

Thème Perturbateurs endocriniens, action 2e

Alkylphénols et Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les eaux du bassin de l'Orge Aval. Quantification et faisabilité du suivi de la contamination par échantillonnage passif

Johnny Gasperi^{1*}, Catherine Lorgeoux¹, Catherine Gourlay^{2*},
Emmanuelle Kuhn², Régis Moilleron¹

1. Université Paris-Est, Cereve, UMR-MA102 -AgroParisTech, 61 avenue du Gal de Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France, *gasperi@univ-paris12.fr
2. Cemagref - HBAN, Parc de Tourvoie BP 44, 92163 Antony Cedex, France, *catherine.gourlay@cemagref.fr

I.	Introduction.....	1
	I.1 Contexte environnemental.....	1
	I.2 Objectifs de l'étude.....	2
II.	Alkylphénols et alkylphénols éthoxylés	3
	II.1 Synthèse bibliographique.....	3
	II.2 Protocole analytique	7
III.	Echantillonneurs passifs	9
	III.1 Principe et fonctionnement des échantillonneurs passifs.....	9
	III.2 Mise en œuvre des échantillonneurs passifs sur le bassin de l'Orge Aval.....	10
	III.3 Traitement des échantillonneurs passifs au laboratoire	10
IV.	Résultats et discussions.....	11
	IV.1 Faisabilité du suivi sur le bassin versant de l'Orge.....	11
	IV.2 Concentrations en AP et HAP des phases dissoutes	11
	IV.3 Concentration en HAP « dissous libre ».....	14
	IV.4 Faisabilité du suivi des AP au moyen d'échantillonneur passif.....	16
V.	Premières conclusions et perspectives.....	17
VI.	Références.....	18

I. Introduction

I.1 Contexte environnemental

Après la publication de certains travaux soulignant le danger pour l'homme et la faune de certaines substances chimiques sur la reproduction et le développement (Jobling *et al.*, 1996 Servos, 1999, Mougin et Cravedi, 2003, Marcial *et al.*, 2003), les perturbations endocrines induites par des xénobiotiques sont aujourd'hui au cœur des préoccupations scientifiques.

Les perturbateurs endocriniens peuvent être d'origine naturelle (hormones naturelles) ou synthétique (hormones de synthèses et certains produits chimiques). Parmi les substances chimiques communément incriminées, on retrouve dans l'environnement les dioxines, les

phtalates, les polybromodiphényléthers, les alkylphénols (AP) et certains Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

Bien que ces différentes familles de contaminants ne présentent pas le même potentiel œstrogénique, le Cereve en collaboration avec le Cemagref a décidé de s'intéresser à deux familles de contaminants dans le cadre de la phase V du programme PIREN-Seine : les AP et les HAP (thème perturbateurs endocriniens, actions 2e).

Les AP sont des substances chimiques non-halogénées fabriquées presque exclusivement pour produire des alkylphénols polyéthoxylés (APnEO) une famille de composés largement utilisés comme surfactants (ou tensio-actifs) non-anioniques. Des études récentes ont démontré leur ubiquité dans l'environnement (Ying *et al.*, 2002) mais aussi leur potentiel toxicologique en tant que perturbateur endocrinien (Mougin et Cravedi, 2003). Actuellement les connaissances sur les AP et APnEO sur la partie amont du bassin de la Seine sont très limitées voire inexistantes. L'étude de ces polluants présente donc un intérêt scientifique important. Afin d'appréhender leur origine et leur devenir dans le milieu naturel, une brève synthèse bibliographique est proposée dans la suite de ce rapport (paragraphe 2.1).

Les HAP présents dans l'environnement sont issus des produits dérivés de combustibles fossiles (goudron, coke, huile, carburants, etc.) et de leur combustion incomplète à travers le trafic routier ou certains procédés industriels. C'est pour ces raisons qu'ils sont généralement considérés comme des indicateurs caractéristiques d'un bassin versant soumis à des pressions urbaines importantes (Gasperi, 2006). Les travaux réalisés au cours de la phase IV se sont intéressés au suivi de la contamination en HAP au moyen d'échantillonneurs intégratifs tels que les SPMD - Semi-Permeable Membrane Devices – (Tusseau *et al.*, 2007, Lorgeoux *et al.*, 2004 et 2005). Cette technique permet d'une part d'échantillonner les contaminants organiques hydrophobes (dont les HAP) sur une longue durée (jusque 1 mois) et par conséquent d'avoir une moyenne de la contamination, et d'autre part de se rapprocher de la contamination biodisponible dans la colonne d'eau (Gourlay *et al.*, 2005). Fort du développement méthodologique réalisé et afin de compléter les premières données acquises sur la fraction de HAP « dissous libre », le suivi de la contamination en HAP selon cette approche a été reconduit dans le cadre de la cinquième phase.

I.2 Objectifs de l'étude

Ainsi, les travaux engagés au cours de la phase V ont pour but la mise en œuvre du suivi de la contamination en AP et HAP dans les eaux du bassin de l'Orge Aval. Les objectifs sont plus précisément :

- d'évaluer les niveaux de concentrations en AP et HAP sur le bassin de l'Orge Aval pour différents compartiments environnementaux (eaux de surface et sédiments),
- de déterminer la fraction de HAP « dissous libres » dans les eaux de surface,
- et d'étudier la faisabilité du suivi de la contamination en AP au moyen d'échantillonneurs passifs tels que les SPMD et les membranes en polymères.

Pour les alkylphénols, les travaux réalisés en 2007 avaient principalement pour but de vérifier la présence des alkylphénols dans les eaux de surface et d'observer (ou non) l'accumulation de ces composés au moyen d'échantillonneurs passifs.

Pour répondre à ces objectifs, une campagne d'échantillonnage a été réalisée sur le bassin versant de l'Orge, bassin défini comme site atelier par le programme PIREN-Seine (Figure 1). Ce bassin s'étend sur 940 km² et présente une population supérieure à 700 000 habitants. Il est très largement assaini par un système séparatif et dont l'essentiel des eaux usées est évacué

puis traité en dehors du bassin versant. La forte pression du système d'assainissement pluvial constitue une des principales spécificités de cet hydrosystème.

Cinq sites ont été sélectionnés sur le bassin versant de l'Orge (Figure 1). Ces sites correspondent respectivement à l'aval de l'Orge à Athis-Mons (1), à un site aval de l'Yvette (2), à l'amont de la confluence Orge – Yvette (3), à l'amont de la confluence Orge – Rémarde (4) et l'aval de l'étang de Vaugrigneuse sur la Prédecelle (5). Ce dernier site est très impacté par la station d'épuration (STEP) de Bris-sous-Forges située à 1 km en amont. En période d'étiage, les rejets de la STEP peuvent en effet constituer le débit initial de la rivière.

Bassin versant de l'Orge

Réseau hydrographique

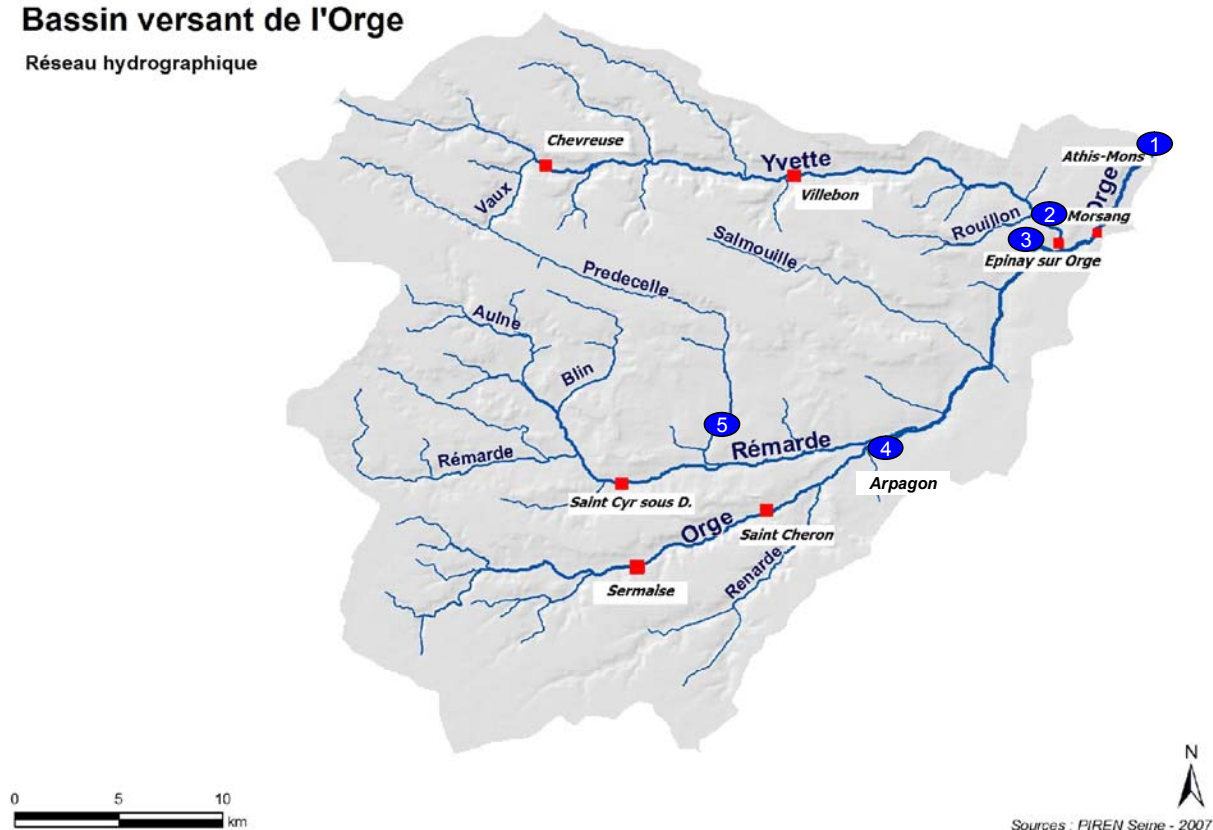


Figure 1 : Réseau hydrographique du bassin versant de l'Orge

Sur chacun de ces sites, ont été placées des SPMD et des membranes en polydiméthylsiloxane (PDMS) pour une durée de 15 jours. Des échantillons ponctuels d'eaux de surface ($V = 2,5$ L) ont été prélevés lors des 3 interventions (à la pause des échantillonneurs passifs au jour j , à leur nettoyage à $j + 7$ et à leur retrait à $j + 14$) en vue d'analyser les polluants organiques sur les phases dissoutes et particulaires et de mesurer des paramètres globaux (MES, COD et COP). Des sédiments ont été également prélevés sur les 5 sites lors de la première campagne d'échantillonnage.

