

## 4.2.3. Sources, devenir et écotoxicité des Phtalates dans l'environnement. Comparaison avec les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques et les Polychlorobiphényles.

Blanchard M., Garban B., Ollivon D., Teil MJ., Tiphagne K. et Chevreuil M.

*Laboratoire Hydrologie et Environnement – Ecole Pratique des Hautes Etudes,  
UMR Sisyphe 7619, Université Pierre et Marie Curie, Paris*

*PIREN-Rapport-Blanchard-423-2003-03-11.doc*

4.2.3. Sources, devenir et écotoxicité des Phtalates dans l'environnement. Comparaison avec les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques et les Polychlorobiphényles. ....	1
1. Introduction .....	1
2. Etude bibliographique .....	2
2.1. Caractéristiques physico-chimiques des phtalates.....	2
2.2. Sources .....	3
2.3. Répartition dans l'environnement .....	4
2.4. Stabilité.....	4
2.4.1 Dégradation abiotique .....	4
2.4.2 Biodégradation .....	5
2.5. Impact sur la biosphère.....	7
2.5.1 Modes de contamination .....	7
2.5.2 Bioaccumulation.....	7
2.5.3 Toxicité.....	8
2.5.4 Doses toxiques et seuils de tolérance .....	10
3. Présence de phtalates dans les eaux de surface du bassin versant de la Seine en région parisienne	11
3.1. Matériel et Méthodes.....	11
3.1.1 Sites de prélèvement.....	11
3.1.2 Extraction et dosage .....	12
3.2. Résultats – Discussion.....	12
3.2.1 Concentrations et flux journaliers .....	12
3.2.2 Comparaison à l'échelle du bassin de la Seine.....	13
3.2.3 Comparaison à l'échelle internationale .....	14
3.2.4 Comparaison avec les teneurs en PCB et en HAP.....	14
4. Conclusion.....	16
5. Bibliographie.....	17

### 1. Introduction

La problématique de l'impact des micropolluants sur l'ensemble de la biosphère et sur la santé humaine en particulier, largement diffusée par les médias, répond à une forte demande sociétale. En effet, il se répand une crainte composite : risque d'intoxication immédiate par des produits mal identifiés et largement répandus dans notre environnement quotidien, survenue à moyen terme d'effets cancérigènes et enfin, à plus longue échéance, possibilité d'altérations de la fertilité, ce qui étend la préoccupation individuelle à un plus large niveau, familial et social.

Ainsi, l'attention générale est actuellement focalisée sur les phtalates. Bien que figurant sur la liste des 32 substances dangereuses prioritaires de la Commission Européenne (2000/60/CE) car soupçonnées d'effets toxiques, cancérigènes et œstrogéniques, ils ne figurent cependant pas dans les normes de potabilité européennes et il est rare de les voir apparaître dans les bulletins d'analyse de

l'eau de consommation courante. Cependant, les effets sanitaires de 4 phtalates les plus abondants sont été examinés et étant donné les effets carcinogènes du diéthylhexyl phtalate (DEHP) sur le foie de rongeurs, celui-ci a été classé parmi les carcinogènes humains probables (EPA, 2002).

Notre étude a pour objectifs, d'une part, de préciser les sources, le comportement et l'écotoxicité des phtalates dans l'environnement et d'autre part, après mise au point de leur détermination au laboratoire, de réaliser une première approche de leur présence dans l'environnement par leur recherche dans les eaux de surface du bassin versant de la Seine en région parisienne.

## 2. Etude bibliographique

### 2.1. Caractéristiques physico-chimiques des phtalates

Le terme phtalate désigne un ensemble de diesters de l'acide ortho phtalique avec des alcools comportant des radicaux aliphatiques ou aromatiques à nombre de carbones variant de 1 à 13. Les radicaux substitués peuvent être symétriques ou non (Figure 1).

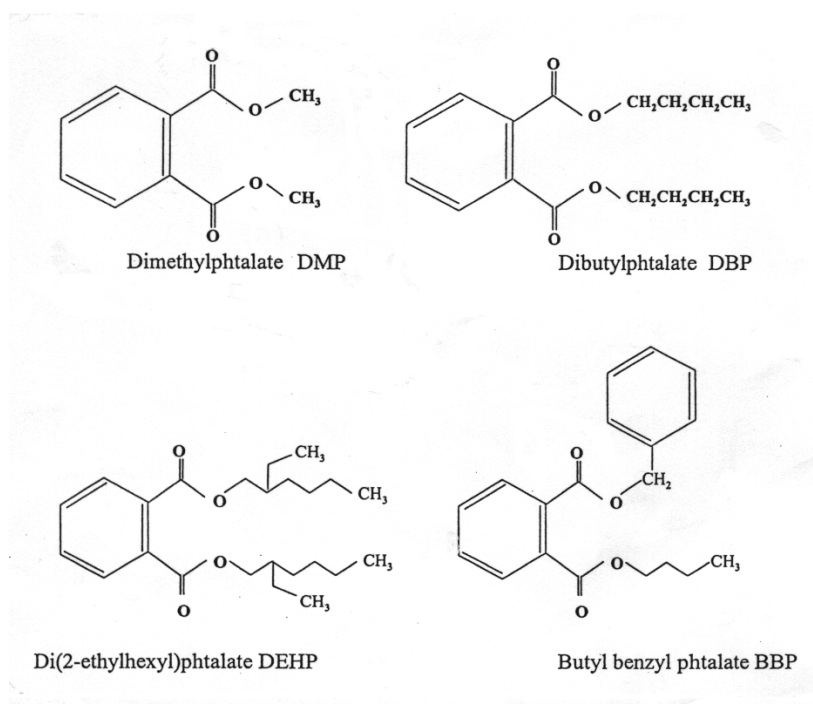


Figure 1 Formules développées de quelques phtalates

La dénomination des phtalates dépend des radicaux substitués et quelques exemples sont indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques de quelques phtalates à 25°C (d'après Staples *et al.*, 1997)

Dénomination	Abréviation	Nombre de C p. chaîne	Poids moléculaire	Solubilité dans l'eau ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Log Koctanol/eau	Pression vap. sat. (mm Hg)	Constante de Henry $\text{Atm m}^3 \text{mol}^{-1}$
Diméthyl phtalate	DMP	1	194.2	$4.2 \cdot 10^6$	1.6	$2 \cdot 10^{-3}$	$1.22 \cdot 10^{-7}$
Diéthyl phtalate	DEP	2	222.2	$11 \cdot 10^5$	2.38	$1 \cdot 10^{-3}$	$2.66 \cdot 10^{-7}$
Dipropyl phtalate	DPP	3	250.3	$1 \cdot 10^5$		$1.04 \cdot 10^{-3}$	$3.05 \cdot 10^{-7}$
Di-n-butyl phtalate	DnBP	4	278.4	$1.1 \cdot 10^4$	4.45	$2.7 \cdot 10^{-5}$	$8.83 \cdot 10^{-7}$
Diisobutyl-phtalate	DIBP	4	278.4	$2 \cdot 10^4$	4.46	$5.8 \cdot 10^{-4}$	$1.83 \cdot 10^{-7}$
Butylbenzyl phtalate	BBP	4, 6	312.4	$2.7 \cdot 10^3$	4.59	$5 \cdot 10^{-6}$	$7.61 \cdot 10^{-7}$
Diéthylhexyl phtalate	DEHP	8	390.6	3	7.50	$1 \cdot 10^{-7}$	$1.71 \cdot 10^{-5}$
Diisononyl phtalate	DINP	9	418.6	<1	9.4	$<5 \cdot 10^{-7}$	
Diundécyl phtalate	DUP	11	447.7	<1	11.5	$<5 \cdot 10^{-7}$	
Ditridécyl phtalate	DTDP	13	530.8	<1	13.4	$<5 \cdot 10^{-7}$	

A température ambiante, les phtalates se présentent sous forme de fluides visqueux et transparents dont la solubilité dans l'eau est inversement proportionnelle à la longueur des chaînes carbonées. La pression de vapeur saturante de ces composés très peu volatils, toujours faible, diminue d'un facteur  $10^4$  avec l'augmentation du nombre de carbones (DEP :  $1 \cdot 10^{-3}$  mm Hg; DTDP :  $5 \cdot 10^{-7}$  mm Hg, à 25°C). Leur coefficient de partage octanol/eau qui augmente avec la longueur des chaînes carbonées, permet de prévoir leur affinité envers les sédiments, la matière organique ou les lipides (DeWolfe *et al.*, 1992).

## 2.2. Sources

L'origine naturelle des phtalates décrite dans certains produits pétroliers bruts, paraît négligeable (IPCS, OMS, 1992).

