alcaligenes* et *Pseudomonas*. Les cyanobactéries, en particulier appartenant au genre *Anabaena*, couramment retrouvées dans les sols et le phytoplancton aquatique ne réalisent que la première étape de  $\omega$ -oxydation (Yan *et al.*, 1998). La biodégradation ultime des LAS résulterait de l'interaction entre micro-organismes hétérotrophes et méthanotrophes (Hrsak, 1996). Ces derniers étant impliqués en particulier dans la réaction de clivage du noyau aromatique.

L'abondance et l'activité microbiennes varient fortement avec les saisons et influencent nettement le taux d'élimination des LAS dans les milieux naturels. À titre d'exemple, les taux d'élimination les plus faibles (1 à 50 %) sont observés en hiver, les plus importants étant observés en été (68 à 100 %), lorsque le biofilm bactérien est plus abondant (Takada *et al.*, 1994). Les micro-organismes des milieux environnementaux sont capables de s'adapter à la biodégradation des LAS après une exposition à ces molécules. En particulier, la capacité à dégrader les LAS semble plus largement distribuée dans les bactéries aquatiques issues d'échantillons prélevés en aval d'un déversement de LAS plutôt qu'en amont (Lee *et al.*, 1995). Ainsi, la minéralisation des LAS est toujours supérieure en aval ( $73,3 \pm 1,4\%$ ) d'un rejet qu'en amont ( $69,6 \pm 2,1\%$ ) (Larson et Payne, 1981).

La biodégradation des composés organiques dépend d'une manière générale de la structure chimique de la molécule. En ce qui concerne les LAS, le groupement hydrophobe détermine la biodégradabilité de la molécule, avec une biodégradation plus rapide lorsque la longueur de la chaîne alkyle augmente (Krueger *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 1998; Perales *et al.*, 1999; Mortensen *et al.*, 2001). De plus, les isomères externes sont dégradés plus rapidement que les isomères internes (2- et 3-phényl) (Terzic et Ahel, 1994; Huang *et al.*, 2004).

Pour un même homologue, la dégradation est plus rapide lorsque la concentration en LAS est faible. À titre d'exemple, la demi-vie des LAS dans les sols est de 12 à 16 fois plus longue selon les homologues considérés pour une concentration initiale de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  que pour une concentration de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  (Moreno *et al.*, 1998). Cependant, pour des

concentrations supérieures à  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ , le ralentissement de la biodégradation observé, résulterait d'un effet bactériostatique de la molécule (Perales *et al.*, 1999).

De plus, la substitution de la chaîne alkyle, et en particulier des carbones terminaux, rend plus difficile la biodégradation des molécules. C'est pourquoi les impuretés issues du procédé de synthèse présentes dans le mélange initial pour environ 5% à 15%, comme les DATS (sulfonates de dialkyltétraline) et les iso-LAS (isomères méthyl-branched), seraient des molécules résistantes à la biodégradation. À titre d'exemple, le taux d'élimination des DATS a été estimé à 95 % par un traitement à boues activées et à 63,2 % par un lit bactérien, comparativement aux LAS ayant un taux d'élimination de 99,5 % et 82,9 % respectivement par les mêmes traitements (Trehy *et al.*, 1996). De la même manière, les intermédiaires de biodégradation des DATS sont moins facilement éliminés que les intermédiaires de biodégradation des LAS, avec un taux d'élimination de 59,1 % par un traitement à boues activées et de 58,7 % par un lit bactérien, comparativement aux intermédiaires des LAS ayant un taux d'élimination de 99,1 % et 97,3 % respectivement par les mêmes traitements. Ainsi, les proportions relatives de ces impuretés augmentent au cours du traitement d'épuration (Di Corcia *et al.*, 1999) (Fig. 4.3)

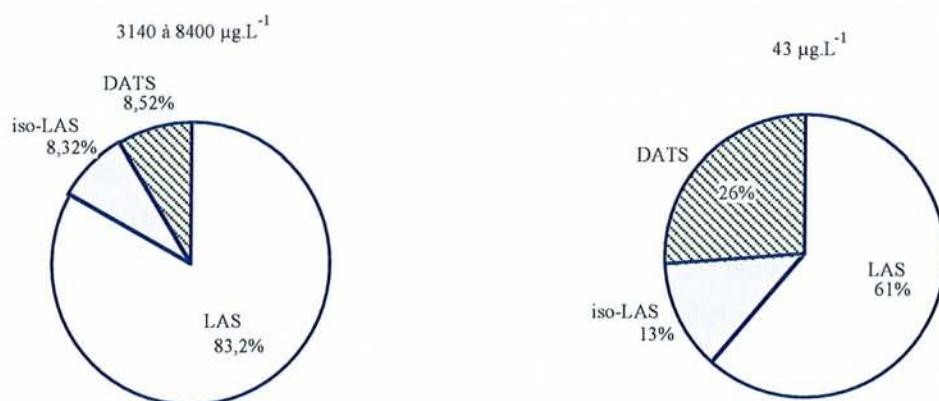


Figure 4.3. Proportion de DATS (sulfonates de dialkyltétraline) et iso-LAS dans les effluents avant et après traitement d'épuration (Di Corcia *et al.*, 1999).

Il a été longtemps reconnu par l'ensemble de la communauté scientifique que la minéralisation microbienne des LAS implique nécessairement la présence d'oxygène, même en présence de bactéries anaérobies exposées aux LAS depuis plus de 25 ans (Federle et Schwab, 1992). Ainsi, dans les sols aquifères, lorsque tout l'oxygène est consommé, la biodégradation s'arrête. Les LAS et leur métabolites s'accumulent (86 % de la masse initiale) dans les sols (Krueger *et al.*, 1998) et les sédiments (Sarrazin *et al.*, 1999a). Toutefois, certains *inocula* bactériens isolés de l'environnement et de boues d'épuration ont montré récemment leur capacité à dégrader les LAS en anaérobiose (Angelidaki *et al.*, 2000). L'utilisation des LAS par ces micro-organismes comme source de carbone (Elsgaard *et al.*,

2003; Sanz *et al.*, 2003) ou de soufre (Denger et Cook, 1999) n'a pas été clairement tranchée. Les deux possibilités ne sont d'ailleurs pas à exclure selon les micro-organismes étudiés. Néanmoins la biodégradation en anaérobiose semble être un processus minoritaire par rapport à la biodégradation aérobie. La biodégradation primaire anaérobiose peut atteindre 64-85 % (Sanz *et al.*, 2003). La biodégradation ultime comptant pour seulement 14 à 25 % (Haggensen *et al.*, 2002) à 37 % en conditions thermophiles (Mogensen *et al.*, 2003).

Ces phénomènes ont pour conséquence un enrichissement du milieu en composés plus solubles mais résistants à la biodégradation. Cela pose un problème de santé publique dans la mesure où certains métabolites, les acides sulfophénylcarboxyliques (SPC), sont retrouvés dans les eaux de potabilisation à des concentrations de 1,8 à 5 µg.L<sup>-1</sup> (Eichhorn *et al.*, 2002a; Eichhorn *et al.*, 2002b). Aucune donnée concernant l'effet toxique des SPC pour l'homme n'est disponible. À titre d'information, l'acide C11-sulfophénylcarboxylique est 10 à 10 000 fois moins毒ique pour les micro-algues marines que sa molécule parente, le C11-LAS (Hampel et Blasco, 2002).

#### 4.2.2.3. Voies métaboliques.

Les voies métaboliques de la biodégradation des LAS par les micro-organismes sont bien décrites dans leur grandes lignes (Fig. 4.4).

La biodégradation débute par l'oxydation du carbone terminal de la chaîne alkyle qui est le plus éloigné du groupement sulfophényle ( $\omega$ -oxydation) (González-Mazo *et al.*, 1997). Le groupement méthyl terminal est ainsi converti en fonction acide carboxylique, conduisant à la formation d'acides sulfophénylcarboxyliques (SPC) (Elsgaard *et al.*, 2003). L'étape suivante consiste à l'élimination de 2 atomes de carbones de la chaîne alkyle par des réactions de  $\beta$ -oxydation successives.

Les principaux SPC obtenus sont les acides p-sulfophénylacétique, p-sulfocinnamique, p-sulfobenzoïque et 4-(p-sulfophényl)butyrique (Sarrazin *et al.*, 1997; Sarrazin *et al.*, 1999b). Ces quatre intermédiaires peuvent représenter 85 % de la quantité initiale. Certains SPC peuvent résulter de l'élimination d'un seul atome de carbone ( $\alpha$ -oxidation), mais ce phénomène est plutôt rarement observé (Leon *et al.*, 2004).

Une fois que la chaîne alkyle est entièrement métabolisée, le cycle benzénique est ouvert et dégradé, le groupement sulfonate étant relargué dans le milieu sous forme de sulfate inorganique.

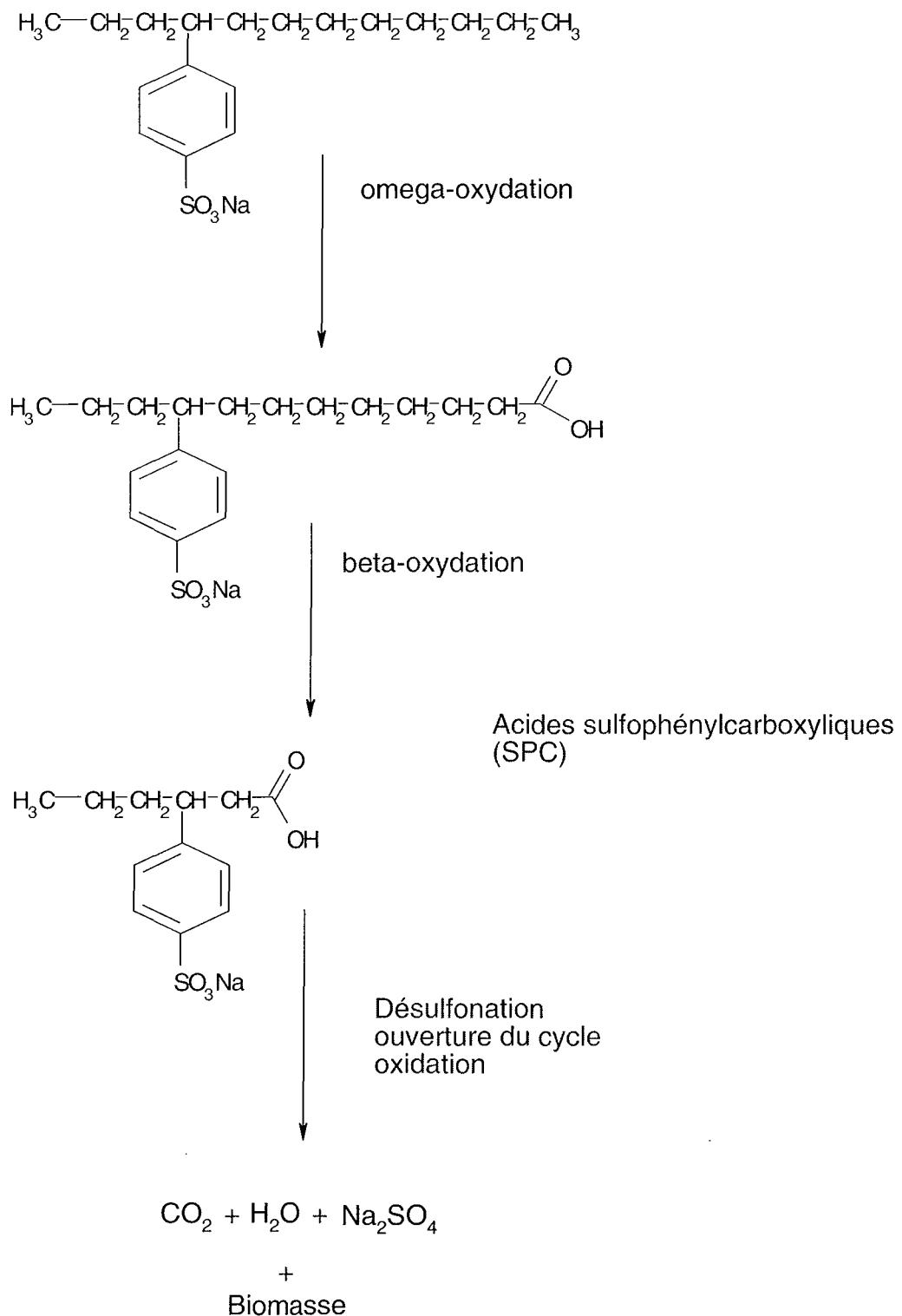


Figure 4.4. Schéma de la voie de biodégradation des LAS par les micro-organismes aérobies (Cavalli *et al.*, 1996; Sarrazin *et al.*, 1997; Sarrazin *et al.*, 1999b; Boudenne *et al.*, 2001).

#### 4.3. OCCURRENCE DES LAS DANS LES EFFLUENTS TRAITÉS.

La concentration en LAS dans les effluents traités est de l'ordre de 0,01 à 1 mg.L<sup>-1</sup> (Tableau 4.4).

Tableau 4.4. Concentration en LAS dans les effluents traités.

Traitement	[LAS] mg.L <sup>-1</sup> (moyenne)	Sortie/entrée (%)	Références
Boues activées	0,27		Field <i>et al.</i> , 1992
	< 0,001	< 0,01	Trehy <i>et al.</i> , 1996
	0,05 à 0,11 (0,07)	1,75	Matthijs et De Henau, 1987
	< LD		McEvoy <i>et al.</i> , 1998
	1,3 à 2,1	10,4	Djellal <i>et al.</i> , 1997
	< 0,0081 à 0,491*	< 0,1 à 9,8% *	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
	15 à 20 % associés aux MES		
	0,12	24,5	Sanchez Leal <i>et al.</i> , 1994
	16 % % associés aux MES		
	0,043	0,9	Di Corcia <i>et al.</i> , 1999
	< LD		Brunner <i>et al.</i> , 1998
	0,005 à 0,010	0,5	Temminck <i>et al.</i> , 2004
	0,04 ± 0,03	0,8	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
	0,01 à 0,13 (0,06 ± 0,04)		Rapaport et Eckhoff, 1990
	0,009 à 0,140		Waters et Feijtel, 1995
Lit bactérien	0,61 à 0,94 (0,76)	10,3	Matthijs and de Henau 1987
	4,2 ± 1,7	24,8	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
	2,3	44,2	Trehy, Gledhill <i>et al.</i> 1996
	0,073 à 1,5 (0,75 ± 0,57)	17,2	McEvoy <i>et al.</i> , 1998
	0,3 à 1,2 (0,6 ± 0,3)		Rapaport et Eckhoff, 1990
	0,06 ± 0,01	13,3	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Lagune	0,12 ± 0,27	2,1	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Fossé d'oxydation	0,19 ± 0,38	4	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Disques biologiques			McAvoy <i>et al.</i> , 1993

\*événement pluvieux

Encore une fois, cette concentration varie nettement en fonction du traitement d'épuration utilisé et elle est généralement plus faible en moyenne en sortie de traitement par boues activées que par lit bactérien. Les LAS sont principalement retrouvés dans la fraction dissoute des effluents plutôt qu'en association aux particules en suspension (Fauser *et al.*, 2003). Cependant, lors de dysfonctionnement du traitement d'épuration, et en particulier lorsque les boues montrent une faible capacité à décanter, une partie des agrégats bactériens s'échappe dans le milieu aquatique récepteur, entraînant les LAS et leurs intermédiaires de biodégradation qui sont accumulés dans les boues. Les LAS ne seraient adsorbés par les agrégats que de manière transitoire et seraient facilement dispersés dans le milieu récepteur (eau, sédiment ou agrégats autochtones). Les études de désorption des

LAS ont montré la réversibilité de l'adsorption, avec une libération rapide de 1,9 à 34,5 % des LAS adsorbés par des boues (Conrad *et al.*, soumis) vers l'eau de rivière. La réversibilité de l'adsorption des LAS a aussi été démontrée pour des sédiments (Matthijs et de Henau, 1985; Hand et Williams, 1987). De plus, une quantité supérieure de LAS est désorbée lors de lavages successifs des sédiments (Matthijs et de Henau, 1985), ce qui laisse supposer une désorption plus importante encore des LAS au cours du transport en rivière. Dans la plupart des cas, les concentrations observées sont inférieures aux concentrations ayant un effet毒ique sur la faune aquatique. Si, en termes de flux, le transfert des LAS dans les effluents traités ne représente en moyenne que 0,7 % du flux d'entrée (Brunner *et al.*, 1988), en terme de masse, les quantités de LAS transférées en sortie de station d'épuration vers le milieu aquatique *via* les effluents traités sont loin d'être négligeables puisqu'elles atteignent plus de 1 kg.j<sup>-1</sup>.

