

## NOCIVITÉ RELATIVE DE CINQ DÉTERGENTS ANIONIQUES EN MILEU MARIN

### 2. - RELATION ENTRE LA BIODÉGRADATION ET LA TOXICITÉ AIGUE <sup>(1)</sup>

par Daniel COSSA et Pierre MAGGI

#### *Summary.*

In this research, biodegradation associated with evaluation of the variations of acute toxicity towards *Anguilla anguilla* of five anionic detergents is described.

It appears that the process of anionic detergents biodegradation in sea water is similar to the results obtained by many authors working on fresh water.

The experimentation shows two different kinds of behavior among the five anionic detergents tested :

a) the first category is composed of syndets, without aryl group in their formulation, which are promptly oxidized by bacterias and do not reveal variation of acute toxicity during their biodegradation ;

b) the other group includes LAS ; those syndets need a quite long bacterial acclimatation. On the other hand, their toxicity is reduced whilst they are degraded.

L'accroissement considérable de l'utilisation des détergents, au cours des vingt dernières années a conduit à se préoccuper de leur devenir dans les eaux. C'est ainsi que des mesures ont été prises afin de généraliser l'emploi des détergents biodégradables.

La mesure des taux de biodégradation de ces produits a fait l'objet de nombreux travaux qui mettent en œuvre des méthodes très diverses : BOGAN et SAWYER (1955), SAWYER et coll. (1956), FISCHER (1963), SWISHER (1963), HUDDLESTON et ALLRED (1964), HUNTER et HEUKELEKIAN (1964), SETZKORN et coll. (1964), WEAVER et COUGHLIN (1964), BREBION et coll. (1966), HEINZ et FISCHER (1967).

L'arrêté du 11 décembre 1970 <sup>(2)</sup> fixe, en France, les modalités de mesure de la biodégradabilité des détergents anioniques. Cette méthode s'applique à la biodégradation des détergents dans les eaux douces. Cependant de nombreux égouts se déversent, directement ou après traitement, en mer ; il

---

(1) Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat CNEXO.

(2) J.O. de la République française, 5 janvier 1971, 148-149.

apparaît donc opportun d'étudier la biodégradation des détergents dans l'eau de mer. De même il paraît important de connaître l'évolution de la toxicité des détergents au cours de leur biodégradation.

C'est ainsi que nous avons choisi d'étudier pour cinq détergents anioniques, la biodégradation et la variation de la toxicité au cours de celle-ci. Précédemment (MAGGI et COSSA, 1973) nous avons noté pour ces produits l'extrême sensibilité des poissons, ce qui nous a conduit à effectuer nos tests de toxicité sur la post-larve d'*Anguilla anguilla*.

### Méthodes.

#### Produits utilisés (tabl. 1).

Nous avons retenu un détergent présentant des ramifications dans sa chaîne hydrocarbonée, ce qui peut a priori, d'après HAMMERTON (1956), le faire considérer comme assez résistant à la biodégradation. C'est le di-(éthyl-2, hexyl) sulfosuccinate de sodium (D<sub>1</sub>). Les quatre autres produits présentent des structures chimiques qui les rendent aptes à la biodégradation. Ce sont des détergents assez représentatifs du marché intérieur français.

Symboles utilisés dans le texte	Dénominations	Formules chimiques
D <sub>1</sub>	Di-(éthyl-2, hexyl) sulfosuccinate de sodium  ou Manoxol OT	$\begin{array}{c} \text{COO-CH}_2\text{-CH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3 \\   \qquad \qquad   \\ \text{CH}_2 \qquad \qquad \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{Na}^+ \text{SO}_3^- \text{-CH} \qquad \qquad \text{C}_2\text{H}_5 \\   \\ \text{COO-CH}_2\text{-CH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3 \end{array}$
D <sub>2</sub>	Alkylbenzènesulfonate de sodium: Dodécylbenzène-sulfonate de sodium ou Igépal NA	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{10}\text{-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_3^- \text{Na}^+$
D <sub>3</sub>	Alkylbenzènesulfonate de sodium issu du Dobane JN (Etalon de biodégradabilité)	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_3^- \text{Na}^+$ $8 < n < 12$
D <sub>4</sub>	Alkylbenzènesulfonate de sodium issu du Dobane 83	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_3^- \text{Na}^+$ $6 < n < 11$
D <sub>5</sub>	Sulfate de sodium d'alcool polyoxyéthyléné issu du Dobanol 25-3S	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{-CH}_2\text{O)}_3\text{-SO}_3^- \text{Na}^+$ $10 < n < 13$

TABLE. 1. — Nomenclature et représentations des cinq détergents utilisés.