II. Alkylphénols et alkylphénols éthoxylés

II.1 Synthèse bibliographique

Contrairement aux HAP qui sont étudiés depuis quelques années dans le cadre du PIREN (Motelay-Massei *et al.*, 2005, Lorgeoux *et al.*, 2004 et 2005), les alkylphénols (AP) et les alkylphénols polyéthoxylés (APnEO) font leur apparition. Afin de mieux connaître ces composés, il est apparu nécessaire pour ce premier rapport de faire un point bibliographique

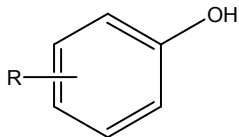
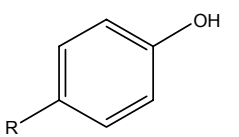
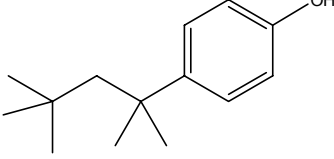
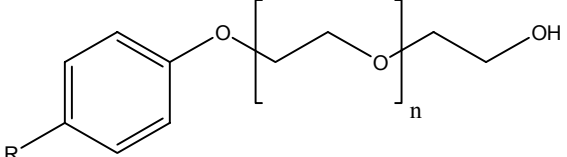
sur l'origine de ces composés, leur mécanisme de dégradation et de préciser leurs niveaux de concentrations rencontrés dans l'environnement.

➤ Origine des AP et des APnEO

Bien que d'autres alkylphénols tels que les propyl-, butyl-, pentyl-, hexylphénols existent, le terme alkylphénols fait communément référence à deux groupes de composés : les nonyl- et les octylphénols (NP et OP, respectivement). Ces composés représentent à eux seuls 95% des alkylphénols utilisés dans l'industrie. Ils correspondent à des substances chimiques non-halogénées fabriquées presque exclusivement pour produire des alkylphénols polyéthoxylés (APnEO) une famille de composés largement utilisés comme surfactants non-anioniques. Les groupes de composés octyl- et nonylphénols désignent eux-mêmes un grand nombre de composés isomères puisque le groupement octyl ou nonyl peut être ramifié ou linéaire (n) et situé dans les positions 2-, 3- ou 4- (para) sur l'anneau de benzène (Tableau 1).

Parmi les différents isomères possibles du nonylphénol, le 4-nonylphénol (mélange de nonylphénols à chaîne ramifiée substituée en position 4) représente la grande majorité des nonylphénols (environ 80% selon Ying *et al.*, 2002) dans les mélanges techniques commerciaux. De même, le 4-tert-octylphénol est le seul parmi les isomères potentiels des octylphénols à intervenir dans des applications commerciales.

Tableau 1 : Structures chimiques des nonyl- et octylphénols

Alkylphénols	4-nonylphénol	4-tert-octylphénol
 <p>NP : R = C₉H₁₉ OP : R = C₈H₁₇</p>	 <p>R = C₉H₁₉ avec une chaîne ramifiée</p>	 <p>Groupement octyl- ramifié</p>
Alkylphénols polyéthoxylés		
 <p>Avec R = C₉H₁₉ et OP : R = C₈H₁₇ et n le nombre d'unité éthoxylate</p>		

Les AP résultent également de la dégradation des APnEO. Les APnEO les plus largement utilisés sont les nonylphénols polyéthoxylés (NPnEO) et dans une moindre mesure les octylphénols polyéthoxylés (OPnEO). Selon les propriétés recherchées, le nombre d'unité d'oxyde d'éthylène (n) oscille entre 4 et 40 (n < 5 pour les agents anti moussants et de détergents liposolubles, 12 < n < 20 pour les agents mouillants et émulsifiants, et n > 20 pour les détergents à haute température et haute salinité). Les APnEO sont également utilisés dans d'autres produits commerciaux tels que les émulsifiants, les produits de traitement du bois, les adjuvants de formulation de pesticides, les additifs pour les fluides lubrifiants et certains produits cosmétiques.

➤ Propriétés physico-chimiques AP et des APnEO

Le Tableau 2 récapitule les propriétés physico-chimiques des AP et APnEO, ainsi que les abréviations communément utilisées. Bien que les propriétés physico-chimiques dépendent étroitement du nombre d'unité éthoxylate, ces composés ont de manière générale un Log Kow important (3,90 – 4,48) et une solubilité élevée dans l'eau élevée (3,02 – 18,4 mg.l⁻¹).

Grâce à leur log Kow important, les AP et des APnEO seront préférentiellement associés à la phase particulaire dans les milieux aquatiques.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des AP et APnEO (Ying *et al.*, 2002)

Composé	Abr	M (g.mol ⁻¹)	Solubilité (mg.l ⁻¹ à 20°C)	Log Kow
Nonylphénol	NP	220	5,43	4,48
nonylphénol monoéthoxylés	NP1EO	264	3,02	4,17
nonylphénol diéthoxylés	NP2EO	308	3,38	4,21
nonylphénol triéthoxylés	NP3EO	352	5,88	4,20
Octylphénol	OP	206	12,6	4,12
nonylphénol monoéthoxylés	OP1EO	250	8,0	4,10
nonylphénol diéthoxylés	OP2EO	294	13,2	4,00

➤ Voies de dégradation

Les OPnEO et NPnEO sont instables dans l'environnement et subissent les mêmes processus de dégradation. Leur dégradation conduit à la formation de métabolites généralement plus stables et plus persistants.

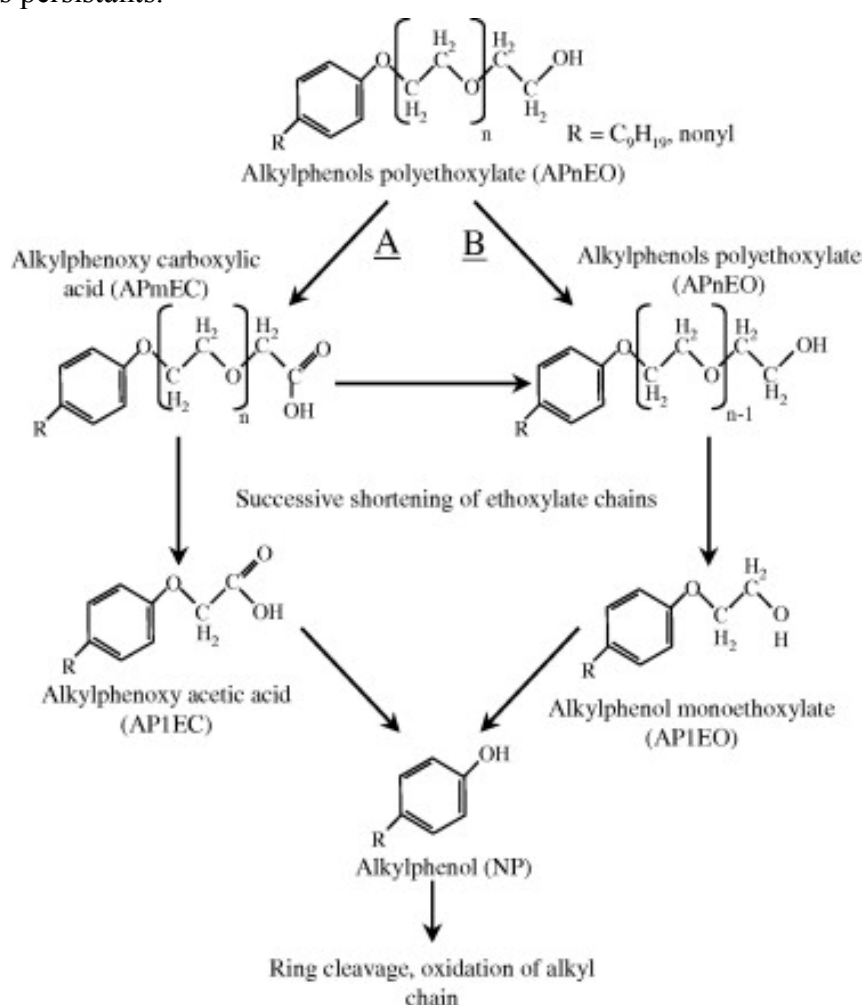


Figure 2 : Processus de dégradation des APnEO (Fenner *et al.*, 2002)

Dans des conditions aérobies, la dégradation des APnEO conduit soit à la formation d'octyl- ou de nonylphénols soit à la formation d'alkylphénols polyéthoxylés à chaînes courtes (octyl- ou nonylphénol monoéthoxylés – OP1EO et NP1EO – ou diéthoxylés – OP2EO et NP2EO). Dans des conditions anaérobies, les APnEO sont dégradés en acide alkylphénoxy acétique (OP- ou NP1EC) ou en acide alkylphénoxy-éthoxyacétique (OP- ou NP2EC) (Figure 2).