#### 4.4. OCCURRENCE DES LAS DANS LES BOUES DE STATIONS

La teneur en LAS dans les boues est située dans une gamme allant de 0,1 à 10 g.kg<sup>-1</sup> (Tableau 4.5).

Tableau 4.5. Concentration en LAS dans les boues de stations d'épuration.

Echantillon	[LAS] g.kg <sup>-1</sup> (moyenne)	Références
Boues primaires	4,3 à 8,3	Waters et Feijtel, 1995
Boues primaires	7,09	De Henau et Matthijs, 1989
Boues primaires	3,40 à 5,93 (4,3)	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
Boues activées	0,27	De Henau et Matthijs, 1989
Boues activées	0,20 à 1,72*	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
Boues activées	0,13	Brunner <i>et al.</i> , 1988
Boues activées	0,037 à 0,069	Temminck <i>et al.</i> , 2004
Boues activées	8,4 à 14,0 (12,6)	Prats <i>et al.</i> , 1993
Boues activées	0,21 à 0,4	Waters et Feijtel, 1995
Boues aérobies (décanter secondaire)	0,18 à 0,43 (0,28)	Matthijs et De Henau, 1987
Boues aérobies (décanter secondaire)	0,15 ± 0,12	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Boues stabilisées en aérobiose	0,05 à 4,4 (2,1)	Brunner <i>et al.</i> , 1988
boues stabilisées en anaérobiose ou aérobiose	2,9 à 11,9 (5,5)	McEvoy et Giger, 1986
Boues stabilisées en anaérobiose	2,7 à 5,9	Brunner <i>et al.</i> , 1988
Boues anaérobies	1,68 à 7 (4,7 ± 1,5)	Rapaport et Eckhoff, 1990
Boues anaérobiose (digesteur)	1,33 à 9,93 (4,9)	Matthijs et De Henau, 1987
Boues anaérobiose (digesteur)	10,4 ± 5,1	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Boues anaérobiose (digesteur)	12,1 à 18,8 (15,8)	Prats <i>et al.</i> , 1993
Boues anaérobiose (digesteur)	6 à 9,4	Waters et Feijtel, 1995
Boues compost	5,2	Prats <i>et al.</i> , 1997

\*événement pluvieux

Les teneurs observées dans les boues activées ou les boues aérobies issues de la décantation secondaire sont généralement les plus faibles, inférieures à environ 1 g.kg<sup>-1</sup>. Des concentrations supérieures à 1 g.kg<sup>-1</sup> sont principalement observées dans les boues issues de la décantation primaire. La concentration en LAS est plus importante dans les boues issues de la décantation primaire stabilisées en anaérobie qu'en aérobiose (Brunner *et al.*, 1988; McAvoy *et al.*, 1993; Prats *et al.*, 1993), probablement du fait que les LAS ne sont pas ou peu biodégradables en condition anaérobies (Wagener et Schink, 1987; Mogensen *et al.*, 2002).

Ces fortes concentrations s'expliquent principalement par l'adsorption des LAS sur les composés organiques ou minéraux constituant les boues. Il est possible aussi que les LAS soient solubilisés au sein de domaines apolaires au sein des agrégats, en particulier dans la fraction lipidique des polymères extracellulaires des agrégats.

---

## **5. OCCURRENCE DES LAS DANS LES MILIEUX ENVIRONNEMENTAUX.**

---



## 5.1. OCCURRENCE DES LAS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES.

### 5.1.1. Occurrence des LAS dans les eaux douces.

La concentration en LAS dans les eaux douces est de l'ordre de 0,01 à 1 mg.L<sup>-1</sup>, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que les concentrations observées dans les effluents traités des stations d'épuration biologiques (Tableau 5.1). Les rivières urbaines les plus polluées montrent assez logiquement les concentrations en LAS les plus élevées (Takada et al., 1994). Un niveau plus important de concentration en LAS est aussi observé à proximité des rejets d'effluents urbains traités, mais les LAS sont aussi retrouvés jusqu'à plusieurs kilomètres en aval (Feijtel et al., 1995).

Les communautés microbiennes des eaux douces ont montré un taux d'élimination des LAS de 36,4 % (De Ferrer et al., 1997). La plus grande partie de l'élimination des LAS dans le milieu aquatique a lieu par adsorption et précipitation car dans les rivières les LAS sont généralement présents sous forme de leur métabolites, moins facilement biodégradables que les molécules d'origine.

Tableau 5.1. Concentration des LAS dans les eaux douces.

Echantillon	[LAS] µg.L <sup>-1</sup> (moyenne)			Références
Amont	nov	Mai	Juillet	De Ferrer et al., 1997
Aval (1,5 km)	5,9 (22,2 % sur MES)	9 (16,7 %)	5	
val (3,0 km)	8,5 (13,4 %)	137 (3,6 %)	541 (6 %)	
val (4,8 km)	4,6 (39,5 %)	21 (9,5 %)	5 (50 %)	
	5,4 (19,3 %)	3 (51,7 %)	7 (50 %)	
estuaire	0,2 à 23,9			Terzic et Ahel, 1994
Rivière	14 à 155			Eichhorn et al., 2002
	1,2 à 14 (métabolites)			
Rivière polluée	600 à 1600			Takada et al., 1994
Rivière	< 50			McAvoy et al., 1993
Amont rejet	< 10 à 90 (18)			
Aval rejet	< 10 à 330 (43)			
Rivière				Waters et Feijtel, 1995
Amont rejet	< 2,1 à 27			
Aval rejet	< 2,1 à 30			
rivière	10 à 90 (40)			Matthijs et De Henau, 1987
Rivière				Feijtel et al., 1995
100 m	< 2,1 à 168			
700 m	< 2,1 à 69			
1200 m	< 2,1 à 5,2			
2000 m	< 2,1 à 7,1			
rivière	< 5 à 300			Rapaport et Eckhoff, 1990
	0,8 à 3300			Lewis et al., 1991
	< 0,05			Hand et al., 1990
	49,3 à 290 sur MES			
	0,9 à 36			Di Corcia et al., 1999

### 5.1.2. Occurrence des LAS dans eaux marines.

Les concentrations en LAS dans les eaux marines sont généralement inférieures à 100 µg.L<sup>-1</sup> mais elles peuvent atteindre plus de 1000 µg.L<sup>-1</sup> dans les zones recevant des eaux polluées, en particulier les estuaires (Tableau 5.2). À titre d'exemple, le flux annuel atteint 71 tonnes dans la baie de Tokyo (Takada *et al.*, 1992) et 4,6 tonnes dans un port de Croatie (Terzic et Ahel, 1994). D'importantes variations saisonnières sont observées, car la biodégradation des LAS est accrue avec l'augmentation de la température et avec la diminution du débit observées en été (Takada *et al.*, 1992; Terzic et Ahel, 1994; Leon *et al.*, 2004). De plus, un fort gradient vertical de concentration a été observé, avec une concentration des molécules de LAS dans les 3 à 5 mm supérieurs (González-Mazo *et al.*, 1998).

L'apport de LAS dans les eaux marines se fait principalement sous forme dissoute (Takada *et al.*, 1992). Une fois dans le milieu marin, l'élimination des LAS se fait majoritairement par précipitation sous forme de Ca(LAS)<sub>2</sub> et par adsorption sur les MES. Les bactéries marines montrent une capacité à biodégrader les LAS moins importante que les bactéries des eaux douces (Terzic et Ahel, 1994). Cela se traduit en particulier par une plus forte persistance des métabolites de type SPC (González-Mazo *et al.*, 1997). Plusieurs explications sont avancées, notamment la faible teneur en oxygène, la concentration importante en matière organique et une moindre adaptation de micro-organismes des eaux marines.

Tableau 5.2. Concentration en LAS dans le milieu marin

	LAS (µg.L <sup>-1</sup> ) (moyenne)	Références
Estuaires	20 à 1000	Berna <i>et al.</i> , 1991 cité par Bjerregaard <i>et al.</i> , 2001
Eaux côtières	2 à 510	González-Mazo <i>et al.</i> , 1997
Estuaire	0,2 à 23,9	Terzic et Ahel 1994
Rejet EU non traitées	2,7 à 1687 (10 à 30)	González-Mazo <i>et al.</i> , 1998
Baie	2,7 à 1687,2	Gonzales-Mazo <i>et al.</i> , 1998
Baie	1,2 à 73 2,2 à 102	Eichhorn <i>et al.</i> , 2001
Baie	< 50 à 500	Leon <i>et al.</i> , 2002

## 5.2. OCCURRENCE DES LAS DANS LES SEDIMENTS.

Les concentrations en LAS dans les sédiments d'eaux douces sont comprises entre 1 et 500 µg.g<sup>-1</sup> (Tableau 5.3). Encore une fois, la concentration varie fortement avec la localisation et en particulier elle diminue avec l'éloignement du point de prélèvement des sédiments d'une zone de rejet d'effluents contenant des LAS. Les concentrations observées dans les sédiments marins sont en moyenne plus faibles mais très peu d'études ont été réalisées à ce jour. On peut néanmoins penser que la concentration des LAS dans les sédiments d'estuaires est comparable à celles observées dans les sédiments de rivière les plus chargés, en raison de l'importance du flux de LAS dans ces zones et en raison de la précipitation importante et de la faible biodégradation en milieu marin.

Les sédiments concentrent environ 60 % des LAS qui sont apportés dans le milieu (González-Mazo *et al.*, 1998). La possibilité d'une désorption importante des LAS des sédiments ou des boues vers le milieu aqueux a été évoquée (Hand et Williams, 1987) mais des résultats récents ont suggéré que les sédiments étaient un puits d'accumulation pour les LAS contrairement aux agrégats bactériens qui ne seraient qu'une zone d'adsorption transitoire (González-Mazo *et al.*, 1998).

Tableau 5.3. Concentration en LAS dans les sédiments.

Echantillon	[LAS] µg.g <sup>-1</sup> (moyenne)	Références
rivière	1 à 5	Leon <i>et al.</i> , 2002
rivière	1,0 à 151 (16,2)	Matthijs et De Henau, 1987
Rivière	0,9 à 1,2 < 0,05 à 0,08 (pores)	Hand <i>et al.</i> , 1990
Rivière 100 m du rejet 700 m 1200 m 2000 m	12 à 35 4,9 à 5,3 3,8 à 4,2 4,4 à 4,8	Feijtel <i>et al.</i> , 1995
Rivière Amont rejet effluents BA Aval Amont rejet effluents lit bactérien Aval	1,0 à 1,2 (1,1) 0,3 à 3,8 (1,8) 0,2 à 0,9 (0,5) 0,2 à 340 (120)	McAvoy <i>et al.</i> , 1993
Rivière amont rejet effluents step Aval	0,17 à 0,7 0,49 à 5,3	Waters et Feijtel, 1995
Rivière Mer (baie tokyo)	0,6 à 567 (107 ± 138) 1	Takada et Ishiwatari, 1987

### 5.3. OCCURENCE DES LAS DANS LES SOLS.

Du fait de leur accumulation dans les boues d'épuration pouvant représenter jusqu'à 15 à 20 % en masse, les LAS sont susceptibles de se retrouver dans les sols amendés avec ces boues (Tableau 5.4). Ainsi, la quantité de LAS reçue chaque année par des sols amendés en boues d'épuration a été estimée à 1 g.m<sup>-2</sup> (Brunner *et al.*, 1988). L'élimination dans les sols amendés est de 89,2 % (De Ferrer *et al.*, 1997) et de 70 à 99 % dans un sol amendé récemment et 98 % dans un sol non amendé récemment (Holt *et al.*, 1989). Comme dans les sédiments, l'élimination est plus lente que dans les phases aqueuses en raison des zones anaérobies et de la moindre activité bactérienne. L'activité bactérienne des sols diminue de manière transitoire lors de l'application de LAS à une concentration de 100 µg.g<sup>-1</sup> (Elsgaard *et al.*, 2003).

Tableau 5.4. Occurrence des LAS dans les sols

Echantillon	[LAS] µg.g <sup>-1</sup> (moyenne)	Références
Sol amendé	0,9 à 2,2 (1,4)	Matthijs et De Henau, 1987
Sol amendé	22,4 3,1 (après 6 mois) 0,7 (après 12 mois)	Prats <i>et al.</i> , 1993
Sol amendé	155 55,6 (après 6 jours) 16,7 (après 62 jours)	De Ferrer <i>et al.</i> , 1997
Sol amendé récemment	< 0,2 à 20	Holt <i>et al.</i> , 1989
Sol non amendé récemment	< 1	
Sol amendé	< 3 à 47	Rapaport et Eckhoff, 1990

Dans les sols, d'autres polluants sont présents. Les interactions formées entre ces composés organiques hydrophobes et les LAS diffèrent selon la concentration du tensio-actif et l'ordre d'ajout. A concentration élevée, les LAS mobilisent vers la phase aqueuse les composés hydrophobes adsorbés sur les particules. Les LAS augmenteraient plutôt la cinétique de désorption des composés aromatiques que la quantité désorbée (Aronstein *et al.*, 1991). Ainsi, les tensio-actifs augmentent la désorption des composés aromatiques vers les pores des sols et par conséquent leur biodégradation par les micro-organismes des sols. C'est pourquoi l'ajout de tensio-actif a été proposé pour la dépollution des sols. Cependant, les études sont contradictoires sur ce point. L'ajout de LAS dans les sols augmente en effet l'adsorption du phénanthrène par compartimentation dans les micelles et les hème-micelles (Holt *et al.*, 2003). Par contre, l'ajout de LAS en premier dans les sols (à une concentration inférieure à 50 µg.L<sup>-1</sup>) diminue l'adsorption du phénanthrène par occupation des sites hydrophobes.

