

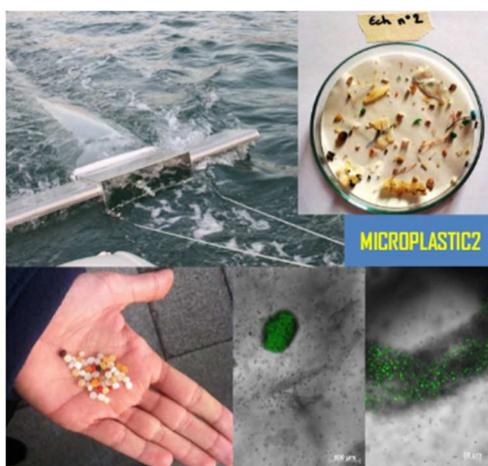
Partenaires :



# MICROPLASTIC2

Pollution aux microplastiques:  
détection, risques  
et remédiation à l'interface terre-mer

## Rapport de synthèse



Projet labellisé par le



et co-labellisé par le



et le



Retenu au FUI20 – 2016-2020

Projet financé par



SERVIR L'AVENIR

et par :





# Sommaire

<b>1</b>	<b>Préambule</b>	<b>1</b>
1.1	Règlementation sur les plastiques	1
1.2	Impact des microplastiques	2
<b>2</b>	<b>Tâche 2 : Prélèvements</b>	<b>2</b>
2.1	Prélèvements sur les bassins versants (rivières et STEP)	2
2.2	Rade de Brest	4
2.3	Rade de Marseille	5
2.4	Conclusion sur les prélèvements	6
<b>3</b>	<b>Tâche 3 : Détection et quantification des MP et des contaminants associés</b>	<b>6</b>
3.1	Protocoles et développements méthodologiques	6
3.1.1	Traitement des échantillons d'eaux de surface en rade de Brest et en rade de Marseille	6
3.1.2	Analyse en spectroscopie de type FTIR	7
3.1.3	Analyse en spectroscopie de type Raman couplée à la chimimétrie	8
3.1.4	Transfert de protocole	8
3.2	Pré-normalisation des méthodes d'analyse	8
3.3	Analyse des micropolluants organiques adsorbés	8
3.4	Résultats de la caractérisation des microplastiques :	9
3.4.1	Bassin versant de la rade de Brest	9
3.4.2	Rade de Brest	9
3.4.3	Bassin versant de la rade de Marseille	10
3.4.4	Rade de Marseille	11
3.5	Analyses des polluants organiques associées aux microplastiques	11
3.5.1	Bassin versant de la rade de Brest	11
3.5.2	Rade de Brest	12
3.5.3	BV rade de Marseille	12
3.5.4	Rade de Marseille	13
3.5.5	Conclusion :	13
<b>4</b>	<b>Tâche 4 : Traçage de l'origine des MP et contaminants</b>	<b>14</b>
4.1	Préambule	14
4.2	Mise en place des protocoles analytiques	14
4.2.1	Traceurs isotopiques	14
4.2.2	Traceurs chimiques	14
4.3	Constitution d'une base de données pour des polymères de référence	15
4.4	Résultats pour les bassins versants et les rades de Brest et de Marseille	16
4.4.1	Traceurs isotopiques	16
4.4.2	Traceurs chimiques	17
4.4.2.1	Résultats pour le bassin versant et la rade de Brest	17
4.4.2.2	Résultats pour le bassin versant et la rade de Marseille	17
4.5	Conclusion :	18

<b>5</b>	<b>Tâche 5 : Modélisation de la dispersion des MP en fonction des sources et prévision des "hot spots".</b>	<b>18</b>
5.1	Modélisation bassins versant	18
5.2	Modélisation en mer	20
<b>6</b>	<b>Tâche 6 : Transfert et impact dans le biota et les écosystèmes</b>	<b>22</b>
6.1	Transfert et impact dans la vie marine et les écosystèmes	22
6.2	Transfert des MP et contaminants associés dans la chaîne trophique	22
6.2.1	Interactions des microplastiques avec le phytoplancton	22
6.2.2	Transfert trophique des MP vers les organismes filtreurs	23
6.2.3	Transfert trophique de MP vers des juvéniles de poissons via le zooplancton	24
6.3	Impacts des microplastiques, seuls ou couplés à des polluants chimiques ou biologiques, sur la faune marine.	24
6.3.1	Impact des MP sur le phytoplancton	25
6.3.2	Impact des MP sur le zooplancton : Approche <i>in situ</i>	25
6.3.3	Effets combinés MP et pathogènes : Colonisation des MP par les pathogènes par une approche <i>in situ</i>	27
6.3.4	Effets combinés MP et HAP sur les bivalves : approche expérimentale	29
6.3.5	Effets combinés MP et additifs (Irgafos) sur les poissons : approche expérimentale	30
6.3.6	Translocation : passage des particules de plastiques à travers les membranes biologiques	30
<b>7</b>	<b>Tâche 7 : Pilote traitement</b>	<b>31</b>
7.1	Technologie de traitement des microplastiques	31
7.1.1	Définition des protocoles	31
7.1.2	Orientation technologique	32
7.1.2.1	Les technologies membranaires	32
7.1.2.2	Les campagnes de terrains	32
7.1.3	Pilote de traitement	33
7.1.4	Les boues d'épuration	34
7.2	Conception, le développement, les tests et la validation d'un outil d'aide à la décision	35
7.3	Capteur : détection des microplastiques sur prélèvement d'eau de surface	36
7.3.1	Contexte	36
7.3.2	Développement d'un capteur monopixel pour la détection des MP	36
7.3.3	Résultats expérimentaux obtenus	37
7.3.4	Conclusion et perspectives	38
<b>8</b>	<b>Tâche 8 : Mitigation, aide à la gestion</b>	<b>38</b>
8.1	Communication auprès des instances	38
8.2	Communication auprès du grand public	38
8.3	Communications scientifiques	39
8.3.1	Publications	39
8.3.2	Communications orales	39
8.3.3	Autres	40
8.3.4	Accueil de stagiaires	40
<b>9</b>	<b>Liste des participants au projet</b>	<b>40</b>
<b>10</b>	<b>Liste des Figures</b>	<b>41</b>

# 1 Préambule

Les microplastiques (MP) sont des particules de plastiques de taille inférieure à 5 mm. Ils sont composés principalement de polyéthylène, polypropylène et d'autres polymères. On distingue 2 types de MP :

- Les MP dits primaires (ou encore d'origine directe) sont les granulés utilisés comme matière première dans l'industrie du plastique, les microbilles présentes dans des produits cosmétiques ou encore les fibres synthétiques issues de nos lessives.
- Les MP dits secondaires sont issus de la fragmentation de plus gros débris de plastiques dans l'eau et sur terre.

## **Le projet aborde la problématique des microplastiques (MP) dans sa globalité :**

- Leur présence environnementale (rivières et milieu marin),
- Leur présence et impacts dans le biota (ensemble des organismes vivants présents dans un habitat), les écosystèmes, et leurs utilisateurs (par bioaccumulation, vecteur de polluants organiques et pathogènes),
- La recherche de leurs origines (traceurs) et de leur localisation (modélisation),
- Proposer des solutions pour limiter les apports aux milieux.

## **Le projet a pour objectifs :**

- d'établir un diagnostic de l'état de contamination environnementale par les MP ainsi que par les micropolluants et microorganismes associés sur les systèmes fluviaux, leurs estuaires et les rades de Brest et Marseille,
- de déterminer le rôle/l'efficacité des réseaux d'assainissement et des stations d'épuration de l'agglomération de Brest métropole et de Marseille Provence Métropole dans la capture des MP provenant de sources ponctuelles (activités industrielles) et diffuses (activités domestiques),
- de développer et appliquer des outils chimiques et isotopiques visant à déterminer l'origine des MP (source agricole, industrielle (textile, cosmétique...) et/ou site de production),
- de modéliser la dispersion des MP en fonction des sources géographiques (urbaines, bassins versants, marines) et prévision des "hot spots",
- d'évaluer le risque pour le biota et pour les activités économiques associées via un échantillonnage in situ et des expériences de contamination en conditions contrôlées de laboratoire,
- de tester la performance d'un procédé de capture des MP sur le flux traité de la station d'épuration collective de la Métropole Nice Côte d'Azur (assemblage technologique confidentiel),
- de développer un capteur de détection et quantification des MP dans les eaux usées.

Ce rapport de synthèse, résume les réalisations des différents partenaires dans les différentes tâches, au bout de quatre ans de projet.

## 1.1 Règlementation sur les plastiques

Depuis le début du projet de nombreux textes réglementaires ont été votés afin de réduire certains usages du plastique, entre autres ceux à usage unique.

La loi relative à la lutte contre le gaspillage et à l'économie circulaire, qui entend accélérer le changement des modèles de production et de consommation afin de réduire les déchets et de préserver les ressources naturelles, la biodiversité et le climat, a été adoptée le 10 février 2020 : **LOI n° 2020-105**

Un des objectifs de cette loi est d'atteindre le **zéro plastique jetable d'ici 2040**.

Cependant il existe dans l'environnement terrestre et le milieu marin des quantités importantes de plastiques « historiques », qui continuent de polluer les milieux et écosystèmes.

Il n'existe actuellement aucune législation spécifique relative aux microplastiques, sauf dans la Directive-Cadre Stratégie pour le Milieu Marin de l'UE pour un bon état écologique du milieu marin en Europe, qui pour un de ses descripteurs indique les microplastiques, mais aucun réseau de surveillance n'est mis en place. On note cependant que la Directive Cadre Stratégie pour le milieu marin s'intéresse à 11 paramètres de bon état marin dont un prend en considération la pollution plastique. Cette nouvelle pollution sera donc très probablement réglementée au cours des années à venir.

## 1.2 Impact des microplastiques

Dès leur conception, des additifs potentiellement toxiques sont incorporés aux plastiques, tels que stabilisants aux UV, colorants, retardateurs de flamme... Une fois dans l'eau, ils adsorbent et concentrent les polluants organiques persistants (POP) présents à l'état dissous dans l'eau. Se posent alors les problèmes du transport et du relargage de l'ensemble de ces polluants dans l'eau et les organismes vivants. Ces microparticules plastiques constituent également un environnement favorable à la colonisation par certains micro-organismes aquatiques (virus, bactéries, champignons, protozoaires) et peuvent donc véhiculer des espèces pathogènes et nuisibles, avec un risque important de transport d'espèces invasives susceptibles de bouleverser l'équilibre biologique des zones qu'elles colonisent.

Une fois libérés dans l'environnement, les MP s'accumulent et constituent différentes menaces pour l'écosystème. Ils peuvent être ingérés par des organismes aquatiques tels que les poissons, et endommager leurs tissus. Ils peuvent également diminuer artificiellement leur alimentation. Les MP occupent de la place dans leur estomac et limitent artificiellement leur besoin en nourriture, avec des impacts significatifs sur leur santé (Derraik, 2002). En outre, une fois ingérés, les MP contaminent la chaîne alimentaire et peuvent la remonter. Les MP peuvent également s'accumuler dans les tissus biologiques et se diffuser ainsi plus facilement dans la chaîne alimentaire.

## 2 Tâche 2 : Prélèvements

Responsable de tâche : P3 : CNRS-LEMAR,

Participants : LABOCEA, IFREMER, LOV, SUEZ, Eau du Ponant.

Dans le cadre du projet, des prélèvements ont été réalisés sur les rivières des bassins versants de Brest et Marseille, sur les stations d'épuration (STEP), ainsi que sur les eaux de mer des rades de Brest et Marseille. Des échantillons de moules ont également été prélevés en rade de Marseille.

### 2.1 Prélèvements sur les bassins versants (rivières et STEP)

Il n'existe actuellement pas de protocole validé pour les prélèvements de microplastiques en rivière. Les premiers prélèvements ont été réalisés par LABOCEA avec un filet à plancton de maille 300 µm et ayant une ouverture circulaire. Par la suite un filet a été créé spécifiquement pour les prélèvements de microplastiques en rivière (Figure 1) et pouvant s'adapter aux cours d'eau avec des vitesses et des hauteurs d'eau variables.

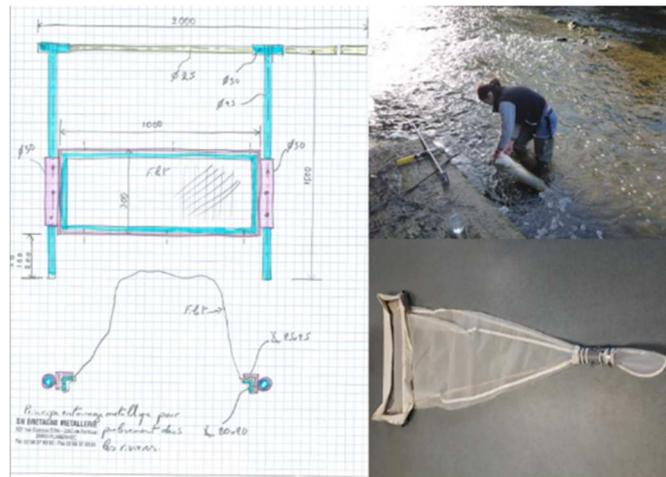


Figure 1 : Filet d'échantillonnage en rivière (maille 330 µm)

Le principe du prélèvement de MP en rivière est de filtrer un volume suffisant d'eau pour récolter des MP tout en limitant la quantité de matières organiques dans le filet pour éviter, notamment, le colmatage.