Leur utilisation industrielle qui a commencé dans les années 1930, est très large. L'industrie des matières plastiques les emploie comme agents plastifiants du fait de leur stabilité, de leur fluidité (point de fusion < 25°C) et de leur basse volatilité (point d'ébullition > 230°C). Ainsi, les composés de poids moléculaires moyens et élevés entrent jusqu'à 60% du poids final dans la composition du chlorure de polyvinyle ou PVC (matériau utilisé en particulier pour la fabrication des bouteilles d'eau minérale plate) auquel ils confèrent sa flexibilité. Les phtalates entrent également dans la composition d'autres polymères : acétate de polyvinyle, acétate de cellulose, polyuréthane. Ils sont aussi utilisés pour la fabrication d'insecticides, de peintures, d'encre, de cosmétiques et parfums divers et enfin, de fluides hydrauliques et diélectriques (Staples *et al.*, 1997). Il faut remarquer qu'ils ne sont pas chimiquement liés aux polymères mais dispersés dans leur masse et que de ce fait, ils restent très diffusibles dans l'environnement immédiat.

Voici quelques exemples de leur utilisation. Le DMP entre dans la composition de l'acétate de cellulose et de répulsifs vis-à-vis des insectes. Le DEHP est employé dans la fabrication de simili-cuir, de revêtements de sols et murs, de jouets et de matériel médical. Le DBP est présent dans certains produits tels que laques, vernis, glaçage pour papier, produits dentaires, emballages plastiques. Le DEP est utilisé dans la fabrication du celluloid, de produits cosmétiques, d'insecticides, de jouets, de fibres de brosses à dents et d'emballages pour produits alimentaires.

La production mondiale de phtalates est considérable, actuellement estimée à 3 millions de tonnes par an (Hervé-Bazin *et al.*, 2001) contre 1.8 millions de tonnes en 1975 (Vitali *et al.*, 1997). Le quart de la production est représenté par le DEHP, ensuite viennent le BBP, le DnBP, le DiBP, le DEP et le DMP. La dispersion de ces composés dans l'environnement peut se produire à tous les stades de leur utilisation, depuis leur synthèse jusqu'à leur transformation ou dégradation.

### 2.3. Répartition dans l'environnement

Le comportement et le devenir des phtalates dans l'environnement sont contrôlés par les différents coefficients de partage.

L'adsorption des phtalates présents dans l'eau aux sols, sédiments ou matières en suspension, dépend de leur degré d'hydrophobicité. Les phtalates ont une forte affinité pour la matière organique. Les coefficients de partage envers le carbone organique (Koc) vont de 69 pour le DEP, à 87000 pour le DEHP (Russel et Mc Duffie, 1986). Ainsi, dans l'eau du Saint-Laurent (Canada), 14 % du DnBP était adsorbé et 86 % dissous tandis que pour le DEHP, 53% était adsorbé et 47 % dissous (Germain et Langlois, 1988).

La répartition entre les phases gazeuse et adsorbée sur les particules (aérosol) dépend de la pression de vapeur, de la surface et de la nature des particules ainsi que de la température (Strachan et Eisenrich, 1988). De cette relation appliquée aux phtalates, il ressort que les composés substitués par des chaînes de moins de 6 carbones sont principalement en phase gazeuse tandis que ceux dont les chaînes sont plus longues, sont majoritairement adsorbés.

Par ailleurs, la répartition à l'équilibre entre les phases dissoute et gazeuse est estimée par la constante de Henry ( $H$ ), calculée à partir du rapport de la pression partielle sur la solubilité dans l'eau. Pour les phtalates les plus légers, les valeurs de  $H$  se situent de  $1.2$  à  $8.8 \cdot 10^{-7}$  (Howard *et al.*, 1985). Les plus hautes valeurs de  $H$  caractérisent des molécules dont le transfert de la phase aqueuse vers la phase gazeuse sera important, et inversement.

Enfin, le coefficient de lessivage atmosphérique gazeux ( $\alpha=RT/H$ ), permet de prévoir l'entraînement des composés par solubilisation dans la pluie ou la neige. Au cours de la saison froide, la pression de vapeur diminue ainsi que la constante de Henry, ce qui favorise la solubilisation des composés en phase gazeuse dans l'air ambiant vers les aérosols liquides (nuages) et vers les gouttes de pluie. L'adsorption aux particules, également favorisée, rend le lessivage plus efficace (Thuren et Larsson, 1990).

Les niveaux de présence du DEHP dans différents compartiments de l'environnement ont été rapportés par Giam *et al.* (1978), Staples *et al.* (1997) et Fromme *et al.* (2002):

- Atmosphère : 0.3 – 77 ng/m<sup>3</sup>
- Eaux de surface : 0.3 – 98 µg/L
- Sédiments : 0.2 – 8.4 mg/kg PS
- Boues de STEP : 28 – 154 mg/kg PS
- Organismes vivants
  - Algue (Dedogonium)* :  $19 \cdot 10^3$  µg/kg PF
  - Mollusque (Physa)* :  $81 \cdot 10^3$  µg/kg PF
  - Chironome (larve)* : 95 µg/kg PF
  - Poisson Salmonidé* : 0.048 µg/kg PF
  - Poisson Cyprinidé* :  $1.0 \cdot 10^{-4}$  µg/kg PF

### 2.4. Stabilité

#### 2.4.1 Dégradation abiotique

##### Hydrolyse

Cette réaction est négligeable dans les solutions à pH neutre mais elle est catalysée par les acides et surtout les bases et également par certains ions ou catalyseurs organiques. L'hydrolyse est d'autant plus difficile que la longueur des chaînes carbonées augmente. En considérant la première étape à pH 7.2, la demi-vie va de 3.2 ans pour le DMP à 2000 ans pour le DEHP. Dans les conditions environnementales, l'hydrolyse n'est pas une voie de dégradation majeure pour les phtalates (Schwarzenbach *et al.*, 1992).

### *Photolyse*

Dans l'eau, la photolyse provient de l'action des radiations u.v. (290 à 400 nm). Elle peut survenir soit directement par absorption directe des radiations soit indirectement par l'attaque d'espèces chimiques réactives (ion superoxyde, radical hydroxyle). La demi-vie maximale des phtalates dans ces conditions va de 2,4 à 12 ans pour le DEP jusqu'à 0,12 à 1,5 ans pour le DEHP (Wolfe *et al.*, 1980b).

Au contraire, la photolyse est très importante dans l'atmosphère où le processus indirect par attaque de radicaux libres prédomine. Ainsi, les demi-vies vont de 9,3 à 93 jours pour le DMP et de 0,2 à 2 jours pour le DEHP, les valeurs minima et maxima correspondant aux variations liées à la concentration en radicaux libres (Behnke *et al.*, 1987). Les résultats montrent que la susceptibilité des phtalates à la photooxydation augmente avec la longueur des chaînes carbonées contrairement à ce qui se passe classiquement pour les autres types de dégradations.

### **2.4.2 Biodégradation**

#### *Microorganismes*

Des études de terrain et en laboratoire ont montré que des microorganismes aérobies ou anaérobies (bactéries gram + et gram -, actinomycètes) de divers habitats (eau, sédiments, sols) sont capables de dégrader les phtalates (Ejlertson et Svensson, 1995).

Dans les deux voies, la première étape est l'hydrolyse conduisant au monoester et un alcool libre. En anaérobiose, le monoester est dégradé en acide phtalique qui finalement suit la voie catabolique du benzoate pour aboutir après rupture du cycle, à l'acétate. En aérobiose, l'acide phtalique est dégradé en dihydroxyphtalate conduisant au procatéchuate pour finalement aboutir après rupture du cycle, au pyruvate et à l'oxaloacétate si les hydroxyles sont en ortho ou à l'acétyl CoA et au succinate si les hydroxyles sont en méta (Staples *et al.*, 1997). L'ensemble des étapes est indiqué sur la Figure 2.

Par tests *in vitro* avec des souches bactériennes aérobies, en considérant la dégradation primaire (disparition du phtalate parent), les composés les plus légers : DMP, DEP, DBP et BBP disparaissent à 90% en une semaine et en 12 jours, pour les composés à poids moléculaires plus élevés. La dégradation ultime (minéralisation) survient en 28 jours (Scholtz, 1994). Sous conditions d'anaérobiose, les demi-vies sont plus longues.

Dans les eaux de surface (eau de mer ou eau douce), sous conditions aérobies (totale ou partielle) en excluant les basses températures (<5°C) et les mauvaises conditions nutritionnelles, les demi-vies en considérant la dégradation primaire, vont de <1 jour à 2 semaines sans qu'aucune tendance nette ne soit remarquée en considérant chacun des composés ou la nature de l'eau (Staples *et al.*, 1997). En considérant la minéralisation complète, les demi-vies sont environ 10 fois plus longues.