Un de ces produits est un sulfate d'alcool polyoxyéthyléné à 3 molécules d'oxyde d'éthylène (D<sub>5</sub>) ; les trois autres sont des alkylbenzènesulfonates de sodium :

D<sub>2</sub> est le dodécylbenzènesulfonate de sodium dont le groupement hydrophobe est constitué par une chaîne hydrocarbonée à 12 atomes de carbone ;

D<sub>3</sub>, qui est utilisé comme étalon dans le test officiel de biodégradabilité, est un alkylbenzènesulfonate de sodium appartenant à la série « Dobane » ; sa chaîne hydrocarbonée comporte 10 à 14 atomes de carbone ;

D<sub>4</sub> est également issu de la série « Dobane » mais sa partie hydrophobe est constituée par 8 à 13 atomes de carbone.

#### Mesure de la toxicité aiguë.

Nous avons utilisé la post-larve d'*Anguilla anguilla* (civelle) qui, comme tous les poissons, présente une grande sensibilité aux produits tensio-actifs. En outre c'est un animal qu'il est aisé d'obtenir en grandes quantités pendant l'hiver sur le littoral atlantique.

Les animaux d'expériences, pêchés à l'embouchure de la Vilaine, ont toujours été utilisés 40 à 50 heures après leur capture. Les expériences sont conduites dans des cristallisoirs en verre d'une contenance de quatre litres recevant chacun un litre de solution de détergents et 12 animaux. L'aération est obtenue par un bullage abondant au moyen de tube de verre de 1 mm de diamètre intérieur. Pendant toute la durée des expériences la température est restée très voisine de 20° C.

Dans notre précédent travail aucune augmentation de la mortalité n'a été enregistrée entre 48 et 96 heures ; nous avons donc, au bout de 48 heures, totalisé les animaux morts. Pour chaque produit, les résultats sont alors exprimés en concentration de détergent dosé qui provoque la mort de la moitié de la population après 48 h d'expérience ( $DL_{50}$ ). Ces valeurs sont obtenues par l'interprétation graphique des résultats.

### **Mesure de la biodégradation.**

Nous avons cherché à suivre le schéma général de la mesure de la biodégradation des détergents anioniques exposée dans la législation française actuelle. Ce schéma est le suivant :

une solution d'agent de surface anionique, à 20 mg/l, enrichie en matières nutritives et aérée, estensemencée avec un bouillon de culture obtenu à partir d'une eau d'égout. On mesure le taux de biodégradation par dosage de la matière active au bleu de méthylène après 7 jours d'incubation puis, après addition d'une même quantité d'agent de surface, en fin du 10<sup>e</sup> jour de l'essai biologique.

Cependant l'application de cette méthode au milieu marin et l'étude simultanée de la toxicité aiguë nous ont conduits à y apporter un certain nombre de modifications.

La solution d'ensemencement est obtenue par culture d'une vase prélevée superficiellement au débouché d'un égout se déversant dans le milieu marin. 250 ml de vase sont introduits dans un récipient à fond plat muni d'un dispositif d'aération et contenant 10 litres d'eau de mer enrichie par 10 g de peptone. Après 24 heures d'incubation le surnageant est repiqué dans 80 litres d'eau de mer contenant 80 g de peptone. La solution d'ensemencement est utilisée environ 24 heures après le repiquage. Le dénombrement des microorganismes, effectué par comptage à la cellule de Malassez, montre alors une concentration voisine de 500 000 germes par  $mm^3$ .

Les essais sont effectués dans des barils de 25 litres, sur deux séries de solutions en eau de mer de chacun des cinq détergents anioniques.

Dans une première série de 5 barils nous mesurons la biodégradation de chaque détergent pour une concentration initiale égale à 20 mg/l. Chaque baril reçoit simultanément :

400 mg de détergent en solution dans 10 l d'eau de mer,  
6 l d'eau de mer,  
4 l de solution d'ensemencement.

Dans la seconde série la concentration en chaque détergent est égale à 40 mg/l ; chaque baril reçoit simultanément :

800 mg de détergent en solution dans 10 l d'eau de mer,  
2 l d'eau de mer,  
8 l de solution d'ensemencement.

Les volumes de la solution d'ensemencement sont calculés de manière à ce que les concentrations en bactéries et en détergents soient dans un rapport constant. Ainsi le nombre de bactéries par milligramme de détergent est proche de 5.10<sup>9</sup>.

