



**HAL**  
open science

# ANALYSE ET COMPORTEMENT DE PERTURBATEURS ENDOCRINIENS EN STATION D'ÉPURATION D'EAUX USÉES DOMESTIQUES

Christophe Stavrakakis, Ronan Colin, Catherine Faur, Valérie Hequet, Pierre  
Le Cloirec

► **To cite this version:**

Christophe Stavrakakis, Ronan Colin, Catherine Faur, Valérie Hequet, Pierre Le Cloirec. ANALYSE ET COMPORTEMENT DE PERTURBATEURS ENDOCRINIENS EN STATION D'ÉPURATION D'EAUX USÉES DOMESTIQUES. *European journal of water quality - Journal européen d'hydrologie*, 2008, 39 (2), pp.145-156. 10.1051/water/2008002 . hal-02362100

**HAL Id: hal-02362100**

**<https://hal.science/hal-02362100v1>**

Submitted on 18 Nov 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Analysis and behaviour of endocrine disrupting compounds in wastewater treatment plant

## ANALYSE ET COMPORTEMENT DE PERTURBATEURS ENDOCRINIENS EN STATION D'ÉPURATION D'EAUX USÉES DOMESTIQUES

Christophe STAVRAKAKIS<sup>a,b</sup>, Ronan COLIN<sup>b</sup>, Catherine FAUR<sup>c</sup>,  
Valérie HEQUET<sup>a,c</sup> et Pierre LE CLOIREC<sup>d</sup>

<sup>a</sup> École des Mines de Nantes, GEPEA UMR CNRS 6144, 4, rue Alfred Kastler, BP 20722,  
44307 Nantes Cedex 3, France, valerie.hequet@emn.fr

<sup>b</sup> Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire-Atlantique, route de Gâchet,  
BP 80603, 44306 Nantes Cedex 3, France, ronan.colin@cg44.fr

<sup>c</sup> Université de Montpellier 2, LGPEB UMR CIRAD 016, place Eugène Bataillon,  
34095 Montpellier Cedex 5, France, catherine.faur@univ-montp2.fr

<sup>d</sup> École de Chimie de Rennes (ENSCR), UMR CNRS 6226, « Sciences Chimiques de Rennes »,  
avenue du Général Leclerc, 35700 Rennes, France, pierre.le-cloirec@ensc-rennes.fr

(Article reçu le 21 novembre 2007, accepté le 20 mai 2008)

### Résumé

*Une procédure analytique associant la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) a été développée pour la détermination d'hormones stéroïdes, d'alkylphénols et du bisphénol A dans des eaux chargées en matières organiques (eaux usées domestiques). Deux protocoles d'extraction en phase solide ont été développés pour les hormones et les phénols sur cartouches C18 et OASIS HLB, respectivement. Pour les hormones, une purification sur silice a également été mise au point. Les limites de détection obtenues dans les effluents d'une station d'épuration (STEP) sont inférieures à 0,3 ng.L<sup>-1</sup> pour les hormones stéroïdes et 11 ng.L<sup>-1</sup> pour les phénols. Ainsi, des mesures de concentration des composés cibles ont été réalisées à chaque étape du traitement d'une filière classique d'épuration des eaux usées domestiques de la région nantaise. Les résultats ont révélé le rejet de certains perturbateurs endocriniens dans le milieu récepteur parmi lesquels l'estrone, le nonylphénol et le bisphénol A. L'analyse des performances de la STEP et particulièrement du traitement biologique (bassins de boues activées) montrent cependant une efficacité élevée pour de nombreux composés. Les performances du bioréacteur à boues activées ont été mises en avant de nombreuses fois ces dernières années et, pour une meilleure compréhension des mécanismes d'élimination, des essais de biodégradabilité et de sorption sur des boues activées ont été réalisés sur deux polluants représentatifs (17  $\beta$ -estradiol et bisphénol A). Les résultats ont été analysés d'un point de vue cinétique de sorption et de dégradation par les microorganismes, puis comparés aux conditions opératoires généralement appliquées aux STEP françaises. Ainsi l'élimination plus faible du bisphénol A (environ 30 %) a pu être expliquée, d'une part par sa capacité moindre à s'adsorber sur les boues activées et d'autre part par une*

longue période d'adaptation des microorganismes (environ 4 jours) pour débuter sa dégradation dans les conditions du test.