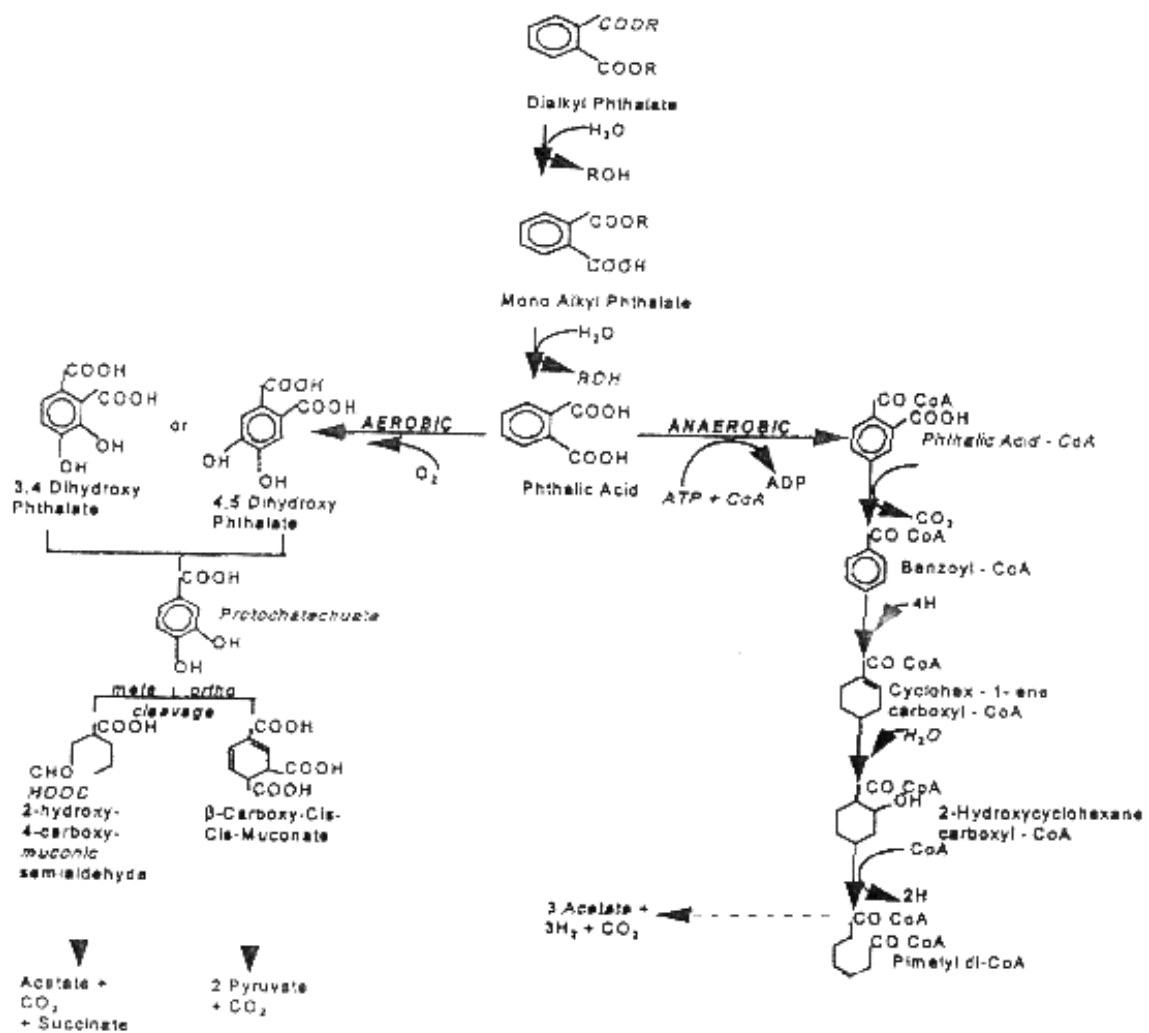


Figure 2. Dégradation des phtalates par les microorganismes (d'après Staples et al, 1997)

Dans les sédiments, sous conditions aérobies partielles, les demi-vies sont de l'ordre de quelques mois. Enfin, dans les sols, également sous conditions aérobies partielles, les demi-vies vont de 1 à 75 jours. Il est intéressant de remarquer que dans les mêmes conditions la demi-vie des polychlorobiphényles (PCB) est considérablement plus longue : 7 à 25 ans.

Donc, les phtalates ne semblent pas particulièrement persistants dans les différents compartiments de l'environnement, les plus légers étant plus facilement biodégradés que les plus lourds testés (DEHP). L'activité de biodégradation paraît supérieure à la dégradation abiotique dans les eaux de surface, les sédiments et les sols. Les grandes variations dans les milieux naturels sont dues outre les types de phtalates et les souches bactériennes considérés, aux variations de température et aux conditions nutritionnelles.

### Eucaryotes

L'élimination directe du phtalate d'origine est très limitée. La capacité de biodégradation des phtalates qui favorise leur élimination urinaire ou biliaire, augmente avec le degré de différenciation des organismes et limite l'importance de la bioaccumulation. Ainsi, les capacités de biotransformation varient comme suit : Algues < Cnidaires < Mollusques < Crustacés < Poissons (Wofford et al., 1981).

La première étape qui a lieu dans les branchies chez les Poissons et dans la lumière du tube digestif chez les Mammifères est l'hydrolyse conduisant au monoester et un alcool libre. La suite des

transformations a lieu après absorption, essentiellement dans le tissu hépatique et rénal. L'alcool est oxydé en acétate + CO<sub>2</sub> par β-oxydation. Le monoester résultant peut soit être éliminé directement, soit suivre des réactions de phase I. Elle consiste en une oxydation de la chaîne carbonée à différents niveaux possibles, soit par la voie du cytochrome P-450 microsomal (CYP 4A1), par des oxydases mitochondriales (palmitate CoA) ou par les peroxyosomes. Ensuite, survient une réaction de phase II consistant en une conjugaison, notamment avec l'acide glucuronique qui représente la phase ultime de la biodégradation (Barron *et al.*, 1995).

Il faut remarquer que l'acide phtalique est un métabolite mineur et que, contrairement à ce qui survient chez les microorganismes, le cycle phtalique n'est pas oxydé. De plus, il existe des particularités de catabolisme selon les classes zoologiques considérées. Ainsi, les Annélides Oligochètes du genre *Lombricus*, ne possèdent pas l'équipement enzymatique pour métaboliser le monoester phtalique. Par ailleurs, la variété de métabolites oxydés en phase I est plus importante chez les Mammifères que chez les Poissons. Enfin, parmi les Mammifères, les Primates produisent davantage de glucuroconjugués que les Rongeurs (Barron *et al.*, 1995).

## 2.5. Impact sur la biosphère

### 2.5.1 Modes de contamination

On considère généralement que seule, la phase dissoute vraie des polluants organiques représente la forme biodisponible (Di Toro, 1991). L'absorption de phtalates par le tube digestif est bien démontrée à partir de l'eau de boisson (eau de distribution ou eau embouteillée) ou des aliments pour lesquels interviennent d'une part, le niveau trophique des éléments constitutifs d'origine végétale ou animale et d'autre part, les emballages et les ustensiles de cuisine.

En raison de leur faible pression de vapeur saturante, les phtalates sont peu susceptibles d'être inhalés. En revanche, en milieu professionnel, l'exposition présente un vrai danger en cas de manipulation d'aérosols. Aussi, l'Union Européenne a-t-elle fixé un seuil de tolérance pour le DEHP qui est le plus dangereux et le plus abondant (ainsi que nous le verrons) à 5 mg m<sup>-3</sup>. En effet, les valeurs rapportées dans la littérature concernant l'air ambiant, sont beaucoup plus faibles : 0,3 à 77 ng m<sup>-3</sup> pour le DEHP (Thuren et Larsson, 1990).

La contamination par voie percutanée est plus lente. Elle a été bien étudiée chez les Rongeurs. Ainsi, chez le Hamster, l'étude du DEHP a montré que les phtalates pénétraient essentiellement par les follicules pileux (Chu *et al.*, 1996). Chez l'Homme, dans les conditions courantes, le passage ne survient que si les matières plastiques concernées ont une forte teneur en phtalates (telles le PVC). Cependant, le contact cutané en milieu professionnel doit être pris en considération (Hervé-Bazin, 2001).

### 2.5.2 Bioaccumulation

La bioaccumulation désigne l'accumulation d'une substance dans les tissus vivants à partir de toutes les formes d'exposition (respiration, alimentation, contact). Elle seule est mesurée dans les conditions du terrain tandis que la bioconcentration est obtenue dans des conditions expérimentales qui permettent d'exclure la bioamplification résultant de l'ingestion d'organismes déjà contaminés.