➤ Niveaux de concentration dans les eaux de surface

Les AP et APnEO avec n compris entre 1 et 3 unités sont ubiquitaires dans l'environnement. Cette ubiquité résulte à la fois de leur utilisation intensive dans diverses applications mais aussi des rejets de STEP. Bien que les APnEO soient dégradés au sein des STEP, leurs métabolites (NP, OP, APnEO à chaînes courtes) sont en effet régulièrement détectés dans les rejets suite à la dégradation des APnEO de plus longues chaînes. Les niveaux observés sont relativement élevés et peuvent excéder pour certains composés 0,5 µg.l⁻¹ (Tableau 3).

Tableau 3 : Concentrations des AP et APnEO dans les rejets de stations d'épuration

Références	Pays	Concentrations min – max (µg.l ⁻¹)			
		NP	NP1EO	NP2EO	OP
Isobe <i>et al.</i> (2001)	Japon	0,08-1,24	0,21-2,96	-	0,02-0,48
Snyder <i>et al.</i> (1999)	USA	0,171-37	-	-	<LOD-0,673
Loos <i>et al.</i> (2007)	Belgique	0,73 ± 0,23	0,19 ± 0,04	0,38 ± 0,06	-

Plusieurs études ont également souligné la présence de nombreux AP et APnEO dans les eaux de surface (Céspedes *et al.*, 2005, Loos *et al.*, 2007, Ahel *et al.*, 2000, Isobe *et al.*, 2001). Le Tableau 4 précise les niveaux de concentrations de certains composés pour des rivières soumises à des pressions urbaines importantes. De manière générale, l'ensemble de ces travaux souligne la réalité d'une contamination massive par ces composés, qu'il s'agisse des AP ou des APnEO. Selon le composé considéré, les concentrations individuelles fluctuent typiquement de quelques dizaines de ng.l⁻¹ à plusieurs centaines.

Tableau 4 : Concentrations de quelques AP et APnEO dans les eaux de surface

Références	Pays	Concentrations min – max (µg.l ⁻¹)			
		NP	NP1EO	NP2EO	OP
Isobe <i>et al.</i> (2001)	Japon	0,05-1,08	0,04-0,81	-	0,01-0,18
Ahel <i>et al.</i> (2000)	Suisse	<LOD-0,48	<LOD-0,35	<LOD-0,255	-
Snyder <i>et al.</i> (1999)	USA	<LOD-1,19	-	-	<LOD-0,081
Céspedes <i>et al.</i> (2005) ¹	Espagne	<0,15-37,3	-	-	<0,09 -21,9
Loos <i>et al.</i> (2007) ¹	Belgique	2,5 ± 0,5	0,31 ± 0,26	0,32 ± 0,18	-
Cailleaud <i>et al.</i> (2007) ¹	France	0,02-0,39	0,04-0,15	0,03-0,22	-

¹ : résultats pour la phase dissoute uniquement

Cailleaud *et al.* (2007) rapportent des concentrations en AP et APnEO sur la partie aval du bassin de la Seine (Tableau 4). Pour la partie dissoute, le NP1EO dont les concentrations varient entre 259 et 1 455 ng.l⁻¹ représente de 55 à 85% des AP totaux. Sur les campagnes réalisées, la somme des APnEO analysés (soit NP, NP1EO, NP2EO, NP1EO et NP2EO) est comprise entre 399 et 2 214 ng.l⁻¹ avec une valeur médiane égale à 929 ng.l⁻¹. A l'instar de la phase dissoute, les auteurs observent également des niveaux élevés en AP pour la phase particulaire. Les concentrations totales fluctuent entre 405 et 9 636 ng.g⁻¹. Le NP (289 - 7 105 ng.g⁻¹) représente à lui-seul de l'ordre de 66% des AP totaux.

➤ Aspects toxicologiques

Grâce à leur Log Kow important (4,48 et 4,12 respectivement pour le 4-NP et 4-tert-OP) et à une solubilité dans l'eau élevée (5,4 et 12,6 mg/l), les NP et OP peuvent être facilement bioaccumulés dans les organismes. De nombreuses études ont démontré le potentiel toxicologique de ces composés (Jobling *et al.*, 1996, Servos, 1999, Ying *et al.*, 2002). En effet, ces composés de par leur structure chimique peuvent se fixer par compétition avec l'œstrogène sur les récepteurs œstrogéniques.

Servos (1999) précise que la toxicité des NPnOE et OPnOE augmente lorsque n décroît. L'auteur ajoute que le NP et l'OP sont hautement toxiques pour les poissons (pour des

concentrations comprises entre 17 et 3 000 $\mu\text{g.l}^{-1}$), pour les invertébrés (20 – 3 000 $\mu\text{g.l}^{-1}$) et pour les algues (27 – 2 500 $\mu\text{g.l}^{-1}$). Durant leurs travaux, Jobling *et al.* (1996) ont montré des modifications du « sex ratio » chez la truite arc-en-ciel dans certaines rivières anglaises. La dose minimale ayant entraîné un effet néfaste a été respectivement estimée à 5 et 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pour le 4-tert-OP et le 4-NP. Plus récemment, Marcial *et al.* (2003) ont démontré que le NP à des niveaux de concentrations proches de ceux que l'on retrouve dans les eaux de surface affecte le temps de développement du crustacé *Tigriopus japonicus*.

Au point de vue réglementaire, l'évaluation des risques effectuée par l'Union Européenne pour les nonylphénols a conclu à la présence de risques significatifs pour l'environnement aquatique, les sols et pour les organismes supérieurs par accumulation dans la chaîne alimentaire. Du fait de cette toxicité démontrée, une volonté de régulation des NPnEO a été mise en place en Europe.

II.2 Protocole analytique

➤ AP recherchés

Pour les campagnes de terrain effectuées en 2007, le Cereve s'est intéressé aux AP communément analysés dans les eaux de surface (OP et NP en l'occurrence) mais également à des AP peu recherchés. Ainsi pour cette année, ont été recherchés les 10 composés suivants: 4-propylphénol, 4-tert-butylphénol, 2,6-diisopropylphénol, 4-tert-amylphénol, 4-n-pentylphénol, 4-hexylphénol, 4-tert-octylphénol, 4-heptylphénol, un mélange de 4-nonylphénol ramifiés et 4-n-nonylphénol. Les numéros CAS des composés sont spécifiés dans le Tableau 5. Bien que les butyl-, pentyl-, hexyl-, heptylphénols représentent une part mineure du marché des alkylphénols (de l'ordre de 5%), il était important d'évaluer pour ces composés les niveaux de concentration dans les eaux de surface. Certains de ces composés interviennent dans la formulation de microbiocide (4-tert-amylphénol), de résine phénolique, de peinture (4-tert-butylphénol) ou encore de sédatif (2,6-diisopropylphénol). Par ailleurs, et bien que le 4-n-NP soit quasiment absent des mélanges commerciaux de nonylphénols, nous avons souhaité rechercher cette substance. Si son absence dans le milieu naturel est vérifiée, ce composé pourrait être utilisé à la place d'étalons internes plus onéreux.

➤ Préparation des échantillons, extraction et purification

Pour les eaux de surfaces, les échantillons collectés ($V = 2 \text{ l}$) ont été filtrés successivement sur des filtres en fibre de verre de porosité 2,7 et 0,7 μm (GF/F et GF/D, Whatmann). Après filtration, les étalons internes correspondant aux familles analysées (HAP ou AP) sont ajoutés à la fraction dissoute. Les composés de la phase dissoute sont ensuite extraits par SPE (Solid Phase Extraction) sur une cartouche C18 (Chromabond C18ec, 6 mL, 2 g d'adsorbant, Magerey-Nagel) puis élués au moyen d'un mélange dichlorométhane / éthylacétate (80/20, v/v). Après élution des cartouches, les extraits sont finalement purifiés sur une colonne de silice (Aldrich, 70-230 mesh, 60 Å). En jouant sur la différence de polarité de différents solvants organiques, cette étape permet d'isoler trois fractions correspondant respectivement à la fraction PCB, HAP et AP. Les AP sont récupérés dans la dernière fraction après élution de 10 ml d'éthylacétate. Les échantillons ponctuels collectés pour l'analyse des HAP ont été traités par le Cemagref et ont suivi le même protocole expérimental.

Les phases particulières (MES ou sédiments) ont été séchées puis conservées. Les analyses AP et HAP sont en cours de traitement. Les résultats relatifs à cette matrice seront donc présentés dans un prochain rapport.