**Mots clés :** *Perturbateurs endocriniens, analyse CL-SM/SM, boues activées, sorption, biodégradation.*

### **Abstract**

*Industrialization and the intensive use of domestic chemical products lead to the spreading of various substances considered as emerging pollutants. Thus, the scientific community has focused its attention the past ten years on their fate in the environment. Among them, some compounds can interfere with the normal endocrine functions of wildlife and possibly humans by mimicking or antagonizing the effects of hormones, by altering the pattern of synthesis and metabolism of hormones and by modifying hormone receptor levels. These substances, called Endocrine Disrupting Compounds (EDC), are defined as “exogenous substances that causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, consequent to change in endocrine function” (European Commission, 1996). Monitoring these compounds in water is of great importance and several studies have been conducted in order to quantify them at very low levels. Gas and liquid chromatography tandem mass spectrometry (GC and LC-MS/MS) represent the appropriate analytical tools for determination of endocrine disrupters in water.*

*In this work, a Liquid Chromatographic tandem Mass Spectrometric (LC-MS/MS) method has been developed for the determination of four steroids, four alkylphenolic compounds and the bisphenol A in wastewaters. Two Solid Phase Extraction (SPE) procedures were developed on C18 and OASIS HLB cartridges for steroid hormones and phenolic compounds, respectively. A purification clean-up protocol was developed for steroid estrogens analysis due to the complex matrix. Limits Of Detection (LOD) obtained were lower than  $0.3 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  for steroids and  $11 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  for phenols. Investigation in a domestic Wastewater Treatment Plant (WTP) was realized by determining the concentrations of the 9 Endocrine Disrupting Compounds (EDC) at each step of the treatment. The activated sludge bioreactor showed the higher removal rates compared to the other treatments. However significant differences were observed with values ranging between 15% for octylphenol (OP) and 98% for 17  $\beta$ -estradiol (E2). In order to get a better understanding of removal mechanisms, these concentration measurements were compared to sorption and biodegradation tests performed in a previous study on two representatives EDC: the 17  $\beta$ -estradiol and the bisphenol A (BPA). Degradation experiments, performed according to the standardized method of Sturm, showed that E2 and BPA were easily biodegraded by the microorganisms of the activated sludge bioreactor of a WTP. However, a lower adsorbability of the BPA (only 30% adsorbed onto inactivated sludge in 180 min) and a longer adaptation time for the microorganisms to begin its degradation (4 days against 2.5 days for the E2) could explain the lower removal rate of this compound in a bioreactor.*

**Keywords:** *Endocrine disrupters, LC-MS/MS analysis, activated sludge, sorption, biodegradation.*

## **INTRODUCTION**

L'industrialisation et l'utilisation dans la vie courante d'un nombre croissant de produits chimiques et médicamenteux sont responsables de la dissémination dans

l'environnement de substances variées souvent nommées « polluants émergents ». Parmi toutes les sources de pollution potentielles, les eaux usées domestiques semblent y contribuer amplement. En effet, les stations d'épuration (STEP) ne sont pas conçues pour faire face à ce mélange de produits chimiques et une dégradation souvent partielle dans les étapes de traitement leur permet d'accéder aux milieux récepteurs (Kolpin *et al.*, 2002). Dans ce contexte, les substances à perturbation endocrinienne, c'est-à-dire les substances susceptibles d'interférer avec l'action des hormones endogènes (Damstra *et al.*, 2002), suscitent un grand intérêt auprès des scientifiques et spécialistes en environnement. Ce sont les résultats concernant des anomalies de la reproduction dans des populations de mollusques et de poissons qui ont soulevé le problème de perturbations possibles des régulations endocrines à moyen et long termes (Crisp *et al.*, 1997 ; Moore *et al.*, 2001 ; Carballo *et al.*, 2004). La prise de conscience de l'intervention de polluants au niveau du système endocrinien a donc conduit à un développement accru des recherches dans ce domaine (ARET, 2002).

