

La biodégradabilité des agents de surface

Roger Cabridenc* ancien directeur scientifique à l'Ineris

Biodegradability of surfactants

Biodegradability of chemicals is an important parameter to take into account for risk assessment. It is necessary to have informations concerning primary biodegradability, ultimate biodegradability, toxicity of degradation products in different conditions of environment or treatment plants.

Now the majority of surfactants used in washing products present an acceptable biodegradability and can be easily eliminated in aerobic treatment plants. The only problems concern phenol ethoxylates metabolites and perhaps a few cationics.

A great number of tests of biodegradation, are now standardized or recommended at an international level. These methods are used in application of European Directives for the control of primary biodegradability of anionics and non ionics ; and for classification, labelling and risk assessment of all chemicals.

Agents de surface, biodégradabilité, test de biodégradation, réglementation, devenir des substances.

Surfactants, biodegradability, biodegradation tests, réglementation, safe of chemicals.

L'évaluation des risques pour l'homme et l'environnement, liés à la fabrication, au transport, à l'usage et à l'élimination des substances chimiques nécessite la prise en considération de l'exposition. En effet, si une substance est fabriquée en quantité limitée, si elle est utilisée en système clos ou si elle disparaît rapidement dans l'environnement, ses nuisances seront en principe limitées. La notion de persistance est souvent étroitement corrélée à la notion de biodégradabilité [1].

Au sein des eaux, au niveau des sédiments, dans les sols, dans les stations d'épuration biologique, les substances chimiques vont être en présence d'organismes vivants notamment de micro-organismes hétérotrophes (bactéries, levures, champignons inférieurs, etc.). Grâce à leur abondance, leur rapide multiplication, leurs grandes possibilités métaboliques et

leurs extraordinaires capacités d'adaptation, ceux-ci vont transformer et dégrader les substrats organiques présents.

Les mécanismes, biochimiques en cause sont nombreux, ils varient en fonction de la nature des substrats, des conditions du milieu et des micro-organismes présents. Cependant, généralement la biodégradation d'une molécule se traduit par une simplification progressive de sa structure ayant pour but l'obtention de métabolites utilisables pour la synthèse de constituants cellulaires ou la minéralisation ultime du carbone.

En présence d'oxygène, en aérobiose les substances organiques sont en partie dégradées en CO₂ et en eau, de façon à obtenir l'énergie nécessaire aux biosynthèses, en partie transformées en métabolites ou en constituants des cellules.

En l'absence d'oxygène, en anaérobiose les substances organiques sont en partie dégradées en méthane, en CO₂ et en eau, de façon à obtenir, selon un processus de fermentation, l'énergie nécessaire aux biosynthèses, en partie transformées en métabolites ou en constituants des cellules.

Dès la fin de la Seconde Guerre mondiale, les agents de surface synthétiques ont connu un développement consi-

dérable du fait de la diversité de leurs usages. L'emploi des agents de surface anioniques et des agents de surface non ioniques dans les détergents à usages ménagers ou industriels a eu pour conséquence l'apparition de nuisances au niveau des stations d'épuration et des milieux récepteurs (perturbations du transfert de l'oxygène, apparition de mousses abondantes, mortalités de poissons etc.). Dès 1960, il s'est avéré indispensable de supprimer, ou tout au moins de limiter de telles nuisances, en interdisant l'emploi des agents de surface non biodégradables qui n'étaient pas éliminés dans les stations de traitement et persistaient au sein des milieux aquatiques [2-5].

Pour résoudre un tel problème différentes approches ont été simultanément mises en œuvre :

- Mise sur le marché d'agents de surface (notamment d'agents de surface anioniques) éliminables dans les stations d'épuration et ne persistant pas dans les milieux aquatiques.
- Mise au point des tests de biodégradabilité de laboratoire permettant de distinguer les substances considérées comme biodégradables de celles considérées comme persistantes.

* 3 rue des Bouleaux, 91350 Grigny.
Tél. : (1) 69.43.44.95.