---

## **6 . ECOTOXICOLOGIE**

---



## **6.1. GRANDEURS CARACTERISTIQUES DE L'EFFET TOXIQUE**

D'une manière générale, l'effet toxique est déterminé selon deux échelles de temps. La toxicité aiguë détermine la toxicité à court terme, déterminée après un à plusieurs jours d'exposition au produit chimique. Elle correspond généralement à un effet létal. La toxicité chronique correspond à des effets toxiques sublétaux observés à long terme (plusieurs semaines) ayant une incidence sur le développement des organismes, en particulier sur leur vitesse de croissance. Ces tests incluent théoriquement l'étude des effets toxiques tout au long du cycle biologique des organismes, de l'œuf/la larve à l'adulte.

Les essais de toxicité permettent de déterminer différentes grandeurs, comme la concentration létale 50 % (CL50), la concentration efficace 50 % (CE50), la concentration maximale à effet non observé (CENO) et la concentration minimale à effet observé (CMEO). La CL50 est la concentration qui entraîne un taux de mortalité de 50 %. Elle est généralement évaluée à partie des essais de toxicité aiguë. La CE50 correspond à un effet toxique sur le développement des organismes, comme l'inhibition de leur croissance. Selon le terme de l'étude, elle est considérée comme un paramètre indicateur de toxicité aiguë (court terme) ou chronique (long terme). Théoriquement des tests de toxicité effectués sur plus de 48 h pour les invertébrés et plus de 96 h pour les poissons sont des tests de toxicité chronique. En pratique, la toxicité chronique est évaluée pour des périodes allant de 15 min à 30 jours (Lewis *et al.*, 1991).

La comparaison de ces valeurs avec les concentrations en polluant déterminées dans l'environnement permet de déterminer la marge de sécurité par rapport à l'innocuité du produit. Cette démarche fait partie de l'évaluation du risque.

## **6.2. PARAMETRES INFLUENÇANT LA TOXICITE DES LAS**

### **6.2.1. Caractéristiques de la molécule toxique**

Différentes relations de corrélation ont été mises en évidence entre les propriétés physico-chimiques des LAS et leurs effets toxiques des molécules. En particulier, l'adsorption des surfactants a lieu de manière préférentielle sur les membranes biologiques riches en lipides qui sont un lieu privilégié de l'atteinte toxique.

D'une manière générale, la toxicité des LAS dépend de la longueur de la chaîne carbonée. Les C<sub>13</sub>-LAS et C<sub>14</sub>-LAS sont au moins 20 fois plus toxiques que les homologues C<sub>10</sub>-LAS à C<sub>12</sub>-LAS (Hampel *et al.*, 2001; Verge *et al.*, 2001; Hampel et Blasco, 2002). Une proportionnalité directe entre la longueur de la chaîne hydrophobe et la toxicité de la molécule a été démontrée (Martinez *et al.*, 1989).

Il existe une relation entre la CMC et la CE50 et entre le facteur de bioconcentration (BCF) et l'activité interfaciale exprimée par  $\Delta G^0_{ad}/A_{min}$  ( $\Delta G^0_{ad}$  étant l'énergie libre d'adsorption standard du surfactant à l'interface air/solution et  $A_{min}$  étant l'aire de section minimale du surfactant) (Rosen *et al.*, 2001). Par contre, s'il permet de situer l'hydrophobicité de la molécule de LAS dans une série, le coefficient de partage octanol/eau Kow ne reflète pas son comportement toxique.

### **6.2.2. Caractéristiques des organismes étudiés**

Les données répertoriées dans la littérature sont dominées par des valeurs de CL50 déterminées pour les organismes d'eau douce, en particulier par manque de tests standards et de techniques de culture pour les organismes des eaux marines. Les valeurs de CL50 déterminées pour les organismes dulçaquicoles sont difficilement extrapolables aux organismes marins car la présence de concentrations plus importantes de  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  modifie nettement les concentrations de LAS en solution par précipitation (Petersen et Kusk, 2000).

*Daphnia magna* est l'espèce d'invertébré la plus utilisée pour réaliser les tests de toxicité sur les organismes aquatiques car elle est considérée comme un des organismes les plus sensibles. Cependant la toxicité des LAS varie de manière très importante selon l'espèce considérée, avec par exemple une gamme de variation de 1,7 à 200 mg.L<sup>-1</sup> pour différents invertébrés d'eau douce (Thoumelin, 1995).

D'une manière générale, la toxicité des LAS est beaucoup plus élevée vis-à-vis des œufs et des larves, ou des organismes juvéniles, que vis-à-vis des adultes, quelle que soit l'espèce étudiée. A titre d'exemple, la CL50 des LAS vis-à-vis des larves de moule *Mytilus edulis* a été estimée à 3,8 mg.L<sup>-1</sup> (Hansen *et al.*, 1997), alors qu'elle est de plus de 100 mg.L<sup>-1</sup> pour le bivalve adulte (Thoumelin 1995).

Le mode de vie des organismes a une influence nette sur l'effet toxique des LAS, en particulier parce qu'il influence l'exposition des organismes aux molécules toxiques. Par exemple, les poissons qui ont une activité de nage intense et qui vivent en surface sont plus sensibles que les poissons vivants dans les fonds marins.

### **6.2.3. Paramètres environnementaux influençant la toxicité des LAS**

D'un point de vue expérimental, la plupart des études de toxicité sont menées en laboratoire. Elles ne fournissent ainsi qu'une approximation des concentrations toxiques aiguë et chronique du produit étudié. Elles ne tiennent généralement pas compte des processus ayant lieu dans les milieux environnementaux. Différents paramètres sont susceptibles de modifier de manière importante les concentrations toxiques observées, comme la température, le

raisonnement en concentrations nominales (ajoutées) plutôt qu'en concentrations réelles (mesurées) dans le milieu étudié, des phénomènes d'adsorption sur des particules (sédiment ou matières en suspension) ou sur le contenant (aquarium), la formation de complexes qui précipitent (avec les ions  $\text{Ca}^{2+}$  en particulier), et la biodégradation des molécules toxiques par les micro-organismes autochtones en composés moins toxiques. D'après l'analyse de 58 articles datant de 1959 à 1991, les effets de la dureté de l'eau, de la température et de l'ajout de LAS en mélange avec d'autres toxiques sont difficilement généralisables car ils dépendent de l'espèce étudiée et de l'ajout de LAS sous forme de mélange commercial ou d'un seul homologue (Lewis, 1992). D'une manière très globale, la toxicité des surfactants augmente avec la température, la dureté de l'eau et la diminution de l'oxygène dissous.

Les valeurs de CL50 et de CE50 répertoriées dans la littérature sont, dans la majorité des cas, déterminées à partir des concentrations initiales en LAS ajoutées, conduisant à une surestimation de ces concentrations. Seules les études les plus récentes prennent en compte les phénomènes d'adsorption des surfactants, en particulier suite au développement de nouvelles techniques analytiques adaptées aux milieux environnementaux complexes. Ainsi la CE50 des LAS pour l'activité des bactéries méthanogènes a été estimée à  $14 \text{ mg.L}^{-1}$ , valeur qui correspond à une concentration nominale de  $127 \text{ mg.L}^{-1}$  (Mösche et Meyer, 2002).

Les effets toxiques des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques sont clairement liés à la concentration des molécules libres dans l'eau et la présence de carbone organique dissous ou de substances humiques en solution diminue nettement leur toxicité. En effet, l'adsorption des LAS sur les matières en suspension dans la phase aqueuse conduit à une sous-estimation de la CL50 (*Hyalella azteca*) d'un facteur 3 (Cano *et al.*, 1996) et du facteur de bioconcentration (*Pimephales promelas*) de 2,5 (Tolls *et al.*, 2003). De la même manière, la CL50 des LAS pour *Pimephales promelas* est multipliée par un facteur de 1,3 à 1,8 en présence de 5 à  $55 \text{ mg.L}^{-1}$  d'acides humiques (Traina *et al.*, 1996).

La biodégradation des LAS par les micro-organismes autochtones réduit considérablement leur toxicité vis-à-vis des organismes aquatiques. Ainsi, la biodégradation de 80 à 85 % des LAS réduit la CL50 (*Daphnia magna*) de  $30\text{-}40 \text{ mg.L}^{-1}$  à  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  (Kimerle et Swisher, 1977). De plus, les métabolites des LAS sont significativement moins toxiques que la molécule parent. En effet, la CL50 du C11-SPC est de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les invertébrés (*Daphnia magna*) et de  $75 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les poissons (*Pimephales promelas*) et la CL50 pour le sulpophényl butyrate est comprise entre de 5000 et 10000  $\text{mg.L}^{-1}$  (Kimerle et Swisher, 1977) alors que la CL50 du C<sub>11</sub>-Las est comprise entre 0,5 et 50  $\text{mg.L}^{-1}$ .

L'assimilation des LAS au niveau des branchies des poissons augmente avec la dureté de l'eau (Tolls *et al.*, 2000a). En effet, la diminution des interactions électrostatiques à l'interface LAS/branchie rend les interactions hydrophobes déterminantes et augmente par conséquent leur adsorption et leur assimilation.

## 6.3. TOXICITE AIGUË DES LAS

### 6.3.1. Toxicité des LAS pour cellules eucaryotes

La CL50 vis-à-vis des cellules eucaryotes est de l'ordre de 100  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  (Tableau 6.1).

Tableau 6.1. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des cellules eucaryotes.

cellules	CL 50 ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	effet	Références
Epithélium de rein de grenouille	100	Augmentation $[\text{Ca}^{2+}]_i$	Bjerregaard <i>et al.</i> , 2001
Hépatocytes de truite	37,5 à 150	cytotoxicité	Navas <i>et al.</i> , 1999

$[\text{Ca}^{2+}]_i$ : concentration de Calcium intracellulaire

Les études de toxicité des LAS sur les cellules eucaryotes sont réalisées principalement dans l'objectif de déterminer les mécanismes de l'effet toxique. En plus de l'effet toxique commun à tous les détergents sur les membranes biologiques, par intercalation dans la membrane lipidique entraînant sa solubilisation, l'effet physiologique des LAS pourrait être spécifique, avec une activation des canaux calciques de la membrane (Bjerregaard *et al.*, 2001). L'entrée de calcium provoquant la sortie de chlorure et par conséquent un changement d'homéostasie des cellules. Cette interaction spécifique des LAS avec les canaux calciques de nature protéique pourrait s'expliquer par la charge anionique des LAS, favorisant des interactions de nature électrostatique avec les protéines.

Aucun effet œstrogénique n'a été démontré pour les LAS ni leurs produits de biodégradation (SPC) contrairement à d'autres surfactants non-ioniques comme les alkylphénols (Routledge et Sumpter, 1995; Navas *et al.*, 1999).

### 6.3.2. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques

Les gammes de variation des CL50 ou CE50 des LAS, après 48 ou 96 h d'exposition, vis-à-vis des organismes d'eaux douces sont comprises entre 0,9 et 500  $\text{mg.L}^{-1}$  pour les algues, 0,6 et 30  $\text{mg.L}^{-1}$  pour les daphnies, et 1,3 et 400  $\text{mg.L}^{-1}$  pour les autres invertébrés et 0,7 et 18  $\text{mg.L}^{-1}$  pour les poissons qui seraient les organismes les plus sensibles.(Tableau 6.2).

Peu de valeurs sont disponibles pour les organismes marins. Quelques études ont été menées sur les micro-algues marines (Utsunomiya *et al.*, 1997; Petersen et Kusk, 2000; Hampel *et al.*, 2001; Moreno-Garrido *et al.*, 2001), qui n'apparaissent *a priori* pas plus sensibles que les algues d'eau douce, la différence de sensibilité étant plutôt liée à l'espèce qu'au milieu.

Tableau 6.2. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis de différents organismes aquatiques et d'insectes.

Micro-algues d'eau douce	CL50 (mg.L <sup>-1</sup> )	Références
<i>Selenastrum capricornutum</i>	50 à 100	
<i>Nitzschia fonticola</i>	20 à 50	
<i>Microcystis aeruginosa</i>	10 à 20	Yamane <i>et al.</i> , 1984

Micro-algues marines	Homologues	CL50 (mg.L <sup>-1</sup> )		CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )	Activité estérase	Références	
<i>Rhodomonas salina</i>	C11	4,43 ± 0,25	72 h	0,96 ± 0,02		Hampel <i>et al.</i> , 2001	
	C13	0,36 ± 0,02					
<i>Isochrysis aff. galbana</i>	C11	7,70 ± 0,45	72 h	1,00 ± 0,003			
	C13	0,54 ± 0,03					
<i>Tetraselmis suecica</i>	C11	13,37 ± 0,19	72 h	3,48 ± 0,29			
	C13	1,23 ± 0,06					
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	C11	1,38 ± 0,10	72 h	3,97 ± 0,16			
	C13	0,18 ± 0,01		0,92 ± 0,14			
				Photosynthèse			
<i>Rhodomonas salina</i>		3	72 h	1 à 2,7	3 à 6 h	Petersen et Kusk, 2000	
<i>Skeletonema costatum</i>		3,4		1 à 2,3			
<i>Chaetoceros gracilis</i>		0,30 ± 0,01				Moreno-Garrido <i>et al.</i> , 2001	
<i>Heterocapsa sp.</i>		0,4 ± ,2					
<i>Pleurochrysis carterae</i>		>2					
<i>Rhodomonas salina</i>		0,9 ± 0,07					
				Production de glycerol			
<i>Dunalellia sp</i>			24h	3,5 mg.L <sup>-1</sup>		Utsunomiya <i>et al.</i> , 1997	

Mollusque/poisson/invertébré	Homologues	CL 50 (mg.L <sup>-1</sup> )		Références
Larve de moule <i>Mytilus edulis</i>		3,8	96 h	Hansen <i>et al.</i> , 1997
Embryons de dorade royale <i>Sparus aurata</i>	C13 à C14	0,1 à 0,25 (CL100)		Hampel et Blasco, 2002
Embryons de dorade royale <i>Sparus aurata</i>	C10 à C12	>5		Hampel et Blasco, 2002
Truite <i>Oncorhynchus mykiss</i>		8,1	24 h	Buhl et Hamilton, 2000
		5	96 h	
Tête de boule <i>Pimephales promelas</i>	C12 + SH 5 à 30 mg.L <sup>-1</sup> + SH 55 mg.L <sup>-1</sup>	1 1,3 1,8	96 h	Traina <i>et al.</i> , 1996
Daphnie <i>Daphnia magna</i>		30-40		Kimerle et Swisher, 1977
Daphnie <i>Daphnia magna</i>	C12	8	48 h	Verge <i>et al.</i> , 2001
	C14	1,2		
Daphnie <i>Daphnia magna</i>	C9 à C14	5 à 18	24 h	Martinez <i>et al.</i> , 1989
Daphnie <i>Daphnia galeata</i>	C12	4,6	48 h	Tanaka et Nakanishi, 2001

Insectes		CL50 (mg.L <sup>-1</sup> )		Références
Amphipode <i>Hyalella azteca</i>		57	48 h	Cano <i>et al.</i> , 1996
Collembole <i>Folsomia fimetaria</i>	C10 à C13	> 800		Jensen et Sverdrup, 2002
Moucheron <i>Chironomus riparius</i>	C12	222 à 270 (246)	4 j	Hwang <i>et al.</i> , 2003
		27 à 143 (61)	10 j	
		31 à 560 (61) 51 à 133 (72)	30 j	

L'importante échelle de variations de ces concentrations s'explique logiquement par l'utilisation selon les auteurs de différents homologues pour réaliser les tests de toxicité, par l'utilisation de différentes espèces d'organismes, de différentes conditions d'expérimentation (temps, température), voire de différents tests utilisés. A titre d'exemple, les CE50 des C<sub>12</sub>-LAS et C<sub>14</sub>-LAS sont respectivement de 8 et 1,2 mg.L<sup>-1</sup> pour *Daphnia magna* (Verge *et al.*, 2001). De même, les CE50 des C<sub>11</sub>-LAS et C<sub>13</sub>-LAS sont respectivement comprises entre 1,4 et 13,4 mg.L<sup>-1</sup> et 0,18 et 1,23 mg.L<sup>-1</sup> pour les micro-algues marines (Hampel *et al.*, 2001). L'inhibition du taux de croissance des micro-algues marines est deux à cinq fois plus sensible que celle de l'activité enzymatique estérase (Hampel *et al.* 2001). Cependant l'étude de l'inhibition par les LAS des autres activités biologiques est complémentaire de celle de l'inhibition du taux de croissance, puisqu'elle donne une idée du mécanisme d'action du toxique. Ainsi, les LAS auraient une action毒ique vis-à-vis des micro-algues marines (*Dunalellia* sp.) via l'inhibition de la photosynthèse (Utsunomiya *et al.*, 1997).