Un baril témoin, destiné à déterminer la toxicité éventuelle de la culture bactérienne ainsi que son interférence sur le dosage, reçoit 12 litres d'eau de mer et 8 litres de la solution d'ensemencement.

L'eau de mer utilisée dans tous les cas est de l'eau de mer vieillie, filtrée et stérilisée. Quelques gouttes de silicones (1) suffisent à éviter, le cas échéant, la formation de mousse.

Chaque baril est muni d'un robinet et équipé d'un système d'agitation électromagnétique. L'air, préalablement stérilisé par des radiations ultra-violettes, est amené dans chaque baril au moyen de tubes de verre calibrés ; le débit d'air est voisin de 1,5 l/mn.

---

(1) « Silicones 426 R » (Rhône-Poulenc).

Après homogénéisation on prélève dans chaque baril le volume nécessaire au dosage des détergents et au test de toxicité. Cette opération est renouvelée aux temps T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub> et T<sub>7</sub> soit, 2, 4 et 7 jours après le début de l'expérience. Aux temps T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>5</sub> et T<sub>6</sub> nous procédons uniquement au prélèvement des volumes nécessaires aux dosages.

Après 7 jours d'incubation nous amenons, dans chaque baril, les volumes à 10 l. Nous ajoutons ensuite :

- a) 400 mg de détergent en solution dans 10 l d'eau de mer, dans les barils de la première série
- b) 800 mg de détergent en solution dans 10 l d'eau de mer, dans ceux de la seconde série.

		T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>
D <sub>1</sub>	concentration (mg/l)	19,6	19,3	19,7	19,4	11,1	1,5	0,5	0	19,2	14	8,8	4,1	1,8
	biodégradation (%)	0	0	0	0	44	93	98	100	0	28	55	79	1
D <sub>1</sub>	concentration (mg/l)	38,5	38,8	38,3	38,5	31,8	28,9	5,5	0,5	38,6	0	0	0	0
	biodégradation (%)	0	0	0	0	8	25	86	99	0	100	100	100	100
D <sub>2</sub>	concentration (mg/l)	19,4	19,8	19,4	19,5	18,8	16,4	13,2	10,2	24,5	15,1	5,6	3,5	2,8
	biodégradation (%)	0	0	0	0	4	16	32	48	0	38	77	86	89
D <sub>2</sub>	concentration (mg/l)	39,2	39,4	39,0	39,2	39,3	39,2	28,8	19,6	50,4	34	23,5	20,2	19
	biodégradation (%)	0	0	0	0	0	0	27	50	0	33	53	60	62
D <sub>3</sub>	concentration (mg/l)	19,5	19,7	19,3	19,5	19,4	16,9	13,7	11,7	24,7	13,6	4,2	2,0	0,7
	biodégradation (%)	0	0	0	0	0	13	30	49	0	45	83	92	97
D <sub>3</sub>	concentration (mg/l)	39,7	39,8	39,6	39,7	39,6	39,7	30,2	22,2	50,2	33,0	26,4	24,4	22,4
	biodégradation (%)	0	0	0	0	0	0	24	44	0	34	49	51	56
D <sub>4</sub>	concentration (mg/l)	19,8	19,5	19,3	19,7	18,6	15,7	11,5	4,3	21,8	4,4	1,3	1,0	0,8
	biodégradation (%)	0	0	0	0	5	20	41	78	0	80	94	95	96
D <sub>4</sub>	concentration (mg/l)	39,8	39,8	39,2	39,0	39,2	39,6	26,4	16,4	49,2	34,8	24,6	21,1	19,4
	biodégradation (%)	0	0	0	0	0	0	33	58	0	29	50	57	61
D <sub>5</sub>	concentration (mg/l)	19,6	13,8	11,1	2,3	0,2	0	0	0	21,5	13	0	0	0
	biodégradation (%)	0	14	43	88	99	100	100	100	0	40	100	100	100
D <sub>5</sub>	concentration (mg/l)	40,2	37,0	34,4	28,3	17,5	2,5	0,5	0	40,8	0	0	0	0
	biodégradation (%)	0	8	14	30	57	94	99	100	0	100	100	100	100

TABLE 2. — Concentrations et pourcentages de biodégradation de chacun des cinq détergents aux deux concentrations 20 et 40 mg/l.