➤ Quantification des composés

Les AP ont été dosés au Cereve par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM, Focus DSQ, Thermo Fisher Scientific) au moyen de 4 étalons internes deutérés : 4-tert-butylphénol-d₉, 4-n-pentylphénol-d₁₇, 4-n-octylphénol-d₁₁ et 4-NP-d₄. Les analyses ont été effectuées par injection en mode split less sur une colonne RTX5 Sil MS (60 m * 0.25 mm ID * 0.25 μm ef). L'ionisation des composés se fait par impact électronique et le détecteur est un simple quadripôle. La quantification a été réalisée en mode SIM (Single Ion Monitoring) selon les ions m/z mentionnés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : AP analysés, ions m/z utilisés pour la quantification et coefficient de détermination (R²) des droites d'étalonnages

Composé	CAS	Ion m/z quantitatif	Ion m/z qualitatif	R ² droites d'étalonnage
4-propylphénol	645-56-7	107	136	0,990
4-tert-butylphénol-D9		145	163	-
4-tert-butylphénol	98-54-4	135	107	0,993
2,6-diisopropylphénol	2078-54-8	163	178	0,756
4-tert-amylphénol	80-46-6	135	107	0,990
4-n-pentylphénol-D17		109	175	-
4-n-pentylphénol	14938-35-3	107	164	0,996
4-hexylphénol	2446-69-7	107	178	0,991
4-tert-octylphénol	140-66-9	135	107	0,994
4-heptylphénol	1987-50-4	107	192	0,998
4-nonylphénol Ram	90481-04-2	135, 107, 121	-	0,993
4-n-octylphénol-D11		109	223	-
4-nonylphénol-D4		111	124	-
4-n-nonylphénol	104-40-5	107	220	0,994

Pour chaque composé, l'étalonnage interne a été utilisé. Les droites d'étalonnages ont été réalisées au moyen de plusieurs étalons commerciaux puis tracées suivant l'équation 1. Les droites pour le 4-tert-octylphénol et le mélange de 4-nonylphénol ramifiés sont illustrées à titre d'exemple sur la Figure 3.

$$\log \frac{C_{AP}}{C_{EI}} = a \cdot \log \frac{A_{AP}}{A_{EI}} + b \quad \text{Équation 1}$$

Avec C_{AP} et C_{EI} les concentrations en AP et en étalons internes
 A_{AP} et A_{EI} les aires des pics des AP et des étalons internes

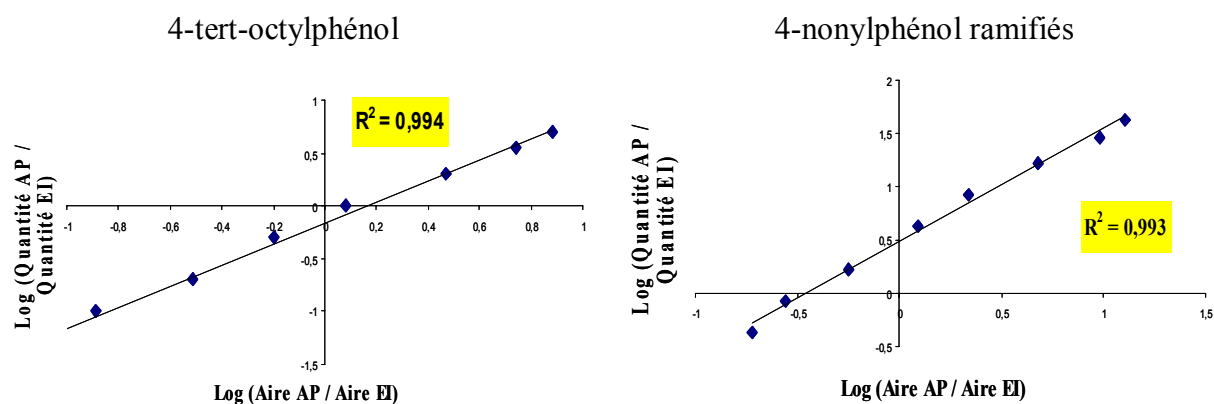


Figure 3 : Droites d'étalonnages pour le 4-tert-OP et le mélange de 4-NP ramifiés

A l'exception du 2,6-diisopropylphénol, les gammes d'étalonnages sont linéaires dans le domaine de concentration étudié (entre 0.5 et 40 ng.µl⁻¹ injecté pour le 4-NP ramifiés et entre 0.05 et 5 ng.µl⁻¹ injecté pour les autres AP) et présentent des coefficients de détermination satisfaisant ($R^2 > 0,99$) (Tableau 5). Pour le 2,6-diisopropylphénol, une dispersion importante des points de gammes a été notée. Cette dispersion est probablement due au fait que l'étalon interne utilisé pour la quantification n'est pas adapté à cette molécule. Par conséquent, la quantification précise de cette molécule n'est pas possible. Il est en revanche possible de préciser sa présence ou non.

Pour les HAP, la quantification a été réalisée au Cemagref selon la méthode analytique décrite par Lorgeoux *et al.* (2005). La limite de quantification (LQ) de l'appareil a été estimée à 0,05 ng de HAP injecté, ce qui correspond au regard du protocole analytique (volume d'extraction et d'injection) à une LQ de 2,5 ng.l⁻¹.

➤ Procédure qualité

Pour chaque série d'analyse, des contrôles qualité sont injectés tous les 10 échantillons. Ces contrôles correspondent à un point bas (1.5 ng.µl⁻¹ injecté pour le 4-NP ramifiés et 0.25 ng.l⁻¹ pour les autres AP) et un point haut (16 ng.µl⁻¹ injecté pour le 4-NP ramifiés et 1.5 ng.l⁻¹ pour les autres AP) de la droite d'étalonnage. Ces contrôles qualité sont satisfaisants dans la mesure où ils présentent une déviation inférieure à 20%.

Par ailleurs, seules les analyses présentant un rendement d'extraction des étalons internes supérieur ou égal à 60% ont été retenues pour l'exploitation des résultats. Cette contrainte a été respectée dans plus de 95% de nos échantillons.

III. Echantillonneurs passifs

III.1 Principe et fonctionnement des échantillonneurs passifs

➤ Principe général

L'échantillonneur passif est constitué d'une membrane perméable aux composés d'intérêt et permet l'extraction des contaminants du milieu naturel. Durant la période d'exposition (de quelques jours à plusieurs semaines), les contaminants sont accumulés dans l'outil placé *in situ*. Moyennant la connaissance des paramètres cinétiques caractéristiques des contaminants et de l'échantillonneur, il est possible, à partir de la teneur accumulée, d'estimer une concentration dans le milieu moyennée sur la période d'exposition. Les systèmes d'échantillonnage passif présentent de nombreux avantages pour l'analyse des contaminants dans le milieu aquatique :

- pas d'intervention physique ni d'énergie extérieure,
- pré-concentration des polluants *in situ*,
- obtention d'une concentration moyenne sur une période de temps relativement longue et donc intégration des pics de pollution,
- réduction significative des coûts et des temps d'analyse,
- sélection des contaminants accumulés par rapport à leur taille et leur labilité.

La principale difficulté est de connaître les paramètres cinétiques qui gouvernent l'accumulation dans les échantillonneurs afin d'interpréter les concentrations mesurées dans les échantillonneurs en termes de contamination du milieu et d'identifier la nature chimique des contaminants échantillonnés.

➤ Technique de la membrane semi-perméable (SPMD)

Les membranes semi-perméables (Semi-Permeable Membrane Device, SPMD) (Huckins *et al.*, 1993) sont aujourd'hui les échantillonneurs passifs les plus couramment utilisés dans les

milieux aquatiques pour les molécules organiques hydrophobes. Les SPMD sont constituées d'un tube en polyéthylène (PET), renfermant une couche mince de lipide (trioléine). Le dispositif, immergé dans le milieu aquatique (pour des durées allant de quelques heures à plusieurs mois) accumule par diffusion passive les contaminants organiques hydrophobes. Sa capacité d'accumulation sur plusieurs jours permet d'obtenir des quantités de micropolluants facilement mesurables et des valeurs intégratives de la contamination. Les pores de la membrane polymérique, dont le diamètre maximal est d'environ 10 Å, ainsi que l'hydrophobie des polymères du PET permettent une solubilisation des contaminants organiques hydrophobes dissous et libres du milieu dans la membrane et leur migration jusqu'à la phase lipidique.

Les données de calibrations en laboratoire, et l'utilisation de marqueurs internes (composés deutérés présents dans la trioléine de la SPMD dont on suit la disparition pendant l'exposition) permet d'évaluer, à partir des concentrations accumulées dans la SPMD, une concentration moyenne en contaminant "SPMD-disponible" (plutôt sous forme "dissoute libre"). Cette méthode est aujourd'hui bien validée pour certaines familles de molécules, comme les HAP (Huckins *et al.*, 2006).

Pour les AP, le manque de données de calibration en laboratoire ne permet pas d'estimer une concentration dans l'eau à partir des teneurs accumulées.