• Mise en place progressive de réglementations ou de protocoles d'accord entre les fabricants et les pouvoirs publics ayant pour but l'interdiction de la vente et de l'emploi de molécules considérées comme non biodégradables.

Au cours du temps, la situation a considérablement évolué. Aujourd'hui, on dispose de nombreuses méthodes permettant d'évaluer différents niveaux de biodégradabilité dans différentes conditions (en aérobiose ou en anaérobiose). Des réglementations concernant la biodégradabilité primaire des agents de surface anioniques et des agents de surface non ioniques ont été mises en place. On procède à l'évaluation des risques de substances chimiques nouvelles, éventuellement de substances chimiques existantes en tenant compte de la biodégradabilité. L'attribution des écolabels aux détergents fait également intervenir la biodégradabilité des agents de surface entrant dans leur composition.

Définitions

Pour faciliter la compréhension des connaissances concernant la biodégradabilité des agents de surface, il est nécessaire de rappeler les définitions ayant fait l'objet d'accords au niveau international [6].

Biodégradation : dégradation moléculaire des substances organiques résultant de l'action des micro-organismes.

Biodégradabilité : aptitude d'une substance à subir une biodégradation.

Traitabilité : aptitude d'une substance à être éliminée dans une installation de traitement du fait de processus physiques, chimiques ou biologiques.

Biodégradabilité primaire (ou fonctionnelle) : biodégradation partielle de la structure moléculaire d'une substance, conduisant à la perte d'une propriété caractéristique, éventuellement liée à une nuisance.

Dans le cas des agents de surface, la biodégradation primaire est liée à l'évolution de la tensioactivité des molécules, donc des nuisances. Elle est mise en évidence au moyen d'une méthode analytique spécifique. C'est cette notion de biodégradabilité primaire qui est retenue dans le cadre des réglementations concernant la fabrication, la commercialisation et l'emploi des agents de surface anioniques et des agents de surface non ioniques.

Biodégradabilité totale (ou ultime) : biodégradation complète de la structure moléculaire avec formation de dioxyde de carbone, de méthane, d'eau, de dérivés minéraux ou de constituants de micro-organismes. C'est cette notion de biodégradabilité totale qui est retenue pour l'évaluation des risques dus aux substances chimiques quelles qu'elles soient et pour l'attribution des écolabels concernant les lessives.

Méthodes d'étude de la biodégradabilité immédiate (ready) : méthodes permettant de distinguer les substances qui seront facilement biodégradées dans la majorité des conditions de l'environnement. De telles méthodes sont considérées comme des méthodes de triage.

Méthodes d'étude de la biodégradabilité intrinsèque (potentielle, inhérente) : méthodes s'efforçant d'optimiser la biodégradation ou l'élimination dans différentes conditions de l'environnement.

Méthodes de simulation : méthodes s'efforçant de mieux modéliser la biodégradation ou l'élimination dans différentes conditions de l'environnement ou de stations d'épuration.

État des connaissances concernant la biodégradation

La biodégradation des substances organiques met en jeu de nombreuses populations bactériennes qui interviennent simultanément ou successivement pour assurer la dégradation progressive des structures moléculaires. Dans certains cas, il peut se former des métabolites intermédiaires persistants ou responsables de nuisances plus graves que les substrats qui leur ont donné naissance.

Les mécanismes et les cinétiques de dégradation peuvent varier en fonction des micro-organismes présents, des conditions du milieu, des structures moléculaires à biodégrader et des concentrations retenues.

Les milieux doivent renfermer à des concentrations suffisantes et sous forme assimilable les éléments minéraux, les facteurs de croissance, éventuellement les cométabolites indispensables à l'activité des micro-organismes, et de l'oxygène dissous dans le cas des processus de biodégradation aérobie. Ils doivent, en outre,

présenter une température et un pH permettant une activité biologique normale même si celle-ci n'est pas optimale.

La structure de la molécule constitue un facteur à prendre en considération. En effet, malgré leurs extraordinaires possibilités métaboliques et adaptatives des micro-organismes, certaines structures moléculaires ne peuvent pas être biodégradées même si les conditions du milieu sont favorables et sont considérées comme persistantes à l'échelle humaine.