Des concentrations en LAS globalement inférieures à la CL50 vis-à-vis des organismes aquatiques (environ 1 mg.L<sup>-1</sup>), mais susceptibles d'être retrouvées dans les milieux environnementaux, ont montré un effet de synergie pour la toxicité d'autres composés. Ainsi, la présence de LAS augmente d'un facteur 2 la toxicité des insecticides comme le parathion vis-à-vis des poissons, avec une CL50 qui passe de 1,41 à 0,72 mg.L<sup>-1</sup> en présence de LAS (Solon *et al.*, 1969).

### 6.3.3. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des bactéries

La gamme de variations des CE50 des LAS vis-à-vis des bactéries est comprise entre 8 et >488 mg.kg<sup>-1</sup> MS pour les bactéries des sols, entre 0,5 à 38 mg.L<sup>-1</sup> pour les bactéries des milieux aquatiques (Tableau 6.3). Encore une fois, cette échelle relativement importante de variations des concentrations est liée aux différentes origines des micro-organismes testés et aux différents tests utilisés pour déterminer l'inhibition de l'activité microbienne.

Tableau 6.3. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des bactéries.

	Paramètre suivi	CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )		Références
Eaux usées traitées				
<i>Nitrospira europea</i>	Oxidation NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	8 à 38		Brandt <i>et al.</i> , 2001
<i>N. mobilis</i>	Fixation CO <sub>2</sub>	7 à 28		
<i>N. multiformis</i>	croissance	3 à 9		
<i>Nitrospira</i> sp AV	Formation microcolonie	3 à 14		
Bactéries marines	Incorporation thymidine	0,5 à 1,66	CE50 (mg.kg <sup>-1</sup> )	Martinez <i>et al.</i> , 1989
<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718 pHLUX20	Bioluminescence	22 à 75		Brandt <i>et al.</i> 2002
	Oxydation NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	63 à 149		
	Oxydation NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	113 à 155		
	Heterotrophic activity	> 750		
sol	Réduction Fer	Sable/argile Sable	24 à 41 et 35 à 87 9 à 14 et 8 à 14	Broberg Kritiansen <i>et al.</i> , 2003
Bactéries sol	Réduction Fer (5 j)	LAS / eau LAS / boues	17 30	Elsgaard <i>et al.</i> , 2001
	Oxydation NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (7 j)	LAS / eau LAS / boues	56 230	
	Déshydrogénase (7 j)	LAS / eau LAS / boues	116 > 448	
	Arylsulfatase (28 j)	LAS / eau LAS / boues	419 > 488	
	Croissance (7 j)	LAS / eau LAS / boues	48 487	
levure		CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )		
<i>S. cerevisiae</i>	croissance	0,2		Sirisattha <i>et al.</i> , 2004

Lorsque la concentration de surfactant adsorbée dans les sols ou les boues excède 100 mg.g<sup>-1</sup>, le rapport lipides/surfactant est de l'ordre de 1, si on estime que les lipides membranaires comptent pour environ 10 % de la masse sèche des micro-organismes. Dans ces conditions, des atteintes sévères des fonctions membranaires sont attendues. La toxicité des LAS pour les levures a montré non seulement une altération des membranes, mais aussi une altération du métabolisme du carbone et l'induction de gènes de détoxicification, comme ceux de la thioredoxine et de la glutathion-réductase (Sirisattha *et al.*, 2004). La croissance bactérienne est inhibée par les LAS ainsi que différentes activités microbiennes, comme des activités métaboliques, l'incorporation de thymidine, des activités enzymatiques ou la formation de micro-colonies (Martinez *et al.*, 1989; Brandt *et al.*, 2001; Elsgaard *et al.*, 2001; Brandt *et al.*, 2002; Brandt *et al.*, 2004). La réduction du fer est d'autant plus inhibée dans les sols que la concentration en LAS adsorbés est importante (Broberg Kritiansen *et al.*, 2003). La grande capacité d'adsorption des oxydes de fer, 10 à 100 fois supérieure à celle des sols, suggère que le mécanisme d'inhibition de la respiration du fer par les LAS est lié à la limitation du transfert d'électrons des micro-organismes vers les oxydes. L'inhibition de l'activité bactérienne semble pouvoir perdurer à long terme, au moins 8 semaines, pour les bactéries d'un sol ayant été amendé en boues contenant des LAS (Elsgaard *et al.*, 2001).

Cette persistance s'explique en partie par l'adsorption des LAS sur les boues, qui diminue leur biodisponibilité pour les micro-organismes et par conséquent leur biodégradation en molécules moins toxiques. La CE50 des LAS apportés sous forme de solution est de 2 à 10 fois moins élevée, selon les activités testées, par rapport à la CE50 déterminée pour les LAS apportés par l'ajout de boues (Elsgaard *et al.*, 2001).

Cependant, l'étude de la toxicité basée sur l'observation des activités des communautés microbiennes des milieux environnementaux ne permet pas de mettre clairement en évidence les effets toxiques des LAS en raison de la redondance fonctionnelle de ces communautés. Les bactéries tolérantes venant remplacer les bactéries sensibles sans affecter les fonctions globales de la communauté. Si les LAS semblent avoir un effet毒ique relativement limité sur les communautés microbiennes, leur diversité génétique est affectée dès  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  (Brandt *et al.*, 2004).

Dans les stations d'épuration biologiques, les surfactants induisent la formation de mousse et réduisent la capacité de sédimentation des boues, en particulier lorsqu'elles reçoivent des eaux usées industrielles, qui contiennent parfois plus de  $500 \text{ mg.L}^{-1}$  (Nagel *et al.*, 1999). Des augmentations ponctuelles de la concentration en LAS dans les eaux usées sont dommageables pour les traitements anaérobies, comme la stabilisation des boues, avec pour principale conséquence l'inhibition de la dégradation d'autres polluants. La gamme de variations des CE50 des LAS vis-à-vis des bactéries méthanologènes est comprise entre 6,3 et  $822 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les digesteurs de boues anaérobies (Madsen et Rasmussen, 1996; Shcherbakova *et al.*, 1999; Mösche et Meyer, 2002) (Tableau 6.4).

Tableau 6.4. Toxicité aiguë des LAS vis-à-vis des bactéries méthanologènes.

Paramètre suivi	CE50 ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Références
Dégénération acétate	14	Mösche et Meyer, 2002
Dégénération propionate	27	Mösche et Meyer, 2002
Production de $\text{CH}_4$	40 à 150	Ferrer et Berna, 1999 cité par Mösche et Meyer, 2002
Production de $\text{CH}_4$	6,3	Garcia-Morales <i>et al.</i> , 2001 cité par Mösche et Meyer, 2002
Production de $\text{CH}_4$	20 à 50	Khalil <i>et al.</i> , 1988 cité par Mösche et Meyer, 2002
Production de $\text{CH}_4$	59	Madsen et Rasmussen 1996
Production de $\text{CH}_4$	822	Shcherbakova <i>et al.</i> 1999

L'addition de surfactant provoque une inhibition immédiate de l'activité bactérienne méthanologène, démontrée par la diminution de la production de méthane (Madsen et Rasmussen 1996) ou la diminution de la vitesse de dégradation de l'acétate et du propionate (Gavala and Ahring 2002; Mösche et Meyer, 2002). Cette inhibition est proportionnelle à la concentration en surfactant avec une vitesse de dégradation diminuée d'un facteur 10 pour chaque ajout de surfactant de  $12 \text{ mg.L}^{-1}$ . L'effet toxique est immédiat, augmente avec le temps d'exposition jusqu'à un effet irréversible et la mort cellulaire en 10 à 14 jours.

Certaines études ont cependant montré que les bactéries anaérobies méthanogènes étaient tolérantes à des concentrations relativement élevées en surfactant (Shcherbakova *et al.*, 1999), mais cette tolérance pourrait s'expliquer par la prise en compte des concentrations nominales pour déterminer les valeurs de la CE50. En effet, la concentration de LAS maximale spécifique n'inhibant pas la digestion anaéробie a été estimée à 14 mg.g<sup>-1</sup> MVS (Gavala et Ahring, 2002).

#### **6.4. TOXICITE CHRONIQUE DES LAS**

##### **6.4.1. Toxicité chronique des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques.**

La toxicité chronique des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques est déterminée globalement pour une valeur > 0,1 mg.L<sup>-1</sup>, avec 80 % des CMEO ayant des valeurs > 0,1 mg.L<sup>-1</sup> et 40 % des CENO ayant des valeurs > 1 mg.L<sup>-1</sup> (Lewis, 1991). La revue de Lewis sur ce sujet étant basée sur un nombre important de références, les valeurs les plus récentes sont présentées à titre de complément dans le Tableau 6.5.

Tableau 6.5 . Concentration maximale à effet non observé (CENO) et concentration minimale à effet observé (CMEO) des LAS vis-à-vis des organismes aquatiques.

Organismes	CENO (mg.L <sup>-1</sup> )	CMEO (mg.L <sup>-1</sup> )	Références
Algues d'eau douce		0,05 à 1	Lewis, 1986 cité par Thoumelin, 1995
Daphnie <i>Daphnia magna</i>		0,005 à 10	Lewis, 1991
coquillages		> 0,025	Lewis, 1991
Huître <i>Crassostrea virginica</i> )		0,05 à 1	Calabrese et Davis, 1967 cité par Thoumelin, 1995
Moule <i>Mytilus edulis</i>		0,05 à 5	Granmo, 1972 et Swedmark <i>et al.</i> , 1971 cité par Thoumelin, 1995
tête de boule <i>Pimephales promelas</i>		> 0,1	Lewis, 1991
Truite arc-en-ciel	0,2		Pittinger et Kimerle, 1990 cité par Hofer <i>et al.</i> , 1995

Concernant les daphnies, la plupart des valeurs de CMEO répertoriées dans la littérature sont supérieures à 0,1 mg.L<sup>-1</sup> (Lewis, 1991), les effets sur les autres invertébrés sont du même ordre de grandeur.

Relativement peu de valeurs de toxicité chronique sont disponibles pour les poissons. En particulier, les effets sur la structure et les aspects fonctionnels de la communauté sont inconnus. Quelques études seulement se sont intéressées aux réponses comportementales comme la réaction de fuite. Cependant, aucune corrélation n'a été montrée entre cette réaction de fuite et d'autres effets sublétaux.

La durée des tests de toxicité chronique est très variable. La majorité des études effectuées sur les poissons sont réalisées en laboratoire et pour des temps d'exposition au maximum de 21 jours (Lewis, 1991). Les effets sublétaux observés au cours de ces tests sont très divers et dépendent de l'organisme étudié. Concernant les larves de moules, une diminution significative du nombre est observée après 2 jours d'exposition aux LAS à  $0,08 \text{ mg.L}^{-1}$  (Hansen *et al.*, 1997). L'effet toxique se traduit non seulement par une mortalité importante des larves, mais aussi par la diminution de la capacité d'implantation, une métamorphose retardée et la diminution de la croissance de la coquille. Les poissons perçoivent des concentrations de LAS inférieures à  $0,001 \text{ mg.L}^{-1}$  et leur olfaction est inhibée à partir de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ . De plus, une réaction de fuite est observée à partir de  $0,002$  à  $0,40 \text{ mg.L}^{-1}$ .

L'exposition chronique à la CENO déterminée sur un temps plus court révèle aussi une toxicité des LAS. Ainsi, l'exposition des truites arc-en-ciel pendant 54 jours à  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{C}_{11}\text{-LAS}$  et  $\text{C}_{12}\text{-LAS}$  a montré une hypertrophie des branchies et une capacité de nage réduite (Hofer *et al.*, 1995). De plus, ces effets toxiques sont considérablement augmentés par la présence d'un second composé toxique ( $\text{NH}_3$  à  $72 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), suggérant l'addition des effets des deux composés toxiques. De plus, il apparaît clairement que les surfactants facilitent le transfert d'autres composés hydrophobes, comme les phénols et les pesticides, à travers les branchies des poissons.

#### **6.4.2. Toxicité chronique des LAS vis-à-vis des bactéries**

Concernant les bactéries, peu d'études ont été réalisées pour déterminer la toxicité chronique des LAS. Les valeurs de CENO et de CMEO sont comprises respectivement entre 3 à  $> 488 \text{ mg.kg}^{-1}$  et 8 à  $> 488 \text{ mg.kg}^{-1}$  pour les bactéries du sol (Elsgaard *et al.*, 2001), entre 1 à  $> 100 \text{ mg.L}^{-1}$  et 10 à  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les bactéries des milieux aquatiques (Brandt *et al.*, 2001; Brandt *et al.*, 2004) (Tableau 6.6). La grande distribution des valeurs est due encore une fois à la diversité des tests et des espèces utilisées. Le faible nombre d'études effectuées s'explique en partie par le fait que les LAS sont considérés comme hautement biodégradables par les micro-organismes. De plus, les capacités d'adaptation des communautés microbiennes ne permettent pas de mettre en évidence des modifications fonctionnelles. Néanmoins, les techniques de microbiologie moléculaire les plus récentes ont permis de mettre en évidence des modifications structurales de ces communautés à partir de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  (Brandt *et al.*, 2004).

L'exposition pendant 20 générations de bactéries autotrophes oxydant l'ammonium à une concentration de LAS considérée comme sublétale ( $10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) montre un effet toxique à long terme (Brandt *et al.*, 2001), en particulier sur la capacité à former des microcolonies et sur les activités métaboliques comme l'oxydation de l'ammonium.

Tableau 6.6. Concentration maximale à effet non observé (CENO) et concentration minimale à effet observé (CMEO) des LAS vis-à-vis des micro-organismes.