Il est important de bien localiser le point de prélèvement en fonction de différents critères comme l'occupation du sol, les rejets de STEP, de déversoirs d'orage ou d'exutoires d'eaux pluviales, certaines activités agricoles comme le maraîchage sous bâche ou encore les points de jaugeage de débit. L'autre point important est le positionnement du prélèvement dans la rivière elle-même, en effet il est préférable de pouvoir installer le filet, en surface, dans une zone ayant un débit soutenu afin de faire passer un volume d'eau élevé en un minimum de temps. Des mesures de vitesses doivent être réalisées afin de déterminer le volume total filtré en fin de manipulation. Le but est de pouvoir exprimer un nombre de particules par m<sup>3</sup> filtré. Lorsque le temps de prélèvement est atteint, le filet est sorti de l'eau et vidé dans un tamis. Les débris végétaux les plus gros sont éliminés afin d'avoir le moins possible de matières organiques dans l'échantillon. Un flacon en verre rempli à moitié d'eau distillée est ouvert au bord de la rivière durant la durée du prélèvement afin d'évaluer la contamination aérienne par les microfibres (blanc de prélèvement). Les échantillons et blancs sont conservés dans des pots en verre et mis en enceinte réfrigérée jusqu'à leur réception au laboratoire avant analyse.

### Prélèvements réalisés :

Durant le projet MICROPLASTIC2, des prélèvements ont été réalisés dans les rivières du bassin versant de la rade de Brest et dans celles du bassin versant de la rade de Marseille.

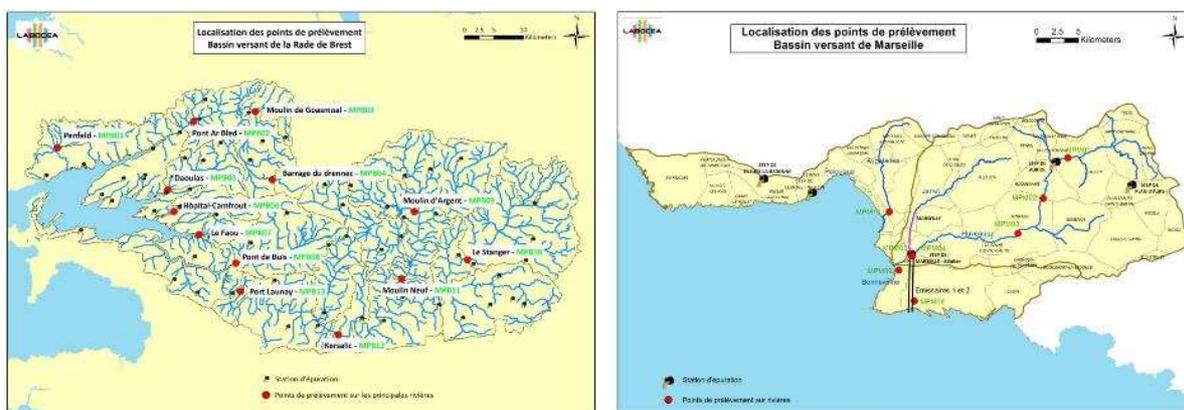


Figure 2 : Points de prélèvements sur les bassins versants des rades de Brest et Marseille

Pour le bassin versant de Brest, 2 campagnes représentatives de temps sec ont été réalisées (septembre-octobre 2016 et mai 2017) et 1 campagne de temps de pluie (février 2019). Pour le bassin versant de Marseille, 3 campagnes de temps sec ont eu lieu (octobre 2016, mai 2017 et juin 2018). Pour les STEP, les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un filet à ouverture circulaire de diamètre 25 cm avec une maille de 300 µm. Les prélèvements ont été réalisés en entrée de STEP après dégrillage (Eaux brutes) et en sortie de STEP (Eaux traitées).

Sur le bassin versant de Brest, les stations de Maison Blanche et de Zone portuaire ont été suivies en mars 2017, juillet 2017 pour la 1<sup>ère</sup> et en février 2019 en plus pour les eaux traitées de la seconde.

La durée d'immersion du filet a variée entre 15 et 30 min pour des volumes allant de 2 m<sup>3</sup> à près de 100 m<sup>3</sup>. Pour le bassin versant de la rade de Marseille, les eaux brutes et les eaux traitées de la STEP de la ville de Marseille ont été échantillonnées en octobre 2016, mai 2017 et juin 2018.

Tous les prélèvements STEP ont été conservés au congélateur à -20°C en attente de leur traitement.

## 2.2 Rade de Brest

Deux campagnes de prélèvements de microplastiques flottants ont été réalisées en rade de Brest : octobre 2016 et mai 2017. Chaque campagne s'est déroulée sur 3 jours consécutifs afin d'accéder aux 9 sites de prélèvements répartis dans des zones contrastées de la rade à proximité des activités anthropiques, des sorties des rivières et des zones de mélange des eaux (Figure 3).

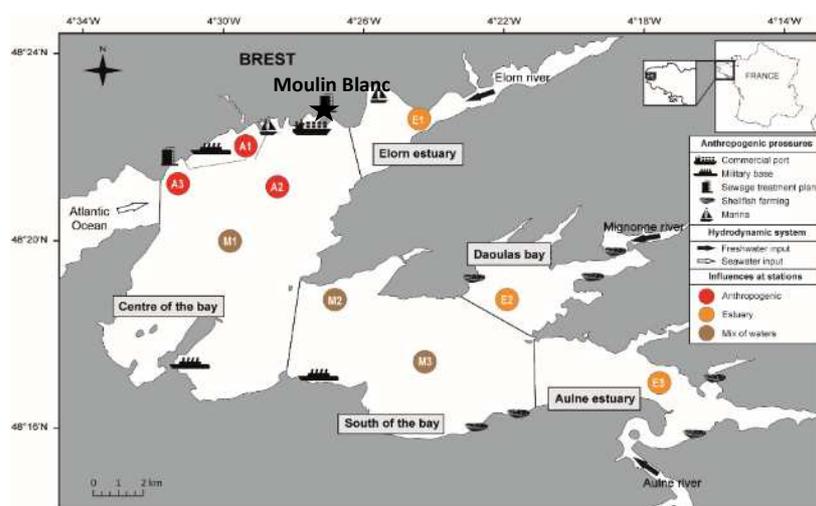


Figure 3 : Stations d'échantillonnage en rade de Brest

Les prélèvements de macro et microplastiques ont été réalisés à l'aide d'un filet Manta de maille standard 335 µm et de dimensions 4 x 0,6 x 0,16 m (Figure 4). Chaque trait de filet a été réalisé en conditions climatiques favorables (< force 3 sur l'échelle de Beaufort), au jusant dans les trois heures suivant l'étal de marée haute. Le filet est immergé pendant 20 minutes à une vitesse de trois nœuds, et un débitmètre est fixé à l'entrée du filet pour estimer le volume d'eau échantillonné. Les coordonnées GPS sont aussi enregistrées en début et fin de prélèvement pour estimer la surface parcourue. Une fois le prélèvement terminé, le filet est remonté à bord et rincé de manière à concentrer les débris dans le collecteur (Figure 4). Le collecteur est ensuite détaché du filet puis rincé à l'eau de mer de manière à récupérer l'échantillon sur un tamis de 300 µm (Figure 4). Un blanc de prélèvement est réalisé à chaque sortie à la manière de ceux réalisés pour les prélèvements sur le bassin versant. L'ensemble des échantillons ont ensuite été transférés dans des bouteilles en verre fermées et conservées à -20°C en attente d'analyse.



Figure 4 : Filet Manta (à gauche), filet double neuston (milieu gauche), nettoyage du filet et récupération de l'échantillon sur un tamis en inox de maille 300 µm (à droite).

En 2017, certains prélèvements ont été réalisés avec un filet de type double neuston (Figure 4) et ont montré des résultats tout à fait comparables aux résultats obtenus avec le filet Manta classique. Ce filet permet de dupliquer les prélèvements et par conséquent doubler la quantité de plastique obtenue à chaque trait de filet. Des prélèvements auraient dû avoir lieu en février 2019 (au même moment que ceux réalisés sur le bassin versant), mais ont été empêchés du fait d'un problème technique quant à l'accès aux moyens nautiques.

Les volumes moyens échantillonnés en rade de Brest étaient de 188-244 m<sup>3</sup>, 161-180 m<sup>3</sup> en 2016 et 2017.

### 2.3 Rade de Marseille

Les prélèvements de microplastiques ont été effectués à l'aide d'un filet Manta de 333µm selon le même protocole que celui déployé en rade de Brest (20 min à 3 nœuds) permettant d'échantillonner une surface d'environ 1 000 m<sup>2</sup>.

Les échantillons destinés à l'étude du plancton associé au plastique ont été immédiatement fixés par ajout de formol tamponné dilué à 4% et complété à minimum d'1/2 litre avec l'eau de mer filtrée. Tous les échantillons ont été conservés dans une glacière, à l'obscurité avec des pains de glace, puis transférés au laboratoire en attente de traitement.

Les échantillons destinés à l'étude des polluants adsorbés et additifs ont été conservés à l'abri de la lumière dans une glacière avec des pains de glace, et ont été congelés directement en retour de mission à -20°C. Tous les flacons utilisés pour prélever des échantillons à destination de l'analyse des polluants ont été passés au four à 450 °C, pendant 6 heures.

Concernant l'étude des microplastiques dans le biota, des pochons de moules ont été laissés dans le milieu à 10-15m de profondeur durant 6 semaines sur deux sites « impactés » (Huveaune et Cortiou) et un site "peu impacté" (Riou) en 2017 et 2018. Les moules ont été immergées dans des pochons en plastique selon la technique mise au point dans la cadre du Réseau Intégrateurs Biologiques (RINBIO) de l'Ifremer. Une fois les pochons de moules récupérés, ils ont été mis en glacière avant stockage au congélateur en attente d'analyse.

Les échantillons de MP dans les eaux ont été prélevés dans 6 stations (Figure 5) en octobre 2016, mai 2017 et juin 2018. Les stations "Cortiou", "Huveaune" et "Estaque" sont situées à proximité de la sortie des stations d'épuration. La station "Les Goudes" est située dans le Parc National des Calanques et considérée comme une zone sans source directe de pollution. La station "Planier" a été choisie en raison de sa grande distance à la côte pour étudier l'influence côtière des autres stations. La station "Rhône" située loin de la ville de Marseille, a été sélectionnée pour étudier l'influence de l'embouchure du fleuve.

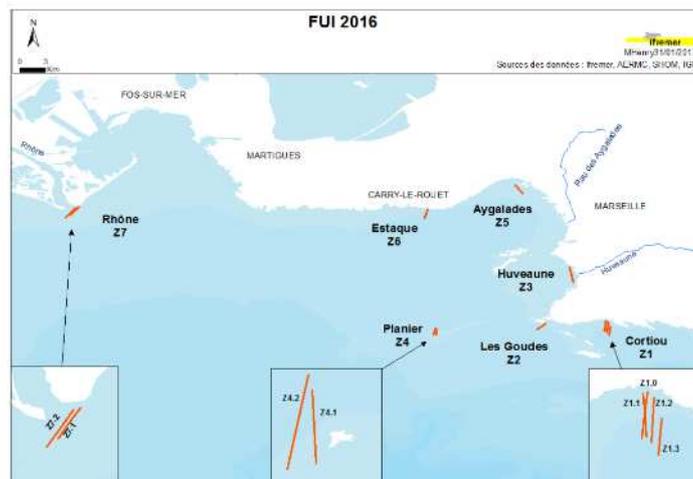


Figure 5 : Localisation des sites de prélèvements des échantillons de microplastiques dans la rade de Marseille pour les campagnes 2016, 2017 et 2018.

Au total, 56 échantillons de microplastiques (avec soit zooplancton ou contaminants associés) ont été récoltés durant les trois campagnes. Quand cela était nécessaire, les blancs correspondant aux échantillons ont été réalisés. De plus, un total de 12 échantillons de moules a été récupéré pour les années 2017 et 2018.

## 2.4 Conclusion sur les prélèvements

La principale difficulté pour les prélèvements, durant le projet a été la coordination entre les prélèvements sur le bassin versant et les prélèvements en mer. En effet chaque type de prélèvement a ses contraintes (disponibilités des moyens nautiques, du personnel, conditions météorologiques défavorables, etc.) et la modélisation terre-mer imposait un couplage des prélèvements BV et mer.