La bioconcentration est limitée par la biodégradation et théoriquement, elle doit diminuer au fur et à mesure que l'on s'élève dans le degré de différenciation des organismes. Les différents facteurs de bioconcentration (Kb) mesurés (L Kg<sup>-1</sup> de poids frais) suivent cette tendance dans leur globalité. Ils sont présentés pour 3 phtalates dans plusieurs classes d'organismes aquatiques (tableau 2). Des variations peuvent provenir des conditions expérimentales (température ambiante, nourriture *ad libitum* ou non, exposition statique ou à flux constant, etc...). Il faut également tenir compte de la teneur des organismes en lipides qui majore la concentration de ces composés hydrophobes. Par ailleurs, considérant les différents phtalates, les capacités de bioconcentration augmentent d'un facteur 1000 avec l'accroissement du nombre de leurs de carbones (Staples *et al.*, 1997).

La comparaison de la bioaccumulation des phtalates avec celle d'autres micropolluants organiques montre qu'elle est comparable en ce qui concerne les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui sont également activement dégradés. En revanche, la bioaccumulation des PCB est 100 à 1000 fois plus importante (Tableau 2).

Tableau 2. Bioaccumulation des phtalates dans les organismes aquatiques. Comparaison avec les HAP et les PCB

	concentration dans l'eau ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Kb= $\frac{\text{concentration organisme } (\mu\text{g kg}^{-1})}{\text{concentration dans l'eau } (\mu\text{g L}^{-1})}$		
		Insecte (larve)	Mollusque	Poisson
<b>DEHP</b>	0.3	<i>Chironomus</i> -264	<i>Physa</i> - 315	<i>Salmonidé</i> - 1.6 <i>Cyprinidé</i> - 1
	19			
	30			
	0.1			
<b>DnBP</b>	0.15	<i>Chironomus</i> - 0.7		<i>Centrarchidé</i> - 172 <i>Cyprinidé</i> - 3.6
	50			
	25			
<b>BBP</b>	1.4		<i>Physa</i> - 100	<i>Centrarchidé</i> - 663
	9.7			
<b>PCB</b>	0.063	<i>Chironomus</i> -21600	<i>Paludine</i> - 12000	<i>Cyprinidé</i> - 29200
			<i>Anodonte</i> - 6200	
<b>HAP</b>	0.27			<i>Cyprinidé</i> - 20 - 60

### 2.5.3 Toxicité

#### *Effets atypiques*

Parmi les effets atypiques, une irritation des muqueuses et une action narcotique par dépression du système nerveux central, ont été décrits chez les Mammifères (Lahoussine, 2000).

Le DEHP administré à la dose de 5 à 5000 ppm dans la nourriture, provoque une hépatomégalie. Dans le même schéma expérimental, le DnOP qui n'entraîne pas d'hépatomégalie, induit des modifications d'activités enzymatiques hépatiques (Poon *et al.*, 1997). Barron *et al.* (1995) ont étudié le métabolisme du DEHP administré par voie intra-veineuse chez la truite arc-en ciel et décrivent une oxydation du monoester par les monooxygénases à cytochrome P-450 hépatiques. Moore *et al.* (2002) ont rapporté chez le Rat et la Souris, après traitement avec le DEHP, une élévation du contenu hépatique en *CYP 4A1* suggérant une induction des monooxygénases à Cyt P-450. On a également rapporté une prolifération des peroxyosomes, organites cytosoliques spécialisés dans le métabolisme des peroxydes, riches en palmityl CoA oxydase, peroxydase, catalase, SOD dans le parenchyme hépatique et rénal de rats recevant un traitement de  $500 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  de DEHP (David *et al.*, 2000).

#### *Effets perturbateurs endocriniens*

Les phtalates sont soupçonnés au même titre que d'autres produits tels que pesticides (DDT, atrazine), détergents (nonylphénols), plastifiants (polystyrènes) ou polychlorobiphényles d'être des perturbateurs de l'équilibre endocrinien, susceptibles d'entraîner des troubles de la reproduction, du développement et de l'immunité (Lund, 2000). Les effets des perturbateurs endocriniens englobent, des effets oestrogéniques mimant ceux du  $17\beta$ -oestradiol, des effets anti-oestrogènes ou enfin des effets anti-androgènes (Jobling *et al.*, 1995 ; Moore, 2000). Il est cependant dans certains cas, difficile de distinguer les effets oestrogéniques des effets anti-androgènes dans des classes où, en l'absence d'influence hormonale, le phénotype du sexe homogamétique prévaut.



- *Activité anti-œstrogènes*

Il a été mentionné une activité anti-œstrogène du DEHP par diminution de l'activité aromatasase dans les cellules de la granulosa (thèque interne folliculaire) qui intervient dans la synthèse du 17 $\beta$ -œstradiol, entraînant une rupture du cycle ovarien chez le rat. Une diminution de la taille des follicules pré-ovulatoires a également été observée dans cette espèce (Davis, *et al.*, 1994). Enfin, une réduction de la fécondité chez le rat a été rapportée : défaut d'implantation des ovocytes fécondés pour 750 mg kg<sup>-1</sup> de BBP et de DBP et augmentation du nombre d'avortements à moyen terme pour 250 mg kg<sup>-1</sup> (Ema *et al.*, 1995-a).

- *Activité œstrogénique*

Norrgrén *et al.* (1999) ont traité des individus juvéniles de saumons de l'Atlantique (*Salmo salar*), par 1500 mg de DEHP par kg de nourriture et ont obtenu 64 % de phénotypes femelles contre 49% chez des témoins. Cependant, 15 à 30 mg de 17 $\beta$ -œstradiol par kg de nourriture ont suffi à obtenir 88 à 100% de phénotypes femelles.

Harris *et al.* (1999) ont rapporté des activités œstrogéniques sur des fœtus mâles de rat telle que l'hypotrophie du tractus génital, cependant environ 100 fois moindres que celles du 17 $\beta$ -œstradiol, lorsque les mères recevaient du BBP dans l'eau de boisson à 1 mg L<sup>-1</sup>. Les activités du DBP, du DEP et du DiNP étaient moindres. Mylchreest *et al.* (1998) ont décrit chez des rats mâles dont la mère avait reçu jusqu'à 750 mg kg<sup>-1</sup> de DBP pendant la gestation, des hypotrophies du tractus génital affectant les testicules, l'épididyme, la prostate ou les canaux déférents.

- *Activité anti-androgènes*

Au niveau des tubes séminifères, les phtalates sont toxiques sur les cellules de Sertoli qui ont une fonction nourricière et protectrice et sont indispensables à la maturation des spermatozoïdes. Il apparaît à leur niveau, une vacuolisation, une déplétion en fer et en zinc et une diminution de l'activité de la succinate déshydrogénase intra-mitochondriale qui entraîneraient l'apoptose des cellules germinatives (Richburg et Boekelheide, 1996). Une diminution de la concentration spermatique a également été rapportée chez les Mammifères, notamment chez le Rat pour le BBP à 1g kg<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> (Moore *et al.*, 2002), chez la Panthère (Hoyer, 2001) et chez l'Homme (Jegou, 1996). Selon Lund (2000), une étude menée au Danemark en milieu urbanisé, concernant l'influence de perturbateurs endocriniens potentiels sur la qualité du sperme humain a montré que la moyenne spermatique est passée de 133 10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup> en 1938 à 66 10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup> en 1990 ce qui est préoccupant : en effet, en-dessous de 40 10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup>, la fertilité est atteinte.

Le mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens pourrait se situer à 4 niveaux différents (Figure 3): 1- compétition pour la liaison à un récepteur cytosolique spécifique, 2- modification de la conformation du récepteur (phosphorylation, dimérisation) provoquant une dissociation récepteur-ligand, 3- blocage du transfert intranucléaire, 4- altération de l'activité transcriptionnelle (Sultan *et al.*, 2001).

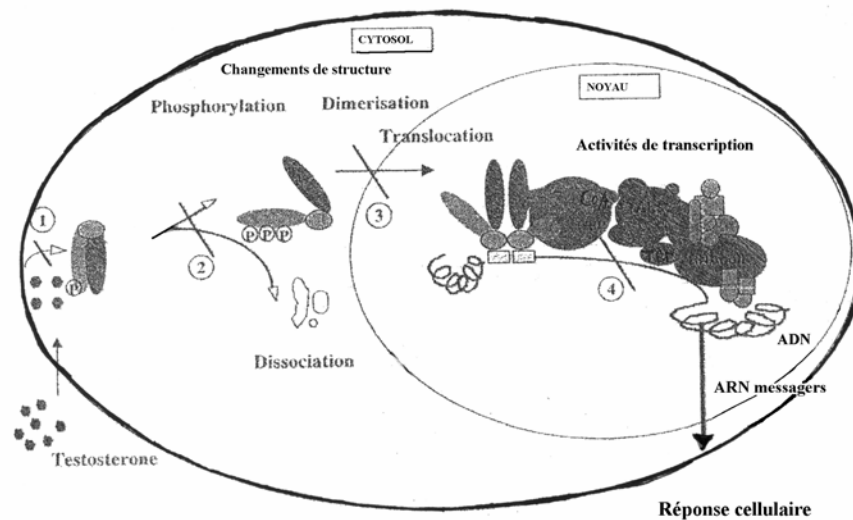


Figure 3. Mécanismes d'action proposés pour les perturbateurs hormonaux (d'après Sultan *et al.*, 2001)

Afin de préciser le pouvoir oestrogénique des phtalates, Harris *et al.* (1997) ont réalisé une étude comparative de leur effet et de celui du 17- $\beta$  estradiol sur des cellules de levures recombinées codant pour le récepteur aux oestrogènes. Dans l'ensemble, les différents composés de phtalates sont  $10^{-7}$  fois moins actifs que le 17- $\beta$  estradiol.