➤ Membrane polymérique simple

Les SPMD sont des systèmes "multiphasés", où la membrane sert de contenant pour la phase lipidique qui accumule les contaminants. Il a néanmoins été montré que les membranes seules avaient une forte capacité d'accumulation des composés hydrophobes (Huckins *et al.*, 1990). Un système composé d'une simple membrane a l'avantage d'être plus robuste et résistant (et moins cher) qu'une SPMD. C'est pourquoi, nous avons souhaité dans cette étude tester directement *in situ* la capacité de membrane simple à accumuler les contaminants organiques tels que les HAP et AP. Cette étude constitue une première approche vers l'utilisation de ce type de membrane comme échantillonneur intégratif. Les résultats obtenus seront donc uniquement qualitatifs car les cinétiques d'accumulation ne sont pas contrôlées par l'utilisation de marqueurs internes comme pour les SPMD.

III.2 Mise en œuvre des échantillonneurs passifs sur le bassin de l'Orge Aval

Les échantillonneurs passifs doivent être préalablement préparés au laboratoire. Les SPMD sont dopées par un ensemble de composés deutérés (PRC) servant à la quantification finale des HAP accumulés dans la membrane selon un protocole décrit dans un précédent rapport d'activité du PIREN-Seine (Lorgeoux *et al.*, 2005). Les membranes (1 m * 2 cm avec une épaisseur de 0.5 mm) sont, quant à elles, nettoyées au préalable par dialyse au moyen d'un mélange éthylacétate / heptane (50/50, v/v) grâce à deux cycles de 24 h.

En début de campagne et sur chaque site, quatre échantillonneurs passifs ont été exposés, comprenant un duplicat de SPMD classiques servant à l'analyse des HAP, en parallèle avec une SPMD classique pour les AP et une membrane polymérique simple. La durée d'exposition totale est de quinze jours, au cours de laquelle trois prélèvements d'eau pour l'analyse des contaminants dissous sont effectués. Deux blancs de laboratoire et un blanc terrain exposé à l'air durant la pose des échantillonneurs ont été réalisés. A la suite des difficultés rencontrées (Cf. paragraphe IV.1), il a été nécessaire de poser de nouveaux échantillonneurs passifs sur deux des sites pour une nouvelle durée de quinze jours, portant ainsi à 30 (dont 6 blancs) le nombre total d'échantillonneurs utilisés pour la campagne.

III.3 Traitement des échantillonneurs passifs au laboratoire

Après exposition sur site, les SPMD et les membranes sont ramenées au laboratoire, contrôlées, puis dialysées dans l'heptane pendant 48h. Les étalons internes servant à la quantification sont ajoutés dès la mise dans l'heptane. L'extrait ainsi obtenu est ensuite concentré, purifié sur gel de silice, puis analysé en GC-MS. Pour les HAP, les concentrations SPMD - disponibles sont déduites des quantités totales en HAP trouvées dans la SPMD et des composés PRC restant après exposition selon la méthode dite "empirique" proposée par Huckins *et al.* (2006).

IV. Résultats et discussions

IV.1 Faisabilité du suivi sur le bassin versant de l'Orge : difficultés pratiques rencontrées, résistances des dispositifs, etc.

Sur les 24 échantillonneurs exposés, 14 ont pu être analysés. La principale difficulté rencontrée a été la perte des échantillonneurs suite à l'intervention des équipes d'entretien ou de personnes extérieures. Etant donné le coût d'un échantillonneur et l'investissement en temps d'une telle campagne, il est tout à fait nécessaire pour la suite de disposer d'un site correctement protégé, en concertation avec les équipes d'entretien de la rivière. D'autre part, les sites protégés auxquels nous avons eu accès étaient des seuils de rétention avec un très fort débit, avec des conditions hydrauliques turbulentes peu adaptées à notre matériel et causant des dommages sur le matériel d'exposition.

Sur les échantillonneurs SPMD ayant fait l'objet d'une analyse et d'une interprétation, les composés deutérés dont on trace la disparition montrent une perte conforme aux attentes : la disparition des PRC dans les SPMD est corrélée à l'hydrophobie des HAP : le HAP le plus lourd (benzo[g,h,i]pérylène-d₁₂) est totalement retenu dans la membrane alors que le plus léger (acénaphylène-d₈) disparaît presque totalement. L'anthracène-d₁₀, servant à la quantification, a une perte moyenne de 60% dans les cours d'eau peu turbulent comme l'Yvette et la Prédecelle. Cette perte est de 83% sur le site de l'Orge, pour lequel le milieu d'exposition était beaucoup plus agité (les dispositifs étaient installés au niveau d'un seuil).

Pendant les deux semaines d'exposition, l'accumulation des HAP dans les SPMD est assez importante pour avoir un signal interprétable, même pour les HAP les plus lourds. En revanche, l'extraction de 2 L d'eau ne permet pas de quantifier les HAP les plus lourds (limite de quantification dans l'eau d'environ 2,5 ng.l⁻¹). Filtrer un plus grand volume et/ou concentrer plus nous permettrait d'abaisser ce seuil, pour tendre vers 1 ng.l⁻¹.

IV.2 Concentrations en AP et HAP des phases dissoutes

➤ Concentrations en AP des phases dissoutes

Les concentrations moyennes en AP des fractions dissoutes sont illustrées sur la Figure 4. Sur cette figure, apparaissent également les écarts-types calculés pour chaque site à partir des 3 échantillons ponctuels collectés à la pause des membranes au jour j (campagne 1), à leur nettoyage à j + 7 (campagne 2), et à leur retrait à j + 14 (campagne 3).

Globalement, les concentrations totales en AP fluctuent entre 132 et 402 ng.l⁻¹. Le 4-tert-butylphénol et les 4-NP ramifiés constituent les AP majoritaires avec des concentrations variant respectivement entre 43 et 254 ng.l⁻¹ et entre 56 et 125 ng.l⁻¹. Ils représentent respectivement entre 43 et 57% et entre 35 et 45% des AP totaux. Pour les 4-NP ramifiés, les concentrations observées dans la phase dissoute sont similaires à celles rapportées par Cailleaud *et al.* (2007) pour la partie aval de la Seine (20 – 390 ng.l⁻¹). Parmi les 11 AP

recherchés, le 4 tert-amylphénol, le 4-n-pentylphénol, le 4-tert-OP et le 4-heptylphénol sont régulièrement détectés mais généralement à des concentrations inférieures à 20 ng.l⁻¹.

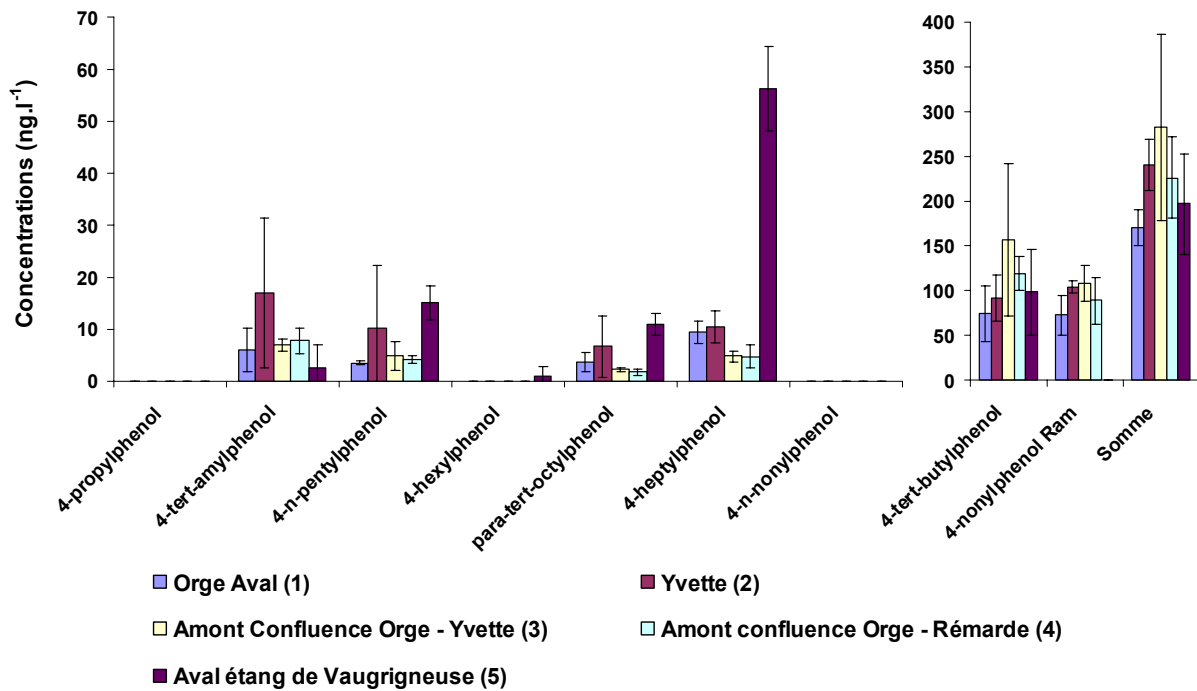
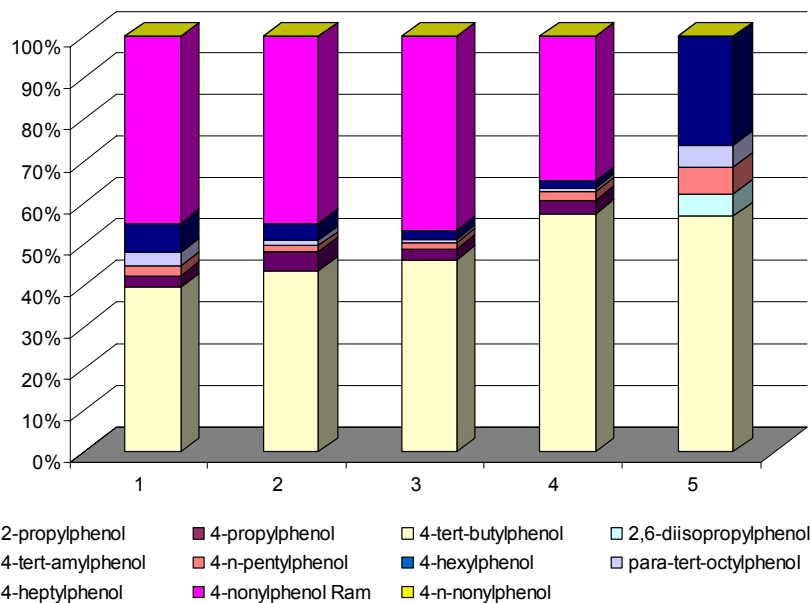