## 3 Tâche 3 : Détection et quantification des MP et des contaminants associés

Responsable de tâche : P3 : LEMAR

Participant : LABOCEA, IFREMER, LOV, SUEZ

Les échantillons prélevés ont nécessité différentes étapes avant identification des polymères et des contaminants adsorbés à leur surface. Ces étapes ont fait l'objet de différentes recherches, tests et développements méthodologiques décrits ci-après. Ces recherches ont permis de mettre en place des protocoles robustes et quantifier les MP dans les échantillons prélevés, déterminer les polymères les plus présents et analyser les contaminants associés.

### 3.1 Protocoles et développements méthodologiques

#### 3.1.1 Traitement des échantillons d'eaux de surface en rade de Brest et en rade de Marseille

Des développements méthodologiques ont été nécessaires afin d'optimiser l'extraction des microplastiques des échantillons d'eau de surface en rade de Brest présentant de grandes quantités de matière organique (Figure 6).



Figure 6 : Prélèvements d'eau de surface en rade de Brest

Les échantillons bruts sont d'abord tamisés sur tamis de 5mm et 300µm pour collecter manuellement les débris plastiques > 5mm et compris entre 0,5 et 5 mm.

Le reste de l'échantillon (< 0,5 mm) a ensuite été digéré en utilisant des solutions d'hydroxyde de potassium (KOH) ou de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) chauffées à 60°C pendant 24h sous agitation mécanique (300rpm). Ces digestions permettaient de détruire la matière organique tout en préservant les microplastiques qui sont ensuite filtrés pour analyse en spectroscopie. Pour tous les échantillons, les résultats révèlent des protocoles de digestion efficaces avec un pourcentage d'élimination de la matrice toujours supérieur à 90 %. Ce protocole est maintenant appliqué en routine au LEMAR.



Figure 7 : Schéma synthétisant les différentes étapes réalisées pour l'extraction des microplastiques dans des échantillons d'eau de surface.

Les échantillons de la rade de Marseille sont d'abord rincés à l'eau de mer filtrée pour enlever le formol et transférés dans une boîte de Pétri. Les microplastiques et le zooplancton sont dénombrés séparément, numérisés avec le ZooScan et analysés par un post-traitement. Une fois cette étape complétée au LOV les échantillons sont envoyés à l'Ifremer où ils sont tamisés sur quatre tamis de respectivement 300 µm, 1mm, 2mm, 5mm et rincés largement à l'eau distillée. Les particules sont comptées en tenant compte des catégories (fragment, pellet, fibre, film, polystyrène, autres) pour chaque classe de taille, et répartis dans deux boîtes (microplastiques <5mm et >5mm) et mis à l'étuve à 50°C pendant 24h pour être ensuite pesés. Les résultats ont été exprimés en nombre de particules par km<sup>2</sup> et m<sup>3</sup>, mais aussi en g / km<sup>2</sup>.

### 3.1.2 Analyse en spectroscopie de type FTIR

Les microplastiques peuvent être identifiées selon plusieurs méthodes, l'une d'entre elles est la spectroscopie. Une nouvelle mise au point a été réalisée sur un spectromètre Infra Rouge à Transformée de Fourier. Cette technique est complémentaire à la spectroscopie de type Raman puisque les vibrations moléculaires qui sont inactives par Raman peuvent être actives par FTIR, et vice versa. La spectroscopie Raman a pour avantages essentiels de (i) ne nécessiter que peu ou pas de préparation des échantillons, et (ii) de descendre à une résolution de 1µm. L'avantage principal du FTIR repose sur la méthode de traitement des interférences qui évite les problèmes de fluorescence. Ainsi, ces deux techniques constituent un outil puissant pour la caractérisation des matériaux et polymères.

### 3.1.3 Analyse en spectroscopie de type Raman couplée à la chimiométrie

Les particules de la rade et certaines du bassin versant de la rade de Marseille ont été analysées en utilisant la méthode semi-automatique d'analyse des particules microplastiques par spectroscopie Raman développée par le LDCM et le LEMAR (Frère *et al.*, 2016). Devant le très grand nombre de spectres à analyser, des outils de chimiométrie - combinant correction, normalisation et traitement statistique du signal à l'aide du logiciel MATLAB - ont été développés en parallèle de l'acquisition semi-automatisée. Ceci offre ainsi une méthode reproductible et efficace dans le temps pour une caractérisation morphologique et chimique rapide des microplastiques, des copolymères ainsi que les colorants ajoutés aux plastiques.

### 3.1.4 Transfert de protocole

Un transfert des protocoles d'identification des MP a été réalisé entre le LEMAR, le LOV et LABOCEA. LABOCEA a choisi de s'équiper d'un FTIR pour l'identification des polymères. Le transfert de protocole a été validé en comparant, notamment, le pourcentage de particules identifiées et non identifiées. Le pourcentage de particules non identifiées par LABOCEA est du même ordre de grandeur que celui du LEMAR (environ 20 à 25 %). Des améliorations sont actuellement en cours pour diminuer ce pourcentage.

## 3.2 Pré-normalisation des méthodes d'analyse

Un des objectifs du projet était de travailler avec un groupe de normalisation afin de valoriser l'expérience acquise dans le projet et qu'il y ait au niveau national une harmonisation des méthodes afin de pouvoir comparer les résultats de différents sites entre eux. LABOCEA (en tant que membre de l'ASLAE) a pris part, dès le démarrage, au Groupe technique de la commission AFNOR. Ce groupe d'Expert se réunit pour élaborer la norme sur l'Analyse des microplastiques dans les eaux de consommation humaine et les eaux souterraines.

## 3.3 Analyse des micropolluants organiques adsorbés

Les eaux des rivières et les eaux de mer sont parfois polluées par différentes molécules chimiques comme les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques... Parmi ces molécules certaines peuvent être des perturbateurs endocriniens ou potentiellement cancérigènes... Les microplastiques peuvent être une source supplémentaire de ces polluants car ils peuvent en être un support. En effet, certaines molécules ont plus d'affinité pour les particules que pour l'eau. Il paraît donc nécessaire de connaître le type de molécules pouvant s'adsorber à la surface des MP en condition réelle. C'est pourquoi LABOCEA a mis au point une technique pour l'identification des polluants adsorbés, et plus particulièrement des polluants organiques persistants sur les MP.

### **Mise au point du protocole d'analyse :**

Lors des prélèvements réalisés en rivière, nous nous sommes rendu compte que la présence de matières organiques en grand nombre ne permettait pas d'isoler la totalité des microplastiques en passant l'échantillon sous une loupe binoculaire. Il a donc été décidé de tester différentes méthodes de digestion des matières organiques pour valider leur efficacité mais également pour voir si l'analyse des polluants adsorbés était compatible (pas de perte d'information). Les différents tests, ont hélas montré qu'aucune technique ne permettait de quantifier les polluants adsorbés sans perte d'information. Il a donc été décidé de faire l'analyse des polluants adsorbés sur les microplastiques que l'on pouvait isoler sous loupe binoculaire. Ces microplastiques ont ensuite été identifiés par technique spectromicroscopique (RAMAN ou FTIR) avant d'analyser les polluants adsorbés.

Des tests ont ensuite été réalisés au laboratoire afin de sélectionner le solvant le plus efficace pour leur extraction avant analyse. Une fois le choix du solvant effectué, les échantillons ont été analysés

selon une méthode de chromatographie qui permet la séparation des composés organiques (GC MSMS). Les polluants analysés font partis de trois familles : les hydrocarbures aromatiques polycycliques (16 HAP), les polychlorobiphényles (9 PCB), les polybromobiphényléthers (7 PBDE), les chlorobenzènes, les alkylphénols, les phtalates (DEHP) et les pesticides (~60).

### 3.4 Résultats de la caractérisation des microplastiques :

#### 3.4.1 Bassin versant de la rade de Brest

Sur le bassin versant de Brest, le polymère majoritairement retrouvé est le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP) vient ensuite. En moyenne, le nombre de polymère différent identifié sur un point de prélèvement varie de 1 à 4. Ponctuellement, ce chiffre peut monter à 6 ou 7 par temps de pluie. En effet, le nombre moyen de particules est plus élevé par temps de pluie (0.54 MP/m<sup>3</sup>) que par temps sec (0.13 MP/m<sup>3</sup>).

Deux campagnes ont été réalisées par temps sec, en basses eaux (2016) et fin de printemps (2017). Même si le nombre moyen de MP par campagne est similaire, le comportement de chaque rivière est différent sur les deux campagnes.

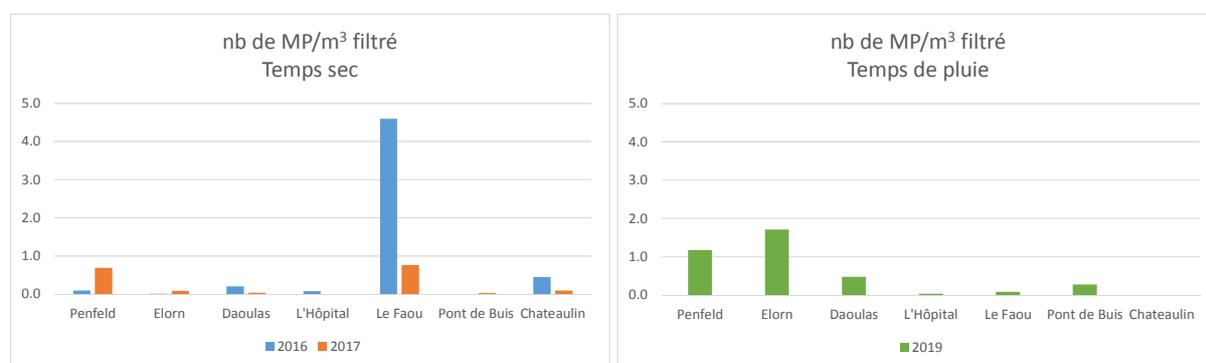


Figure 8 : Comparaison du nombre de MP/m<sup>3</sup> par temps sec et par temps de pluie

En 2016, le plus grand nombre de MP/m<sup>3</sup> a été mesuré sur la rivière du Faou, l'Aulne et ses affluents tandis que c'était sur la Penfeld et la rivière du Faou en 2017. Par temps de pluie en 2019, les rivières les plus contaminées étaient l'Elorn et la Penfeld (en gardant en mémoire que les données sur l'exutoire de l'Aulne n'étaient pas interprétables).

Sur les eaux brutes des STEP, les quantités moyennes de MP s'élèvent à 4.5 MP/m<sup>3</sup> pour la fraction <1 mm et 0.19 MP/m<sup>3</sup> pour la fraction de 1 à 5 mm. Pour les eaux traitées, les teneurs en MP sont plus élevées que dans les eaux brutes avec une moyenne de 10.2 MP/m<sup>3</sup> dans la fraction < 1 mm et 0.50 MP/m<sup>3</sup> dans la fraction 1 à 5 mm. Cette différence peut, pour partie, s'expliquer par les volumes filtrés beaucoup plus faibles pour les eaux brutes. Le polymère majoritairement retrouvé est le PE avec ensuite le PP mais en moindre mesure.

#### 3.4.2 Rade de Brest

En rade de Brest on retrouve en majorité du polyéthylène (PE 53-68%), du polypropylène (PP 16-23%), puis du polystyrène (PS 9-12%). Ces polymères sont les plastiques les plus produits et les plus retrouvés dans les océans. Les concentrations moyennes en microplastiques flottants étaient de 0,14 MP.m<sup>-3</sup> en 2016, du même ordre de grandeur que les précédentes observations réalisées en 2014 (0,15-0,35 MP.m<sup>-3</sup>) alors qu'en 2017 une concentration plus faible a été observée (0,04 MP.m<sup>-3</sup>). Ces résultats correspondent à des densités de 21 704 et 6659 MP.km<sup>-2</sup> en 2016 et 2017 qui sont considérablement plus faibles que les concentrations communément observées en mer méditerranée (cf. résultats ci-dessous). Ces faibles niveaux de contamination observés en rade de Brest sont en partie dus à

l'hydrodynamisme de la rade, qui renouvelle fortement les eaux et expulse 60% des microplastiques flottants au bout de 10 jours de cycle de marée (Frère *et al.*, 2017). Les valeurs maximales sont enregistrées à proximité de Brest et en sortie de l'Elorn. Les microplastiques constituaient 76 et 91% des débris plastiques flottants totaux collectés en rade en 2016 et 2017, respectivement. Aucune comparaison ne peut être faite avec les campagnes de 2014 car les gros débris plastiques (>5mm) n'avaient pas été comptabilisés. Si on considère l'ensemble des débris (micro et macroplastiques), les concentrations moyennes en débris plastiques augmentent de 10 et 30% soulignant l'intérêt de comptabiliser toutes les classes de taille dans le suivi de la contamination plastique en mer.