#### Effets tératogènes

A la suite d'exposition aux phtalates pendant la vie intra-utérine chez le rat, par administration de BBP dans l'eau de boisson des femelles gestantes ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ), des malformations fœtales affectant l'appareil génital mâle ont été observées : cryptorchidie, hypospadias (Sharpe *et al.*, 1995). Le BBP administré par intubation gastrique à la dose de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  pendant les premiers jours de la gestation chez le rat provoque des anomalies osseuses : côtes surnuméraires, déformations vertébrales ou malformations de la voûte palatine (Ema *et al.*, 1995-b ; Ema *et al.*, 1996).

#### Effets cancérigènes et mutagènes

Chez le Rat et la Souris, la prolifération des peroxyosomes décrite s'accompagne de déséquilibres entre la production et la dégradation des peroxydes entraînant l'apparition d'espèces radicalaires très réactives. L'attaque des macromolécules structurales et métaboliques qui en résulte est susceptible d'initier les processus néoplasiques (Moore *et al.*, 2002).

Il faut remarquer que les monoesters, métabolites consécutifs à la première hydrolyse sont toxiques au même titre que les phtalates parents, notamment le MBP (issu du DBP et du BBP) et le MEHP (issu du DEHP).

#### 2.5.4 Doses toxiques et seuils de tolérance

Il existe une grande diversité de protocoles expérimentaux selon la voie d'administration, le composé utilisé, la dose ou encore, l'espèce étudiée. A côté des expressions classiques de la toxicité par les doses létales (DL), on a déterminé des doses seuils en utilisant des critères continus de concentrations d'un produit donné, dans des circonstances expérimentales particulières qui sont plus représentatives des niveaux d'exposition rencontrés dans la réalité.

Les plus fortes concentrations sans effet ont été définies telles que la « no observed effect concentration (NOEC) aux Pays- Bas (Verhaar, 1994) et que la « predicted no effect concentration » ou PNEC utilisée aux Etats Unis (EPA, 1995). Ainsi, les PNEC définies dans les eaux de surface pour les organismes aquatiques vont de 4780  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour le DMP à 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour le BBP (Staples *et al.*, 2000). On a également déterminé les plus basses concentrations efficaces : citons le « lowest observed adverse effect level » (LOAEL) et la « lowest published toxic dose » ( $\text{TDL}_0$ ). Ainsi la  $\text{TDL}_0$  par injection intra-péritonéale, chez les Rongeurs concernant les effets sur la reproduction, est de 338  $\text{mg kg}^{-1}$  pour le DMP, de 1017  $\text{mg kg}^{-1}$  pour le DBP et de 10  $\text{g kg}^{-1}$  pour le DEHP.

La dose létale 50 (DL 50) par voie intra péritonéale chez les Rongeurs, est de 1,4  $\text{g kg}^{-1}$  pour le DMP, de 3.6  $\text{g kg}^{-1}$  pour le DnBP et de 14  $\text{g kg}^{-1}$  pour le DEHP. Par voie orale, les DL 50 sont 2 à 4 fois plus fortes (Lahoussine, 2000). Enfin, il faut noter que parmi les phtalates les effets toxiques diffèrent : le DEHP est surtout cancérigène en particulier au niveau hépatique tandis que le BBP présente les plus puissants effets oestrogéniques.

A titre de comparaison, la DL100 établie chez les Rongeurs pour la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine (TCDD) est de 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ , pour le PCB 169, de 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$  et pour le p,p'-dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), de 100  $\text{mg kg}^{-1}$ . Les doses létales des phtalates sont environ  $10^3$  à  $10^7$  fois plus fortes.

Etant donné le caractère cancérigène probable du DEHP chez l'Homme, l'organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Environmental Protection Agency (EPA) aux Etats-Unis ont fixé pour ce composé, un seuil de tolérance pour l'eau potable de 8  $\mu\text{g L}^{-1}$  (OMS, 1998) et de 6  $\mu\text{g L}^{-1}$  (EPA, 2002). Au Canada, une norme est prévue pour les eaux de surface et en Grande Bretagne, les phtalates sont en cours d'évaluation. En Europe, si le phtalates figurent parmi les substances prioritaires de la Communauté Economique Européenne (CEE) établie en 2000, il n'existe pas de législation particulière pour les phtalates dans l'eau potable. Cependant, nos valeurs dans l'eau de la Seine (0,33 à 1,34  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) sont largement en dessous des seuils de tolérance précités.

### **3. Présence de phtalates dans les eaux de surface du bassin versant de la Seine en région parisienne**

#### **3.1. Matériel et Méthodes**

##### **3.1.1 Sites de prélèvement**

Les sites d'étude sont indiqués sur la Figure 4. Ils sont situés le long de la Seine de l'amont à l'aval de Paris et sur la Marne et l'Oise avant leur confluent avec la Seine

Des échantillons de 3 L d'eau de surface ont été recueillis dans des flacons en verre.

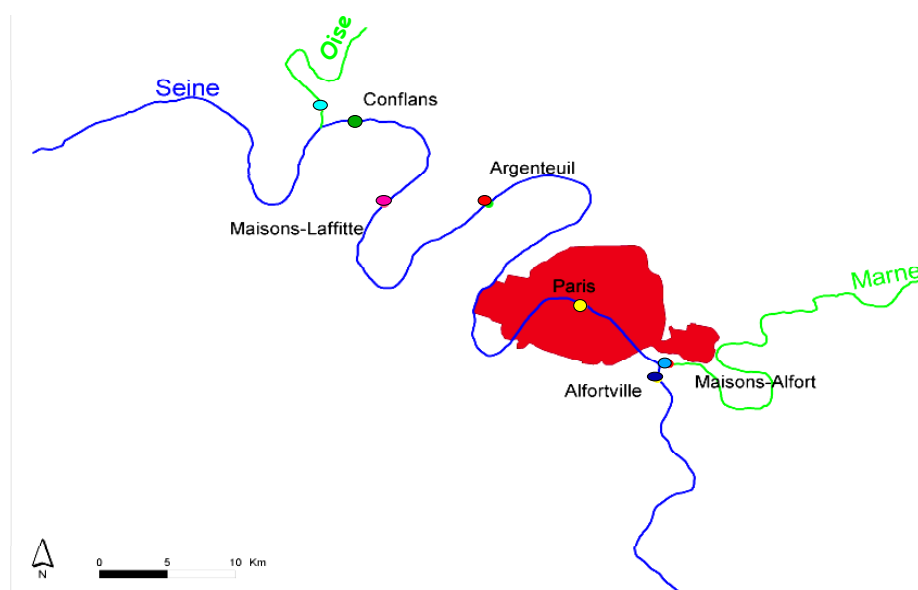


Figure 4. Localisation des points de prélèvement

### 3.1.2 Extraction et dosage

Les phtalates ont été extraits des échantillons extemporanément par un mélange hexane/dichlorométhane (85v/15v) et concentrés à 0.5 ml par évaporation rotative, d'après la technique décrite par Vitali *et al.* (1997). Ils ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse à haute résolution. Des précautions particulières ont été respectées pendant le traitement pour éviter la contamination des échantillons et des blancs ont été réalisés pour chaque étape. Tout le matériel utilisé était en verre et les solvants, de qualité picograde. Les déterminations ont été réalisées avec un standard externe contenant  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  de chacun des phtalates suivants : d-propyl phtalate DPP, d-butyl phtalate DnBP, butyl-benzyl phtalate BBP et d-ethyl/hexyl phtalate DEHP. Les résultats ont été exprimés en  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

## 3.2. Résultats – Discussion

Les blancs réalisés pour chaque étape du traitement étaient tous situés en dessous de la limite de détection ( $4 \text{ ng L}^{-1}$ ).

### 3.2.1 Concentrations et flux journaliers

Le DEHP majoritaire à tous les sites de la Seine et de l'Oise, a été suivi par ordre d'importance décroissante, par le DnBP, le BBP et le DPP (Tableau 3). En Europe, la production annuelle est de 450 000 tonnes de DEHP, 35 000 tonnes de BBP et 30 000 tonnes de DnBP (Harris *et al.*, 1997). Cette similitude de répartition entre la production industrielle et la contamination de la Seine et de l'Oise permet d'évoquer une origine diffuse pour ces deux rivières. Par contre, dans la Marne, le composé majoritaire a toujours été le DnBP, évoquant l'éventualité d'apports locaux. Pour la suite de l'étude, nous avons retenu les deux composés les plus abondants.