Bactéries	Paramètres		CENO (mg.kg <sup>-1</sup> )	CMEO (mg.kg <sup>-1</sup> )	Références
sol	Réduction du fer (5 j)	LAS/eau	3	8	Elsgaard et al., 2001
		LAS/boues	<8	8	
	Oxydation NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (7 j)	LAS/eau	22	62	
		LAS/boues	62	174	
	Déshydrogénase (7 j)	LAS/eau	62	174	
		LAS/boues	62	174	
	Arylsulfatase (28 j)	LAS/eau	174	488	
		LAS/boues	>488	>488	
	Croissance (7 j)	LAS/eau	22	62	
		LAS/boues	ND	ND	
			CENO (mg.L <sup>-1</sup> )	CMEO (mg.L <sup>-1</sup> )	
eau	Nombre de cellules (3j)	lac	> 100	ND	Brandt et al., 2004
		Eaux usées	> 100	ND	
	Biodegradation (délai/inhibition)	lac	1/10	10/100	
		Eaux usées	1/10	10/100	
	Incorporation Leu (3j)	lac	1	10	
		Eaux usées	1	10	
Eaux usées traitées <i>Nitrospira europea</i> <i>N. mobilis</i> <i>N. multiformis</i> <i>Nitrospira</i> sp AV	croissance		1 à 5	2 à 6	Brandt et al., 2001

#### 6.4.3. Bioconcentration des LAS dans les organismes aquatiques

Le degré d'accumulation des LAS dans les organismes par rapport au milieu aquatique environnant a été déterminé pour quelques espèces de poissons. Il s'exprime par le facteur de bioconcentration (BCF). De manière similaire aux autres grandeurs de toxicité, le BCF augmente avec la longueur de la chaîne carbonée des LAS (Tolls et al., 2000a). Le BCF et la vitesse d'assimilation augmentent avec le coefficient de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ) de la molécule (Tolls et al., 1997). Par contre, il n'y a pas de corrélation entre le pourcentage de lipides du poisson et le BCF, les LAS ne s'accumulent pas dans les lipides comme d'autres composés hydrophobes neutres, mais aux interfaces (Tolls et al., 2000a).

Le BCF est variable selon les espèces et la taille des organismes et les paramètres environnementaux. Le BCF a été estimé à 6 à 987 L.kg<sup>-1</sup> pour le tête de boule (Tolls et al., 1997) et à 1,4 à 372 L.kg<sup>-1</sup> pour la truite arc-en-ciel (Tolls et al., 2000a). Le BCF estimé à partir de poissons en aquarium est toujours inférieur à celui des poissons issus des milieux environnementaux (Tolls et al., 2003), car les études ne prennent pas en compte la présence

de matière organique et de microorganismes, réduisant les concentrations de LAS en solution par adsorption et biodégradation.

Le degré d'accumulation dépend de la vitesse d'assimilation et de la vitesse de métabolisation du toxique. Les LAS sont assimilés via les branchies et métabolisés dans le foie (Tolls *et al.*, 2000b). Des métabolites polaires ayant été détectés dans la bile et les urines des poissons, l'intervention des bactéries de l'intestin du poisson est à négliger dans la métabolisation des LAS. L'oxydation initiale des LAS est une étape limitante de leur métabolisme qui conduit à leur accumulation. La biotransformation des LAS en acides sulfophénylcarboxylique (SPC) réduit l'accumulation des LAS d'environ 40 % (Tolls *et al.* 2000b). La seconde étape limitant le métabolisme est la fission du noyau benzène qui conduit à l'accumulation des SPC. Le principal produit accumulé dans les poissons exposés au 2-C<sub>12</sub>-LAS est le 3-C<sub>4</sub>-SPC, correspondant au produit de transformation de 70 à 80 % du 2-C<sub>12</sub>-LAS (Tolls *et al.*, 2000b).

L'accumulation des LAS dans les organismes aquatiques se traduit par des concentrations de 0,85 à 76 µmol.kg<sup>-1</sup> pour les poissons (Tolls *et al.*, 1997; Sáez *et al.*, 2000; Tolls *et al.*, 2000a; Tolls *et al.*, 2003), 2,38 µmol.kg<sup>-1</sup> pour les moules (Sáez *et al.* 2000) et 260 µmol.kg<sup>-1</sup> pour les vers (*Tubifex sp.*) (Tolls *et al.* 2003) (Tableau 6.7)

Tableau 6.7. Accumulation des LAS dans les organismes.

organismes	molécule	µmol.kg <sup>-1</sup>	Références
Tête de boule <i>Pimephales promelas</i>	2-C12-LAS	11,0 ± 2,6	Tolls <i>et al.</i> ,2000b
		24,9 ± 10,4	
Tête de boule <i>Pimephales promelas</i>	C13-LAS	0,85 ± 0,55	Tolls <i>et al.</i> , 2003
Tête de boule <i>Pimephales promelas</i>	2-C10, 2-C11, 2-C13	76 ± 26	Tolls <i>et al.</i> , 1997
Ver <i>Tubifex sp.</i>	C13-LAS	260	Tolls <i>et al.</i> , 2003
	LAS et métabolites	1000	
Dorade royale <i>Sparus aurata</i> Moule <i>Ruditapes decussatus</i> Sar à tête noir <i>Diplodus vulgaris</i>	C11	1,29	Sáez <i>et al.</i> , 2000
		2,38	
		2,98	

---

## 7. CONCLUSION

---



Les sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) sont des molécules largement utilisées dans les détergents pour leurs propriétés tensio-actives. La concentration moyenne des LAS dans les effluents urbains est de l'ordre de 1 à 10 mg.L<sup>-1</sup>.

L'élimination des LAS par les traitements d'épuration biologiques à boues activées est très efficace. L'abattement global atteint généralement plus de 99 %. L'élimination des LAS implique leur adsorption au sein des agrégats bactériens et leur biodégradation par les micro-organismes en présence d'oxygène. Il résulte de ces deux processus un fort abattement de la concentration de LAS en solution, qui se traduit par une concentration en LAS dans les effluents traités de l'ordre de 0,01 à 1 mg.L<sup>-1</sup>. Cependant, les LAS et leurs métabolites sont concentrés dans les boues, à des concentrations variant entre 0,1 à 10 g.kg<sup>-1</sup>. La valorisation agricole des boues produites en excès constitue de fait la voie majeure de contamination des milieux environnementaux via l'épandage de ces boues sur les sols.

Différentes questions restent posées à ce jour concernant le devenir des LAS au travers de la filière d'épuration :

- Les LAS sont certainement confrontés de manière transitoire à des zones anaérobies, du fait de l'adsorption au sein des boues activées et lors du stockage des boues. En anaérobiose, la biodégradation étant beaucoup plus limitée, une partie des LAS pourrait s'accumuler dans les boues sans qu'ils soient biodégradés.
- Une partie des agrégats bactériens s'échappe de la station d'épuration vers le milieu récepteur lors du dysfonctionnement de la séparation des boues de l'eau épurée par décantation de la biomasse. La part de LAS associée à ces agrégats n'a jamais été quantifiée. Elle constitue pourtant un apport non négligeable de polluants dans le milieu aquatique, au sein duquel les LAS vont se redistribuer dans la phase aqueuse et dans la phase solide (matières en suspension, sédiments) de ce milieu et dans les agrégats autochtones. La désorption des LAS des agrégats vers le milieu extérieur dépendant des conditions environnementales, les agrégats bactériens pourraient jouer transitoirement le rôle de transporteurs de polluants au sein du milieu hydrique.

Les LAS sont présents de manière ubiquitaire dans l'environnement, sous forme d'un mélange complexe de différents homologues et d'intermédiaires de biodégradation. Les LAS sont déterminés dans les milieux aquatiques, dans les eaux douces (de 0,01 à 1 mg.L<sup>-1</sup>) et les eaux marines (moins de 0,1 mg.L<sup>-1</sup>). De par leur caractère hydrophobe, les LAS ont tendance à s'accumuler dans les phases solides, à savoir les boues d'épuration (de 0,1 à 10 mg.g<sup>-1</sup>) et les sols et les sédiments (de 1 à 500 µg.g<sup>-1</sup>). La distribution des différents homologues dans ces différentes phases dépend de leur masse molaire. Les homologues de

masse molaire élevée ont un caractère hydrophobe et une tendance à la précipitation plus marqués.

Le devenir des LAS dans le milieu aquatique fait intervenir la biodégradation microbienne, l'adsorption sur les matières en suspension et les sédiments et la précipitation avec les ions calcium. Le devenir des LAS dans ces milieux dépend ainsi clairement des conditions environnementales. Au sein des phases solides, l'adsorption limite l'accessibilité des micro-organismes aux LAS qui sont sous forme adsorbée ou sous forme de précipité. De plus, la biodégradation est limitée par la présence de zones anaérobies. Ainsi, la demi-vie des LAS dans les sols est nettement plus longue que dans les milieux aquatiques.

Si la teneur en LAS de différents milieux a fait l'objet de nombreuses études, plusieurs questions n'ont pas encore été résolues :

- Les échanges entre les différents compartiments des milieux environnementaux ne sont pas quantifiés. En effet, la distribution des LAS évolue clairement en fonction des conditions environnementales qui régissent les processus de biodégradation, de précipitation et d'adsorption, mais aussi en fonction des caractéristiques propres à chaque homologue et à chaque métabolite. L'éventuelle fuite de ces molécules vers les nappes phréatiques n'a, par exemple, jamais été recherchée.
- Le processus de biodégradation des LAS dans les sols est le résultat d'un compromis entre une biodégradation accrue par la longueur du temps de résidence des LAS, du fait de leur rétention dans les sols par adsorption, et une biodégradation limitée par la faible accessibilité des LAS aux micro-organismes des sols, du fait de leur adsorption sur les particules solides. L'étendue de ces phénomènes et les conditions qui pourraient les favoriser ne sont cependant pas décrites.

Les valeurs de toxicité aiguë des LAS ont été déterminées pour différents organismes, en particulier les organismes aquatiques. Ainsi, la CL<sub>50</sub> des LAS est de l'ordre de 0,9 à 500 mg.L<sup>-1</sup> pour les algues, de l'ordre de 0,6 à 30 mg.L<sup>-1</sup> pour les daphnies, de l'ordre de 1,3 à 400 mg.L<sup>-1</sup> pour les autres invertébrés et de l'ordre de 0,7 à 18 mg.L<sup>-1</sup> pour les poissons.

Se contenter du fait que les concentrations en LAS dans l'environnement soient dans la plupart des cas inférieures aux concentrations déterminant des effets toxiques limite considérablement la réflexion quant aux risques que présentent ces molécules :

- De nombreux paramètres influençant les effets toxiques des LAS ne sont pas pris en compte dans les études de toxicité, comme la présence d'un mélange complexe d'homologues et de métabolites, les interactions avec les phases solides par adsorption, le

stade de développement et le mode de vie des organismes, la présence d'autres toxiques et l'éventuelle synergie des effets.

- L'exposition à long terme, déterminant la toxicité chronique, est très peu documentée. En particulier, des effets physiologiques et des effets sur le comportement des poissons ont été évoqués mais ne sont pas quantifiés à ce jour.

Retranchée derrière les capacités d'adaptation des micro-organismes et de l'aspect transitoire des effets délétères, la toxicité des LAS vis-à-vis de la flore microbienne a fait l'objet de très peu d'études. Cependant, des modifications structurales des communautés microbiennes ont été mises en évidence récemment après l'exposition aux LAS.

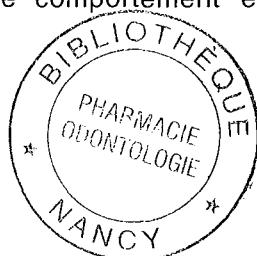
En conclusion, l'élimination des LAS, véhiculés par les effluents urbains, par les traitements d'épuration à boues activées est très efficace, lorsque le processus ne montre pas de dysfonctionnement. Cependant, les LAS s'accumulent dans les boues et les boues excédentaires utilisées pour l'amendement des sols agricoles constituent une source de contamination majeure de l'environnement.

Les concentrations de LAS observées dans l'environnement ne semblent pas présenter de risque. Cependant, considérant que la consommation de ces molécules est en pleine expansion et que la valorisation agricole est la principale voie d'élimination des boues de station d'épuration, la démarche d'évaluation du risque posé par la présence de LAS dans les milieux environnementaux doit être approfondie et intégrer à l'avenir des données concernant:

- la présence simultanée de différents homologues et de leur métabolites
- la dynamique des LAS dans les milieux environnementaux et les facteurs qui influencent leur devenir, et par exemple le transport par les agrégats bactériens
- des organismes appartenant à différents milieux, le milieu marin par exemple est très peu étudié
- les effets toxiques vis-à-vis de différents niveaux trophiques.

Dans cette optique, des efforts sont nécessaires en matière de :

- développement de méthodes analytiques spécifiques et applicables aux échantillons environnementaux, en particulier aux phases solides
- caractérisation précise du milieu étudié et normalisation des méthodes utilisées afin de permettre une comparaison des données
- mise au point de méthodologies permettant de relier le comportement et l'état physiologique des organismes à leur état de santé.



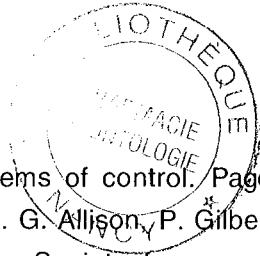


---

## **8 . REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---





1. Allison, D. G., McBain, A. J., and P., G. 2000. Biofilms: problems of control. Pages 309-327 in *Community structure and co-operation in biofilms*. D. G. Allison, P. Gilbert, H. M. Lappin-Scott et M. Wilson, editors. 59th symposium of the Society for general microbiology, Exeter.
2. Alzaga, R., Peña, A., Ortiz, L., and Bayona, J. M. 2003. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in aqueous matrices by ion-pair solid-phase microextraction-import derivatization-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 999:51-60.
3. Amann, R., Lemmer, H., and Wagner, M. 1998. Monitoring the community structure of wastewater treatment plants: a comparison of old and new techniques. *FEMS Microbiol. Ecol.* 25:205-215.
4. Angelidaki, I., Mogensen, A. S., and Ahring, B. K. 2000. Degradation of organic contaminants found in organic waste. *Biodeg.* 11:377-383.
5. Aronstein, B. N., Calvillo, Y. M., and Alexander, M. 1991. Effect of surfactants at low concentrations on the desorption and biodegradation of sorbed aromatic compounds in soil. *Environ. Sci. Technol.* 25:1728-1731.
6. Azeredo, J., Visser, J., and Oliveira, R. 1999. Exopolymers in bacterial adhesion: interpretation in terms of DLVO and XDLVO theories. *Colloid Surface B* 14:141-148.
7. Bjerregaard, H. F., Staermose, S., and Vang, J. 2001. Effect of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on ion transport and intracellular calcium in kidney distal epithelial cells (A6). *Toxicol. in vitro* 15:531-537.
8. Bleich, U., and Nehrkorn, A. 1989. Elektronenmikroskopische Darstellung extrazellulärer polymere Substanzen in Belebtschlammflocken. *Zbl. Hyg.* 188:66-83.
9. Boon, N., De Windt, W., Verstraete, W., and Top, E. M. 2002. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39:101-112.
10. Boudenne, J. L., Coulomb, B., Djellel, L., and Théraulaz, F. 2001. Determination of LAS in wastewater treatment plants: comparative study between conventional biodegradation testing and an alternative photo-oxidation method. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 81:55-72.
11. Brandt, K. K., Hesselsøe, M., Roslev, P., Henriksen, K., and Sørensen, J. 2001. Toxic effects of linear alkylbenzene sulfonate on metabolic activity, growth rate, and microcolony formation of *Nitrosomonas* and *Nitrosospira* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2489-2498.
12. Brandt, K. K., Pedersen, A., and Sørensen, J. 2002. Solid-phase contact assay that uses a lux-marked *Nitrosomonas europaea* reporter strain to estimate toxicity of bioavailable linear alkylbenzene sulfonate in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3502-3508.