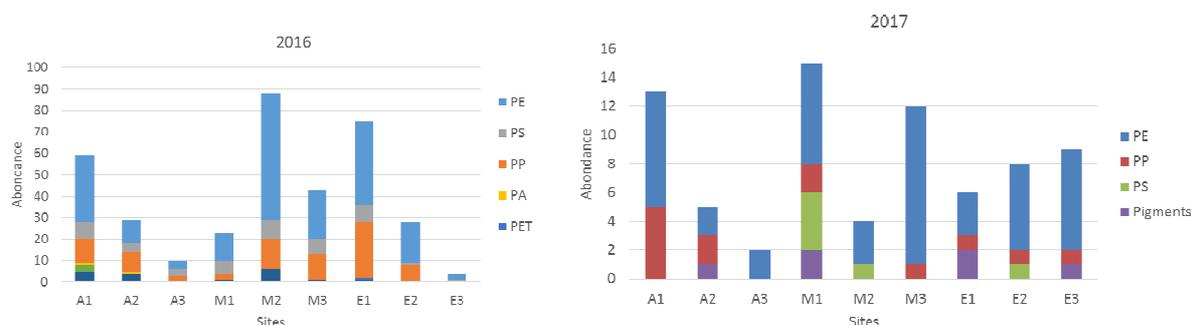


Figure 9 : Abondance et distribution des polymères identifiés dans les dans les différents sites de la rade de Brest en 2016 et 2017

### 3.4.3 Bassin versant de la rade de Marseille

Sur le bassin versant de Marseille, le nombre de MP était de 2.85 MP/m<sup>3</sup> en 2016, 1.98 MP/m<sup>3</sup> en 2017 et plus de 2 MP/m<sup>3</sup> en 2018. Tout comme sur le bassin versant de Brest, le polymère majoritaire est le PE. Par contre le PP arrive lui aussi en 2<sup>ème</sup> position mais avec une occurrence plus forte qu'à Brest. En moyenne le nombre moyen de polymères différents est de 4 pouvant aller jusqu'à 8 sur les différents points et campagnes. Les sous bassins présentant les plus fortes concentrations sont les ruisseaux des Aygaldes, de Bonneveine ainsi que l'Huveaune aval (MPM04), il s'agit donc des sous bassins les plus urbanisés.

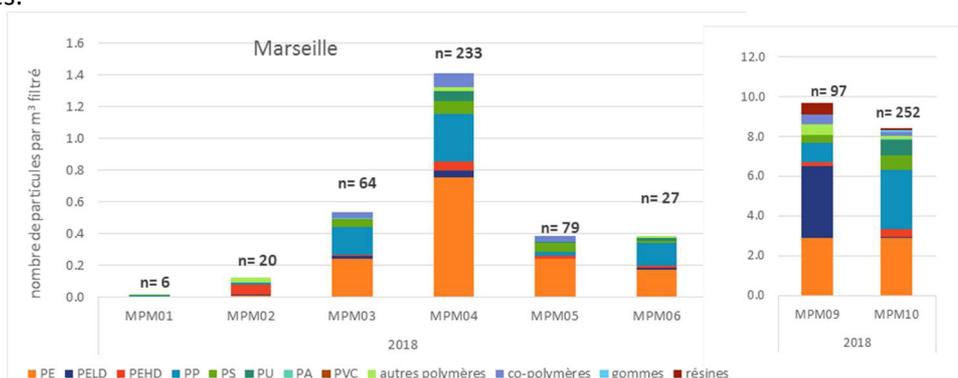


Figure 10 : Nombre de MP par type de polymère et par m<sup>3</sup> filtré, campagne de juin 2018

Sur les eaux traitées des stations d'épuration, les concentrations en MP de taille supérieure à 1 mm varient entre 0.02 MP/m<sup>3</sup> et 0.19 MP/m<sup>3</sup>. Pour ce qui est des MP de taille inférieure à 1 mm, les valeurs sont nettement plus élevées et plutôt de l'ordre de grandeur de 15 à 20 MP/m<sup>3</sup>. Le polymère prédominant est là aussi le PE avec plus de 10 PE/m<sup>3</sup>.

### 3.4.4 Rade de Marseille

Les résultats montrent que tous les échantillons ont été contaminés par les microplastiques. Le polyéthylène PE (38-45%) et le polypropylène PP (8-21%) étaient les polymères les plus couramment détectés. De nombreux pigments conférant des couleurs aux matériaux ont été identifiés seuls ou associés à des polymères. Les plus petites classes de taille (<2mm) représentent plus de 70 % des échantillons. Enfin, les fragments étaient la typologie la plus courante, représentant toujours plus de 80% de toutes les particules de MP collectées, suivis des films (entre 7 et 3%) et des polystyrènes expansés (entre 3 et 5%). La densité moyenne de l'été 2018 (514 817 nb.km<sup>2</sup>) était plus élevée que la densité moyenne du printemps 2017 (191 944 nb.km<sup>2</sup>) et la densité moyenne de l'hiver 2016 (39 217,44 nb.km<sup>2</sup>). Ceci correspond respectivement à 2.66; 0.93 et 0.38 items.m<sup>3</sup>. Les valeurs sont dans les mêmes ordres de grandeur que celles trouvées précédemment dans la baie de Marseille et dans le Golf du Lyon. Les densités de MP présentent une variabilité saisonnière avec des concentrations plus élevées en été. De plus, les plus fortes valeurs étaient observées en fond de rade de Marseille (Aygaldes et Estaque), stations proches de la côte et des zones portuaires. A l'inverse, les stations à proximités des rejets ou dans le panache du Rhône ne présentaient pas les concentrations les plus fortes, indiquant une dispersion rapide de la contamination, des apports plus faibles du bassin versant ou un taux d'abattement important par les STEP en amont.

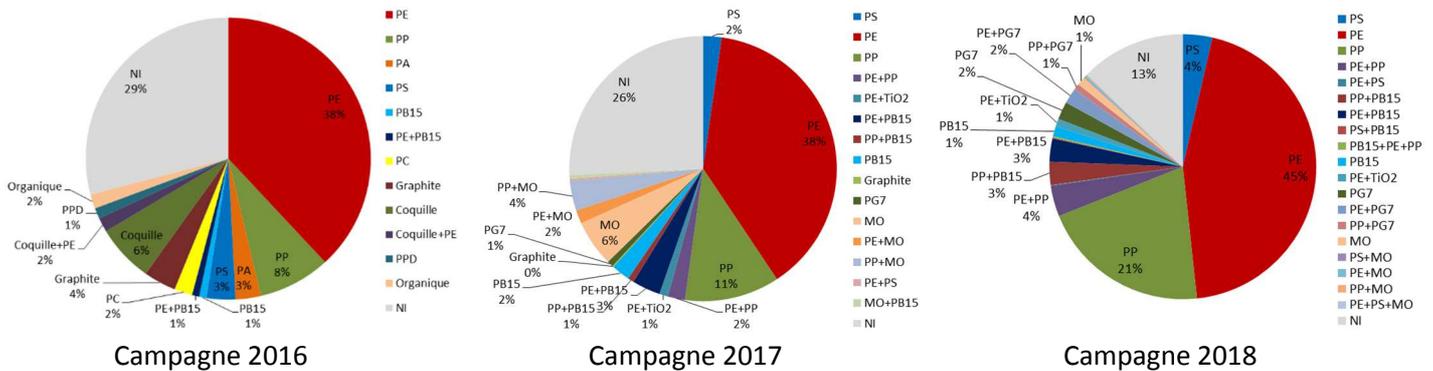


Figure 11 : Récapitulatif du type de particules dans tous les points de prélèvements

*N.B. Le PB15, LePG7 et le PR48 sont des pigments ajoutés aux plastiques.*

## 3.5 Analyses des polluants organiques associées aux microplastiques

### 3.5.1 Bassin versant de la rade de Brest

Pour l'année 2016, des MP ont été isolés de 4 points de prélèvement : MPB06 (rivière de l'Hôpital-Camfrou), MPB10, MPB11 et MPB13 sur l'Aulne de l'amont vers l'aval.

Pour 2017, les MP supérieurs à 1 mm ont pu être isolés sur le point MPB10 uniquement (Aulne, aval agglomération de Carhaix et aval immédiat rejet STEP de Carhaix).

En février 2019, les MP supérieurs à 1 mm ont été isolés sur les points MPB01 (Penfeld) et MPB02 (Elorn).

Le plus grand nombre de molécules adsorbées a été mesuré lors de la campagne de temps de pluie (2019). On retrouve donc beaucoup de HAP et des PCB sur la Penfeld et l'Elorn, ainsi que des insecticides organochlorés persistants interdits en France depuis plusieurs années.

Sur le bassin versant de Brest on retrouve 24 molécules de polluants adsorbés sur les microplastiques. Douze d'entre elles font partie de la liste des molécules prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau, qui

comprend 33 substances et 8 substances complémentaires, ce sont : l'atrazine, les hydrocarbures polycycliques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène, benzo(k)fluoranthène, indénopyrène, naphthalène), le PCB 105, la cyperméthrine, le ppDDT, l'aldrine et la dieldrine.

Le nombre d'échantillons sur lesquels on retrouve beaucoup de polluants adsorbés est faible, par contre les concentrations peuvent être, pour certaines molécules, élevées.

Pour rappel, l'atrazine est un herbicide auparavant utilisé sur la culture de maïs mais interdit depuis les années 2000. Les autres pesticides retrouvés sont du type Hexachlorocyclohexane (HCH) ou du type DDT qui sont des insecticides organochlorés persistants interdits en France. On trouve de l'aldrine, de la dieldrine et de la cyperméthrine. Les deux premiers sont des insecticides organochlorés persistants et très toxiques. Ils sont interdits d'utilisation en France. La cyperméthrine est un insecticide de la famille des pyréthriinoïdes.

### 3.5.2 Rade de Brest

Deux campagnes de prélèvement ont été réalisées par le LEMAR sur 8 à 9 points de prélèvement. Le tri, la digestion des matières organiques et l'identification ont été réalisés par le LEMAR.

On retrouve 39 molécules de polluants adsorbés sur les microplastiques. Treize d'entre elles font partie de la liste des molécules prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau, qui comprend 33 substances et 8 substances complémentaires, ce sont : le 1.2.3-trichlorobenzène, le 1.2.4-trichlorobenzène, l'hexachlorobutadiène, les hydrocarbures polycycliques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(ghi)pérylène, benzo(k)fluoranthène, indénopyrène, naphthalène), la cyperméthrine, le ppDDT et la dieldrine, PBDE100, PBDE47, PBDE99.

Le nombre d'échantillons sur lesquels on retrouve des polluants adsorbés est plus élevé que sur le BV, par contre les concentrations peuvent être, pour certaines molécules, plus élevées sur le BV.

Globalement en rade de Brest, les MP sont susceptibles de véhiculer principalement des HAP et des PCB. A noter également la présence de pesticides interdits en France car toxiques et persistants.

En plus des traits de filet Manta, pour les prélèvements de microplastiques, des prélèvements d'eau de mer ont été réalisés en 2016 et 2017. Les résultats ont montré l'absence de molécules communes entre les polluants mesurés dans les eaux et sur les MP (hormis le phénanthrène). Cela montre que les MP sont vecteurs de molécules qui ne s'accumulent pas dans les eaux et parfois témoins de pollutions anciennes. **Les MP sont donc bien des vecteurs de contamination en concentrant et véhiculant des micropolluants organiques.**

### 3.5.3 BV rade de Marseille

Les prélèvements ont été réalisés par LABOCEA, le tri et la digestion des matières organiques par le LOV et l'identification des particules supérieures à 1 mm par IFREMER Brest. En 2016, des MP ont été isolés des 8 points de prélèvement, de 7 points en 2017 (tous sauf MPM06) et de 4 points en 2018 (MPM03, MPM05, MPM09 et MPM10).

Les points présentant les MP les plus fortement contaminés par les polluants adsorbés sont MPM04 (aval Huveaune) et MPM05 (Jarret) avec principalement des HAP et des PCB. Le HAP présent en plus forte concentration est le naphthalène. On trouve également beaucoup de fluoranthène.

Dans la famille des Chlorobenzènes, on quantifie de l'hexachlorobutadiène en forte concentration comme en 2016 à plus de 3 000 ng/kg MP sur MPM04 et presque 10 000 ng/kg MP sur MPM05.

Parmi les pesticides retrouvés on note la présence de molécules interdites comme le pp'DDT.

A noter aussi la présence d'un phtalate, le DEHP en 2016 et 2017.

Si on compare les POPs trouvés sur le PET et sur le PP sur le point MPM05 en 2016, on remarque qu'ils sont plus nombreux en terme d'occurrence sur le PP mais plus élevés en terme de concentration sur le PET.

On retrouve 57 molécules de polluants adsorbés, sur les microplastiques. vingt d'entre elles font partie de la liste des molécules prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau, qui comprend 33 substances et 8 substances complémentaires, ce sont : le 1.2.3-trichlorobenzène, le 1.2.4-trichlorobenzène l'hexachlorobutadiène, l'hexachlorobenzène, le naphthalène, le fluoranthène, les hydrocarbures polycycliques (benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(ghi)pérylène, benzo(k)fluoranthène, indénopyrène), le DEHP, le ppDDT, la dieldrine, les PBDE100, PBDE47, PBDE99, le chlorpyrifos éthyl, la simazine, la cyperméthrine.