Les dosages journaliers sont poursuivis jusqu'au 11<sup>e</sup> jour. Les tests de toxicité aiguë sont réalisés immédiatement après la surcharge en détergent (T<sub>7</sub>) puis au 9<sup>e</sup> et 11<sup>e</sup> jours (T<sub>9</sub> et T<sub>11</sub>). Des numérations de bactéries sont effectuées aux temps T<sub>0</sub>, T<sub>7</sub> et T<sub>11</sub>.

La méthode de dosage des détergents dérive de celle décrite par ABBOTT (1962) : les détergents anioniques forment, avec le bleu de méthylène, un complexe extractible par le chloroforme ; l'intensité de la coloration, lue à 650 nm, est proportionnelle à la concentration en tensio-actifs anioniques du milieu.

**Résultats.**

Les tableaux 2 et 3 regroupent, pour chacun des cinq détergents testés : la concentration en détergent présente dans le milieu, le pourcentage de biodégradation correspondant, et la DL<sub>50</sub>, entre les temps T<sub>0</sub> et T<sub>11</sub> aux deux concentrations expérimentées (20 et 40 mg/l).

Chaque concentration en détergent donnée correspond à la valeur moyenne obtenue à partir de deux dosages effectués sur chacun des échantillons. Les matières organiques présentes dans la solution témoin n'ont pas d'incidence notable sur le dosage des détergents à de telles concentrations.

		T <sub>0</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>7</sub> '	T <sub>8</sub>	T <sub>11</sub>
D <sub>1</sub>	concentrations (mg/l)	19,6	19,7	11,1	0	19,2	8,8	1,8
	20 mg/l	DL 50 (mg/l)	8,4	8,0	10,2	(*)	8,1	8,0
D <sub>1</sub>	concentrations (mg/l)	38,5	38,3	31,8	0,5	38,6	0	0
	40 mg/l	DL 50 (mg/l)	8,5	8,3	9,7	(*)	8,8	(*)
D <sub>2</sub>	concentrations (mg/l)	19,4	19,4	18,8	10,2	24,5	5,6	2,8
	20 mg/l	DL 50 (mg/l)	2,6	2,6	3,1	10,2	4,1	(*)
D <sub>2</sub>	concentrations (mg/l)	39,2	39,0	39,3	19,6	50,4	23,5	19
	40 mg/l	DL 50 (mg/l)	2,7	2,7	2,7	7,6	3,8	4,1
D <sub>3</sub>	concentrations (mg/l)	19,5	19,3	19,4	11,7	24,7	4,2	0,7
	20 mg/l	DL 50 (mg/l)	2,8	2,8	2,7	7,7	3,6	(*)
D <sub>3</sub>	concentrations (mg/l)	39,7	39,6	39,6	22,2	50,2	26,4	22,4
	40 mg/l	DL 50 (mg/l)	3,0	3,0	3,0	5,9	4,0	4,8
D <sub>4</sub>	concentrations (mg/l)	19,8	19,3	18,6	4,3	21,8	1,3	0,8
	20 mg/l	DL 50 (mg/l)	2,9	2,9	2,8	(*)	3,4	(*)
D <sub>4</sub>	concentrations (mg/l)	39,8	39,2	39,2	16,4	49,2	24,6	19,4
	40 mg/l	DL 50 (mg/l)	3,0	3,0	3,0	8,8	4,2	4,3
D <sub>5</sub>	concentrations (mg/l)	19,6	11,1	0,2	0	21,5	0	0
	20 mg/l	DL 50 (mg/l)	1,9	1,8	(*)	(*)	2,1	(*)
D <sub>5</sub>	concentrations (mg/l)	40,2	34,4	17,5	0	40,8	0	0
	40 mg/l	DL 50 (mg/l)	1,8	1,8	3,1	(*)	1,9	(*)

TABLE. 3. — Concentrations et DL<sub>50</sub> de chacun des cinq détergents aux deux concentrations 20 et 40 mg/l. (\* aucune mortalité à la concentration correspondante).

En début d'expérience les concentrations en détergents, en regard de l'erreur admissible sur le dosage, ne varient pas de façon significative ; c'est donc la valeur moyenne de ces dernières que nous avons retenu comme teneur initiale pour le calcul du taux de biodégradation.

Les DL<sub>50</sub> sont calculées à partir des concentrations déterminées par dosage. La solution témoin ne manifeste pas de nocivité à l'égard des animaux.

La biodégradation du détergent D<sub>1</sub> débute au 4<sup>e</sup> jour d'expérimentation, assez lentement à 40 mg/l et très rapidement à 20 mg/l (fig. 1). La biodégradation est totale au 7<sup>e</sup> jour.