13. Brandt, K. K., Jorgensen, N. O. G., Nielsen, T. H., and Winding, A. 2004. Microbial community-level toxicity testing of linear alkylbenzene sulfonates in aquatic microcosms. *FEMS Microbiol. Ecol.* In Press, Uncorrected Proof.
14. Broberg Kritiansen, I., de Jonge, H., Nørnberg, P., Mather-Christensen, O., and Elsgaard, L. 2003. Sorption of linear alkylbenzene sulfonate to soil components and effects on microbial iron reduction. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:1221-1228.
15. Brunner, P. H., Capri, S., Marcomini, A., and Giger, W. 1988. Occurrence and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono- and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment. *Water Res.* 22:1465-1472.
16. Bruus, J. H., Nielsen, P. H., and Keiding, K. 1992. On the stability of activated sludge flocs with implications to dewatering. *Water Res.* 26:1597-1604.
17. Buhl, K. J., and Hamilton, S. J. 2000. Acute toxicity of fire-control chemicals, nitrogenous chemicals, and surfactants to rainbow trout. *T. Am. Fish. Soc.* 129:408-418.
18. Bura, R., Cheung, M., Liao, B., Finlayson, J., Lee, B. C., Droppo, I. G., Leppard, G. G., and Liss, S. N. 1998. Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix. *Water Sci. Technol.* 37:325-333.
19. Buswell, C. M., Herlihy, Y. M., Marsh, P. D., Keevil, C. W., and Leach, S. A. 1997. Coaggregation amongst aquatic biofilm bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 83:477-484.
20. Cano, M. L., Dyer, S. D., and DeCarvalho, A. J. 1996. Effect of sediment organic carbon on the toxicity of a surfactant to *Hyalella azteca*. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:1411-1417.
21. Cases, J.-M., Mielczarski, J., Mielczarska, E., Michot, L. J., Villieras, F., and Thomas, F. 2002. Ionic surfactants adsorption on heterogeneous surfaces. *Comptes rendus. Geoscience* 334:675-688.
22. Castillo, M., Riu, J., Ventura, F., Boleda, R., Scheding, R., Schroder, H. F., Nistor, C., Emneus, J., Eichhorn, P., and Knepper, T. P. 2000. Inter-laboratory comparison of liquid chromatographic techniques and enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of surfactants in wastewaters. *J. Chromatogr. A* 889:195-209.
23. Cavalli, L., Casani, G., Lazzarin, M., Maraschin, C., Nucci, G., and Valtorta, L. 1996. Iso-branching of linear alkylbenzene sulphonate (LAS). *Tenside Surfact. Det.* 33:393-398.
24. Chen, X., and Steward, P. S. 2002. Role of electrostatic interactions in cohesion of bacterial biofilms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59:718-720.
25. Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Eaton, A. D. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> Ed. American public Health Association, Washington DC.

26. Conrad, A., Cadoret, A., Corteel, P., Leroy, P., and Block, J.-C. soumis. Adsorption/desorption of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) and azoproteins by/from activated sludge flocs. *Water Res.*
27. Conrad, A., Kontro Suutari, M., Keinänen, M. M., Cadoret, A., Faure, P., Mansuy-Huault, L., and Block, J.-C. 2003. Fatty acids profiles of lipid fractions in extracellular polymeric substances of activated sludge flocs. *Lipids* 38:1093-1105.
28. Dabert, P., Delgenès, J.-P., Moletta, R., and Godon, J.-J. 2002. Contribution of molecular microbiology to the study in water pollution removal of microbial community dynamics. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 1:39-49.
29. Danese, P. N., Pratt, L. A., and Kolter, R. 2000. Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture. *J. Bacteriol.* 182:3593-3596.
30. De Ferrer, J., Moreno, A., and Vaquero, M. T. 1997. Monitoring of LAS in direct discharge situations. *Tenside Surfact. Det.* 34:278-282.
31. De Henau, H., Matthijs, E., and Namkung, E. 1989. Trace analysis of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) by HPLC detailed results from two municipal sewage treatment plants. Pages 5-18 in *Organic contaminants in waste water, sludge and sediment: occurrence, fate and disposal*. D. Quaghebeur, I. Temmerman et G. Angeletti, editors. Elsevier, London.
32. Deng, S. B., Bai, R. B., Hu, X. M., and Luo, Q. 2003. Characteristics of a bioflocculant produced by *Bacillus mucilaginosus* and its use in starch wastewater treatment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:588-593.
33. Denger, K., and Cook, A. M. 1999. Linear alkylbenzenesulphonate (LAS) bioavailable to anaerobic bacteria as a source of sulphur. *J. Appl. Microbiol.* 86:165-168.
34. Di Corcia, A., Capuani, L., Casassa, F., Marcomini, A., and Samperi, R. 1999. Fate of linear alkyl benzenesulfonates, coproducts, and their metabolites in sewage treatment plants and in receiving river waters. *Environ. Sci. Technol.* 33:4119-4125.
35. Di Toro, D. M., Dodge, L. J., and Hand, V. C. 1990. A model for anionic surfactant sorption. *Environ. Sci. Technol.* 24:1013-1020.
36. Ding, W.-H., and Chen, C.-T. 1999. Analysis of linear alkylbenzenesulfonates in water samples by large-volume injection-port derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 857:359-364.
37. Ding, W.-H., and Fann, J. C. H. 2000. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in sediments using pressurized liquid extraction and ion-pair derivatization gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 408:291-297.
38. Djellal, L., Theraulaz, F., and Thomas, O. 1997. Study of LAS behaviour in sewage using advanced UV spectroscopy. *Tenside Surfact. Det.* 34:326-320.

39. Doe, P. H., El-Emary, M., and Wade, W. H. 1977. Surfactants for producing low interfacial tensions I: Linear alkyl benzene sulfonates. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 54:570-577.
40. Doi, J., Marks, K. H., DeCarvalho, A. J., McAvoy, D. C., Nielsen, A. M., Kravetz, L., and Cano, M. L. 2002. Investigation of an onsite wastewater treatment system in sandy soil : sorption and biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate. *Environ. Toxicol. Chem.* 21:2617-2622.
41. Droppo, I. G., Flannigan, D. T., Leppard, G. G., Jaskot, C., and Liss, S. 1996. Floc stabilization for multiple microscopic techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:3508-3515.
42. Droppo, I. G., Leppard, G. G., Flannigan, D. T., and Liss, S. N. 1997. The freshwater floc: a functionnal relationship of water and organic and inorganic floc constituents affecting suspended sediment properties. *Water Air Soil Poll.* 99:43-54.
43. Durmaz, B., and Sanin, F. D. 2001. Effect of carbon to nitrogen on the composition of microbial extracellular polymers in activated sludge. *Water Sci. Technol.* 44:221-229.
44. Eichhorn, P., Flavier, M. E., Paje, M. L., and Knepper, T. P. 2001. Occurence and fate of linear and branched alkylbenzenesulfonates and their metabolites in surface waters in the Philippines. *Sci. Total Environ.* 269:75-85.
45. Eichhorn, P., Knepper, T. P., Ventura, F., and Diaz, A. 2002a. The behavior of polar aromatic sulfonates during drinking water production: a case study on sulfophenyl carboxylates in two European waterworks. *Water Res.* 36:2179-2186.
46. Eichhorn, P., Rodrigues, S. V., Baumann, W., and Knepper, T. P. 2002b. Incomplete degradation of linear alkylbenzene sulfonate surfactants in brazilian surface waters and pursuit of their polar metabolites in drinking waters. *Sci. Tot. Environm.* 284:123-134.
47. Elsgaard, H., Petersen, S. O., and Debosz, K. 2001. Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. 2. Effects on soil microbiology as influenced by sewage sludge and incubation time. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:1664-1672.
48. Elsgaard, L., Pojana, G., Miraval, T., Eriksen, J., and Marcomini, A. 2003. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates in sulfate-leached soil mesocosms. *Chemosphere.* 50:929-937.
49. Eriksson, L., Steen, I., and Tendaj, M. 1992. Evaluation of sludge properties at an activated sludge plant. *Water Sci. Technol.* 25:251-265.
50. Eschenhagen, M., Schuppler, M., and Roske, I. 2003. Molecular characterization of the microbial community structure in two activated sludge systems for the advanced treatment of domestic effluents. *Water Res.* 37:3224-3232.

51. **Fauser, P., Vikelsøe, J., Sørensen, P. B., and Carlsen, L.** 2003. Phtalates, nonylphenols and LAS in an alternately operated wastewater treatment plant-fate modelling based on measured concentrations in wastewater and sludge. *Water Res.* 37:1288-1295.
52. **Federle, T. W., and Itrich, N. R.** 1997. Comprehensive approach for assessing the kinetics of primary and ultimate biodegradation of chemicals in activated sludge: application to linear alkylbenzene sulfonate. *Environ. Sci. Technol.* 31:1178-1184.
53. **Federle, T. W., and Schwab, B. S.** 1992. Mineralization of surfactants in anaerobic sediments of a laundromat wastewater pond. *Water Res.* 26:123-127.
54. **Feijtel, T. C. J., Matthijs, E., Rottiers, A., Rijs, G. B. J., Kiewiet, A., and de Nijs, A.** 1995. AIS/CESIO Environmental surfactant monitoring programme. Part 1: LAS monitoring study in "de Meern" sewage treatment plant and receiving river "Leidsche Rijn". *Chemosphere* 30:1053-1066.
55. **Field, J. A., Barber, L. B., Thurman, E. M., Moore, B. L., Lawrence, D. L., and Peake, D. A.** 1992. Fate of alkylbenzenesulfonates and diakyltetralinsulfonates in sewage-contaminated groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 26:1140-1148.
56. **Flemming, H. C., Wingender, J., Mayer, C., Korstgens, V., and Borchard, W.** 2000. Cohesiveness in biofilm matrix polymers. Pages 88-105 in *Community structure and co-operation in biofilms (59th symposium of the Society for general microbiology, Exeter)*. D. G. Allison, P. Gilbert, H. M. Lappin-Scott et M. Wilson, editors. Society for general microbiology, University Press, Cambridge.
57. **Fox, K., Holt, M., Daniel, M., Buckland, H., and Guymer, I.** 2000. Removal of linear alkylbenzene sulfonate from a small Yorkshire stream: contribution to GREAT-ER project #7. *Sci. Total Environ.* 251-252:265-275.
58. **Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., and Nielsen, P. H.** 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* 30:1749-1758.
59. **Fujita, M., Ike, M., goda, Y., Fujimoto, S., Toyoda, Y., and Miyagawa, K. I.** 1998. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of linear alkylbenzene sulfonate: development and field studies. *Environ. Sci. Technol.* 57:1143-1146.
60. **Ganaye, V., Keiding, K., Vogel, T. M., Viriot, M. L., and Block, J. C.** 1997. Evaluation of soil organic matter polarity by pyrene fluorescence spectrum variations. *Environ. Sci. Technol.* 31:2701-2706.
61. **Garcia, M. T., Campos, E., Dalmau, M., Ribosa, I., and Sanchez-Leal, J.** 2002. Structure-activity relationship for association of linear alkylbenzene sulfonates with activated sludge. *Chemosphere* 49:279-286.
62. **Gavala, H. N., and Ahring, B. K.** 2002. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates. *Biodegradation* 13:201-209.

63. Gejlsberg, B., Klinge, C., and Madsen, T. 2001. Mineralization of organic contaminants in sludge-soil mixtures. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:698-705.
64. González-Mazo, E., Honing, M., Barceló, D., and Gómez-Parra, A. 1997. Monitoring long-chain intermediate products from the degradation of linear alkylbenzene sulfonates in the marine environment by solid-phase extraction followed by liquid chromatography/ion spray mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 31:504-510.
65. González-Mazo, E., Forja, J. M., and Gomez-Parra, A. 1998. Fate and distribution of linear alkylbenzene sulfonates in the littoral environment. *Environ. Sci. Technol.* 32:1636-1641.
66. Gregor, J. E., Fenton, E., Brokenshire, G., Van Den Brink, P., and O'sullivan, B. 1996. Interactions of calcium and aluminium ions with alginate. *Water Res.* 30:1319-1324.
67. Grotenhuis, J. T. C., Smit, M., Van Lammeren, A. A. M., Stams, A. J. M., and Zehnder, A. J. B. 1991. Localization and quantification of extracellular polymers in methanogenic granular sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36:115-119.
68. Gschlößl, T., Michel, I., Heiter, M., Nerger, C., and Rehbein, V. 1997. Microscopic and enzymatic investigations on biofilms of wastewater treatment systems. *Water Sci. Technol.* 36:21-30.
69. Haggensen, F., Mogensen, A. S., Angelidaki, I., and Ahring, B. K. 2002. Anaerobic treatment of sludge: focusing on reduction of las concentration in sludge. *Wat. Sci. Technol.* 46:159-165.
70. Hampel, M., and Blasco, J. 2002. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate and one long-chain degradation intermediate, sulfophenyl carboxylic acid on early life-stages of seabream (*Sparus Aurata*). *Ecotox. Environ. Safe.* 51:53-59.
71. Hampel, M., Moreno-Garrido, I., Sobrino, C., Lubian, L. M., and Blasco, J. 2001. Acute toxicity of LAS homologues in marine microalgae: Esterase activity and inhibition growth as endpoints of toxicity. *Ecotox. Environ. Safe* 48:287-292.
72. Hand, V. C., and Williams, G. K. 1987. Structure-activity relationships for sorption of linear alkylbenzenesulfonates. *Environ. Sci. Technol.* 21:370-373.
73. Hand, V. C., and Williams, G. K. 1987. Structure-activity relationships for sorption of linear alkylbenzenesulfonates. *Environ. Sci. Technol.* 21:370-373.
74. Hand, V. C., Rapaport, R. A., and Pittinger, C. A. 1990. First validation of a model for the adsorption of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) to sediment and comparison to chronic effects data. *Chem.* 21:741-750.
75. Hand, V. C., Rapaport, R. A., and Pittinger, C. A. 1990. First validationof a model for the adsorption of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) to sediment and comparison to chronic effects data. *Chem.* 21:741-750.