#### - STEP de Marseille

Peu de polluants adsorbés ont été mesurés sur les échantillons en sortie de la station d'épuration de Marseille (Géolide). On trouve un HAP, le naphthalène, molécule également retrouvée fréquemment sur le bassin versant et en rade de Marseille.

De la cyperméthrine a également été retrouvée, c'est un insecticide de la famille des pyréthriinoïdes. Les 2 molécules sont sur la liste des substances prioritaires de la DCE.

#### 3.5.4 Rade de Marseille

Les prélèvements en rade de Marseille réalisés par IFREMER Toulon ont été digérés et triés par le LOV et identifiés au Raman par IFREMER Brest et à l'IRTF par LABOCEA.

Le point le plus fortement pollué est la zone 5 Les Ayalades avec plus de 20 molécules différentes quantifiées. On trouve des HAP, des PCB, des PBDE et de nombreux pesticides dont des molécules interdites comme le DDT. Suivant le type de polymère, les concentrations sont différentes. Le mélange PE+EVA est celui qui présente les plus fortes concentrations.

L'Huveaune zone 3 est également un point présentant de fortes teneurs de polluants adsorbés sur les polymères de type PP et PE.

Sur le point Estaque zone 6 on trouve surtout des HAP avec une concentration maximale de naphthalène de plus de 2 300 ng/kg MP. On quantifie également de la terbutryne (706 ng/kg MP) qui est un herbicide.

Les points situés les plus au sud de la baie de Marseille sont les moins pollués.

On retrouve 32 molécules de polluants adsorbés sur les microplastiques. Treize d'entre elles font partie de la liste des molécules prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau, qui comprend 33 substances et 8 substances complémentaires, ce sont : le 1.2.3-trichlorobenzène, le 1.2.4-trichlorobenzène, les hydrocarbures polycycliques (naphthalène, fluoranthène, benzo(a)pyrène, indénopyrène), le pp' DDT, la dieldrine, les PBDE100, PBDE47, PBDE99, le chlorpyrifos éthyl, la cyperméthrine.

#### 3.5.5 Conclusion :

Récapitulatif :

##### ➤ Brest :

- Bassin versant : 24 molécules adsorbées, donc 9 sur la liste des substances prioritaires de la DCE
- Rade : 39 molécules adsorbées, donc 13 sur la liste des substances prioritaires de la DCE

##### ➤ Marseille :

- Bassin versant : 57 molécules adsorbées, donc 20 sur la liste des substances prioritaires de la DCE
- Rade : 32 molécules adsorbées, donc 13 sur la liste des substances prioritaires de la DCE

On constate un grand nombre de molécules de micropolluants organiques adsorbés sur les microplastiques, sur les bassins versants c'est à Marseille que l'on trouve le nombre le plus élevé, alors que dans les rades le nombre est équivalent.

Un grand nombre de ces molécules est dans la liste des substances prioritaires de la DCE, ce qui signifie qu'elles ont un impact avéré sur les écosystèmes, et qu'elles doivent être contrôlées.

**Le fait que les micropolluants organiques se concentrent sur les microplastiques, font que l'absorption de ces microplastiques par des organismes en milieu d'eau douce ou d'eau marine, augmente le risque d'impact sur les écosystèmes.**

**L'analyse comparative des molécules adsorbées sur les MP et dans les eaux ont montré que les MP sont des vecteurs de contamination en concentrant et véhiculant des micropolluants organiques.**

## 4 Tâche 4 : Traçage de l'origine des MP et contaminants

Responsable de tâche : P2 : LABOCEA

Participants : LEMAR/UBO/ SEDISOR, IFREMER

### 4.1 Préambule

Les additifs jouent un rôle essentiel au sein des matières plastiques, ils permettent d'apporter de la valeur ajoutée aux pièces plastiques, augmentent leur durée de vie, optimisent le process, les rendent plus souples, plus élastiques, plus résistants aux ultraviolets ou à la chaleur, etc... La masse molaire des additifs est en général faible par rapport à celle du polymère. Une grande partie de ces additifs sont des éléments traces (métaux, micropolluants organiques).

### 4.2 Mise en place des protocoles analytiques

Le premier objectif a été de développer et valider les protocoles analytiques permettant les analyses des traceurs isotopiques et des micropolluants.

#### 4.2.1 Traceurs isotopiques

La mesure des concentrations en éléments trace et en composition isotopique de carbone des microplastiques se faisant par ICP-MS, soit en phase liquide, il est nécessaire de dissoudre complètement les particules plastiques. Le protocole retenu après plusieurs phases de test est une procédure de digestion par microonde dans un mélange HCl et HNO<sub>3</sub> (acides) concentrés (eau régale). Ce protocole a été évalué avec des polymères certifiés. Les analyses ont été effectuées sur un ICP-MS quadrupôle X-Series 2 au Pôle Spectrométrie Océan (PSO) de l'IUEM à Plouzané.

En parallèle, nous avons mesuré les compositions isotopiques en carbone de ces mêmes échantillons. Les compositions isotopiques C sont rapportées sous forme de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) qui représente une déviation par rapport à un standard de référence. Les mesures ont été effectuées au PSO sur un IRMS Delta V couplé à un analyseur élémentaire Flash 2000. Entre 150  $\mu\text{g}$  et 230  $\mu\text{g}$  d'échantillon sont pesés et mis dans une capsule d'étain. Des duplicats sont réalisés sur chaque échantillon afin de vérifier l'homogénéité des analyses.

#### 4.2.2 Traceurs chimiques

Les micropolluants, utilisés dans le plastiques ou comme additifs du plastique sont extrêmement nombreux, ils ont été recherchés par 2 techniques :

- 1- la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC MSMS), qui permet de cibler avec des transitions (généralement 3) des molécules ciblées, connues et pour lesquelles il est disponible dans le commerce des étalons permettant de confirmer leur

identité. Par exemple les familles suivantes : Phtalates, Polybromodiphényléthers, Alkylphénols, Chloroalcanes, etc...

- la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, en mode scan (GC MS), qui permet d'avoir un spectre large de l'ensemble des molécules présentes dans un échantillon et ainsi rechercher les molécules dont on ne dispose pas d'étalon, mais qui seraient présentes et pouvant être identifiées par une base de données d'identification de spectres.

La difficulté des analyses est d'extraire les composés organiques d'un matériau lui-même composé de diverses molécules organiques et de ne pas avoir un échantillon trop « pollué » par ces composés, et d'extraire le maximum de molécules « additives ».

Il a été nécessaire de réaliser des tests avec différents solvants d'extraction, afin de trouver le bon compromis pour les analyses.

### 4.3 Constitution d'une base de données pour des polymères de référence

Notre second objectif a été de constituer une base de données de référence. En effet, afin de déterminer l'origine et la provenance de particules de microplastiques prélevées dans l'environnement il nous a semblé indispensable d'avoir des valeurs références de compositions isotopiques de carbone, de concentrations en éléments trace et des micropolluants additifs d'échantillons connus tels que des polymères purs ainsi que des plastiques urbains connus (bouteilles, sacs, bouchons etc).

Les résultats des mesures de compositions isotopiques de C des polymères de référence sont reportés dans la Figure 12. Les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}$  de ces polymères sont toutes négatives, les polymères issus de la pétrochimie pouvant être distingués clairement des bio-polymères issus notamment des plantes en C4 par des valeurs très négatives  $< -25\%$ .

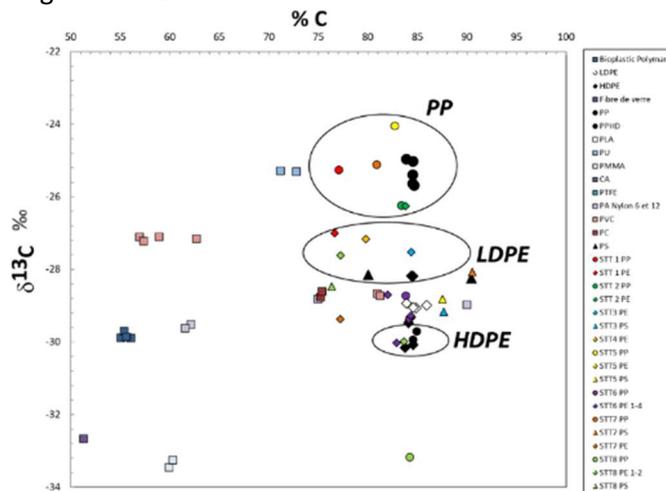


Figure 12 : Concentration en C (%) en fonction de leur composition isotopique de C.

Pour ce qui concerne les plastiques urbains, nos résultats indiquent qu'ils sont tous issus de la pétrochimie car leurs composition isotopiques sont très négatives (Figure 13). Il n'y a, en revanche, pas de tendance claire en fonction de la couleur ou de l'origine du plastique urbain.

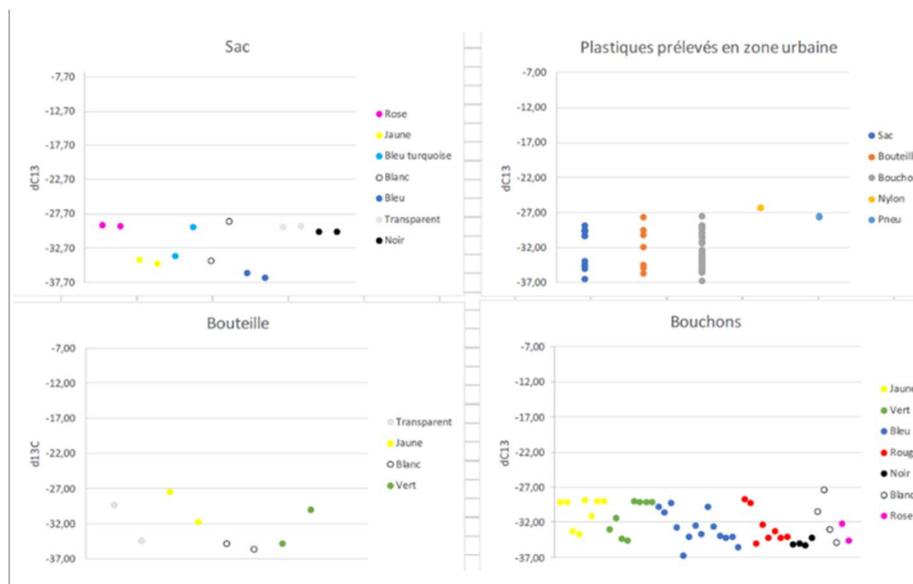


Figure 13 : Compositions isotopiques de carbone des polymères urbains

Pour ce qui concerne les éléments traces, les concentrations dans les polymères de références et dans les plastiques urbains sont faibles. Certains enrichissements en métaux notamment peuvent être reliés aux pigments utilisés pour colorer les matières plastiques.

Pour les micropolluants organiques plus de 100 molécules ont été identifiées, comme additifs et recherchées sur les mêmes matériaux.

## 4.4 Résultats pour les bassins versants et les rades de Brest et de Marseille

### 4.4.1 Traceurs isotopiques

Compte tenu de la durée limitée du projet, du temps consacré à la mise en place des protocoles et de la faible quantité de matériel disponible pour les microplastiques, nous avons choisi de nous consacrer exclusivement à l'analyse des compositions isotopiques de C pour les échantillons collectés sur nos sites d'étude. Pour rappel, les compositions isotopiques de C sont de plus en plus négatives en fonction de la densité du polymère. En effet, les polymères de plus haute densité tels que les polypropylènes ou les polyéthylènes de haute densité montrent les  $\delta^{13}\text{C}$  les plus bas. De même les polyéthylènes et les polypropylènes montrent les concentrations en C les plus élevées alors que les polymères types téflon (PTFE) ou fibres de verre montrent des concentrations en C beaucoup plus faibles (Figure 12).

Dans la Figure 12 sont aussi présentés à titre d'exemple l'analyse des compositions isotopiques de C des échantillons prélevés dans la rade de Brest où il apparaît que l'essentiel des microplastiques prélevés peuvent être identifiés comme étant des particules de polypropylène (PP) ou polyéthylène haute et basse densité (LDPE et HDPE). Tous les échantillons qui étaient disponible en fin de projet en provenance de : la rade de Brest, de son bassin versant, de la rade de Marseille et de son bassin versant ont été analysés. Du temps d'intégration de l'ensemble de ces données serait encore nécessaire afin de les exploiter à leur maximum. Cependant, nous pouvons constater une cohérence annuelle entre les prélèvements. Il existe peu de différence entre les prélèvements d'une année sur l'autre en termes de nature et de composition des MP.