En station d'épuration, seules certaines classes de perturbateurs endocriniens sont présentes. On y retrouve principalement les polluants naturels tels que les hormones stéroïdes, les alkylphénols, le bisphénol A et les phtalates (Wingtens and Melin, 2001 ; Svenson *et al.*, 2003 ; Johnson *et al.*, 2005). Les hormones stéroïdes sont considérées comme les perturbateurs endocriniens les plus puissants (Leroy and Manciot, 2006). En effet, il a été montré qu'une concentration de 1 ng.L<sup>-1</sup> en éthinylestrodiol (EE2) suffit à provoquer des dérèglements du système de reproduction chez des poissons exposés (Purdom *et al.*, 1994). Les alkylphénols sont présents à des concentrations plus importantes (jusqu'au µg.L<sup>-1</sup>), mais leur potentiel œstrogénique est 1000 à 10000 fois plus faible que celui des hormones stéroïdes. Des effets similaires à ceux des stéroïdes ont cependant été observés sur les poissons exposés aux effluents de STEP (Jobling and Sumpter, 1993 ; Rodgers-Gray *et al.*, 2000). Quant au bisphénol A (BPA), son utilisation massive conduit à d'importants relargages et une concentration atteignant 2 µg.L<sup>-1</sup> a été rapportée dans une STEP allemande (Quednow and Püttman, 2007). Enfin les phtalates, principalement utilisés pour la production de matières plastiques, sont également suspectés de perturbations endocriniennes, mais ne sont pas étudiés dans ce travail.

La détermination de tels polluants dans les eaux environnementales est devenue primordiale et l'utilisation de techniques analytiques de pointe telles que la chromatographie en phase liquide (CL) et la chromatographie en phase gazeuse (CG), couplée à la spectrométrie de masse en tandem (SM/SM), a souvent été étudiée (Birkett and Lester, 2003). Ces techniques permettent d'atteindre des limites de détection de l'ordre du ng.L<sup>-1</sup> pour les hormones stéroïdes et les alkylphénols (Isobe *et al.*, 2003 ; Lagana *et al.*, 2004).

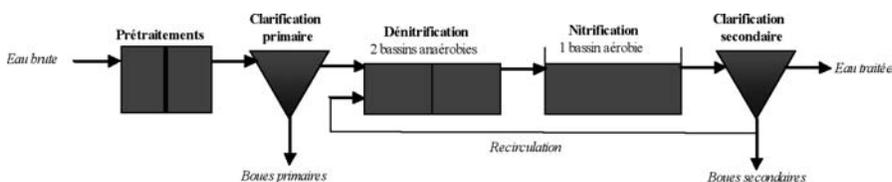
Dans cette étude, un protocole analytique de type CL-SM/SM a été préféré afin d'éviter l'étape de dérivation nécessaire à la CG-SM/SM. Le développement du protocole analytique complet a déjà été présenté dans une précédente étude (Stavarakakis *et al.*, 2008a). Les mesures de concentrations de quatre hormones stéroïdes, quatre alkylphénols et du bisphénol A à chaque étape du traitement d'une station d'épuration (France) sont présentées. Les performances de la STEP sont discutées et l'efficacité du bioréacteur à boues activées est particulièrement observée. Afin d'approcher les mécanismes d'élimination, les résultats sont également discutés et comparés à des essais de sorption et biodégradation réalisés au laboratoire sur deux

polluants représentatifs : le 17  $\beta$ -estradiol (E2) et le bisphénol A (BPA) (Stavarakakis, 2007 ; Stavarakakis *et al.*, 2008b).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. La station d'épuration

Les mesures de concentrations ont été réalisées dans une STEP. La station traite 34 millions  $\text{m}^3 \cdot \text{an}^{-1}$  et met en œuvre des procédés de traitement classiques (Figure 1). Le traitement des eaux usées domestiques présente un traitement mécanique primaire (dégrillage, dessablage et dégraissage par flottation). L'eau prétraitée subit un traitement biologique anaérobie (dénitritation), puis un traitement biologique aérobie (nitrification). Au sein des bassins à boues activées, des séquences successives aérées et anoxiques permettent respectivement d'oxyder l'ammoniaque en nitrites puis en nitrates et de réduire ces derniers en azote gazeux ( $\text{N}_2$ ). A ce stade, les boues décantées sont en partie recirculées vers les bassins anaérobies. L'âge des boues est en moyenne de 21 jours et leur concentration dans les bassins peut varier entre 3,5 et 4,5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  au cours de l'année. L'eau et la biomasse sont séparées dans des clarificateurs. L'eau ainsi épurée est rejetée dans le milieu récepteur.



**Figure 1.** Schéma de la station de traitement d'eaux usées domestiques étudiée  
*Figure 1. Schematic diagram of the investigated domestic WTP*

### 2. La procédure analytique

Les composés analysés sont les suivants : estrone (E1), 17  $\beta$ -estradiol (E2), 17  $\alpha$ -éthynylestradiol (EE2), 16  $\alpha$ -hydroxyestrone (OHE1), 4-nonylphénol (NP), acide nonylphénoxy acétique (NPEC), 4-*t*-octylphénol (OP), acide octylphénoxy acétique (OPEC) et le bisphénol A (BPA). Leur identification et quantification ont été réalisées grâce à un système « Surveyor autosampler » et une pompe HPLC couplée à un spectromètre de masse en tandem « TSQ Quantum Discovery » (Thermo Electron Corporation, Courtabœuf, France). La colonne chromatographique mise en œuvre pour la séparation est une Purospher Star RP 18 (125 mm  $\times$  2 mm I.D., 5  $\mu\text{m}$ , Merck). La température de la colonne était fixée à 30  $^{\circ}\text{C}$  et le volume d'injection était de 20  $\mu\text{L}$ .