La biodégradation est complète à la concentration de 40 mg/l, 24 heures après surcharge. Cependant, à 20 mg/l la dégradation est plus lente : seulement 28 % à T<sub>8</sub> et 91 % à T<sub>11</sub>. Ce phénomène

s'explique par les valeurs trouvées lors des numérations bactériennes (tabl. 4). En effet, la rapide et totale dégradation du détergent D<sub>1</sub> à 20 mg/l n'a pas permis la survie d'une importante population bactérienne : la vitesse de dégradation, liée au nombre de germes présents dans le milieu, a donc été plus faible.

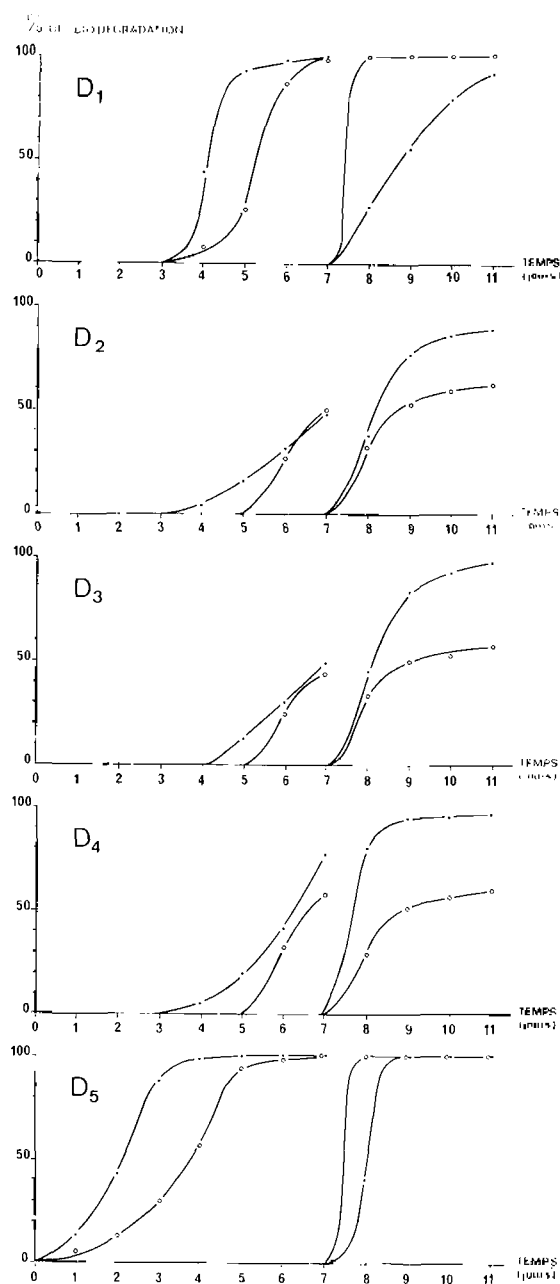


Fig. 1. — Cinétique de biodégradation (trait-point : 20 mg/l ; trait-cercle : 40 mg/l).

La toxicité aiguë de D<sub>1</sub> ne présente pas de variations significatives au cours de la biodégradation. D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> et D<sub>4</sub> montrent entre eux des résultats analogues. Les temps d'adaptation des bactéries à ces trois produits sont, comme pour D<sub>1</sub>, plus longs à 40 qu'à 20 mg/l (fig. 1). D'autre part ces trois

alkylbenzènesulfonates atteignent après 7 jours d'incubation, des taux de biodégradation nettement inférieurs à ceux obtenus 4 jours après la surcharge.

En ce qui concerne D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub> les pourcentages de biodégradation obtenus à T<sub>7</sub> sont très voisins et ne dépassent pas 50 %. Par contre au 11<sup>e</sup> jour la biodégradation, pratiquement totale à 20 mg/l, n'est que partielle à 40 mg/l. Cette dernière remarque est également valable pour le détergent D<sub>4</sub>. Cependant, à T<sub>7</sub>, les taux de biodégradation de D<sub>4</sub> diffèrent suivant la concentration testée.

La toxicité de ces trois détergents diminue notablement au cours de leur biodégradation. De plus les DL<sub>50</sub> à T<sub>7</sub>, sont supérieures aux DL<sub>50</sub> initiales.