On doit également tenir compte de la concentration en substance à biodégrader qui doit, dans tous les cas, être inférieure aux concentrations responsables de l'inhibition des micro-organismes.

Enfin, la forme physique sous laquelle la substance est présente dans le milieu va jouer un rôle important dans les processus d'adaptation et de dégradation. Les substances insolubles dans l'eau seront a priori difficilement biodégradables si elles ne sont pas finement dispersées ou émulsionnées au sein des milieux.

De nombreuses informations sont actuellement disponibles concernant les mécanismes et les possibilités de biodégradation des agents de surface [7-10].

En ce qui concerne les agents de surface anioniques, les voies métaboliques en aérobiose sont bien connues. On observe tout d'abord un raccourcissement progressif de la chaîne aliphatique par β oxydation. Une transformation des radicaux sulfonates en sulfates ; puis finalement une éventuelle ouverture du cycle benzénique avec formation d'acides organiques.

En ce qui concerne les agents de surface non ioniques éthoxylés ; on observe de la même manière un raccourcissement progressif des chaînes aliphatiques, ainsi qu'une dégradation de la partie hydrophile de la molécule. Cependant, dans le cas des alkylphénols éthoxylés, on a pu montrer que la biodégradation avait pour conséquence un raccourcissement de la chaîne éthoxylée avec formation de métabolites intermédiaires moins biodégradables et plus toxiques que les produits qui leur ont donné naissance (alkylphénols à 1 OE ou à 2 OE) [11, 12].

En ce qui concerne les agents de surface cationiques utilisés pour l'adoucissement des textiles, les sels d'ammonium quaternaire dérivant d'amine grasses paraissent lentement biodégradables.

Les voies métaboliques des agents de surface amphotères (alkyl amino acides, bétaïnes) sont moins connues, mais leur biodégradation en aérobiose ne devrait pas poser de problèmes.

Les connaissances acquises concernant les taux de biodégradation montrent que la plupart des agents de surface actuellement utilisés dans les produits destinés au lavage et au nettoyage présentent une biodégradabilité satisfaisante. En conséquence, ils ne devraient pas être responsables de nuisances importantes vis-à-vis de l'environnement à condition qu'ils transitent par une station d'épuration fonctionnant normalement. Les alkylphénols éthoxylés peuvent cependant poser des problèmes du fait de la formation de métabolites toxiques. En outre les agents de surface cationiques difficilement biodégradables sont facilement adsorbables au niveau des matières en suspension et, de ce fait, seront éliminés dans les stations d'épuration.

Les informations disponibles concernant les biodégradabilités primaire ou totale en anaérobiose sont moins nombreuses. Généralement on considère que les alkyl benzène sulfonates ne sont pas biodégradés, que les alkylphénols éthoxylés sont lentement biodégradés. Par contre les savons, les sulfates d'alcool, les sulfates d'alcool éthoxylés et les alkylpolyglucosides présentent une biodégradabilité totale satisfaisante.

Les tests de biodégradabilité

De nombreuses méthodes de laboratoire ont été mises au point et publiées dans le but d'étudier la biodégradabilité primaire ou la biodégradabilité totale des agents de surface, principalement en milieu aquatique, et dans des conditions aérobies. Des protocoles expérimentaux sont actuellement standardisés au niveau national (Afnor) ou international (CEN, Iso), ou ont fait l'objet d'une reconnaissance au niveau international (OCDE, Union européenne). De tels protocoles servent de base aux réglementations concernant spécifiquement les agents de surface ou l'ensemble des substances chimiques « nouvelles » ou « existantes ».

Toutes ces méthodes sont basées sur les mêmes principes. Dans des conditions conventionnellement définies, on

étudie au cours du temps l'évolution d'une substance chimique soit par analyse spécifique (biodégradabilité primaire), soit en suivant l'évolution d'un paramètre général en relation avec la dégradation : dégagement de CO₂, de méthane, consommation d'oxygène ou évolution du carbone organique dissous (biodégradabilité totale). On en déduit un pourcentage de biodégradation pour une durée définie ou plus rarement un temps de demi vie [13].