Préalablement, les échantillons ont été préconcentrés par extraction en phase solide (EPS) sur cartouches C18 Bond Elut (1g) (Varian) pour les hormones stéroïdes et sur cartouches OASIS HLB (200 mg) (Waters) pour les alkylphénols et le bisphénol A. La quantification des hormones stéroïdes dans une matrice complexe telle que les échantillons de station d'épuration s'étant avérée difficile dans ces conditions, une purification sur une phase polaire en silice a été développée pour ces molécules. Les transitions de quantification, les taux de récupération (%) et les limites de détection ( $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ) obtenues pour des échantillons de STEP sont présentés dans le Tableau 1 (Stavarakakis *et al.*, 2008a).

**Tableau 1.** Transitions de quantification, taux de récupération (%) et limites de détection (ng.L<sup>-1</sup>) pour chaque perturbateur endocrinien analysé par CL-SM/SM (Stavarakakis *et al.*, 2008a)

**Table 1.** Quantification fragments, recovery yields (%), limit of detection (ng.L<sup>-1</sup>) for each endocrine disrupting compounds analysed by LC-MS/MS (Stavarakakis *et al.*, 2008a)

Composé	Abréviation	[M-H] Ion parent (m/z)	Ion fils pour quantification (m/z)	Taux de récupération (%)	Limites de détection (ng.L <sup>-1</sup> )
Estrone	E1	269,1	145,0	86,0	0,1
17 β-estradiol	E2	271,1	183,0	80,8	0,2
17 α-éthynylestradiol	EE2	295,1	145,0	80,5	0,3
16 α-hydroxyestrone	OHE1	285,1	145,0	53,6	0,1
Nonylphénol	NP	219,1	106,0	12,9	0,4
Nonylphénol carboxylate	NPEC	277,1	219,1	102,8	2,3
Octylphénol	OP	205,1	133,0	78,9	9,4
Octylphénol carboxylate	OPEC	263,1	205,1	68,8	7,5
Bisphénol A	BPA	227,1	212,0	86,9	10,2

### 3. Les essais de sorption et biodégradation au laboratoire

Le détail des essais au laboratoire ont été présentés lors d'une précédente étude (Stavarakakis, 2007 ; Stavarakakis *et al.*, 2008b). Les expériences de sorption sur des boues inactivées ont été réalisées afin d'évaluer la contribution de ce mécanisme sans la participation d'une assimilation par les microorganismes. L'inactivation des microorganismes a été réalisée par lyophilisation (Kerr *et al.*, 2000) précédée d'une pré-congélation à - 80 °C. L'efficacité de la procédure a ensuite été vérifiée grâce à une expérience basée sur le principe de la demande biochimique en oxygène (DBO).

Concernant les essais de biodégradation, la méthode normalisée de Sturm a été utilisée (Sturm, 1973 ; Norme ISO 9439, 1992). Le principe de ce test de référence repose sur la mesure de production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) : de l'air exempt de CO<sub>2</sub> circule à travers des solutions test (comprenant la substance cible, des nutriments nécessaires au développement des microorganismes et les boues activées) et le CO<sub>2</sub> dégagé lors de la biooxydation de la substance cible est piégé par une solution d'hydroxyde de baryum (Ba(OH)<sub>2</sub>). Un dosage du CO<sub>2</sub> est ensuite réalisé avec de l'acide chlorhydrique en présence d'un indicateur coloré, la phénolphtaléine. Un pourcentage de biodégradation est finalement déterminé en comparant la quantité de CO<sub>2</sub> produite à la quantité théoriquement produite par la substance cible, calculé à partir de la composition de cette dernière en carbone.