Enfin D<sub>5</sub> se révèle le produit le plus aisément dégradé (fig. 1). La biodégradation, très rapide à la concentration de 20 mg/l, est totale au 4<sup>e</sup> jour. Il en résulte une diminution du nombre de bactéries présentes dans le milieu à T<sub>7</sub> (tabl. 4), d'où une réduction de la vitesse de dégradation après la surcharge.

		T <sub>0</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>11</sub>
D <sub>1</sub>	20 mg/l	180 000	66 000	1 000
	40 mg/l	90 000	2 000	22 000
D <sub>2</sub>	20 mg/l	180 000	72 000	33 000
	40 mg/l	90 000	40 000	35 000
D <sub>3</sub>	20 mg/l	180 000	72 000	31 000
	40 mg/l	90 000	68 000	40 000
D <sub>4</sub>	20 mg/l	180 000	68 000	35 000
	40 mg/l	90 000	65 000	46 000
D <sub>5</sub>	20 mg/l	180 000	70 000	2 500
	40 mg/l	90 000	1 500	1 500

TABLE 4. — Numérations bactériennes (germes/mm<sup>3</sup>).

A la concentration 40 mg/l, la dégradation s'effectue plus lentement mais est tout de même totale au 6<sup>e</sup> jour. Après surcharge la biodégradation est complète au temps T<sub>8</sub>.

Les DL<sub>50</sub> obtenues ne témoignent pas de variation notable de la toxicité.

## Discussion.

### La biodégradation.

Il convient avant tout de signaler que la méthode de dosage n'est sensible qu'aux détergents anioniques présentant au moins 5 à 6 atomes de carbone dans leur chaîne hydrocarbonée. De plus la réaction n'est stoechiométrique que lorsque la chaîne hydrophobe possède au minimum 8 atomes de carbone ; en deçà de ce chiffre la réponse colorimétrique est proportionnelle au poids moléculaire du détergent (SWISHER et coll., 1964). Ainsi nous ne mesurons pas la biodégradation complète des produits tensio-actifs testés mais la réduction, puis l'absence, de réactivité de leurs produits de dégradation avec le bleu de méthylène.

La biodégradation, pour quatre des produits expérimentés, ne débute qu'après un temps de latence variant de 3 à 5 jours. Seul D<sub>5</sub> se dégrade dès le début de l'expérience. Ceci apparaît nettement lorsqu'on détermine graphiquement le temps nécessaire à la disparition de la moitié de la matière active au bleu de méthylène présente dans le milieu (tabl. 5). Le classement des détergents, par ordre décroissant de biodégradabilité, est le suivant : D<sub>5</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub>.

D<sub>5</sub> correspond à un tensio-actif facilement et rapidement dégradé par les microorganismes. Ceci est à rapprocher des travaux de BRÉBION et coll. (1964) qui, pour un type de structures chimiques comparables, ont mis en évidence une hydrolyse ne nécessitant pas une adaptation bactérienne et libérant la partie lipophile de la molécule.

	20 mg/l	40 mg/l
D <sub>1</sub>	4	5,2
D <sub>2</sub>	7	> 7
D <sub>3</sub>	> 7	> 7
D <sub>4</sub>	6,3	6,6
D <sub>5</sub>	2,1	3,8

TABLE 5. — Temps, en jours, nécessaire à la biodégradation de 50 % de la matière active initiale.

duire la synthèse des enzymes bactériens nécessaires à la destruction des molécules de détergents. Lorsque cette adaptation est réalisée, la biodégradation est très rapide ; en effet la comparaison des taux de biodégradation aux temps T<sub>4</sub> et T<sub>11</sub> (4 jours après la surcharge) montre deux intervalles de répartition très distincts (tabl. 6) : de 0 à 44 % à T<sub>4</sub>, de 61 à 100 % à T<sub>11</sub>.

		T <sub>4</sub>	T <sub>11</sub>
D <sub>1</sub>	20 mg/l	44	91
	40 mg/l	8	100
D <sub>2</sub>	20 mg/l	4	89
	40 mg/l	0	62
D <sub>3</sub>	20 mg/l	0	97
	40 mg/l	0	56
D <sub>4</sub>	20 mg/l	5	96
	40 mg/l	0	61

TABLE 6. — Taux de biodégradation de D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> et D<sub>4</sub> aux temps T<sub>4</sub> et T<sub>11</sub>.

la surcharge. Ce phénomène ne peut pas s'expliquer par une inhibition de l'activité bactérienne sous l'influence d'une concentration trop élevée en détergent ; en effet, le démarrage de la phase de biodégradation ainsi que la stabilité de la population microbienne (tabl. 4) excluent une telle hypothèse.