Dans tous les cas, les méthodes de laboratoire doivent intégrer les différents paramètres physico-chimiques et biologiques, qui vont conditionner les possibilités et les cinétiques de biodégradation, et notamment fixer :

- le modèle envisagé : rivière, sol, mer, station d'épuration,
- le type d'essai : essai de triage, (biodégradabilité immédiate), essai de confirmation (biodégradabilité intrinsèque), essai de simulation,
- le système d'essai : système clos ou ouvert, avec ou sans renouvellement périodique ou continu du milieu,
- la nature du milieu : naturel ou synthétique, minéral ou organique,
- la nature et la quantité de l'inoculum : inoculum polyvalent éventuellement adapté,
- les conditions d'incubation : température, aération, éclairage,
- les conditions d'introduction dans le milieu de la substance dont on veut évaluer la biodégradabilité,
- la durée des essais et éventuellement les temps de rétention,
- les conditions de mise en évidence du phénomène de biodégradation,
- le choix éventuel de substances de référence,
- les clauses de validité,
- l'interprétation des résultats et leur présentation.

Les méthodes d'étude de la biodégradabilité primaire

De telles méthodes sont utilisées pour étudier la biodégradabilité des agents de surface anioniques et des agents de surface non ioniques dans des conditions simulant leur comportement dans des conditions aérobies au sein des rivières ou lors de leur passage dans des stations de traitement.

On distingue :

Des méthodes de triage :

- méthode Afnor NFT 73260 - Détermination de la biodégradabilité des agents de surface anioniques (1981) ;
- méthode Afnor NFT 73270 - Détermination de la biodégradabilité des agents de surface non ioniques éthoxylés (1983) ;
- test de screening OCDE applicable aux agents de surface anioniques et aux agents de surface non ioniques, prévu par les directives 82/243 CEE et 82/242 CEE [14].

Des méthodes de confirmation (méthodes de référence) :

- méthode Afnor NFT 73265 - Détermination de la biodégradabilité des agents de surface anioniques - méthode de référence (1983) ;
- méthode Afnor NFT 73276 - Détermination de la biodégradabilité des agents de surface non ioniques éthoxylés - méthode de référence (1983) ;
- les méthodes anglaises « porous pot » et allemandes utilisant des maquettes Hussman, simulant des installations de type boues activées, applicables aux agents de surface anioniques et aux agents de surface non ioniques. Ces méthodes sont également prévues par les directives 82/243 CEE et 82/242 CEE.

Les méthodes d'étude de la biodégradabilité totale

De telles méthodes sont applicables à toutes les substances chimiques y compris les agents de surface. Elles sont généralement normalisées au niveau national (Afnor) ou international (CEN-Iso) ou recommandées au niveau international (OCDE, directives européennes 92/69CEE, 87 302 CEE) [15].

On distingue :

- Des méthodes d'étude de la *biodégradabilité immédiate* qui s'efforcent de modéliser le comportement des substances en eau douce, dans des conditions aérobies et permettent de distinguer les substances considérées comme facilement biodégradables.

Les méthodes standardisées ou recommandées sont indiquées dans le *tableau I*.

- Une autre méthode est également préconisée pour étudier la biodégradabilité immédiate des substances en anaérobiose (Iso 11734, projet NF EN 11734, projet EN 11734) [16, 17].

Les tests de biodégradabilité immédiate présentent certaines limites et montrent que pour différentes raisons (inoculum non adapté ; concentrations élevées en substances étudiées, absence de possibilité de cométabolisme) les cinétiques de biodégradation obtenues sont souvent plus lentes que dans l'environnement.

– Les méthodes d'étude de la *biodégradabilité intrinsèque* qui étudient le comportement des substances dans des conditions aérobies a priori optimales en ce qui concerne le milieu, l'importance de l'inoculum et ses possibilités d'adaptation.