## RÉSULTATS

### 1. Les mesures de concentration

Quelques campagnes de prélèvements ont été réalisées les 14 mars (seulement pour les hormones stéroïdes), 27 avril, 13 juin, 19 juillet et 17 août 2007. Les

concentrations en perturbateurs endocriniens cibles ont été déterminées à toutes les étapes de traitement de la STEP. Les moyennes des valeurs obtenues  $m$  ( $n = 5$  pour les hormones et  $n = 4$  pour les phénols), les écarts type  $\sigma$ , les rendements épuratoires  $\eta$  de chaque traitement et le rendement global de la STEP  $\eta_G$ , vis-à-vis de tous les composés cibles, sont présentés dans le Tableau 2.

**Tableau 2.** Concentrations moyennes ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) en hormones stéroïdes ( $n = 5$ ) et phénols ( $n = 4$ ) mesurées à chaque étape du traitement d'une STEP nantaise, valeurs d'écart type associées ( $\pm\sigma$ ) et pourcentages d'élimination (%)

**Table 2.** Concentration mean values ( $n = 5$ ) for steroid hormones ( $n = 4$ ) for phenols ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), standart deviation ( $\pm\sigma$ ) and elimination percentage (%) for each step of a domestic WWTP

Composé	Eau brute ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Après traitement anaérobie		Après boues activées		Eau traitée		Élimination globale (%)
		Concentration ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Élimination (%)	Concentration ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Élimination (%)	Concentration ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Élimination (%)	
E1	70,4 ± 41,2	59,5 ± 3,4	15,5	4,7 ± 2,8	91,2	8,2 ± 4,7	-76,1	88,3
E2	10,5 ± 4,5	9,1 ± 5,6	12,8	0,2 ± 0,4	97,6	< LOD	100	100
EE2	< LOD	< LOD	-	< LOD	-	< LOD	-	-
OHE1	18,7 ± 10,6	18,8 ± 9,9	-0,3	0,4 ± 0,5	97,8	1,0 ± 1,1	-138	94,7
NP	< LOD	4,3 ± 4,6	-	2,5 ± 4,4	42,0	1,7 ± 2,9	33,7	-
NPEC	136 ± 136	997 ± 315	-632	757 ± 309	24	733 ± 302	3,2	-439
OP	33,9 ± 18,7	11,2 ± 2,6	66,8	9,5 ± 5,4	15,3	22,5 ± 6,1	-137	33,5
OPEC	< LOD	< LOD	-	< LOD	-	< LOD	-	-
BPA	272 ± 201	249 ± 123	8,7	49,0 ± 23,4	80,3	127 ± 103	-159	53,5

E1: Estrone; E2: 17  $\beta$ -Estradiol; EE2: 17  $\alpha$ -Ethinylestradiol; OHE1: 16  $\alpha$ -hydroxyestrone; NP : Nonylphénol; NPEC : Acide Nonylphénoxy acétique; OP : Octylphénol; OPEC : Acide Octylphénoxy acétique; BPA : Bisphénol A; LOD : Limit Of Détection

## 2. Comparaison des mesures de concentration et des essais de sorption et biodégradation réalisés au laboratoire

Les mesures de concentration du 17  $\beta$ -estradiol (E2) et du bisphénol A (BPA) peuvent être confrontées aux résultats obtenus lors des essais de sorption sur boues inactivées et de biodégradation à partir de microorganismes présents dans les bassins

**Tableau 3.** Principaux résultats des essais de sorption et biodégradation (Stavarakakis *et al.*, 2008b)

**Table 3.** Main results of the sorption and biodegradation study (Stavarakakis *et al.*, 2008b)

	Expériences de sorption		Expériences de biodégradation		
	Vitesse initiale de sorption ( $\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Elimination de la phase aqueuse (%)	Temps de latence (jour)	Vitesse initiale de biodégradation ( $\text{mg}_{\text{CO}_2}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Pourcentage final de biodégradation au bout de 14 jours (%)
E2	80,6	70	2,5	8,9	66
BPA	146,2	30	4	28,4	74