Tableau 3. Profil de répartition des phtalates en  $\mu\text{g/L}$  et en % dans la Seine et ses affluents

		<b>d-propyl-P</b>	<b>butyl-benzyl-P</b>	<b>d-butyl-P</b>	<b>d-ethyl/hexyl- P</b>
<b>Seine</b>	Alfortville	0.013 (2.2 %)	0.069 (12.1 %)	0.156 (27.5 %)	0.331 (58.2 %)
	Alexandre III	0.008 (1.0 %)	0.196 (25.0 %)	0.216 (27.6 %)	0.364 (46.4 %)
	Argenteuil	0.031 (2.8 %)	0.108 (9.6 %)	0.376 (33.4 %)	0.612 (54.3 %)
	Maisons Laffitte	0.005 (0.6 %)	0.184 (22.7 %)	0.205 (25.3 %)	0.415 (51.3 %)
	Conflans	0.01 (1.6 %)	0.079 (12.5 %)	0.153 (24.2 %)	0.389 (61.7 %)
<b>Marne</b>	Maisons Alfort	0.0059 (0.6 %)	0.117 (11.0 %)	0.723 (68.3 %)	0.213 (20.1 %)
<b>Oise</b>	Conflans	0.009 (1.8 %)	0.098 (18.4 %)	0.136 (25.4 %)	0.290 (54.3 %)

Dans les conditions hydrologiques moyennes, le site de la Seine le plus pollué est Argenteuil ce qui avait déjà été observé pour d'autres contaminations (Figure 5). La Marne a présenté un fort degré de contamination tandis que les concentrations de l'Oise n'ont pas dépassé  $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$ .

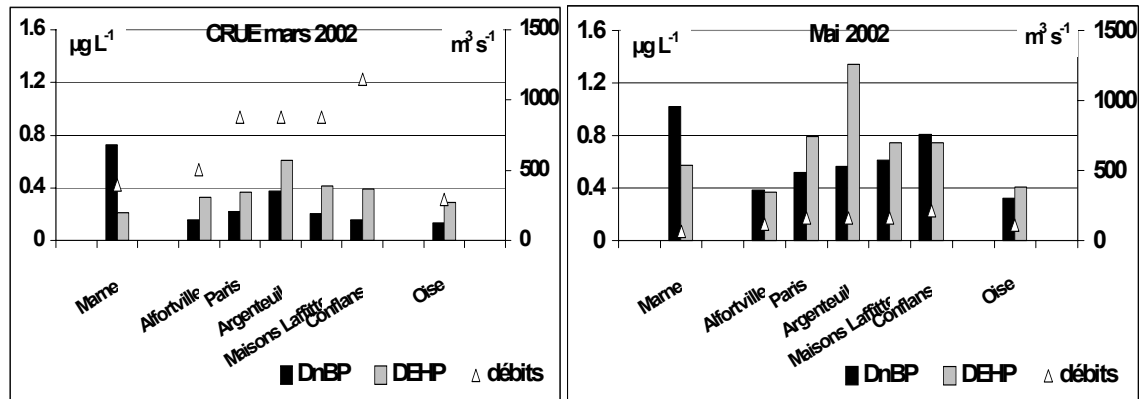


Figure 5 : Evolution des concentrations ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) du DnBP et du DEHP dans la Seine et ses affluents en mars (crue) et en mai 2002

En période de crue, les caractéristiques des répartitions sont les mêmes, les concentrations beaucoup plus basses montrant l'importance des conditions hydrologiques sur les niveaux de contamination rencontrés.

A partir des débits de la Seine mesurés le jour du prélèvement, une première estimation de flux de phtalates en  $\text{kg j}^{-1}$  a été réalisée. Ils peuvent s'élever jusqu'à  $50 \text{ kg j}^{-1}$  en période de crue bien que les concentrations soient plus faibles et permettent d'évaluer l'importance de l'apport de phtalates à l'océan par un grand fleuve anthropisé (Figure 6).

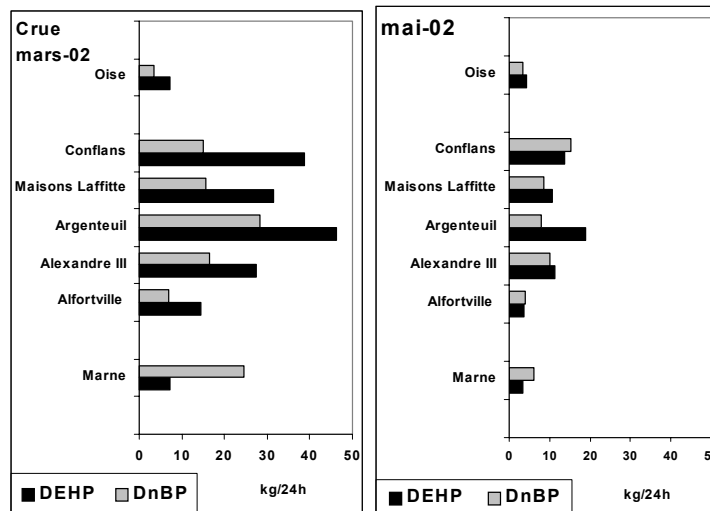


Figure 6 : Flux de DnBP et de DEHP en  $\text{kg/jour}$  dans la Seine et ses affluents en mars (crue) et mai 2002

### 3.2.2 Comparaison à l'échelle du bassin de la Seine

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de la littérature concernant les mêmes cours d'eau en 1999 (Lahoussine, 2000) (Tableau 4). Pour le DnBP, nos concentrations ont été du même ordre de grandeur que les valeurs de 1999 dans la Seine et dans la Marne mais plus faibles dans l'Oise. Par contre, pour le DEHP, nos valeurs ont été globalement plus élevées et en particulier dans la Seine. Par ailleurs, en 1999, les concentrations étaient similaires dans la Seine et ses affluents et dans

l'ensemble plus faibles que pour le DnBP. Les conditions hydrologiques qui ont une grande influence pourraient contribuer à expliquer l'écart entre les deux séries de résultats.

Tableau 4 : Concentrations du DnBP et du DEHP dans la Seine et ses affluents en 1999 (Lahoussine, 2000) et en 2002

	Rivière	DEHP $\mu\text{g L}^{-1}$	DnBP $\mu\text{g L}^{-1}$
<b>Lahoussine 2000</b>	<b>Yvette</b>	0.14	0.27
	<b>Bièvre</b>	0.17	1.87
	<b>Marne</b>	0	0.96
	<b>Oise</b>	0.13	0.79
	<b>Seine</b>	0.03 – 0.25	0.76 – 1.29
	<b>Marne 2002</b>	0.119 – 0.57	0.1 – 1.017
	<b>Oise 2002</b>	0.290 – 0.444	0.136 – 0.358
	<b>Seine 2002</b>	0.33 – 1.34	0.153 – 0.809

### 3.2.3 Comparaison à l'échelle internationale

Les concentrations de DEHP rencontrées dans la Seine sont en concordance avec les niveaux mesurés notamment en Europe (Tableau 5). Aux Etats- Unis et au Canada, où les rivières traversent de larges zones peu anthropisées, les valeurs présentent une plus grande variabilité avec de nombreuses concentrations faibles.

Tableau 5 : Concentrations en DEHP dans la Seine en 2002 et dans diverses rivières mondiales (Fromme et al., 2002).

DEHP $\mu\text{g L}^{-1}$	MIN	MAX
<b>USA 1984</b>	0.01	0.7
<b>Suède 1985</b>	0.3	1.8
<b>Canada 1988/1989</b>	0.0002	0.27
<b>Allemagne 1991/1992</b>	0.08	10
<b>Allemagne 1991/1992</b>	0.1	1.1
<b>Italie 1994</b>	0.28	3
<b>France (Seine 2002)</b>	0.33	1.34

### 3.2.4 Comparaison avec les teneurs en PCB et en HAP

Les valeurs des concentrations en PCB ( $\Sigma$  des 7 congénères) pour les mêmes échantillons que précédemment ont varié de 0.4 à 2,4 ng L<sup>-1</sup> en période de crue et de 1.2 à 4 ng L<sup>-1</sup> dans les conditions hydrologiques moyennes (Figure 7).