Figure 4 : Concentrations moyennes (\pm écart-type) en AP des fractions dissoutes

Seuls le 4-propylphénol et le 4-n-nonylphénol n'ont jamais été détectés. L'absence de 4-n-NP dans le milieu naturel était attendue dans la mesure où ce composé est quasiment absent des mélanges commerciaux de nonylphénols. Il est donc aujourd'hui envisageable d'utiliser ce composé moins onéreux à la place de certains étalons internes deutérés.

Comme l'illustrent les figures 4 & 5, le site 5 correspondant à l'aval de l'étang de Vaugrigneuse sur la Prédecelle se démarque sensiblement des autres sites.



Site 1 : Orge aval, site 2 : Yvette, site 3 : amont de la confluence Orge – Yvette, site 4 : amont de la confluence Orge – Rémarde, site 5 : aval de l'étang de Vaugrigneuse sur la Prédecelle

Figure 5 : Distributions individuelles (%) des AP sur les sites étudiés

Ce site se différencie par des concentrations plus élevées en 4-heptylphénol (de 5 à 16 fois) et dans une moindre mesure en 4-n-pentylphénol (facteur 3 à 5) mais aussi par la présence de 2,6-diisopropylphénol, qui a été uniquement observé sur ce site. La présence plus marquée de ces composés sur la Prédécelle pourrait être reliée aux rejets de la STEP située 1 km en amont. Ne disposant pas d'éléments complémentaires, cette hypothèse devra être confirmée dans la suite du programme.

La différence la plus significative entre le site 5 et les autres sites concerne les 4-NP ramifiés. Dans l'état actuel de notre méthode analytique et dans la limite de sa validation, les 4-NP ramifiés ne sont pas détectés sur le site 5. Comme en atteste la Figure 6, le profil chromatographique de ces composés est nettement différent sur le site de la Prédécelle.

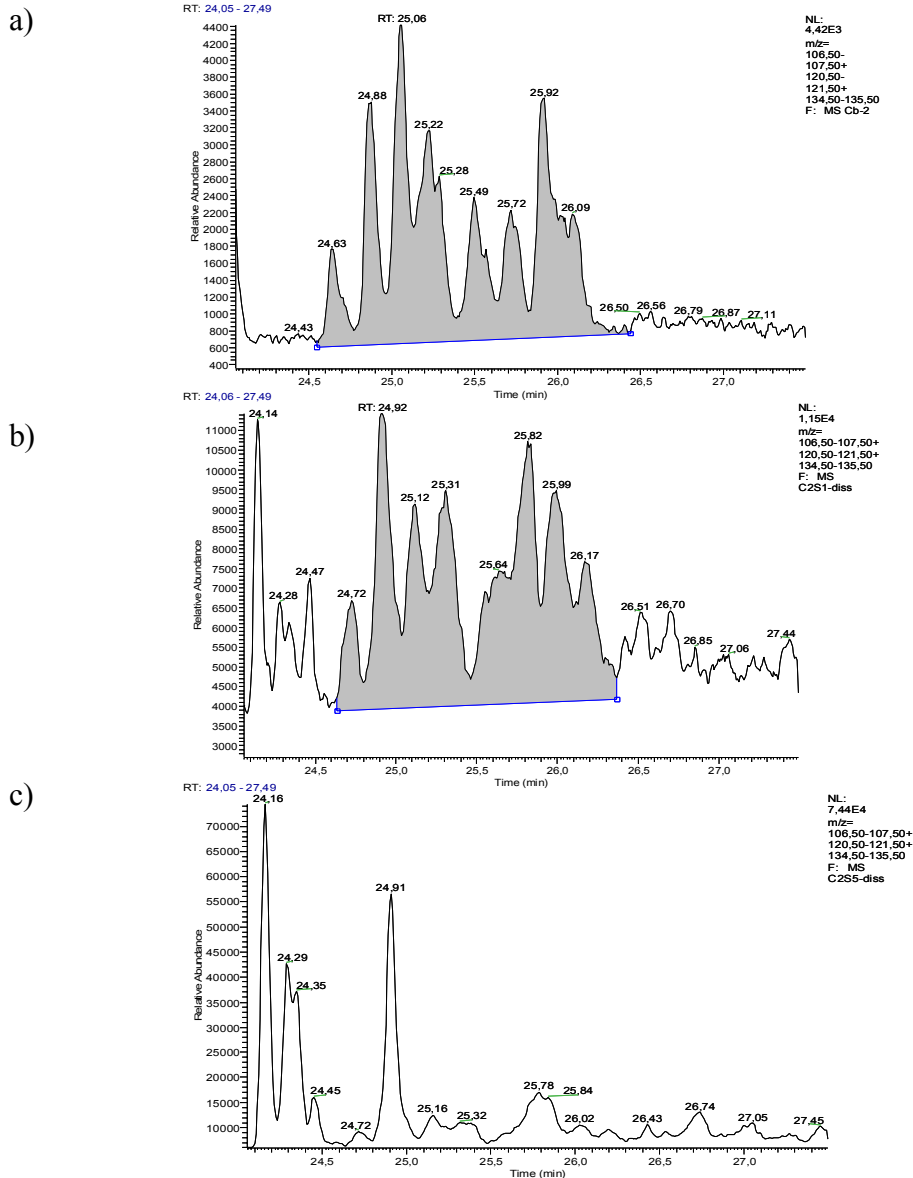


Figure 6 : Profils chromatographiques des 4-nonylphénols ramifiés pour un contrôle qualité bas (a) et pour les sites Orge aval (b) et Prédécelle (c)

Cette différence a été constatée pour les 3 campagnes. Elle ne résulte ni d'un effet matrice (aires d'étalon interne constantes) ni d'un encrassement de l'appareil (ordre de passage par campagne et non par site) mais pourrait résulter de la présence plus marquée d'interférants sur ce site. Ces interférants engendrent une hausse de la limite de quantification (LQ). Etant donné que les concentrations en 4-NP ramifiés sur les sites 1 à 4 se trouvent relativement

proches des LQ obtenues, il n'est donc pas possible au vu de ces résultats de préciser s'il y a moins de 4-NP ramifiés sur le site 5 que sur les autres sites. En revanche, il est possible d'affirmer que le site de la Prédécelle ne présente pas plus de 4-NP ramifiés que les autres sites.

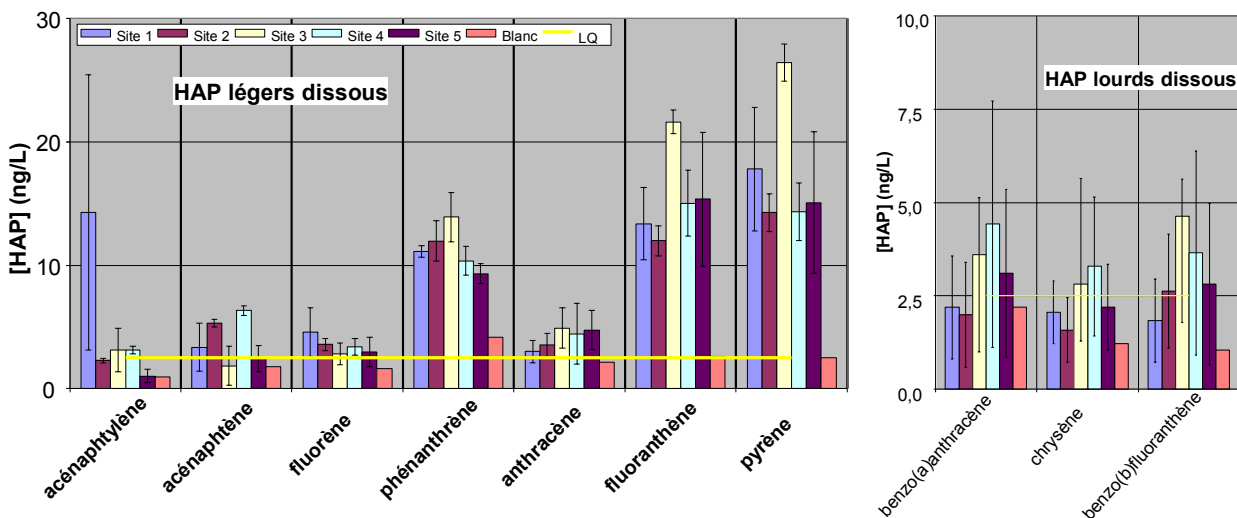
IV.3 Concentration en HAP dissous et « dissous libre »

➤ Concentrations en HAP totaux dissous

Les HAP contenus dans la phase dissoute ont pu être analysés jusqu'au benzo[b]fluoranthène (Figure 7). Les teneurs en HAP plus hydrophobes se situant en dessous de notre actuelle limite de quantification, les résultats ne sont pas présentés ici.