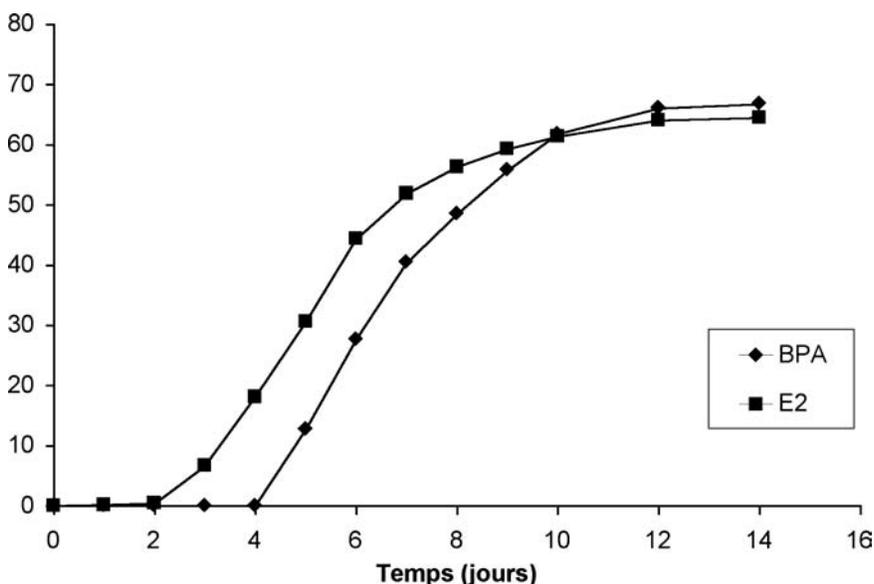
de boues activées. Des tests préalables, qui ne sont pas présentés ici, ont montré l'efficacité de la procédure d'inactivation. Lors de ces essais, deux perturbateurs endocriniens représentatifs ont été choisis : le 17  $\beta$ -estradiol (E2) et le bisphénol A (BPA). Ces deux polluants ont été sélectionnés principalement pour leur différence de comportement et d'élimination au sein d'une STEP. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 3 (Stavrakakis, 2007 ; Stavrakakis *et al.*, 2008b). Les boues utilisées lors de ces tests ont été prélevées dans la même STEP où les mesures de concentration ont été effectuées.

## DISCUSSION

EE2, NP et OPEC n'ont pas été détectés en entrée de la STEP. Concernant les hormones stéroïdes, les rendements globaux d'épuration sont supérieurs à 88 %. Ces performances sont supérieures à celles observées sur une STEP de la région parisienne par Cargouët *et al.* (2004), mais similaires à celles présentées par Lee *et al.* (2004) pour 4 STEP de Toronto (Canada). Le procédé le plus efficace est le traitement biologique par boues activées qui présente des rendements d'élimination pour ces molécules supérieurs à 92 %. Quant aux autres procédés, leur impact sur l'élimination des hormones est souvent faible. En effet, en sortie de traitement anaérobie, le rendement maximum obtenu est de 15,5 % pour le E1. Ce type de traitement n'est donc pas adapté à l'élimination des hormones. L'étape de clarification entraîne des taux d'élimination disparates de -138,1 % pour la OHE1 jusqu'à 100 % pour le E2. Dans le cas de taux d'élimination négatifs, la cause pourrait être la désorption des composés adsorbés initialement sur les boues. De plus, à ce stade du traitement, les concentrations mesurées en hormones sont inférieures à 10 ng.L<sup>-1</sup> et une variation de 1 ng.L<sup>-1</sup> en plus ou en moins suffit à engendrer des différences importantes en terme de taux d'élimination. Quant aux alkylphénols et au bisphénol A (BPA), les rendements globaux d'élimination sont plus faibles que ceux observés pour les hormones stéroïdes. En effet, un maximum de 53,5 % est atteint dans le cas du BPA. Les concentrations mesurées en entrée de STEP sont aussi plus importantes avec un maximum d'environ 272 ng.L<sup>-1</sup> pour le BPA. L'acide nonylphénoxy acétique présente lui aussi des niveaux de concentration importants en entrée de STEP avec une moyenne d'environ 136 ng.L<sup>-1</sup>. Le traitement biologique anaérobie présente des rendements d'élimination très faibles, voire négatifs pour le NPEC. La présence de nonylphénol (NP) en sortie de ce traitement malgré son absence en entrée vient du fait qu'il est un produit de dégradation direct du nonylphénol éthoxylate (NPEO), substance non analysée ici. La même raison peut être évoquée pour le NPEC, produit de dégradation majoritaire de NPEO. Le traitement biologique par boues activées montre de meilleurs rendements d'élimination, toutefois inférieurs à ceux observés pour les hormones stéroïdes. L'octylphénol (OP) est éliminé à seulement 15,3 % durant ce traitement, le NPEC à 24,0 % et le NP à environ 42,0 %. Comme lors du traitement anaérobie, la présence d'alkylphénols polyéthoxylates (APEO) est la cause de ces faibles rendements obtenus. Le BPA est dégradé à environ 80 % durant cette étape du traitement. En sortie de STEP, des rendements négatifs sont observés suite à l'étape de clarification. L'hypothèse peut alors être avancée d'un relargage de certains polluants préalablement adsorbés sur les parois bactériennes (boues activées) lors de l'étape de clarification. Les concentrations moyennes atteignent 733 ng.L<sup>-1</sup> pour le NPEC, niveau suffisant pour provoquer des dérèglements de la reproduction chez les organismes aquatiques exposés aux effluents de STEP. Le BPA est finalement mesuré