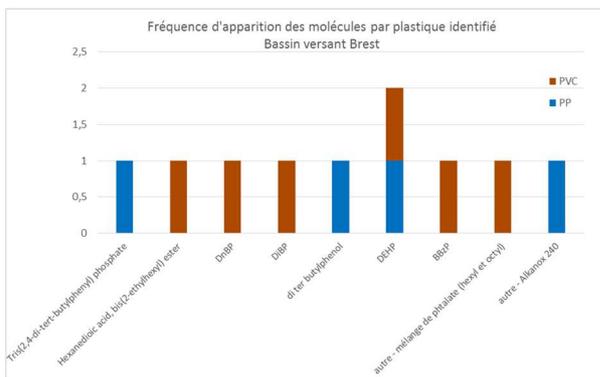
Les grandes conclusions de ce projet pour ce qui concerne la partie de la tâche 4 de SEDISOR sont :

- L'approche en concentration des éléments trace dans les échantillons naturels de MP semble compromise du fait de la petite taille des échantillons et des concentrations dans ces éléments chimiques trop faibles. Cependant, des tests seront poursuivis dans le cadre d'autres projets.
- L'approche en isotopie du carbone semble l'approche la plus prometteuse pour identifier et caractériser les MP dans l'environnement naturel. En effet les mesures de compositions isotopiques de C permettent une identification rapide des types de polymères. L'avantage de cette approche est la rapidité de préparation et d'exécution par rapport à une identification en infrarouge ou en spectroscopie Raman. De plus cette méthode utilise une quantité d'échantillon extrêmement faible (~100 µg). Le désavantage de cette approche est que la méthode est destructive.
- Une des grandes perspectives de ce projet serait de poursuivre l'effort de caractérisation des plastiques et des MP par une analyse poussée de différents bioplastiques issus de différentes filières.

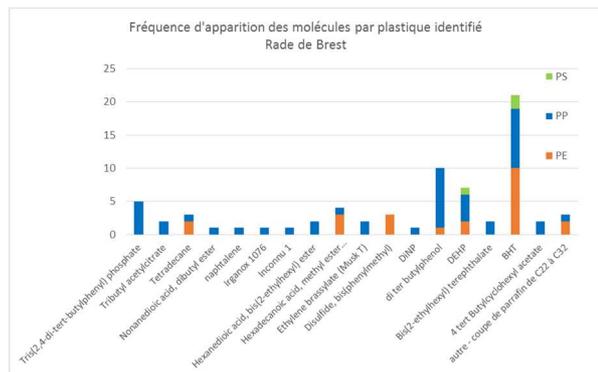
#### 4.4.2 Traceurs chimiques

Les 100 molécules ont été recherchées sur les échantillons des bassins versants et des rades de Brest et de Marseille (quand la quantité de microplastiques était suffisante).

##### 4.4.2.1 Résultats pour le bassin versant et la rade de Brest

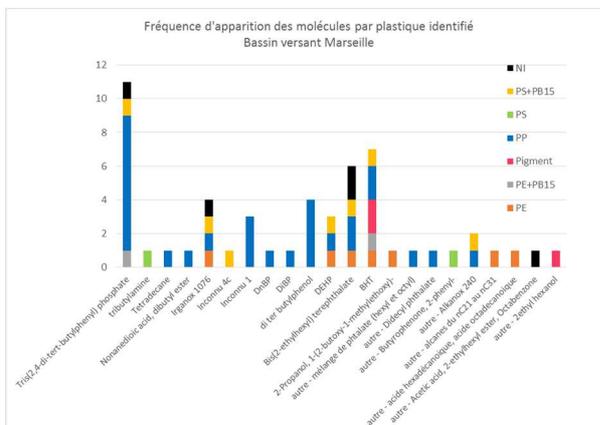


Sur le bassin versant de la rade de Brest, 9 molécules « additifs » sont retrouvées sur le PVC et le PP

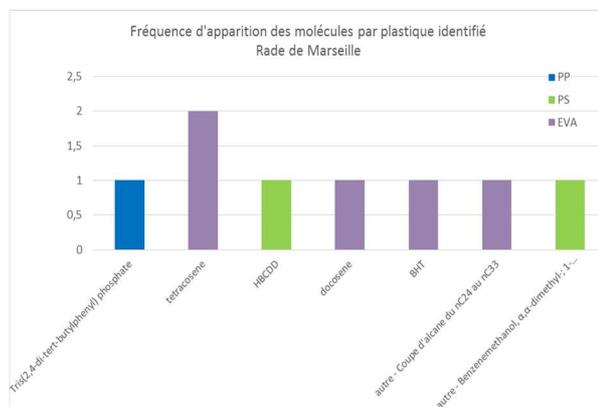


En rade de Brest, 18 molécules « additifs » sont retrouvées sur les polymères PS, PP et PE

##### 4.4.2.2 Résultats pour le bassin versant et la rade de Marseille



Sur le bassin versant de la rade de Marseille, 22 molécules « additifs » sont retrouvées sur les polymères PS, PS + PB15, PP, PE, PE + PB15



En rade de Marseille, 7 molécules « additifs » sont retrouvées sur les polymères PS, PP, et EVA

On remarque que la distribution des polymères et des additifs retrouvés n'est pas du tout comparable, il y a plus d'additifs sur les polymères en rade de Brest que sur le bassin versant, alors que pour Marseille c'est l'inverse.

#### 4.5 Conclusion :

La constitution d'une base de données sera un outil très important dans le futur pour la poursuite des travaux sur la caractérisation de l'origine des MP.

L'identification par les traceurs isotopiques et chimiques a permis de confirmer les résultats d'identification des plastiques, de mettre en évidence les différents additifs présents dans les plastiques.

Cependant comme ces analyses doivent être réalisées après les différentes étapes des analyses (présentées en Tâche 3), que les échantillons ont été transférés à LABOCEA et SEDISOR avec beaucoup de retard, et donc le travail se poursuit encore. Le but est d'arriver à une intégration plus poussée et pouvoir définir les couples « traceurs isotopiques/traceurs chimiques » pour identifier les sources des plastiques.

Nous continuerons d'enrichir la base de référence afin d'avoir le plus de sources possibles, y compris pour voir l'effet du vieillissement « naturel » (sols, milieu marin...)

## 5 Tâche 5 : Modélisation de la dispersion des MP en fonction des sources et prévision des "hot spots".

Responsable de tâche : RP : SUEZ-ACTIMAR

Participant : LABOCEA, IFREMER-LERPAC, SUEZ

Le but de la tâche 5 était de modéliser le comportement des microplastiques depuis les bassins versants jusqu'à la mer. L'objectif de cette tâche était d'une part d'identifier les sources les plus importantes de microplastiques en mer, et d'autre part de déterminer des zones d'accumulation des microplastiques en mer. Les prélèvements en mer et sur les bassins versants ont alimenté ce travail pour calibrer et valider les modélisations.

### 5.1 Modélisation bassins versant

Le but de la modélisation sur le bassin versant est de déterminer les sources de pollution des MP, de prévoir, éventuellement, les zones d'accumulation, les sous bassins les plus contributeurs et de voir l'impact d'actions concrètes sur le bassin versant. Pour ce faire LABOCEA utilise un logiciel de modélisation agro-hydrologique en open source SWAT ainsi que SWAT-Cup <https://swat.tamu.edu/>

Le principe est de construire le modèle puis de le caler et le valider. Pour ce faire nous avons eu besoin de données d'occupation du sol, de pédologie, d'hydrologie, de météorologie mais également de données sur les activités présentes sur les bassins versants pour pouvoir estimer des quantités de plastiques.

Une fois le modèle validé et calé pour les débits, nous avons travaillé sur la modélisation des apports et des sources de MP pour chaque sous bassin versant. Pour ce faire nous avons utilisé des paramètres comme le nombre d'habitants par sous bassin, les surfaces urbanisées, les surfaces agricoles et les rejets des stations d'épuration.

Sur le bassin versant de la rade de Brest nous avons disposé de deux campagnes de temps sec et d'une campagne de temps de pluie pour pouvoir créer le modèle. Les résultats présentés sur les cartes ci-après sont des premières estimations car le nombre de données est insuffisant pour valider le modèle.

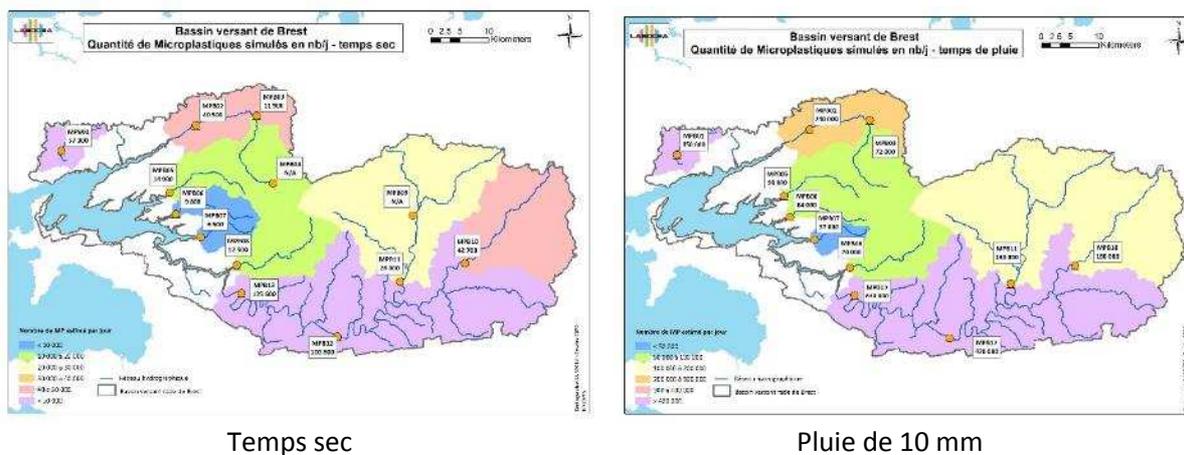


Figure 14 : Contribution à l'apport des MP, par sous bassin versant de la rade de Brest

Les bassins versant les plus contributeurs sont l'Aulne aval et la Penfeld par temps sec et temps de pluie. Vient ensuite l'Elorn aval. Les bassins versant qui apportent le moins de MP en rade sont les petits bassins versant côtiers comme les rivières du Faou et de l'Hôpital-Camfrout ou encore la Douffine.

La configuration du bassin versant de la rade de Marseille est totalement différente de celle de la rade de Brest, du moins sur sa partie aval. Les premiers postulats issus de la modélisation sur le bassin versant de Brest se sont vérifiés pour la partie amont du bassin versant qui est relativement agricole. Pour la partie aval composée majoritairement de l'agglomération de Marseille, le comportement par temps de pluie est totalement différent.

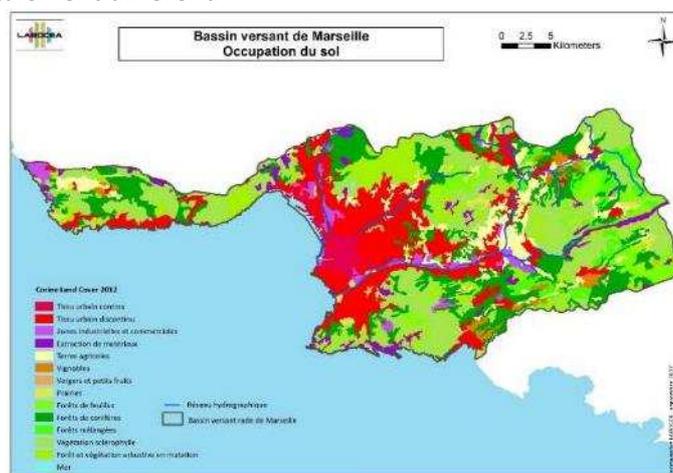


Figure 15 : Carte occupation du sol bassin versant Marseille

Une première estimation du nombre de MP apporté tous les jours par les sous bassins versants amont est présentée dans la carte ci-après :

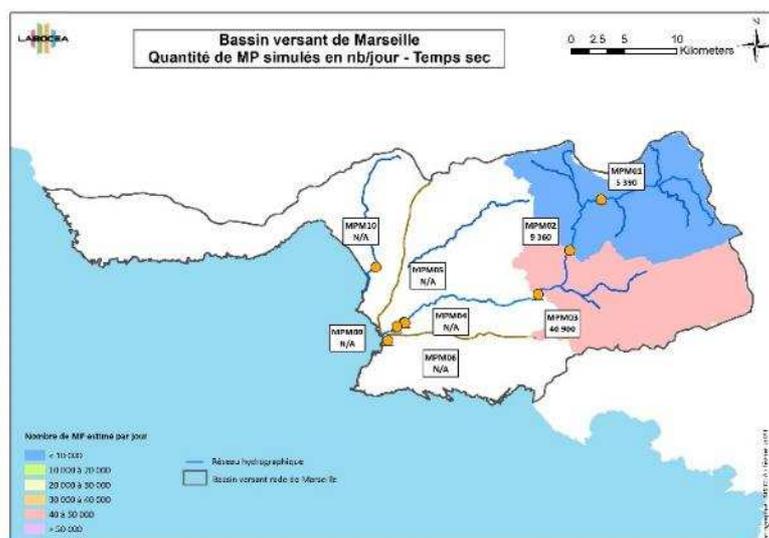


Figure 16 : Contribution à l'apport des MP, par sous bassin versant de la rade de Marseille

Sur la partie amont, les sources de MP sont relativement faibles et leur impact ne se démontre qu'à partir du point MPM03. Bien que la modélisation n'ait pas pu le mettre en évidence, les sous bassins les plus contributeurs par temps sec sont les sous bassins urbains comme le ruisseau des Aygalades ou de Bonneveine.