Les méthodes standardisées ou recommandées sont indiquées dans le *tableau II*.

– Les méthodes de *simulation* qui s'efforcent de modéliser différentes situations de l'environnement ou de stations de traitement. On peut notamment citer les méthodes suivantes :

. L'étude de la biodégradabilité dans des maquettes de type boues activées (NF EN 11733, EN 11 733, Iso 11 733, OCDE 303A).

. L'étude de la biodégradabilité dans des conditions simulant le comportement en rivière (faible concentration en produits et en micro-organismes), dont un protocole expérimental est actuellement en cours de normalisation au niveau international.

. L'étude de la biodégradabilité aérobie dans les sols (NFx 31220, Iso 112 661, OCDE 304A).

. L'étude de la biodégradabilité anaérobie dans les sols (Iso 11 266 2).

. L'étude de la biodégradabilité en aérobiose en milieu marin, par adaptation des méthodes OCDE 301 E et 301 D (modification du milieu et de l'inoculum) [18].

Toutes ces méthodes peuvent être utilisées pour étudier la biodégradabilité « totale », et également la biodégradabilité primaire si on dispose d'une méthode analytique spécifique et bien adaptée.

Certaines d'entre elles peuvent être appliquées aux substances chimiques volatiles ou aux substances chimiques peu solubles dans l'eau, en tenant compte des protocoles expérimentaux acceptés au niveau international (NFT 90313, EN 10 634, Iso 10 634) [19, 20].

Enfin l'étude de la biodégradabilité peut être judicieusement complétée par l'étude de la toxicité des métabolites, pour vérifier que les intermédiaires de dégradation ne présentent pas une toxicité supérieure aux produits qui leur ont donné naissance [21].

Prise en considération du critère biodégradabilité dans les réglementations

La biodégradabilité d'une substance chimique constitue une notion toute relative dont le niveau dépend du modèle utilisé au laboratoire. Quel que soit leur niveau de complexité, tous les essais actuellement décrits font intervenir des conditions expérimentales conventionnellement choisies, conditions qui ne peuvent parfaitement simuler toutes les conditions susceptibles d'apparaître dans l'environnement, et qui ne constituent pas obligatoirement un cadre idéal pour la biodégradation de la substance étudiée.

C'est pourquoi les résultats obtenus au stade laboratoire doivent toujours être interprétés avec prudence ; on devra se limiter à la comparaison de différentes substances dans des conditions identiques (mêmes méthodes). Dans tous les cas, la mise en évidence d'une rapide biodégradation au laboratoire permet de conclure que la substance sera également biodégradée dans l'environnement ; la mise en évidence au laboratoire d'une faible biodégradabilité ne permet pas de tirer des conclusions définitives et devra inciter l'écotoxicologue à poursuivre des essais dans des conditions différentes.

Malgré de telles incertitudes, la biodégradabilité primaire et la biodégradabilité totale sont prises en considération dans le cadre de réglementations nationales ou internationales.

La biodégradabilité des agents de surface est prise en considération dans le cadre de deux directives européennes :

- La directive 73 404 modifiée en mars 1982 (directive 82 242), puis en mars 1986 (directive 86/94), qui concerne les agents de surface non ioniques.
- La directive 73 405 modifiée en mars 1982 (directive 82 243), qui concerne les agents de surface anioniques.

Ces directives interdisent la fabrication, la mise en vente et l'emploi des agents de surface anioniques et non ioniques dont la biodégradabilité primaire, en aérobiose, est inférieure à 90 %. Toutefois, compte tenu du degré de précision des méthodes préconisées, la non-conformité n'est constatée que si les résultats des mesures sont inférieurs à 80 %.

Bien que prévus dans les directives de base, les agents de surface cationiques et

amphotères ne font actuellement l'objet d'aucune réglementation.

En outre, les directives européennes sur le contrôle des produits chimiques, notamment la directive 92/32 CEE relative à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses, le règlement européen 793/93 CEE sur les risques liés aux substances existantes et la directive 93/67 CEE concernant l'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement prennent en considération la persistance des substances chimiques dans l'environnement [22-24].