en moyenne à 127 ng.L<sup>-1</sup>, concentration *a priori* trop faible pour perturber les organismes aquatiques si on le prend seul en compte. Cependant, il participe considérablement à la pollution œstrogénique rejetée dans le milieu récepteur puisque la concentration cumulée du mélange de molécules analysées s'élève en moyenne à environ 0,9 µg.L<sup>-1</sup>, dont des hormones stéroïdes actives à seulement quelques ng.L<sup>-1</sup>. Certes, une dilution conséquente a lieu dans le milieu naturel, mais cette pollution œstrogénique est continue et peut entraîner une accumulation chez les organismes aquatiques et sur les sédiments (Peng *et al.*, 2006).

Les essais de sorption ont ensuite montré l'importance de ce mécanisme pour l'élimination du E2 (70 % d'élimination dans la phase aqueuse) alors que l'adsorption du BPA s'est avérée assez faible (30 % d'élimination dans la phase aqueuse). Par ailleurs, les tests de Sturm ont montré une biodégradation aisée (supérieure à 60 % en 14 jours de test) des deux perturbateurs endocriniens cibles. Cependant, une différence importante a été observée quant au temps d'adaptation des microorganismes pour démarrer leur assimilation (2 jours pour le E2 et 4 jours pour le BPA) (Figure 2). Or, les rendements épuratoires observés pour le E2 et le BPA sont respectivement de 100 % et 53,5 %. Ainsi l'élimination totale du E2 durant le traitement est en accord avec les essais menés en réacteur statique, la forte sorption de ce perturbateur endocrinien sur les boues le rendant disponible pour être assimilé par les microorganismes. De plus, le temps de latence de 2 jours obtenu lors des tests de biodégradation montre que la population bactérienne capable de l'assimiler est majoritaire dans les boues activées. Au contraire, le BPA s'adsorbe moins bien sur les boues (30 % d'élimination dans la phase aqueuse à l'équilibre) et présente un temps de latence de 4 jours qui coïncide avec son faible rendement épuratoire. En effet, ces



**Figure 2.** Évolution de la biodégradation du E2 et du BPA durant les 14 premiers jours du test de Sturm

**Figure 2.** Biodegradation test of E2 and BPA during the Sturm test

résultats indiquent un temps de séjour hydraulique probablement trop court pour une élimination complète du BPA et explique ainsi son élimination de seulement 33 %. Toutefois les fortes concentrations en BPA mesurées en entrée de STEP expliquent aussi ce résultat. En plus de ces constatations, il faut également prendre en compte une compétition certaine avec un mélange varié de polluants et de matières organiques naturelles au sein des STEP. Enfin, le constat d'une faible adsorption du BPA sur les boues pourrait appuyer l'hypothèse d'une désorption de cette substance lors de l'étape de clarification avec un rendement d'élimination négatif à ce stade du traitement pour cette substance.

## CONCLUSION

Des perturbateurs endocriniens ont été détectés en sortie d'une station d'épuration d'eaux usées domestiques. Dans l'optique d'évaluer l'efficacité de la station vis-à-vis de chaque substance cible, les concentrations en hormones stéroïdes, en alkylphénols et en bisphénol A ont été mesurées à chaque étape du traitement. Une méthode d'analyse mettant en œuvre un couplage EPS-CL-SM/SM a permis d'atteindre des niveaux de concentration inférieurs au  $\text{ng.L}^{-1}$  pour les hormones stéroïdes et à  $11 \text{ ng.L}^{-1}$  pour les alkylphénols et le bisphénol A. Par ailleurs, ce travail avait pour objectif d'approcher les mécanismes d'élimination au sein d'un bioréacteur à boues activées et ainsi expliquer les différences d'élimination observées entre le  $17 \beta$ -estradiol (E2) et le bisphénol A (BPA), deux perturbateurs endocriniens représentatifs. Les expériences de dégradation réalisées selon la méthode normalisée de Sturm ont montré une biodégradation aisée des deux composés. Cependant, la sorption plus faible du BPA (30 % d'élimination de la phase aqueuse vers les boues inactivées en 180 min) et un temps d'adaptation plus long des microorganismes pour démarrer sa biodégradation (4 jours contre 2,5 pour le E2) sont probablement à l'origine d'une élimination plus faible de ce composé au sein d'un bioréacteur à boues activées.