76. Hansen, B., Fotel, F. L., Jensen, N. J., and Wittrup, L. 1997. Physiological effects of the detergent linear alkylbenzene sulphonate on blue mussel larvae (*Mytilus edulis*) in laboratory and mesocosm experiments. *Marine Biology* 128:627-637.
77. Hart, T. D., Chamberlain, A. H. L., Lynch, J. M., Newling, B., and McDonald, P. J. 1999. Astray field magnetic resonance study of water diffusion in bacterial exopolysaccharides. *Enzyme and Microbial Technology* 24:339-347.
78. Hartmann, L., and Mosebach, H. 1966. Adsorptionsversuche mit neuen Detergentien. *Tenside* 3:349-354.
79. Higgins, M. J., and Novak, J. T. 1997. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation. *J. Environ. Eng.* 123:479-485.
80. Hofer, R., Jeney, Z., and Bucher, F. 1995. Chronic effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and ammonia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry at water criteria limits. *Water Res.* 29:2725-2729.
81. Holt, M. S., Fox, K. K., Daniel, M., and Buckland, H. 2003. Linear alkylbenzene sulfonate and boron monitoring in four catchments in the UK contribution to GREAT-ER #11. *The Science of The Total Environment* 314-316:271-288.
82. Hrsak, D. 1996. Cometabolic transformation of linear alkylbenzenesulphonates by methanotrophs. *Water Research* 30:3092-3098.
83. Huang, Y., Latorre, A., Barceló, D., Garcia, J., Aguirre, P., Mujeriego, R., and Bayona, J. M. 2004. Factors affecting linear alkylbenzene sulfonates removal in subsurface flow constructed wetlands. *Environ. Sci. Technol.* 38:2657-2663.
84. Hwang, H., Fisher, S. W., Kim, K., Landrum, P. F., Larson, R. J., and Versteeg, D. J. 2003. Assessing the toxicity of dodecylbenzene sulfonate to the midge *Chironomus riparius* using body residues as the dose metric. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:302-312.
85. Iwabuchi, N., Sunairi, M., Urai, M., Itoh, C., Anzai, H., Nakajima, M., and Harayama, S. 2002. Extracellular polysaccharides of *Rhodococcus rhodochrous* S-2 stimulate the degradation of aromatic components in crude oil by indigenous marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*:2337-2343.
86. Jahn, A., and Nielsen, P. H. 1995. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from biofilms using a cation exchange resin. *Water Sci. Technol.* 32:157-164.
87. Jensen, J., and Sverdrup, L. E. 2002. Joint toxicity of linear alkylbenzene sulfonates and pyrene on *Folsomia fimetaria*. *Ecotox. Environ. Safe.* 52:75-81.
88. Jeon, C. O., Lee, D. S., and Park, J. M. 2003. Microbial communities in activated sludge performing enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 37:2195-2205.

89. Jiménez, L., Breen, A., Thomas, N., Federle, T. W., and Sayler, G. S. 1991. Mineralization of linear alkylbenzene sulfonate by a four-member aerobic bacterial consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1566-1569.
90. Johnsen, A. R., and Karlson, U. 2003. Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
91. Johnsen, A. R., Hausner, M., Schnell, A., and Wuertz, S. 2000. Evaluation of fluorescently labeled lectins for noninvasive localization of extracellular polymeric substances in *Sphingomonas* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3487-3491.
92. Jorand, F., Boué-Bigne, F., Block, J. C., and Urbain, V. 1998. Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances. *Water Sci. Technol.* 37:307-315.
93. Jorand, F., Zartarian, F., Thomas, F., Block, J.-C., Bottero, J.-Y., Villemin, G., Urbain, V., and Manem, J. 1995. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. *Water Res.* 29:1639-1647.
94. Juretschko, S., Timmermann, G., Schmid, M., Schleifer, K.-H., Pommerening-Röser, A., Koops, H.-P., and Wagner, M. 1998. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3042-3051.
95. Kämpfer, P., Erhart, R., Beimfohr, C., Böhringer, J., Wagner, M., and Amann, R. 1996. Characterization of bacterial communities from activated sludge: culture-dependent numerical identification versus *in situ* identification using group- and genus-specific rRNA-targeted oligonucleotides probes. *Microb. Ecol.* 32:101-121.
96. Keiding, K., and Nielsen, P. H. 1997. Desorption of organic macromolecules from activated sludge: effect of ionic composition. *Water Res.* 31:1665-1672.
97. Kerr, K. M., Larson, R. J., and McAvoy, D. C. 2000. Evaluation of an inactivation procedure for determining the sorption of organic compounds to activated sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 47:314-322.
98. Kimerle, R. A., and Swisher, R. D. 1977. Reduction of aquatic toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by biodegradation. *Water Research* 11:31-37.
99. Kolbener, P., Baumann, U., Leisinger, T., and Cook, A. M. 1995. Nondegraded metabolites arising from the biodegradation of commercial linear alkylbenzenesulfonate (LAS) surfactants in a laboratory trickling filter. *Environ. Toxicol. Chem.* 14:561-569.
100. Krueger, C. J., Barber, L. B., Metge, D. W., and Field, J. A. 1998. Fate and transport of linear alkylbenzenesulfonate in a sewage-contaminated aquifer: a comparison of natural-gradient pulsed tracer tests. *32:1134-1142.*
101. Larson, R. J. 1990. Structure-activity relationships for biodegradation of linear alkylbenzenesulfonates. *Environ. Sci. Technol.* 24:1241-1246.

102. Larson, R. J., and Payne, A. G. 1981. Fate of the benzene ring of linear alkylbenzene sulfonate in natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 41:621-627.
103. Lawrence, J. R., Neu, T. R., and Swerhone, G. D. W. 1998. Application of multiple parameter imaging for the quantification of algal, bacterial and exopolymer components of microbial biofilms. *J. Microbiol. Meth.* 32:253-261.
104. Lee, C., Russell, N. J., and White, G. F. 1995. Modelling the kinetics of biodegradation of anionic surfactants by biofilm bacteria from polluted riverine sites: A comparison of five classes of surfactant at three sites. *Water Res.* 29:2491-2497.
105. Leon, V. M., Saez, M., Gonzales-Mazo, E., and Gomez-Parra, A. 2002. Occurrence and distribution of linear alkylbenzene sulfonates and sulfophenylcarboxylic acids in several Iberian littoral ecosystems. *Sci. Total Environ.* 288:215-226.
106. Leon, V. M., Gomez-Parra, A., and Gonzales-Mazo, E. 2004. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates in seawater. *Environ. Sci. Technol.* 38:2359-2367.
107. Lewis, M. A. 1991. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: A review and risk assessment. *Water Res.* 25:101-113.
108. Lewis, M. A. 1992. The effects of mixtures and other environmental modifying factors on the toxicities of surfactants to freshwater and marine life. *Water Res.* 26:1013-1023.
109. Li, D., and Ganczarczyk, J. 1991. Size distribution of activated sludge flocs. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.* 63:806-814.
110. Liao, B. Q., Allen, D. G., Leppard, G. G., Droppo, I. G., and Liss, S. N. 2002. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. *Journal of Colloid and Interface Science* 249:372-380.
111. Liss, S. N., Droppo, I. G., and Flannigan, D. T. 1996. Floc architecture in wastewater and natural riverine systems. *Environ. Sci. Technol.* 30:680-686.
112. Liu, H., and Fang, H. H. P. 2002. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *J. Biotechnol.* 95:249-256.
113. Liu, Y., Yang, S.-F., and Tay, J.-H. 2003. Elemental compositions and characteristics of aerobic granules cultivated at different substrate N/C ratios. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
114. Lunar, L., Rubio, S., and Perez-Bendito, D. 2004. Differentiation and quantification of linear alkyl benzenesulfonate isomers by liquid chromatography-ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1031:17-25.
115. Madsen, T., and Rasmussen, H. B. 1996. A method for screening the potential toxicity of organic chemicals to methanogenic gas production. *Wat. Sci. Technol.* 33:213-220.

116. **Marchesi, J. R., House, W. A., White, G. F., Russell, N. J., and Farr, I. S.** 1991. A comparative study of the adsorption of linear alkyl sulphates and alkylbenzene sulphonates on river sediments. *Colloid Surface B* 53:63-78.
117. **Martinez, J., Vives-Rego, J., and Sanchez-Leal, J.** 1989. The effect of chemical structure and molecular weight of commercial alkylbenzenes on the toxic response of daphnia and naturally occurring bacteria in fresh and seawater. *Water Res.* 23:569-572.
118. **Matthijs, E., and de Henau, H.** 1985. Adsorption and desorption of LAS. *Tenside Surfact. Det.* 22:299-304.
119. **Matthijs, E., and de Henau, H.** 1987. Determination of LAS. *Tenside Surfact. Det.* 4:193-199.
120. **McAvoy, D. C., Eckhoff, W. S., and Rapaport, R. A.** 1993. Fate of linear alkylbenzene sulfonate in the environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 12:977-987.
121. **McAvoy, D. C., DeCarvalho, A. J., Nielsen, A. M., and Cano, M. L.** 2002. Investigation of an onsite wastewater treatment system in sandy soil: modeling the fate of surfactants. *Environ. Toxicol. Chem.* 21:2623-2630.
122. **McEvoy, J., and Giger, W.** 1986. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in sewage sludge by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 20:376-383.
123. **Mobarry, B. K., Wagner, M., Urbain, V., Rittmann, B. E., and Stahl, D. A.** 1996. Phylogenetic probes for analysing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:2156-2162.
124. **Modler, R., Gubler, R., and Inogushi, Y.** (Editors). 2003. Chemical Economics Handbook.
125. **Mogensen, A. S., Haagensen, F., and Ahring, B. K.** 2002. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:706-711.
126. **Morales-Muñoz, S., Luque-Garcia, J. L., and Luque de Castro, M. D.** 2004. Screening method for linear alkylbenzene sulfonates in sediments based on water Soxhlet extraction assisted by focused microwaves with on-line preconcentration/derivatization/detection. *J. Chromatogr. A* 1026:41-46.
127. **Moreno, A., Ferrer, J., Berna, J. L., and Cavalli, L.** 1998. Effect of the alkyl chain and concentration of linear alkylbenzene sulfonate on biodegradation kinetics. *Tenside Surfact. Det.* 35:375-378.
128. **Moreno-Garrido, I., Hampel, M., Lubián, L. M., and Blasco, J.** 2001. Marine microalgae toxicity test for linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and alkylpenol ethoxylate (APEO). *Fresenius J. Anal. Chem.* 371:474-478.

129. Mortensen, G. K., Egsgaard, H., Ambus, P., Jensen, E. S., and Gron, C. 2001. Influence of plant growth on degradation of linear alkylbenzene sulfonate in sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.* 30:1266-1270.
130. Mösche, M., and Meyer, U. 2002. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic digestion: influence of exposure time. *Water Res.* 36:3253-3260.
131. Mösche, M., and Meyer, U. 2002. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic digestion: influence of exposure time. *Water Res.* 36:3253-3260.
132. Nagel, P., Urtubia, A., Aroca, G., Chamy, R., and Schiappacasse. 1999. Methanogenic toxicity and anaerobic biodegradation of chemical products in use in a brewery. *Wat. Sci. Technol.* 40:169-176.
133. Nakae, A., Tsuji, K., and Yamanaka, M. 1981. Determination of alkyl chain distribution of alkylbenzenesulfonates by liquid chromatography. *Anal. Chem.* 53:1818-1821.
134. Navas, J. M., González-Mazo, E., Wenzel, A., Gómez-Parra, A., and Segner, H. 1999. Linear alkylbenzene sulfonates and intermediate products from their degradation are not estrogenic. *Mar. Pol. Bul.* 38:880-884.
135. Neu, T. R., and Lawrence, J. R. 1999. In situ characterization of extracellular polymeric substances (EPS) in biofilm systems. Pages 22-47 in *Microbial extracellular substances : characterization; structure and function*. J. Wingender, T. R. Neu et H.-C. Flemming, editors. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
136. Nielsen, P. H., Andreasen, K., Lee, N., and Wagner, M. 1999. Use of microautoradiography and fluorescent in situ hybridization for characterization of microbial activity in activated sludge. *Water Sci. Technol.* 39:1-9.
137. Novak, J. T., Muller, C. D., and Murthy, S. N. 2001. Floc structure and the role of cations. *Water Sci. Technol.* 44:209-213.
138. Olofsson, A.-C., A., Z., and Hermansson, M. 1998. Floc stability and adhesion of green-fluorescent-protein-marked bacteria to flocs in activated sludge. *Microbiology* 144:519-528.
139. Ou, Z., Yediler, A., He, Y., Jia, L., Kettrup, A., and Sun, T. 1996. Adsorption of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on soils. *Chemosphere* 32:827-839.
140. Perales, J. A., Manzano, M. A., Sales, D., and Quiroga, J. A. 1999. Biodegradation kinetics of LAS in river water. *Int. Biodeter. Biodegr.* 43:155-160.
141. Petersen, S., and Kusk, K. O. 2000. Photosynthesis tests as an alternative to growth tests for hazard assessment of toxicant. *Arch. Environ. Con. Tox.* 38:152-157.
142. Prats, D., Ruiz, F., Vázquez, B., and Zarzo, D. 1993. LAS homolog distribution shift during wastewater treatment and composting: ecological implications. *Environ. Toxicol. Chem.* 12:1599-1608.

143. **Prats, D., Ruiz, F., Vazquez, B., and Rodriguez-Pastor, M.** 1997. Removal of anionic and nonionic surfactants in a wastewater treatment plant with anaerobic digestion. A comparative study. *Water Res.* 31:1925-1930.
144. **Rapaport, R. A., and Eckhoff, W. S.** 1990. Monitoring linear benzene sulfonate in the environment: 1973-1986. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:1245-1257.
145. **Rickard, A. H., Leach, S. A., Buswell, C. M., High, N. J., and Handley, P. S.** 2000. Coaggregation between aquatic bacteria is mediated by specific-growth-phase-dependent lectin-saccharide interactions. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:431-434.
146. **Roberson, E. B., and Firestone, M. K.** 1992. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1284-1291.
147. **Rosen, M. J., Li, F., Morrall, S. W., and Versteeg, D. J.** 2001. The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organisms. *Environ. Sci. Technol.* 35:954-959.
148. **Routledge, E. J., and Sumpter, J. P.** 1995. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:241-248.
149. **Ruiz, F. J., Rubio, S., and Perez-Bendito, D.** 2004. Potential of coacervation processes for the extraction of amphiphiles (linear alkyl benzenesulphonates) from sewage sludge samples prior to liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1030:109-115.
150. **Sáez, M., León, V. M., Gómez-Parra, A., and González-Mazo, E.** 2000. Extraction and isolation of linear alkylbenzene sulfonates and their intermediate metabolites from various marine organisms. *J. Chromatogr. A* 889:99-104.
151. **Sáez, M., Gomez-Parra, A., and Gonzales-Mazo, E.** 2001. Bioconcentration of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates in marine algae. *Fresenius J. Anal. Chem.* 371:486-490.
152. **Sánchez Leal, J., Garcíá, M. T., Tomás, R., Ferrer, J., and Bengoechea, C.** 1994. Linear alkylbenzene sulfonate removal. *Tenside Surfact. Det.* 31:253-256.
153. **Sanin, D., and Vesilind, P. A.** 2000. Bioflocculation of activated sludge: the role of calcium ions and extracellular polymers. *Environ. Technol.* 21:1405-1412.
154. **Sanz, J. L., Culubret, E., de Ferrer, J., Moreno, A., and Berna, J. L.** 2003. Anaerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biodegradation* 14:57-64.
155. **Sarrazin, L., Arnoux, A., and Rebouillon, P.** 1997a. High-performance liquid chromatographic analysis of a linear alkylbenzenesulfonate and its environmental biodegradation metabolites. *J. Chromatogr. A* 760:285-291.