Le classement des substances et l'évaluation des risques pour l'environnement tiennent notamment compte de la biodégradabilité « totale » en aérobiose.

Par application de tests de biodégradabilité immédiate, une substance sera considérée comme facilement biodégradable si, en 28 jours, le taux de biodégradation atteint :

- 70 % pour les méthodes basées sur l'évolution du carbone organique dissous,
- 60 % pour les méthodes basées sur la consommation de l'oxygène ou le dégagement de CO₂.

Dans tous les cas, le temps de dégradation doit être inférieur à 10 jours.

Si de tels seuils ne sont pas atteints, les substances seront considérées comme difficilement biodégradables ou devront faire l'objet d'essais complémentaires.

La biodégradabilité primaire et la biodégradabilité totale des agents de surface sont également pris en considération pour l'attribution du label écologique communautaire aux détergents textiles [25].

Conclusions

Actuellement, on dispose de nombreuses informations concernant la biodégradabilité des agents de surface entrant dans la composition des produits destinés au lavage et au nettoyage. Il est ainsi possible de prévoir leur comportement dans les stations d'épuration, leur persistance dans l'environnement et donc d'évaluer leur impact sur les écosystèmes.

Des méthodes standardisées ou reconnues au stade international sont disponibles pour obtenir des informations concernant la biodégradabilité primaire ou la biodégradabilité totale. Ces méthodes sont utilisées dans de

Tableau I - Tests de biodégradabilité ultime en aérobiose. Biodégradabilité immédiate.

Principe de test	Afnor	CEN	Iso	OCDE	Directive européenne 92/69/CEE
Carbone organique dissous	NFEN 7827 (1995)	EN 7827 (1995)	7827 (1994)	301 A 301 E	C ₄ A C ₄ B
Dégagement de CO ₂	NFEN 29439 (1993)	EN 29439 (1993)	9439 (1991)	301 B	C ₄ C
Consommation d'oxygène fiolle fermée	NFEN 10707	EN 10707	10707	301 D	C ₄ E
respiromètre	NFEN 29408 (1993)	EN 29408 (1993)	9408 (1991)	301 F	C ₄ D
test Miti				301 C	C ₄ F
two phases			10708 (1995)		
Produits peu solubles	NFT 90313 (1988)	EN 10634	10634 (1995)		

Tableau II - Tests de biodégradabilité ultime en aérobiose. Biodégradabilité intrinsèque.

Principe de test	Afnor	CEN	Iso	OCDE	Directive européenne 87/302
Méthode SCAS	NFEN 29887 (1994)	EN 29887 (1994)	9887 (1991)	302 A	x
Méthode Zahn Wellens	NFEN 29888 (1993)	EN 29888 (1993)	9888 (1991)	302 B	x
Méthode Miti 2				302 C	

nombreux laboratoires respectant les bonnes pratiques de laboratoire, en application des directives européennes concernant la fabrication et l'emploi de certains agents de surface et le classement et l'évaluation des risques liés à la fabrication et à l'emploi de substances chimiques nouvelles ou existantes.

L'étude de la biodégradabilité primaire constitue la première information à obtenir dans le cas des agents de surface ; car la nuisance résultant de ces produits est le plus souvent liée à leur tensioactivité. Cependant, l'étude de la biodégradabilité totale et la mise en évidence d'éventuels métabolites persistants ou toxiques sont souvent considérées comme des compléments indispensables à une évaluation des risques liés à la fabrication et à l'emploi de telles substances.

Des progrès restent cependant encore à faire de façon à aboutir à des protocoles expérimentaux modélisant mieux différentes conditions de l'environnement en ce qui concerne, notamment, la composition des milieux, la nature des inoculum, les durées d'incubation et les concentrations en substances à tester. De tels progrès permettront d'affiner nos connaissances dans le domaine de la biodégradabilité et d'améliorer la répétabilité et la reproductibilité des résultats obtenus dans les laboratoires.