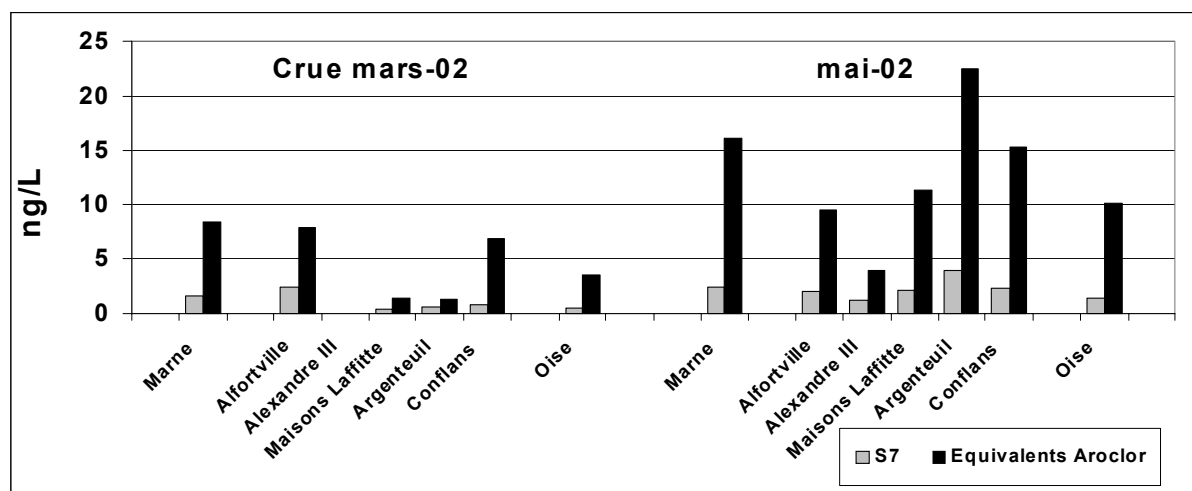


Figure 7. Evolution des concentrations en PCB dans la Seine et ses affluents en mars 2002 au cours d'une crue et en mai 2002.

L'évolution des flux a suivi le même type de variations que pour les phtalates, sous la dépendance des conditions hydrologiques. Bien que les concentrations aient été plus faibles en mars du fait de l'effet de dilution de la crue, les flux à cette période ont été plus élevés en raison des hauts débits enregistrés. Ils ont varié (exprimés en  $\Sigma$  des 7 congénères) de 12 à 103  $\text{g j}^{-1}$  en période de crue et de 14 à 57  $\text{g j}^{-1}$  dans les conditions hydrologiques moyennes (Tableau 6).

Les concentrations et les flux de PCB (en  $\Sigma$  des 7 congénères) ont été jusqu'à 330 fois plus faibles que pour les phtalates en relation avec la réglementation qui limite leur utilisation depuis les années 1970.

Tableau 6. Evolution des flux de PCB dans la Seine et ses affluents en mars 2002 au cours d'une crue et en mai 2002.

g/jour		$\Sigma$ 7	Equivalents Aroclor	$\Sigma$ 7	Equivalents Aroclor
		Mars 2002		Mai 2002	
<b>Marne</b>	<b>Maisons Alfort</b>	54.2	289.0	14.1	96.2
<b>Seine</b>	<b>Alfortville</b>	103.5	345.1	20.8	96.9
	<b>Alexandre III</b>	<LD	<LD	16.4	55.6
	<b>Argenteuil</b>	44.7	103.9	56.9	317.7
	<b>Maisons Laffitte</b>	27.0	111.7	31.2	159.8
	<b>Conflans</b>	88.0	677.3	42.9	285.0
<b>Oise</b>	<b>Conflans</b>	11.7	87.2	14.8	103.5

Dans la liste des polluants prioritaires retenus par l'Environmental Protection Agency (EPA), on recense 16 HAP : naphthalène, acénaphthylène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenz(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)pérylène, indéno(1,2,3-cd)pyrène. L'acénaphthylène, qui n'est pas détecté par notre méthode chromatographique, ne figure pas dans les résultats. La désignation « HAP totaux » concerne donc la somme de 14 composés dont le naphthalène est exclu.

Concernant les HAP, les concentrations exprimées en somme des 14 composés, ont montré des valeurs plus élevées en période de crue (de 59 à 205  $\text{ng L}^{-1}$ ) que pendant les conditions hydrologiques moyennes (de 6.7 à 53  $\text{ng L}^{-1}$ ) contrairement aux phtalates et aux PCB (Figure 8). Cette différence de comportement est liée au comportement des HAP qui sont principalement adsorbés sur la phase particulaire. Ainsi, la charge en matières en suspension élevée et la remise en suspension de sédiments lors de la crue, contribuent à expliquer ces résultats.

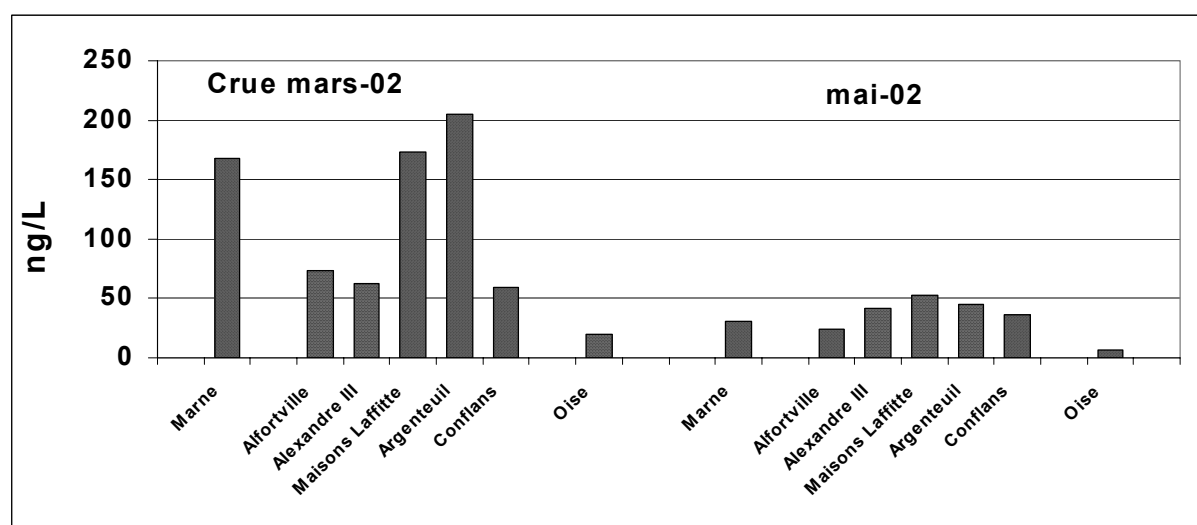


Figure 8. Evolution des concentrations en HAP en  $\Sigma 14$  composés dans la Seine et ses affluents en mars 2002 au cours d'une crue et en mai 2002.

La différence de flux de HAP (en  $\text{kg j}^{-1}$ ) entre la période de crue et les conditions moyennes est encore plus marquée que pour les autres polluants organiques étudiés, du fait de l'augmentation simultanée des concentrations et des débits (Tableau 7).

Tableau 7. Evolution des flux de HAP dans la Seine et ses affluents en mars 2002 au cours d'une crue et en mai 2002

		$\text{kg j}^{-1}$	
		$\Sigma 14$ composés	
		Mars 2002	Mai 2002
<b>Marne</b>	<b>Maisons Alfort</b>	5.7	0.64
<b>Seine</b>	<b>Alfortville</b>	3.2	2.1
	<b>Alexandre III</b>	4.7	2.3
	<b>Argenteuil</b>	13.1	3.3
	<b>Maisons Laffitte</b>	15.5	1.7
	<b>Conflans</b>	5.9	2
<b>Oise</b>	<b>Conflans</b>	2.6	0.49

## 4. Conclusion

Les concentrations de phtalates rencontrées dans les eaux de surface sont largement en dessous des seuils de toxicité définis chez les organismes aquatiques et des limites de tolérance recommandées pour l'eau potable et la survenue d'intoxications aiguës est hautement improbable dans les conditions courantes. Cependant, les risques d'une exposition chronique à long terme, inévitable dans notre environnement quotidien immédiat, restent inconnus et préoccupants en regard des nombreux effets toxiques décrits chez l'animal.

En matière de prévision des risques, on considère que seule, la phase dissoute vraie est biodisponible. Il est important de prendre en considération dans les conditions du terrain, la proportion associée aux colloïdes et aux particules organiques afin de ne pas surestimer le niveau de risque, en particulier pour les composés les plus hydrophobes.

Notre étude contribuera à établir le cycle biogéochimique des phtalates dans différents compartiments de l'environnement en fonction de facteurs anthropiques, hydrologiques et climatiques. Elle s'inscrit dans une perspective d'amélioration des connaissances concernant les modes de diffusion des phtalates sur l'ensemble du bassin versant de la Seine.