## RÉFÉRENCES

- ARET (2002) : Perturbateurs endocriniens et effets toxiques : Colloque de l'Aret, 30 et 31 mai 2002, Paris. *Documents pour le médecin du travail*, **92**, p. 377-381.
- Birkett J.W. and J.N. Lester (2003) : Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes. IWA Publishing, Lewis Publishers, CRC Press LCL, London.
- Carballo M., S. Aguayo, A. De La Torre and M. Jesús Muñoz (2005) : Plasma vitellogenin levels and gonadal morphology of wild carp (*Cyprinus carpio* L.) in a receiving rivers downstream of sewage treatment plants. *Sci. Total Environ.*, **341**, p. 71-79.
- Cargouët M. *et al.* (2004) : Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Tot. Environ.*, **324**, p. 55-66.
- Crisp T.M. *et al.* (1997) : Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis. *U.S. EPA, EPA/630/R-96/012*, 111 p.

- Damstra T. *et al.* (2002) : Global assessment of the state-of-science of endocrine disruptors. WHO publication n° WHO/PCS/EDC/02.2.
- Isobe T., H. *et al.* (2003) : Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **984**, p. 195-202.
- Jobling S. and J.P. Sumpter (1993) : Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquat. Toxicol.*, **27**, p. 361-372.
- Johnson A.C. *et al.* (2005) : Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices. *Water Res.*, **39**, p. 47-58.
- Kerr K.M., R.J. Larson and D.C. McAvoy (2000) : Evaluation of an inactivation procedure for determining the sorption of organic compounds to activated sludge. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **47**, p. 314-322.
- Kolpin D.W. *et al.* (2002) : Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, p. 1202-1211.
- Lagana A. *et al.* (2004) : Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **501**, p. 79-88.
- Lee H.B., T.E. Peart, J. Chan and G. Gris (2004) : Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in sewage and sludge samples in Toronto, Canada. *Water Qual. Res. J. Can.*, **39**, p. 57-63.
- Leroy G. et F. Manciot (2006) : Perturbateurs endocriniens: outils analytiques et applications environnementales. *Tech. Sci. Méthodes*, **12**, p. 53-59.
- Moore R.W. *et al.* (2001) : Abnormalities of sexual development in male rats with in-utero and lactational exposure to the anti-androgenic plasticizer DEHP. *Environ. Health Perspect.*, **109**, p. 229-237.
- Norme ISO 9439 (ou C.4-C) (1992) : Détermination de la biodégradabilité « facile ». Essai de dégagement de CO<sub>2</sub>. *Journal officiel des Communautés européennes du 29 décembre 1992*, n° L 383 A/202-206.
- Peng X., Z. Wang, C. Yang, F. Chen and B. Mai (2006) : Simultaneous determination of endocrine-disrupting phenols and steroid estrogens in sediment by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1116**, p. 51-56.
- Purdum C.E. *et al.* (1994) : Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.*, **8**, p. 275-285.
- Quednow K. and W. Püttman (2008) : Endocrine disruptors in freshwater streams of Hesse, Germany: Changes in concentration levels in the time span from 2003 to 2005. *Environ. Pollut.*, **152**, p. 476-483.

- Rodgers-Gray T. *et al.* (2000) : Long-term temporal changes in the estrogenic composition of treated sewage effluent and its biological effects on fish. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, p. 1521-1528.
- Stavrakakis C (2007) : Analyse et évolution de perturbateurs endocriniens en épuration et traitement des eaux, Ph. D dissertation, University of Nantes, École des Mines de Nantes, France, 222 f.
- Stavrakakis C. *et al.* (2008a) : Development and statistical validation of a quantitative method for the determination of steroid hormones in environmental water by column liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, **91**, p. 237-246
- Stavrakakis C. *et al.* (2008b) : Biodegradation of endocrine disrupters : case of 17  $\beta$ -estradiol and bisphenol A. *Environ. Technol.*, 29, p. 269-277.
- Sturm R.N. (1973) : Biodegradability of nonionic surfactants: screening test for predicting rate and ultimate biodegradation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, p. 159-167.
- Svenson A., A.S. Allard and M. Ek (2003) : Removal of estrogenicity in Swedish municipal sewage treatment plants. *Water Res.*, **37**, p. 4433-4443.
- Wintgens T. and T. Melin (2001) : Removing endocrine-disrupting compounds from wastewater. *Membr. Technol.*, **138**, p 11-12.