Références

[1] Cabridenc R., La biodégradation, paramètre essentiel pour la prévision de la pollution des eaux par les agents de surface, *2e Congrès mondial des agents de surface*, 1988, 1, p. 79-99.
 [2] Eden G.E., Truesdale G.A., Stennett G.V.,

Assessment of biodegradability, *Wat. Pol. Control*, 1968, 67, p.107-123.
 [3] Husmann W., Problems of biodegradation of industrial detergents and means of degradability testing, *J. Soc. Cosmetic Chemists*, 1962, 13, p. 416-425.
 [4] Truesdale G.A., Jones K., Vandyke K.G., Removal of synthetic detergents in sewage treatment processes : Trials of a new biologically attackable material, *Water Waste treat J.*, 1959, 7, p. 441-444.
 [5] Vaicum L., Iliescu A., Biodegradability of detergents and determining methodology, *Rev. Chem. (Bucharest)*, 1967, 181, p. 6-12.
 [6] Iso TC 147 SC5 GT4 N91, Définitions concernant la biodégradabilité et la dégradation, 1987.
 [7] Painter H.A., Anionic surfactants, *Handbook of Environmental Chemistry*, vol. 3 part F, Ed. O. Hutzinger, 1992.
 [8] Struijs J., Stoltenkamp J., Testing surfactants for ultimate biodegradability, *Chemosphere*, 1994, 28, 8, p. 1503-1523.
 [9] Thoumelin G., Les tensioactifs dans les eaux douces et marines. Analyse, comportement, écotoxicologie, *Repères océan (Ifremer)*, 1995, 9.
 [10] Woltering D.M., Larson R.J., Hopping W.D., Jamieson R.A., de Oude N.T., The Environmental fate and effects of detergents, *Tenside*, 1987, p. 5.
 [11] Ruddling L., Solyom P., The investigation of biodegradability of branched nonylphenol ethoxylates, *Wat. Res.*, 1974, 8, p. 115-120.
 [12] Giger W., Brunner P., Schaffner C., 4-Nonylphenol in servage sludge : Accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants, *Science*, 1984, p. 225-253.
 [13] Cabridenc R., Prévision de la biodégradation aérobie en milieu aquatique au moyen de méthodes de laboratoire,

Congrès SEFA Paris, 1990, p. 95-115.
 [14] OCDE, Méthodes pour la détermination de la biodégradabilité des agents de surface entrant dans la composition des détergents, 1976.
 [15] OCDE, *Guidelines for testing of chemicals, Ready biodegradability*, 1993.
 [16] Iso 11734, Water Quality. Evaluation of the ultimate anaerobic biodegradability of organix compounds in digested sludge. Method by measurement of the biogas production, 1995.
 [17] Ecetoc, Technical report n° 28, *Evaluation of anaerobic biodegradation*, 1988.
 [18] OCDE, *Guidelines for testing of chemicals. Biodegradability in sea water*, 1990.
 [19] Afnor NFT 90 313, *Guide pour l'évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité ultime des produits organiques peu solubles*, 1988.
 [20] Gerike P. The biodegradability testing of poorly water soluble compounds, *Chemosphere*, 1984, 13, p. 169.
 [21] Lundahl P., Cabridenc R., Mise au point d'une méthode d'étude de l'évolution de la toxicité des polluants en cours de biodégradation. Application aux agents de surface, *J. Fr. Hydrologie* 7, 1976, 3, 21, p. 143-150.
 [22] CEE, Directive 92/37, Classification, emballage, étiquetage des substances chimiques dangereuses, 1992.
 [23] CEE, Règlement européen 793/93, Évaluation des risques pour l'homme et l'environnement des substances chimiques existantes, 1993.
 [24] CEE, Directive 93/67, Évaluation des risques pour l'homme et l'environnement des substances chimiques nouvelles.
 [25] CEE, Décision établissant les critères écologiques pour l'attribution du label écologique communautaire aux détergents textiles 95-365 CEE, 1995.