## 5.2 Modélisation en mer

Le schéma général de la tâche a été le suivant :

- Etape 1 : modélisation des courants, permettant une première analyse des comportements hydrodynamiques
- Etape 2 : Définition des sources et des quantités de microplastiques à injecter en mer fonction des résultats du modèle de bassin versant
- Etape 3 : Calcul de la dispersion des microplastiques en fonction des courants à l'aide d'un outil dédié

### Etape 1

Sur la rade de Marseille, l'étape 1 a consisté à recenser les modélisations courantologiques déjà réalisées et à réutiliser ces données existantes. Sur la rade de Brest, un nouveau modèle numérique tri-dimensionnel a été mis en place et validé par rapport à des mesures de courant.

Sur Marseille, le recensement n'a pas permis d'identifier un modèle avec une résolution suffisante à proximité de la côte. Le meilleur modèle à notre disposition a une résolution de 200m, ce qui est insuffisant pour représenter correctement ce qui se passe à proximité immédiate du trait de côte. La stratégie pour les étapes 2 et 3 a donc été revue en conséquence.

Sur la rade de Brest, le modèle construit a permis de déterminer les grands traits de la courantologie. Les courants sont très réguliers, totalement déterminés par la marée. Il est donc possible de décrire précisément des situations récurrentes, à la différence de Marseille où la variabilité des courants est beaucoup plus grande. Des cartes de courant (Figure 17) permettent d'identifier des zones où le courant forme des vortex circulaires, susceptibles de former des pièges pour les microplastiques. Ces zones varient en fonction de l'heure de la marée.

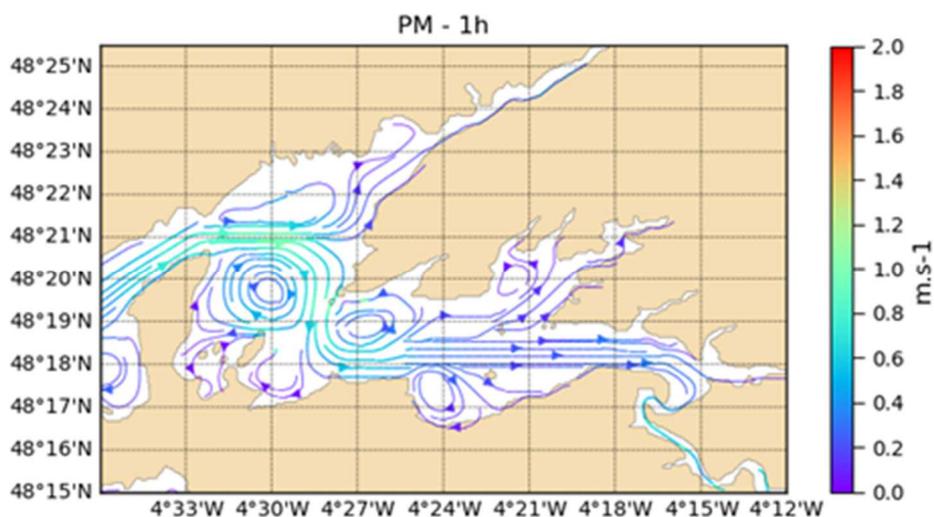


Figure 17 : Formation de vortex par le courant à marée montante en rade de Brest

Les prélèvements effectués en rade de Brest ont confirmé la réalité de ce piégeage dans l'un des vortex identifiés.

## Etape 2

L'étape 2 consiste à définir les points d'injection de microplastiques et les quantités injectées dans le milieu marin en fonction du modèle de bassin versant. Pour la rade de Brest, 7 points d'injection ont été retenus (Figure 18).

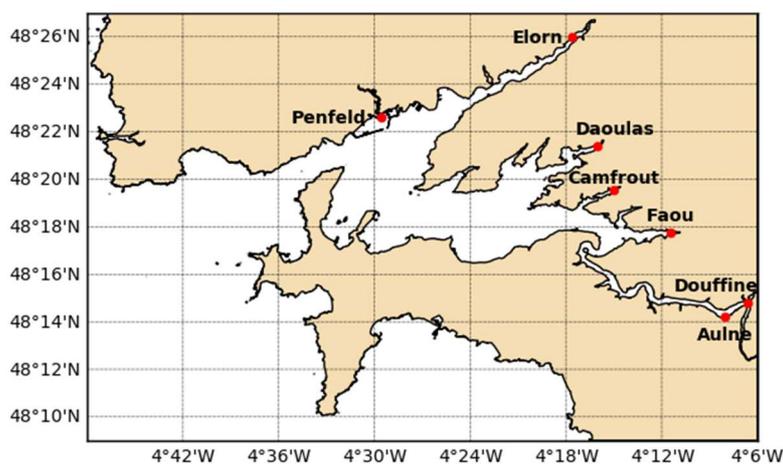


Figure 18 : Points d'injection des microplastiques dans le modèle en Rade De Brest

Ces points ont été placés au fond des estuaires pour la plupart, lorsque la résolution du modèle le permettait. A partir de ces entrées, les simulations de l'étape 3 vont indiquer le devenir des particules issues de chacune de ces sources dans la rade de Brest.

Sur la rade de Marseille, il n'a pas été possible d'injecter des particules sur des points côtiers en raison de la trop faible résolution du modèle. Nous avons alors choisi d'injecter des particules au large pour vérifier si les microplastiques détectés sur les points de prélèvement pouvaient venir du large.

## Etape 3

L'outil opendrift (<https://github.com/OpenDrift/opendrift/wiki>) a été choisi pour le calcul de dérive en mer des microplastiques. Il a été adapté aux spécificités des microplastiques, pour simuler une dérive à la surface.

Sur la rade de Brest, les résultats des calculs ont montré :

- Dans les estuaires étroits ou tortueux, le va et vient de la marée ne permet pas aux particules de s'évacuer rapidement vers la rade. C'est le cas pour l'Elorn, la rivière de Daoulas, le Camfrout, ainsi que pour l'Aulne et la Douffine. Ces estuaires semblent jouer un rôle de piège à microplastiques, qui finissent probablement par s'échouer sur les berges ou être piégées dans les vases.
- A l'inverse, l'estuaire de la rivière du Faou est beaucoup moins étroit que les estuaires précédemment cités : les particules rejetées dans la rivière du Faou arrivent en quelques jours dans le fond de la rade, et sont ensuite reprises par la circulation tidale de la rade.

La rivière la plus susceptible de transporter des microplastiques jusque dans la rade de Brest est donc la rivière du Faou

Sur la rade de Marseille, les calculs uniquement qualitatifs ont conduit aux conclusions suivantes :

- Les trajectoires de microplastiques montrent une variabilité significative, alternant (sans régularité) entre des trajectoires dirigées vers la côte et des trajectoires sortantes.
- La majorité des trajectoires calculées sont dirigées vers le large. Même si des retours vers la côte se produisent, ils sont transitoires et les microplastiques sont régulièrement évacués vers le large. Il n'existe donc probablement pas de zones d'accumulation de microplastiques.
- Le modèle n'est pas capable d'expliquer les très fortes concentrations mesurées en 2018 par des apports du large. Il pourrait alors s'agir de rejets massifs à la côte au moment des prélèvements.

## 6 Tâche 6 : Transfert et impact dans le biota et les écosystèmes

Responsable de tâche : P3 LEMAR

Participant : IFREMER, LABOCEA, LOV

### 6.1 Transfert et impact dans la vie marine et les écosystèmes

La pollution par les microplastiques (MP) est une menace émergente pour la santé humaine, animale et environnementale. Cette contamination est omniprésente dans tous les espaces marins, de la surface aux sédiments profonds, rendant les MP accessibles à un large éventail d'organismes vivants quel que soit leur habitat. Par transfert trophique, les MP se retrouvent tout le long de la chaîne alimentaire incluant les contaminants/additifs qui leur sont associés. L'impact des MP sur les organismes dépend d'une combinaison de paramètres déterminés, comme la position et le comportement de ces particules dans la colonne d'eau, les polymères et additifs qui les constituent, le type de nutrition des organismes marins qui y font face. De nombreuses espèces sont touchées (phytoplancton, zooplancton, bivalves, poissons), dont certaines consommées par l'homme, ce qui pose la question des impacts potentiels sur la santé humaine. Cette section s'intéresse au transfert des MP des micro-algues, constituant le phytoplancton, jusqu'aux poissons et aux effets associés.

### 6.2 Transfert des MP et contaminants associés dans la chaîne trophique

#### 6.2.1 Interactions des microplastiques avec le phytoplancton

De par sa présence universelle dans les milieux aquatiques, le phytoplancton peut facilement être en contact avec des microplastiques présents dans la colonne d'eau. Le phytoplancton est à la base des réseaux trophiques et peut donc contribuer, en étant consommé, au transfert de MP vers les maillons trophiques supérieurs.

L'agrégation entre microplastiques et phytoplancton est apparue dépendante de l'espèce de microalgue testée ainsi que de son état physiologique. En effet, cette hétéro-agrégation a été majoritairement observée pour les micro-algues du phylum des diatomées et surtout pendant la phase stationnaire de la culture d'algue exposée. Il est apparu que les produits de lyse cellulaire observés chez les micro-algues peuvent favoriser la formation de ces hétéro-agrégats.

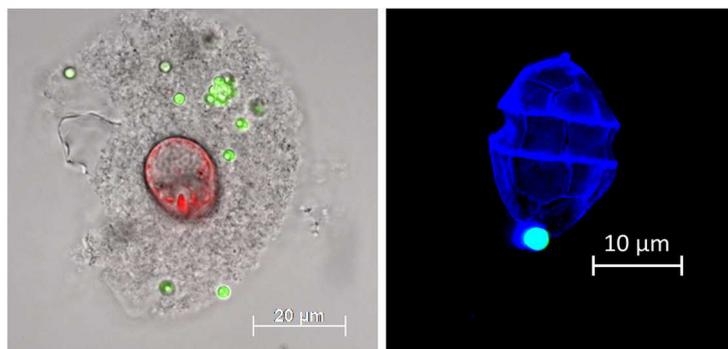


Figure 19 : Gauche: Cellule lysée d'*H. triquetra* avec MP-PS (vert) piégés dans des produits de lyse des cellules d'algues. Droite: Hétéro-agrégat *H. triquetra* / micro-PS

Les cellules de phytoplancton et la matière organique résiduelle ont donc le potentiel à interagir avec les MP, et ceci pourrait influencer la distribution et la biodisponibilité des MP dans les systèmes expérimentaux et en mer dans la colonne d'eau.

### 6.2.2 Transfert trophique des MP vers les organismes filtreurs

Le transfert trophique des MP vers les organismes filtreurs et notamment les bivalves est une problématique clé quant à l'impact de la pollution microplastique. Les moules, du genre *Mytilus* spp., sont des espèces sentinelles, de large répartition et communes dans les mers côtières tempérées du monde entier. Fixées, elles fournissent des informations spécifiques à leur localisation. Les moules se nourrissent principalement de phytoplancton par filtration et peuvent donc potentiellement de la même manière piéger des MP.

Le transfert des MP de l'environnement marin (la rade de Marseille) vers des moules a été évalué sur 2 ans en déployant des pochons de moules dans deux sites localisés à la sortie d'exutoires et un site de référence plus éloigné de sources potentielles de contamination (ville et exutoire).

Pour chaque prélèvement, un groupe de 3 à 4 moules a été traité (digestion et filtration) et analysé par observation microscopique et par spectrométrie Raman. Environ 77% des groupes analysés étaient contaminés par des MP. Trois types de MP ont été identifiés dans les moules : des particules, des fibres et des filaments ; en moyenne 1,2 MP par moule soit environ  $18.7 \pm 12.5$  MP pour 100 gr de chair en moyenne.

Le site référence, soumis à l'influence du large et sans rejet d'émissaire à proximité, a présenté les concentrations les plus élevées en MP ingérés concernant les moules positionnées au fond. Deux hypothèses peuvent expliquer ce phénomène, soit les moules ont filtré une eau chargée en particules de MP provenant du large, soit elles ont pu capter le panache des zones contaminées urbaines en fonction des vents et des courants au cours de la période d'immersion.

Cette étude portait uniquement sur les MP supérieurs à 20 µm. Il est attendu que les moules soient aussi contaminées par des microplastiques de très petites tailles considérant leur préférence de filtration (2-200 µm environ) et comme démontré par des scientifiques sur des moules prélevées sur les côtes des Pays de la Loire.

Les concentrations observées ici sont considérées comme basses par rapport à ce qui peut être rencontré dans la littérature : en Angleterre, Scott *et al.* (2019) trouve des valeurs allant de 1.4 à 7.6

MP par moule et Li *et al.* (2018) des valeurs allant de 1.1 à 6.4 MP par individu soit 0.7 à 2.9 MP/g ; et sur la côte belge, Van Cauwenberghe *et al.* (2015) trouve des valeurs allant de  $0.2 \pm 0.3$  MP/ g.