## 5. Bibliographie

- Barron M.G., Albio P.W. & Hayton W.L. (1995). Biotransformation of di (2-ethylhexyl) phtalate by Rainbow trout. *Environ. Toxicol.Chem.*, **14**, 873-876.
- Behnke W., Nolting F., Zetzsch C ; (1987). An aerosol smog chamber for testing abiotic degradation. *Pestic. Sci. Biotechnol. Proc. of Sixth International Congress pesticide Chemistry*. R. Greenhalgh and T.R. Roberts Eds.Blackwell Publ., Oxford, UK, pp. 401-404.
- Chu I., Dick D., Bronaugh R., Tryphonas L. (1996). Skin reservoir formation and bioavailability of dermally administered chemicals in hairless guinea pigs. *Fds Chem. Toxic.*, **34**, 267-276.
- David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. (2000). Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phtalate in rats. *Toxicol. Sci.* **55**, 433-443.
- Davis B.J., Maronpot R.R., Heindel J.J. (1994-2) Di-(2-ethylhexyl) phtalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, **128**, 216-2333.
- Delage D. (1998). Les substances à effets oestrogéniques dans l'environnement. Synthèses rapides. Site web : [http :](http://)
- DeWolfe W., DeBruijn J.H.M., Seinen W., Hermens J.L.M. (1992). Influence of biotransformation on the relationship between bioconcentration factors and octanol water partition coefficients. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1197-1201.
- Di Toro D.M., Zarba C.S., Hansen D.J., Berry W.J., Swartz R.C., Cowan C.E., Pavlou S.P., Allen H.E., Thomas N.A. & Paquin P.R. (1991). Technical basis for establishing sediment quality criteria for non ionic organic chemicals by using equilibrium partitioning. *Environ. Toxicol. Chem.* **10**, 1541-1586.
- Ejlertsson J., Svensson B. (1995). A review of the possible degradation of polyvinyl chloride (PVC) plastics and its components, phtalic acid esters and vinyl chloride, under anaerobic conditions prevailing in landfills. *Dept of Water and Environmental Studies*. Linkoping University, Sweden, 20 pp.
- Ema M., Kurosawa R., Amano H., Ogawa Y. (1995-b). Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl phtalate in rats. *Toxicol. Lett.*, **78**, 101-106.
- Ema M., Harazono A., Miyawaki E., Ogawa Y. (1996). Developmental toxicity of mono-n-benzyl phtalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phtalate, in rats. *Toxicol. Lett.*, **786**, 19-25.
- EPA (2002) National primary drinking water standards 816-F-02-013. Site web : [www.epa.gov/safewater](http://www.epa.gov/safewater).
- Fromme H., Küchlert T., Otto T., Pilz K., Müller J. & Wenzel A. (2002). Occurrence of phtalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research*, **36**, 1429-1438.
- Germain A. & Langlois C. (1988). Contamination des eaux et des sédiments en suspension du fleuve Saint Laurent par les pesticides organochlorés, les biphényles polychlorés et d'autres contaminants organiques prioritaires. *Water Pollut. Res. J. Canada*, **23**, 602-614.
- Giam C.S., Chan H.S., Neff G.S., Atlan E.L. (1978). Phtalate ester plasticizers: a new class of marine pollutant. *Science*, **199**, 419-421.
- Harris C.A., Henttu P., Parker M.G. & Sumpter J.P. (1997). The estrogenic potential of phtalate esters oin vitro. *Environ. Health Persp.*, **105**, 802-811.
- Hervé-Bazin B., Laudat-Hesbert A., Mahieu C. & Dornier G. (2001). Le point des connaissances sur les phtalates. *Travail & Sécurité : (Paris)*, **604**, 1-4.
- Howard P.H., Banerjee S. & Robillard K.H. (1985). Measurement of water solubilities, octanol/water partition coefficient and vapor pressure of commercial phtalates esters. *Environ. Tox. Chem.* **4**, 653-661.
- Hoyer P. (2001). Reproductive toxocology : current and future directions. *Biochemical Pharmacology*, **62**, 1557-1564.
- Jegou B. (1996). Les hommes deviennent-ils moins fertiles ? *La Recherche*, **288**, 60-64.
- Jobling S., Reynolds T., White R., parker M.G. & Sumpter J.P. (1995). A variety of environmentally persistent chemicals including some phtalates plasticizers are weakly estrogenic. *Environm. Health Persp.*, **109**, 582-587.

- Lahoussine V. (2000). Contamination par des di-esters de l'acide phtalique (phtalates) dans l'environnement aquatique en Ile-de-France. Thème : l'alimentation en eau potable. Rapport d'Etude de l'Université de Paris-Sud, 46p.
- Lund T.(2000) Note d'information sur les perturbateurs endocriniens. Commission de la santé publique et de la politique des consommateurs. Parlement Européen, 1999-2004.
- Moore N.P. (2000) The oestrogenic potential of phtalate esters. *Reproductive Toxicology*, **14**, 183-192.
- Moore J., Kavlock R., Boekelheide K., Chapin R., Cunningham M., Faustman E., Foster P., Golub M., Henderson R., Hinberg I., Little R., Seed J., Shea K., Tabacova S., Tyl R., Williams P. & Zacharewski T. (2002). NTP center for the evaluation of health risks to human reproduction :phtalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of butyl benzyl phtalate. *Reproductive Toxicology*, **5450**, 1-36.
- Moore J., Kavlock R., Boekelheide K., Chapin R., Cunningham M., Faustman E., Foster P., Golub M., Henderson R., Hinberg I., Little R., Seed J., Shea K., Tabacova S., Tyl R., Williams P. & Zacharewski T. (2002). NTP center for the evaluation of health risks to human reproduction :phtalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-n-butyl phtalate. *Reproductive Toxicology*, **5454**, 1-39.
- Mylchreest E., Cattley R.C., Foster P.M.D. (1998). Male reproductive tract malformations in rat following gestational and lactational exposure to di (n-butyl) phtalate : an antiandrogenic mechanism ? *Toxicol. Sci.*, **43**, 47-60.
- Norrgrén L., Blom A., Andersson, P.L., Börjeson H., Larsson D.G.J., Olsson P.-E. (1999). Effects of potential xenoestrogens (DEHP, nonylphenol and PCB) on sexual differentiation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Ecosystem Health and Management*, **2**, 311-317.
- OMS (1998) Addendum to Vol.2 Health criteria and other supporting information (pp ; 281-283. Geneva, WHO.
- Poon R., Lecavalier P., Mueller M., Valli V.E. Procter B.G. & Chu I. (1997). Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phtalate and di-(2-ethylhexyl)phtalate in the rat. *Food Chem. Toxicol.* **35**, 225-239.
- Richburg J.H. & Boekelheide K. (1996) Mono(2-ethylhexyl) phtalate rapidly alters both Sertoli cell, vimentin filaments and germ cell apoptosis in young rats testes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **137**, 42-50.
- Russel D.J. & Mc Duffie B. (1986). Chemodynamic properties of phtalates : partitioning and soil migration. *Chemosphere*.**15**, 1003-1021.
- Scholtz N. (1994 a). Bestimmung der biologischen abbaubarkeit von vestinol im modifizierten sturm test, ST-90/94 W, Huls, A.G. Marl Germany.
- Sharpe R.M., Fisher J.S., Millar M.M. Jobling S. & Sumpter J.P. (1995). Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production *Environ. Health Persp.***103**, 113-122.
- Schwarzenbach R.P., Gschwend P. M., Imboden D.M. (1992). In Environmental organic chemistry. (Eds John Wiley & sons, NY).
- Staples C.A., Peterson D.R., Parkerton T.F. & Adams W.J. (1997). The environmental fate of phtalates esters : a literature review. *Chemosphere*, **35**, 667-749.
- Strachan W.M.J. & Eisenrich S.J. (1988) Mass balance of toxic chemicals in the Great Lakes : the role of atmospheric deposition. *International Joint Commission Workshop Reporty*, Windsor, Ontario, Canada.
- Sultan C., Balaguer P., Terouanne B., Georget V., Paris F., Jeandel C., Lumbroso S. & Nicolas J.C. (2001). Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **178**, 99-105.
- Thuren A. & Larsson P. (1990). Phtalate esters in the swedish atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* **24**, 554-559.
- US Environmental Protection Agency (1995) Final water quality guidance for the Great Lakes System. US Environmental Protection Agency. Federal Register, **60**, (56) : 15366.
- Verhaar H.J.M., van Leeuwen C.J., Bol J., Hermens J.L.M. (1994) ; Application of QSARs in risk management of existing chemicals. SAR and QSAR. *Environ. Res.* **2**, 39-58.

- Vitali M., Guidotti M., Macclienti G. & Cremisini C. (1997). Phtalate esters in freshwaters as markers of contamination sources – A site study in Italy. *Environment International*, **23**, 337-347.
- Wofford H.W., Wilsey C.D., Neff G.S., Giam C.S., Neff J.M. (1981). Bioaccumulation and metabolism of phtalate esters by oysters, brown shrimp and sheephead minnows. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **5**, 202-210.
- Wolfe N.L., Burns L.A., Steen W.C. (1980 b). Use of linear free energy relationship and an evaluative model to assess the fate and transport of phtalate esters in the aquatic environment. *Chemosphere*. **9**, 393-402.