Pour CIATTONI et SCARDIGNO (1968) l'inhibition des enzymes de la biodégradation serait imputable à une adsorption des détergents sur la cellule bactérienne. Cette hypothèse ne semble pas devoir être retenue puisque nous constatons une inhibition seulement lorsque 60 % de la matière active a disparu. Il semblerait plutôt qu'une compétition s'établisse, entre les produits de dégradation apparus et les molécules de détergent encore présentes dans le milieu, par blocage des sites enzymatiques spécifiques de la biodégradation.

#### **La toxicité pendant la phase de biodégradation.**

L'étude de la toxicité aiguë, vis-à-vis des civelles, au cours de la phase de biodégradation nous permet également de distinguer deux catégories de détergents.

Les trois alkylbenzènesulfonates et D<sub>1</sub> nécessitent un temps de latence plus ou moins long avant l'amorce d'une dégradation. Dans ce dernier cas deux hypothèses peuvent être envisagées.

Tout d'abord on peut concevoir que les germes aptes à dégrader ce type de molécules ne sont pas initialement en nombre suffisant dans le milieu. Mais dans ce cas nous devrions tout de même constater, dès les premiers jours, une très faible dégradation.

Il est plus vraisemblable que cette période de latence correspond au temps requis pour in-

L'ensemble de nos résultats fait apparaître la très grande aptitude à la biodégradation de D<sub>5</sub> et D<sub>1</sub>, aux deux concentrations testées, aussi bien au temps T<sub>7</sub> qu'au temps T<sub>11</sub>. En ce qui concerne D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> et D<sub>4</sub> leur biodégradation n'est pratiquement totale qu'au temps T<sub>11</sub> pour la concentration de 20 mg/l. Il apparaît donc que les trois alkylbenzènesulfonates sont, parmi les cinq détergents anioniques testés, les plus résistants à la biodégradation. En outre la concentration initiale en détergents semble être, pour ces trois produits, un facteur non négligeable influant sur la dégradation. C'est ainsi qu'à 40 mg/l, les courbes de dégradation atteignent un palier alors qu'environ 60 % de matière active a disparu (fig. 1) ; la diminution de la vitesse de biodégradation, entre T<sub>6</sub> et T<sub>7</sub>, laisse déjà supposer l'existence d'un tel palier avant



a)  $D_1$  et  $D_5$  ne montrent pas de variations significatives des  $DL_{50}$  pendant les onze jours d'expérimentation ; ainsi la toxicité de ces deux produits, qui ne possèdent pas de noyau aromatique, n'est pas liée à la longueur de la molécule.

b) Les alkylbenzènesulfonates manifestent en revanche une nette diminution de la toxicité, parallèlement à leur biodégradation, pendant les sept premiers jours. Ceci confirme les observations de SWISHER et coll. (1964). Cette augmentation de la valeur des  $DL_{50}$  est liée au raccourcissement des chaînes au cours de la phase de dégradation ; en effet HIRSCH (1963) constate que la diminution du nombre de carbones de la chaîne hydrophobe s'accompagne d'une augmentation très importante de la valeur des  $DL_{50}$  chez le poisson rouge.

Au moment de la surcharge, les valeurs des  $DL_{50}$  sont, pour ces trois produits, toujours supérieures à celles de  $T_0$ . La présence de produits de dégradation semble donc intervenir sur la toxicité propre de chaque détergent. Il pourrait s'agir de la même façon d'un effet antagoniste entre les produits de dégradation et les molécules de détergents non dégradées.

Après la surcharge nous retrouvons la même diminution de la toxicité liée à la biodégradation. Cependant pour des pourcentages très voisins de biodégradation, avant et après la surcharge, la diminution de la toxicité est moins importante après la surcharge.

### Conclusion.

D'une manière générale il apparaît que le processus global de la biodégradation des détergents anioniques en milieu marin est comparable à celui obtenu, par de nombreux auteurs, en eau douce.

Les résultats des essais de biodégradation et les mesures de toxicité aiguë, à l'égard de la post-larve de *Anguilla anguilla*, permettent de distinguer deux catégories de détergents anioniques.

Le premier groupe est constitué par l'ester de l'acide sulfosuccinique ( $D_1$ ) et le sulfate d'alcool polyoxyéthyléné ( $D_5$ ) : ces deux produits, qui ne possèdent pas de noyau aromatique dans leur molécule, sont rapidement et totalement dégradés. De plus leur toxicité ne varie pas au cours de la dégradation bactérienne.