Globalement, les niveaux des concentrations sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus par Tusseau *et al.* (2007) lors des campagnes dans le bassin de la Seine en 2004 pour les sites les plus urbanisés et les plus contaminés (stations de St Maurice sur la Marne, Chatou et Andrésy sur la Seine). Les teneurs trouvées dans l'Orge apparaissent particulièrement élevées, notamment dans le cas du pyrène et du fluoranthène.

D'autre part, les teneurs ne sont pas significativement différentes d'un site à l'autre, aucun gradient ne peut être mis en évidence. Seul le site n°3, c'est-à-dire l'Orge en amont de la confluence avec l'Yvette, semble se dégager significativement des autres en pyrène et en fluoranthène.



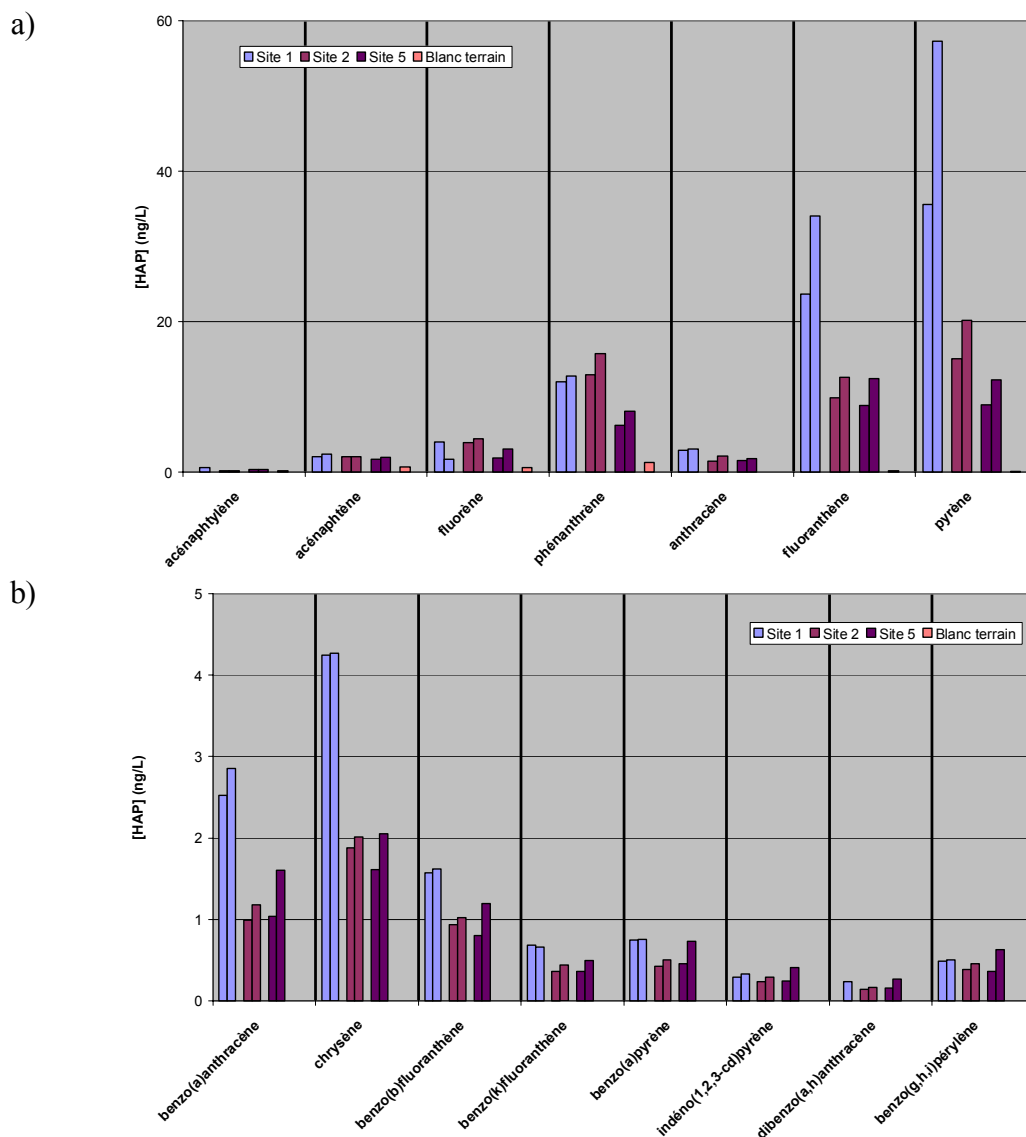
Site 1 : Orge aval, site 2 : Yvette, site 3 : amont de la confluence Orge – Yvette, site 4 : amont de la confluence Orge – Rémarde, site 5 : aval de l'étang de Vaugrigneuse sur la Prédécelle

Figure 7 : Concentrations moyennes (\pm écart-type) en HAP des fractions dissoutes sur les différents sites

➤ Concentration en HAP « dissous libre »

La Figure 8 représente les concentrations en HAP SPMD - disponibles mesurées sur les sites pour lesquels les SPMD ont été récupérées et sont exploitables. Toutes les mesures effectuées (blanc de laboratoire et répliqués réalisés sur chaque site) sont représentées. Les valeurs de blancs sont négligeables devant les concentrations mesurées. Les duplicats sont, quant à eux, corrects, la différence relative entre deux répliqués allant de 0,4 à 39% (20% en moyenne).

Les concentrations SPMD - disponibles calculées, qui représentent normalement les HAP sous forme dissoute libre, sont parfois supérieures aux concentrations totales dissoutes, en particulier dans le cas des HAP légers. Ce résultat est étonnant dans la mesure où l'on s'attend à ce qu'une partie des HAP fixés sur les matières organiques dissoutes ne soient pas accumulés dans les SPMD (Gourlay *et al.*, 2005).



Site 1 : Orge aval, site 2 : Yvette, site 5 : aval de l'étang de Vaugrigneuse Prédécelle
 Figure 8 : Concentrations obtenues par SPMD sur les sites disponibles en HAP légers (a) et lourds (b)

On observe également de très fortes valeurs de concentrations SPMD - disponibles en fluoranthène et pyrène, en particulier sur le site n°1. Dans ce dernier cas, il est à noter que la cage d'exposition a été retrouvée partiellement envasée, la corde la retenant ayant été sectionnée. Il faut donc prendre avec précautions les résultats obtenus sur ce site. La concentration en HAP accumulée dans la SPMD pourrait représenter la contamination de l'eau proche des sédiments, et non de la colonne d'eau. Les fortes valeurs de concentration en fluoranthène et en pyrène sont aussi observées sur les autres sites. Une interférence analytique liée à des composés inhérents à la SPMD (cette interférence n'est pas observée dans les extraits d'eau) n'est pas à exclure. Une intercomparaison prochaine devrait permettre de vérifier la méthode d'analyse.

IV.4 Faisabilité du suivi des AP au moyen d'échantillonneur passif

Les premiers essais du suivi de la contamination des AP au moyen d'échantillonneur passif ont mis en exergue des difficultés analytiques pour les membranes qui ont été exposées dans le milieu. Pour les SPMD et les membranes, les AP recherchés ainsi que les étalons internes n'ont pu être en effet détectés dans la fraction AP recueillie (cf. protocole analytique). Ces

problèmes n'ont pas été rencontrés pour les deux types d'échantillonneurs sur l'analyse des blancs terrains (membranes exposées à l'air libre au cours de l'installation des cages) et des blancs de laboratoire. Pour ces échantillons, les rendements d'extractions des étalons internes sont supérieurs à 60%.

Le fait de ne détecter ni les composés recherchés ni les étalons internes (pourtant ajoutés après exposition *in situ*) sur les matrices réelles laisse à penser que :

- l'étape de purification sur colonne de silice a été perturbée pour les membranes exposées (composés ciblés non récupérés dans la fraction),
- ou que la présence de nombreux interférents dans la fraction recueillie perturbe l'ionisation des composés dans la source.

Dans le cas des membranes, leur exposition dans le milieu pourrait en effet conduire à une modification du polymère pouvant entraîner un relargage plus important d'impuretés et/ou d'interférents. Par ailleurs, la surface des membranes utilisées lors de la mise en place du protocole au laboratoire était relativement faible ($\approx 20 \text{ cm}^2$). Pour les campagnes de terrain, cette surface a été augmentée ($\approx 160 \text{ cm}^2$) dans le but d'accumuler une plus grande quantité de polluants. Cette augmentation qui induit intrinsèquement une quantité plus importante de siloxane extraite pourrait également perturber la purification.

Au-delà des aspects purement quantitatifs, les membranes en PDMS récupérées après 15 jours d'exposition se sont avérées relativement bien conservées (membranes non déchirées) et moins sujettes au « biofouling » comparativement aux SPMD.

V. Premières conclusions et perspectives

Les travaux réalisés au cours de l'année 2007 dans le cadre de l'action 2e du programme PIREN-Seine avaient pour but d'évaluer les niveaux de concentrations en AP et HAP sur le bassin de l'Orge pour les eaux de surface et de réaliser les premiers essais sur la faisabilité du suivi de la contamination en AP au moyen d'échantillonneurs.