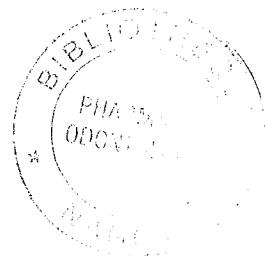
156. **Sarrazin, L., Arnoux, A., Rebouillon, P., and Monod, J. L.** 1997b. Biodegradation of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in briny water and identification of metabolites using HPLC analysis by direct injection of samples. *Toxicolog. Environ. Chem.* 58:209-216.
157. **Sarrazin, L., Limouzin-Maire, Y., and Rebouillon, P.** 1999a. Evaluation of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) biodegradability in sediment by solid-phase extraction and HPLC analysis. *Environ. Toxicol. Chem.* 69:487-498.
158. **Sarrazin, L., Wafo, W., and Rebouillon, P.** 1999b. Determination of a linear alkylbenzenesulfonate and its biodegradation intermediates in sea water using solid-phase extraction and RP-HPLC with UV detection. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 22:2511-2524.
159. **Schmid, M., Thill, A., Purkhold, U., Walcher, M., Bottero, J. Y., Ginestet, P., Nielsen, P. H., Wuertz, S., and Wagner, M.** 2003. Characterization of activated sludge flocs by confocal laser scanning microscopy and image analysis. *Water Res.* 37:2043-2052.
160. **Schramm, A., Larsen, L. H., Revsbech, N. P., Ramsing, N. B., Amann, R., and Schleifer, K.-H.** 1996. Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:4641-4647.
161. **Schramm, A., De Beer, D., Wagner, M., and Amann, R.** 1998. Identification and activities *in situ* of *Nitrosospira* spp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3480-3485.
162. **Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., and Imboden, D. M.** 1993. Chap. 11: Sorption: solid-aqueous solution exchange. Pages 255-341 in *Environmental organic chemistry*. R. P. Schwarzenbach, P. M. Gschwend and D. M. Imboden, editors. J. Wiley, New York.
163. **Shcherbakova, V. A., Laurinavichius, K. S., and Akimenko, V. K.** 1999. Toxic effect of surfactants and probable products of their biodegradation on methanogenesis in an anaerobic microbial community. *Chemosphere* 39:1861-1870.
164. **Sigoillot, J. C., and Nguyen, M. H.** 1987. Dégradation d'un tensio-actif commercial, en présence d'une source complémentaire de carbone, par une communauté bactérienne sélectionnée en milieu marin. *Can. J. Microbiol.* 33:929-932.
165. **Sirisattha, S., Momose, Y., Kitagawa, E., and Iwahashi, H.** 2004. Toxicity of anionic detergents determined by *Saccharomyces cerevisiae* microarray analysis. *Water Res.* 38:61-70.
166. **Solon, J. M., Lincer, J. L., and Nair, I., John H.** 1969. The effect of sublethal concentration of LAS on the acute toxicity of various insecticides to the fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque). *Water Res.* 3:767-775.

167. **Sponza, D. T.** 2002. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady- and unsteady-state activated sludge systems. *Process Biochem.* 37:983-998.
168. **Sponza, D. T.** 2003. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb. Tech.* 32:375-385.
169. **Struijs, J., Stoltenkamp, J., and van de Meent, D.** 1991. A spreadsheet-based box model to predict the fate of xenobiotics in a municipal wastewater treatment plant. *Water Res.* 25:891-900.
170. **Takada, H., and Ishiwatari, R.** 1987. Linear alkylbenzenes in urban riverine environments in Tokyo: distribution, source, and behaviour. *Environ. Sci. Technol.* 21:875-833.
171. **Takada, H., Ogura, N., and Ishiwatari, R.** 1992. Seasonal variations and modes of riverine input of organic pollutants to the coastal zone :1. flux of detergent-derived pollutants to Tokyo bay. *Environ. Sci. Technol.* 26:2517-2523.
172. **Takada, H., Mutoh, K., Tomita, N., Miyadzu, T., and Ogura, N.** 1994. Rapid removal of linear alkylbenzenesulfonates (LAS) by attached biofilm in an urban shallow stream. *Water Res.* 28:1953-1960.
173. **Tanaka, Y., and Nakanishi, J.** 2001. Effect of linear alkylbenzene sulfonate on population growth of *Daphnia galeata*: a life table evaluation. *Environ. Toxicol.* 16:344-348.
174. **Tay, J.-H., Liu, Q.-S., and Liu, Y.** 2001. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules. *Lett. Appl. Microbiol.* 33:222-226.
175. **Temmink, H., and Klapwijk, B.** 2004. Fate of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in activated sludge plants. *Water Res.* 38:903-912.
176. **Terzic, S., and Ahel, M.** 1994. Input and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in a stratified estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 28:735-740.
177. **Thoumelin, G.** 1995. Les tensio-actifs (LAS, APE) dans les eaux douces et marines. Ifremer édition. Centre de Brest, Plouzané.
178. **Toh, S. K., Tay, J. H., Moy, B. Y. P., Ivanov, V., and Tay, S. T. L.** 2003. Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:687-695.
179. **Tolls, J., Haller, M., de Graaf, I., Thijssen, M. A. T. C., and Sijm, D. T. H. M.** 1997. Bioconcentration of LAS: experimental determination and extrapolation to environmental mixtures. *Environ. Sci. Technol.* 31:3426-3431.
180. **Tolls, J., Haller, M., Seinen, W., and Sijm, D. T. H. M.** 2000a. LAS bioconcentration : tissue distribution and effect of hardness; implications for processes. *Environ. Sci. Technol.* 34:304-310.

181. Tolls, J., Lehmann, M. P., and Sijm, D. T. H. M. 2000b. Quantification of in vivo biotransformation of the anionic surfactant C12-2-linear alkylbenzene sulfonate in fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.* 19:2349-2400.
182. Tolls, J., Samperi, R., and Di Corcia, A. 2003. Bioaccumulation of LAS in feral fish studied by a novel LC-MS/MS method. *Environ. Sci. Technol.* 37:314-320.
183. Traina, S. J., McAvoy, D. C., and Versteeg, D. J. 1996. Association of linear alkylbenzenesulfonates with dissolved humic substances and its effect on bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 30:1300-1309.
184. Trehy, M. L., Gledhill, W. E., Mieure, J. P., Adamove, J. E., Nielsen, A. M., Perkins, H. O., and Eckhoff, W. S. 1996. Environmental monitoring for linear alkylbenzene sulfonates, dialkyltetralin sulfonates and their biodegradation intermediates. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:233-240.
185. Tsuneda, S., Aikawa, H., Hayashi, H., Yuasa, A., and Hirata, A. 2003. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. *FEMS Microbiology Letters* 223:287-292.
186. Urano, K., and Saito, M. 1984a. Adsorption of surfactants on microbiologies. *Chemosphere* 13:285-292.
187. Urano, K., Saito, M., and Murata, C. 1984b. Adsorption of surfactants on sediments. *Chemosphere* 13:293-300.
188. Urbain, V., Block, J.-C., and Manem, J. 1993a. Bioflocculation in activated sludge : an analytic approach. *Water Res.* 27:829-838.
189. Urbain, V., Pys, E., Block, J.-C., and Manem, J. 1993b. Composition and activity of activated sludge under starvation conditions. *Environ. Technol.* 14:731-740.
190. Utsunomiya, A., Watanuki, T., Matsushita, K., Nishina, M., and Tomita, I. 1997. Assessment of the toxicity of linear alkylbenzene sulfonate and quaternary alkylammonium chloride by measuring <sup>13</sup>C-glycerol in Dunaliella sp. *Chemosphere* 35:2479-2490.
191. Verge, C., Moreno, A., Bravo, J., and Berna, J. L. 2001. Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulphonate (LAS). *Chemosphere* 44:1749-1757.
192. Vidal, O., Longin, R., Prigent-Combaret, C., Dorel, C., Hooreman, M., and Lejeune, P. 1998. Isolation of an *Escherichia coli* K-12 mutant strain able to form biofilms on inert surfaces: Involvement of a new *ompR* allele that increases curli expression. *J. Bacteriol.* 180:2442-2449.
193. Wagener, S., and Schink, B. 1987. Anaerobic degradation of nonionic and anionic surfactants in enrichment cultures and fixed-bed reactors. *Water Res.* 21:615-622.

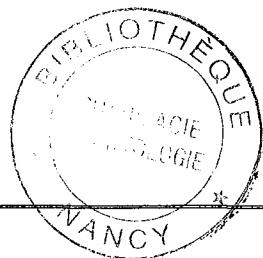
194. Wagner, M., Rath, G., Koops, H.-P., Flood, J., and Amann, R. 1996. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Water Sci. Technol.* 34:237-244.
195. Wang, Y., Zhang, M., and Liu, W. 2001. A fluorescence detector for the quantitative analysis of linear alkylbenzene sulfonate in wastewater samples. *Am. Lab.* 33:38-39.
196. Waters, J., and Feijtel, T. C. J. 1995. AIS+/CESIO+ environmental surfactant monitoring programme: outcome of five national pilot studies on linear alkylbenzene sulphonate (LAS). *Chemosphere* 30:1939-1956.
197. Westall, J. C., Chen, H., Zhang, W., and Brownawell, B. J. 1999. Sorption of linear alkylbenzenesulfonates on sediment materials. *Environ. Sci. Technol.* 33:3110-3118.
198. Wick, L. Y., Wattiau, P., and Harms, H. 2002. Influence of the growth substrate on the mycolic acid profiles on mycobacteria. *Environ. Microbiol.* 4:612-616.
199. Wicker-Böckelmann, U., Wingender, J., and Winkler, U. K. 1987. Alginate lyase releases cell-bound lipase from mucoid strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 266:379-389.
200. Wilen, B.-M., Jin, B., and Lant, P. 2003. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. *Water Res.* 37:2127-2139.
201. Wingender, J. 1990. Interactions of alginate with exoenzymes. in *Pseudomonas infection and alginates : Biochemistry; genetics and pathology*. P. Gacesa et al., editors., 160-180.
202. Wingender, J., and Winkler, U. K. 1984. A novel biological function of alginate in *Pseudomonas aeruginosa* and its mucoid mutants : stimulation of exolipase. *FEMS Microbiol. Lett.* 21:63-69.
203. Wingender, J., Volz, S., and Winkler, U. K. 1987. Interaction of extracellular *Pseudomonas* lipase with alginate and its potential use in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27:139-145.
204. Wolfaardt, G. M., Lawrence, J. R., Headley, J. V., Robarts, R. D., and Caldwell, D. E. 1994. Microbial exopolymers provide a mechanism for bioaccumulation of contaminants. *Microb. Ecol.* 27:279-291.
205. Wolfaardt, G. M., Lawrence, J. R., Robarts, R. D., and Caldwell, D. E. 1995. Bioaccumulation of the herbicide diclofop in extracellular polymers and its utilization by a biofilm community during starvation. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:152-158.
206. Wolfaardt, G. M., Lawrence, J. R., Robarts, R. D., and Caldwell, D. E. 1998. In situ characterization of biofilm exopolymers involved in the accumulation of chlorination organics. *Microb. Ecol.* 35:213-223.

207. Yamane, A. N., Okada, M., and Sudo, R. 1984. The growth inhibition of planktonic algae due to surfactants used in washing agents. *Water Res.* 18:1101-1105.
208. Yan, G. A., Jiang, J. W., Wu, G., and Yan, X. 1998. Disappearance of linear alkylbenzene sulfonate from different cultures with *Anabaena* sp. HB 1017. *B. Environ. Contam. Tox.* 60:329-334.
209. Yuan, Z., and Blackall, L. L. 2002. Sludge population optimisation: a new dimension for the control of biological wastewater treatment systems. *Water Res.* 36:482-490.
210. Zita, A., and Hermansson, M. 1997a. Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. *FEMS Microbiol. Ecol.* 152:299-306.
211. Zita, A., and Hermansson, M. 1997b. Effects of bacterial cell surface structures and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:1168-1170.





## DEMANDE D'IMPRIMATUR

DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR  
EN PHARMACIEprésenté par **Aurore CADORET**Sujet:

Devenir des sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) dans les milieux environnementaux : adsorption, biodégradation et transport par les agrégats bactériens.

Jury:

Président : M. Jean-Claude BLOCK (Pr., UHP)

Juges : M. Frédéric JORAND (MCF, UHP)

M<sup>me</sup> Emmanuelle MONTARGES-PELLETIER (CR2,  
CNRS, INPL)M<sup>me</sup> Maria WELLMAN-ROUSSEAU (MCF, UHP)

Le Président du Jury

Le Directeur de thèse

**Jean-Claude BLOCK**  
Professeur

Vu et approuvé,

Nancy, le 13 Septembre 2004

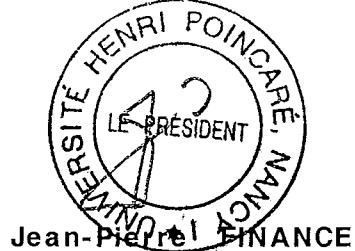
Doyen de la Faculté de Pharmacie  
de l'Université Henri Poincaré – Nancy 1,

N° 2013

Vu,

Nancy, le 15 septembre 04

Le Président de de l'Université Henri Poincaré – Nancy 1,





Impression réalisée  
par le Service de Reprographie  
de la Faculté de Pharmacie de Nancy



Devenir des sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) dans les milieux environnementaux.

Thèse soutenue le 30 septembre 2004

Par Aurore Cadoret

RESUME :

Les sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS) sont des tensio-actifs dont l'utilisation est largement répandue dans les détergents car ils sont considérés comme hautement biodégradables. En effet, les traitements d'épuration biologique à boues activées permettent une élimination de 99 % en moyenne de LAS des effluents urbains (hors période de dysfonctionnement), résultant à la fois de la biodégradation microbienne et de leur adsorption au sein des agrégats bactériens. De par leur caractère hydrophobe, les LAS s'accumulent dans les phases solides, comme les boues d'épuration ( $0,1$  à  $10$  g.kg $^{-1}$ ), dont la destination ultime est la valorisation agricole.

Les LAS sont présents de manière ubiquitaire dans l'environnement sous forme d'un mélange complexe d'homologues et d'intermédiaires de biodégradation : dans les eaux douces ( $0,01$  à  $1$  mg.L $^{-1}$ ), dans les eaux marines ( $< 0,1$  mg.L $^{-1}$ ) et dans les sols et les sédiments ( $1$  à  $500$  µg.g $^{-1}$ ).

Les valeurs de toxicité aiguë des LAS ont été déterminées pour quelques organismes, aquatiques principalement. La CL50 est de  $0,9$  à  $500$  mg.L $^{-1}$  pour les algues, de  $0,6$  à  $30$  mg.L $^{-1}$  pour les daphnies et  $0,7$  à  $18$  mg.L $^{-1}$  pour les poissons. La toxicité chronique de ces molécules est très peu documentée.

Le devenir des LAS dans les milieux environnementaux, et par conséquent leurs éventuels effets toxiques, dépendent de nombreux paramètres :

- la présence d'un mélange d'homologues et de métabolites ayant des propriétés d'adsorption et de précipitation en présence de calcium différentes
- les échanges entre les différentes phases (aqueuse et solide) et le transport par les agrégats bactériens
- l'existence de zones anaérobies limitant considérablement la biodégradation
- la présence d'autres molécules toxiques et l'éventuelle synergie de leur action

Etant donné la consommation croissante de ces molécules, il semble nécessaire de tenir compte de ces paramètres dans la démarche d'évaluation du risque dû à la présence de LAS dans l'environnement.

MOTS CLEFS : sulfonates d'alkylbenzène linéaires (LAS), tensio-actifs, boues activées

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Jean-Claude Block (Pr., UHP)	LCPME-UMR 7564,CNRS-UHP, Nancy 1 Pôle de l'eau	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème 2

Thèmes

1-Sciences fondamentales  
3-Médicament  
5-Biologie

2-Hygiène/Environnement  
4-Alimentation-Nutrition  
6-Pratique professionnelle