Les trois alkylbenzènesulfonates linéaires composent le second groupe de détergents. Ce type de molécule est plus difficilement oxydé par les bactéries après une période d'adaptation relativement longue. Par la suite, après la surcharge, la dégradation est plus rapide et pratiquement totale seulement à la concentration la plus basse. D'autre part la toxicité de ces trois produits décroît au cours de leur dégradation.

Jusqu'alors le seul critère officiel déterminant l'emploi des tensio-actifs anioniques est celui d'une biodégradation satisfaisante au bout de 10 jours d'incubation. Cependant, le séjour trop bref des effluents dans les stations d'épuration, les nombreux rejets dépourvus de traitement et l'augmentation sans cesse croissante de la consommation doivent orienter la production vers la mise au point de produits plus rapidement dégradables. Par ailleurs il serait souhaitable que la législation prenne également en considération la notion de toxicité des détergents et de leurs produits de dégradation.

*Nous sommes très reconnaissants à M. GESNOT (Mareyeur à Gron) qui nous a permis d'obtenir régulièrement des animaux en parfait état physiologique.*

Manuscrit remis en mai 1973  
ISTPM-NANTES

### BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT (D.C.), 1962. — The colorimetric method for determination of surface active materials in water. — *The Analyst*, **87**, 286-293.
- BOGAN (R.H.) et SAWYER (C.N.), 1955. — Biochemical degradation of synthetic detergents. II. — Studies on the relation between chemical structure and biochemical oxidation. — *Sewage Ind. Wastes*, **27**, 917-928.

- BREBION (G.), CABRIDENC (R.) et JULLIG (T.), 1966. — Evaluation de la biodégradabilité des détergents par une méthode statique. — *Tribune CEBEDEAU*, **266**, 13-18.
- CIATTONI (P.) et SCARDIGNO (S.), 1968. — New contributions to the knowledge of the biodegradability of LAS. — *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **45** (1), 15-26.
- FISCHER (W.K.), 1963. — The closed bottle test: a simple quantitative method for determining the biodegradability of anionic surfactants and other substances. — *Fette-Seifen Antr.*, **65**, 37-42.
- HAMMERTON (C.), 1956. — Synthetic detergents and water supplies. — *Proc. Soc. Water Treat. Exam.*, **5**, 145-174.
- HEINZ (H.J.) et FISCHER (W.K.), 1967. — International statutes of methods for determining biodegradability of surfactants and the possibilities for standardization. II. Current test methods and suggestions for a combined international standard method. — *Fette-Seifen Antr.*, **69**, 188-196.
- HIRSCH (E.), 1963. — *Vom Wasser*, **30**, 249.
- HUDDLESTON (R.L.) et ALLRED (R.C.), 1964. — Evaluation of detergents by using activated sludge. — *J. of Am. Oil Chemists Society*, **41**, 732-735.
- HUNTER (J.V.) et HEUKELEKIAN (H.), 1964. — Determination of biodegradability using Warburg respirometric techniques. — *Purdue University. Engin. Bull., Extension Ser.*, **19**, 616-627.
- MAGGI (P.) et COSSA (D.), 1973. — Novicité relative de cinq détergents anioniques en milieu marin: 1. — Toxicité aiguë à l'égard de quinze organismes. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **37** (3).
- SAWYER (C.N.), BOGAN (R.H.) et SIMPSON (J.R.), 1956. — Biochemical behavior of synthetic detergents. — *Indus. and Engin., Chemistry*, **48** (2), 236-240.
- SETZKORN (A.E.), HUDDLESTON (R.C.) et ALLED (R.C.), 1964. — An evaluation of the river die-away technique for studying detergent biodegradability. — *J. of Am. Oil Chemists' Society*, **41**, 826-830.
- SWISHER (R.D.), 1963. — The chemistry of surfactant biodegradation. — *J. of Am. Oil Chemists' Society*, **40**, 648-656.
- SWISHER (R.D.), O'ROURKE (J.T.) et TOMLINSON (H.D.), 1964. — Fish bioassays of linear alkylate sulfonate (LAS) and intermediate biodegradation products. — *J. of Am. Oil Chemists' Society*, **41**, 746-752.
- WEAVER (P.J.) et COUGHLIN (F.J.), 1964. — Measurement of biodegradability. — *J. of Am. Oil Chemists' Society*, **41**, 738-741.