Pour les AP, une contamination importante de la fraction dissoute des eaux de surface a été constatée sur les sites étudiés. Sur cette fraction, les premiers essais ont révélé des concentrations totales en AP fluctuant entre 132 et 402 ng.l^{-1} . Le 4-tert-butylphénol et les 4-nonylphénols ramifiés constituent les AP majoritaires avec des concentrations variant respectivement entre 43 et 254 ng.l^{-1} et entre 56 et 125 ng.l^{-1} . Le site de la Prédécelle correspondant à l'aval de l'étang de Vaugrigneuse se démarque sensiblement des autres sites. Cette différence revête un intérêt scientifique certain et nécessite d'être confirmée par de prochaines campagnes.

Pour les HAP, les concentrations observées sur les sites n'ont pas permis d'observer de gradient de contamination. Les cinq sites étudiés sont contaminés par les HAP, à des concentrations du même ordre de grandeur de celles observées dans la Seine à l'aval de Paris. Pour observer un gradient de contamination, il apparaît important de trouver des sites plus contrastés.

Le bilan de la faisabilité de la mesure en échantillonneurs passifs sur l'Orge est mitigé : si l'absence de sécurisation des sites et les diverses interventions sur notre matériel ont rendu inexploitable une partie des échantillonneurs déployés, les résultats obtenus sur les échantillonneurs ayant "survécus" sont encourageants. Sur ce plan, la campagne a démontré la faisabilité de l'adaptation et du transfert de la méthodologie au Cemagref, moyennant quelques validations analytiques qui seront menées au tout début de l'année 2008.

Vis-à-vis des AP, les premiers essais de suivi par des SPMD et des membranes en PDMS ont mis en exergue des difficultés analytiques sur les membranes exposées dans le milieu. Ces

difficultés pourraient découler soit de la perturbation de l'étape de purification sur colonne de silice soit la présence de nombreux interférents dans la fraction recueillie perturbant ainsi l'ionisation des composés. L'une ou l'autre de ces hypothèses devra être vérifiée dans la suite de notre travail.

Les perspectives à ce travail sont multiples. Tout d'abord et grâce à l'acquisition début 2008 d'une Chromatographie Liquide Ultra - Performance couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (UPLC-MS², Waters), le Cereve propose d'analyser les APnEO lors de prochaines campagnes PIREN. Dans ce but, une partie de l'année 2008 sera consacrée au développement analytique de ces composés avec cette technique.

Par ailleurs, les actions menées en collaboration avec l'équipe EXPER du Cemagref d'Antony s'attacheront à poursuivre le développement d'outils méthodologiques pour le suivi de la contamination en AP des eaux de surface. Concernant cet aspect, nous proposons cette année de travailler plus précisément :

- sur le choix et le dopage en PRC des membranes en polymères pour le dosage des AP,
- sur la calibration des constantes cinétiques de ces membranes pour le suivi de ces composés.

Les actions menées en 2008 viseront enfin à poursuivre les investigations menées sur la contamination en AP des eaux de surface sur le bassin de la Seine. A cet effet, notre équipe souhaite mettre en œuvre 2 campagnes de terrain sur l'axe fluvial Seine pour lesquelles des échantillons ponctuels (dissous et particulaires) seront prélevés sur un maximum de 5 sites et 2 campagnes sur le bassin de l'Orge Aval pour lesquelles des échantillonnages ponctuels (dissous et particulaires) et intégratifs (SPMD et/ou membranes) seront réalisés sur 3 des 5 sites étudiés en 2007. Ces campagnes de terrain seront menées en coordination avec les autres équipes du thème perturbateurs endocriniens (choix des sites, dates des campagnes, etc.), et en particulier avec l'équipe EXPER du Cemagref pour les échantillonnages intégratifs.

VI. Références

Ahel M., Molnar E., Ibric S. et Giger W. (2000). "Estrogenic metabolites of alkylphenol polyethoxylate in secondary sewage effluents and rivers". *Water Science and Technology* 42 (7-8): 15-22.

Blackburn MA., Kirby SJ. et Waldock MJ. (1999). "Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries". *Marine Pollution Bulletin* 38(2): 109-118.

Cailleaud K., Forget-Leray J., Souissi S., Lardy S., Augagneur S. et Budzinski H. (2007). "Seasonal variation of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoid, copepod). Part 2: Alkylphenol-polyethoxylates". *Chemosphere* 70(2): 281-287.

Cespedes R., Lacorte S., Raldua D., Ginebreda A., Barcelo D. et Pina B. (2005). "Distribution of endocrine disruptors in the Llobregat River basin (Catalonia, NE Spain)". *Chemosphere* 61(11): 1710-1719.

Espejo R., Valter K., Simona M., Janin Y. et Arrizabalaga P. (2002). "Determination of nineteen 4-alkylphenol endocrine disrupters in Geneva municipal sewage wastewater". *Journal of Chromatography A* 976(1-2): 335-343.

Gasperi J. (2006). "Introduction et transfert des hydrocarbures à différentes échelles spatiales dans le réseau d'assainissement parisien" Thèse de doctorat, Sciences et Techniques de l'Environnement, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, 268 p.

Gourlay C., Miege C., Noir A., Ravelet C., Garric J. et Mouchel JM. (2005). "How accurately do semi-permeable membrane devices measure the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*?" *Chemosphere* 61(11): 1734-1739.

Huckins J. N.; Manuweera G. K.; Petty J. D.; Mackay D. et Lebo J. A. (1993). "Lipid-containing semipermeable membrane devices for monitoring organic contaminants in water." *Environmental Science & Technology* 27, 2489-2496.

- Huckins J. N.; Petty J. D. et Booij K. (2006). "Monitors of organic chemicals in the environment, semipermeable membrane devices." Springer New York, 223 p.
- Huckins J.N., Tubergen M.W. et Manuweera G.K. (1990). "Semipermeable membrane devices containing model lipid: a new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential." *Chemosphere* 20(5): 553-560.
- Isobe T., Nishiyama H., Nakashima A. et Takada H. (2001). "Distribution and behavior of nonylphenol, octylphenol and nonylphenol monoethoxylate in okyo metropolitan area: Their association with aquatic particles and sedimentary distributions". *Environmental Science & Technology* 35(6): 1041-1049.
- Jobling S., Sheahan D., Osborne JA., Matthiessen P. et Sumpter JP. (1996). "Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals". *Environmental Toxicology and Chemistry* 15(2): 194-202.
- Loos R., Hanke G., Umlauf G. et Eisenreich SJ. (2007). "LC-MS-MS analysis and occurrence of octyl- and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters". *Chemosphere* 66(4): 690-699.
- Lorgeoux C., Gourlay C., Mouchel JM. et Tusseau-Vuillemin MH. (2005). "Teneurs en HAP biodisponibles estimés par les SPMD". *Rapport Piren-Seine*, 14 p.
- Lorgeoux C., Gourlay C. et Mouchel JM. (2004). "Biodisponibilité des HAP dans le bassin de la Seine et influence des matières organiques du milieu". *Rapport Piren-Seine*, 18 p
- Loyo-Rosales JE., Schmitz-Afonso I., Rice CP. et Torrents A. (2003). "Analysis of octyl- and nonylphenol and their ethoxylates in water and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry". *Analytical Chemistry* 75(18): 4811-4817.
- Marcial HS., Hagiwara A. et Snell TW. (2003). "Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*". *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(12): 3025-3030.
- Miege C., Durand S., Garric J., Gourlay C., Wang D., Mouchel JM. et Tusseau-Vuillemin MH. (2004). "Semipermeable membrane device-availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in river waters and wastewater treatment plant effluents". *Polycyclic Aromatic Compounds* 24(4-5): 805-825.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Teil MJ., Blanchard M. et Chevreuil M. (2004). "Distribution and spatial trends of PAHs and PCBs in soils in the Seine River basin, France". *Chemosphere* 55(4): 555-565.
- Mougin C. et Cravedi J. (2003). "Devenir et impacts écotoxicologiques du nonylphénol contenu dans les boues de station d'épuration valorisées en agriculture, In Agriculture et épandage de déchets urbains et agro-industriels." *Les Dossiers de l'environnement de l'INRA n°25*, Tercé M. (dir.), Paris, 85-90.
- Servos MR. (1999). "Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates". *Water Quality Research Journal of Canada* 34(1): 123-177.
- Shao B., Han H., Hu J., Zhao J., Wu G., Xue Y., Ma Y. et Zhang S. (2005). "Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry". *Analytica Chimica Acta* 530(2): 245-252.
- Snyder SA., Keith TL., Verbrugge DA., Snyder EM., Gross TS., Kannan K., et Giesy JP. (1999). "Analytical methods for detection of selected oestrogenic compounds in aqueous mixtures". *Environmental Science and Technology* 33: 2814-2820.
- Tusseau-Vuillemin MH., Gourlay C., Lorgeoux C., Mouchel JM., Buzier R., Gilbin R., Seidel JL. et Elbaz-Poulichet F. (2007). "Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin". *Science of the Total Environment* 375(1-3): 244-256.
- Ying GG., Williams B. et Kookana R. (2002). "Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates-a review". *Environment International* 28(3): 215-226.