### 6.2.3 Transfert trophique de MP vers des juvéniles de poissons via le zooplancton

Le zooplancton correspond à des organismes filtreurs suspensivores particulièrement exposés aux MP dont le spectre de taille et la flottabilité sont similaires à ceux de leurs proies. Cela fait du zooplancton un vecteur possible pour le transfert trophique vers leurs consommateurs principaux, les poissons marins.

L'artémie (*Artemia salina*), une espèce de crustacés très largement utilisée en éclosion pour nourrir les larves de poissons, a été exposée à des microplastiques de PE (Micro-PE) de 10 à 45 µm pendant 24h.



Figure 20 : Visualisation des Micro-PE par microscopie en lumière visible dans les artémies et sous loupe binoculaire à fluorescence dans les larves de bar.

En 24h, la plupart des artémies exposées aux Micro-PE ont ingéré au moins un Micro-PE (Figure 20). Les larves de bar ont ensuite été nourries avec les artémies contaminées avec les Micro-PE. Ces microplastiques ont ensuite été retrouvés dans le tube digestif des larves de bar (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les Micro-PE sont néanmoins rapidement éliminés par les larves après 4 à 6h de transit. Malgré un transit rapide des Micro-PE dans le tube digestif des larves de bar, cette exposition transitoire aux MP a induit une hyperinflation de la vessie natatoire de ces jeunes stades de poissons, et pose la question de possibles problèmes de locomotion qu'il faudrait tester.

Cette étude préliminaire révèle que le transfert de microplastiques de l'environnement vers les échelons trophiques supérieurs est possible dans les écosystèmes marins via le zooplancton. D'autre part, même si le transit des microplastiques dans le système digestif des larves de poisson apparaît très rapide, ce simple transfert peut avoir un impact sur la biologie de ces larves.

## 6.3 Impacts des microplastiques, seuls ou couplés à des polluants chimiques ou biologiques, sur la faune marine.

L'ingestion de microplastiques (MP) et nanoplastiques (NP) par les organismes suscite des inquiétudes quant à leur toxicité potentielle qu'elle soit physique par la simple présence de particules dans le tube digestif d'animaux qui les ont ingérés mais aussi chimique via les constituants qui les composent (mélange dynamique de polymères et d'additifs). La toxicité de ces particules se pose également pour les molécules qu'elles sont capables de transporter à leur surface : matière organique et contaminants qui peuvent y adhérer dont des micro-organismes. Et même avant l'ingestion, le simple contact voir des interactions plus fortes et plus complexes entre MP et organismes vivants peuvent entraîner des modifications du vivant, illustré ci-dessous sur le phytoplancton puis par les micro-organismes pathogènes, bactéries ou virus.

### 6.3.1 Impact des MP sur le phytoplancton

Peu d'études ont porté sur l'impact des MP sur le phytoplancton marin, un sujet de grande préoccupation car il est à la base des chaînes alimentaires aquatiques. La cytotoxicité de deux tailles différentes (0,5  $\mu\text{m}$  et 2  $\mu\text{m}$ ) à une seule concentration (2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de MP de polystyrène a été évaluée sur la microalgue marine du genre diatomée *Chaetoceros neogracile*.

En plus des critères traditionnellement mesurés de croissance et de photosynthèse, plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques ont été suivis par la technologie de cytométrie en flux (FCM) tels que : la morphologie de la cellule d'algue, son autofluorescence, une activité enzymatique de type estérase, les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), le potentiel de la membrane cytoplasmique et sa teneur en lipides neutres. De plus, les dommages potentiels à la membrane des microalgues et l'adsorption des MP au sein même des cellules d'algues ont été recherchés en utilisant la microscopie électronique à balayage (MEB).

Une diminution, légère mais significative, du taux de croissance a été détectée dans des cultures de micro-algues exposées à des MP de 2  $\mu\text{m}$  pendant 72 h. Une diminution significative de l'activité estérase des cellules de *C. neogracile* exposées aux MP a été observée après 24 h et 48 h (Figure 21) qui est apparue complètement récupérée après 72 h. Les observations en microscopie électronique à balayage n'ont pas mis en évidence de MP attachés sur les cellules de *C. neogracile*. Un contact seulement transitoire pourrait donc être perçu comme un stress par les cellules de micro-algue et être traduit en réponses biochimiques pour y faire face. La libération potentielle de produits chimiques présents dans les MP pourrait être une autre explication de la toxicité détectée. Les monomères et/ou additifs incorporés lors de la fabrication pourraient être toxiques pour les micro-algues et interférer avec les processus biologiques, expliquant la diminution observée de l'activité métabolique générale des cellules. Possiblement en lien avec cet effet, l'exposition aux MP a entraîné une diminution significative de la teneur en lipides de réserve (Figure 21) jusqu'à être réduite de moitié dans les cellules exposées après 72 h. Cette chute de réserves lipidiques pourrait être interprétée comme une réponse de la cellule pour surmonter le stress provoqué par l'exposition aux MP et pour le maintien d'un fonctionnement normal (visible par la croissance, la photosynthèse et l'intégrité de la membrane).

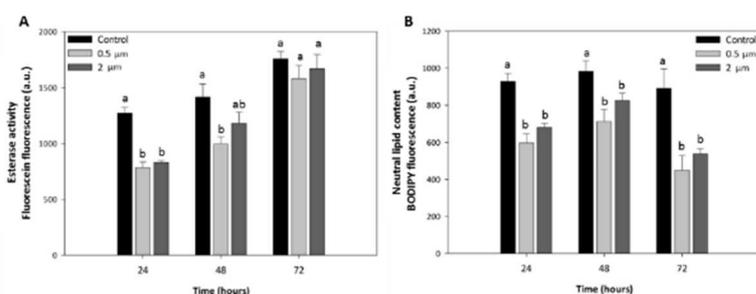


Figure 21 : Esterase activity (A) and neutral lipid content (B) of *C. neogracile* cells in control cultures and cultures exposed to 2.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of 0.5 and 2  $\mu\text{m}$  PS-NH<sub>2</sub> MP for 24, 48 and 72 h.

Cette diminution de la teneur en lipides pourrait également avoir des implications écologiques pour le fonctionnement du réseau trophique en réduisant la qualité nutritionnelle des micro-algues pour les consommateurs primaires et au-delà.

En termes d'applications, ces résultats montrent qu'avec des mesures fines, l'impact des MP sur le phytoplancton peut être détecté et qu'il n'est pas sans effet. Cela met notamment en évidence la pertinence et la sensibilité de l'activité enzymatique de type estérase pour évaluer les effets des petits débris plastiques sur le phytoplancton marin.

### 6.3.2 Impact des MP sur le zooplancton : Approche *in situ*

La fragmentation progressive des MP en milieu marin conduirait à une augmentation des petites tailles ingérables de MP. Ceci a été évalué sur le zooplancton. Le zooplancton joue un rôle crucial dans la chaîne alimentaire marine puisque c'est la nourriture des plus grands animaux filtreurs comme des

espèces de poissons, baleines, requins. Des expériences au laboratoire ont montré que beaucoup d'organismes aquatiques comme le zooplancton, les mollusques, les crustacés et les poissons peuvent ingérer des MP. Cela a pour conséquence un possible transfert dans la chaîne alimentaire jusqu'à l'Homme sans que nous connaissions vraiment les risques que cela représente pour notre santé.

Plastic manually sorted by microscope and scanned by ZOOSCAN

Scanned / Image processed to assess a large set of morphological parameters  
1st step: Virtual separation by Software zooprocess / 2nd step: manual validation

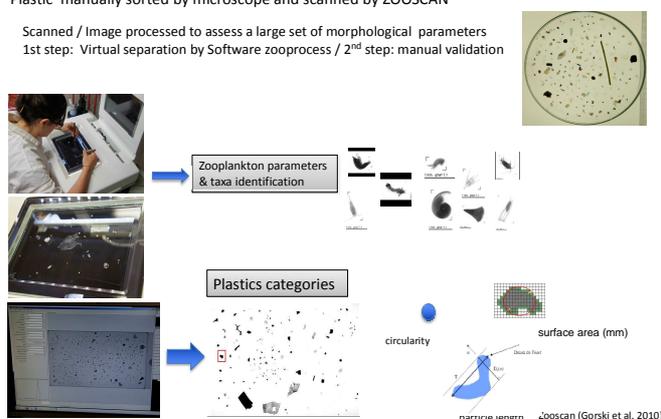


Figure 22 : Analyse des microplastiques et du plancton avec le ZooScan.

Un échantillonnage simultané des MP et du zooplancton a été mis en place en Rade de Marseille pendant 3 années consécutives. Le dénombrement, le biovolume et la surface occupée par les plastiques et le zooplancton ont été mesurés par un système d'acquisition et d'analyse d'image appelé le ZooScan. Cet instrument permet d'étudier simultanément la part qu'occupent les MP et les communautés zooplanctoniques de surface et de formuler des hypothèses sur l'interaction entre ces deux composantes de l'écosystème marin.

Les quantités de microplastiques présents dans la Rade de Marseille par rapport aux concentrations de zooplancton ont été mesurées et exprimées selon un « rapport plastique / zooplancton ». Ce rapport est en moyenne de  $0,043 \pm 0,14$  pour les 3 années de campagne ; excepté pour l'été 2018 où une hausse très importante de ce rapport à 0,7 a été observée dans la station des Aygalades.

L'analyse du plancton de surface a permis de mettre en évidence différents assemblages planctoniques en contact avec les plastiques dans la Rade de Marseille. En termes de biovolume, la faune associée aux MP est composée à 85% de zooplancton gélatineux filtreurs comme les Velelles, Doliolles, Evadne. Concernant le mésozooplancton (le plus abondant en concentration, qui vit en profondeur intermédiaire et de petite taille, 0.3-5 mm, avoisinant celle des MP), le volume occupé par les MP y est très important, jusqu'à 50% du biovolume. La faune de ces échantillons est composée de copépodes (Calanoida, chaetognates), de larves (zoe, mégalope de crabes), de petits crustacés mysidacés, et d'œufs.

Dans la station proche de l'embouchure du Rhône, le biovolume de MP représente en moyenne 30% du total de l'échantillon, et ce pour les trois années d'études. La faune associée est principalement composée d'insectes (40%) et de petits brouteurs comme les cladocères, amphipodes, isopodes et cirripèdes. Elle est très différente des autres stations de la rade, probablement en raison de l'influence du fleuve.

Dans certaines stations, la présence de MP et de certains groupes zooplanctoniques de la même gamme de taille peut entraîner une confusion pour les prédateurs de proies planctoniques. Des études ont montré que ces MP peuvent être ingérés par de nombreux taxa zooplanctoniques voire directement par leurs prédateurs ce qui contamine l'ensemble du réseau trophique océanique.

Ces données permettent de proposer de modéliser la dispersion des MP en fonction des sources géographiques ainsi que de prévoir des zones d'accumulations, afin d'évaluer leur risque pour les organismes marins et plus largement pour les activités économiques associées. Les zones les plus polluées, où le rapport plastique / zooplancton est important, devraient être considérés comme des zones à surveiller car la nourriture est un facteur déterminant pour les jeunes stades de poissons par exemple.

### 6.3.3 Effets combinés MP et pathogènes : Colonisation des MP par les pathogènes par une approche *in situ*

Les plastiques en mer constituent un nouvel habitat pour de nombreuses espèces, des micro-organismes, bactéries, virus, et micro-algues. Ces espèces vont coloniser rapidement les déchets plastiques en mer, s'y fixer voir s'y développer. Puisque les plastiques sont des matériaux persistants, ils vont transporter ces espèces sur de grandes échelles d'espace et de temps. Ces espèces peuvent alors s'installer voire devenir invasives au détriment des espèces endémiques conduisant à un bouleversement des communautés marines et donc de l'écosystème. De plus, certaines espèces identifiées à la surface des déchets plastiques en mer sont nuisibles, toxiques ou pathogènes.

Les assemblages bactériens à la surface de microplastiques collectés en rade de Brest ont été identifiés via une approche d'identification moléculaire, appelée métabarcoding. Il s'agissait d'identifier les groupes de micro-organismes associés aux microplastiques flottants en rade de Brest et d'évaluer si ces communautés pouvaient varier en fonction du lieu, de la période de collecte et des caractéristiques des MP collectés.

Ces microplastiques sont apparus être un habitat spécifique car ils ont à leur surface des communautés distinctes de l'eau de mer environnante. La nature du polymère colonisé serait importante puisque les communautés sont apparues différentes sur les MP de polystyrène en comparaison aux MP de polyéthylène et de polypropylène. De plus, une variabilité spatio-temporelle des communautés bactériennes associées aux microplastiques a été mise en évidence montrant l'importance de l'environnement ou du parcours réalisé depuis l'état de déchet pour la dynamique de colonisation des MP par les microorganismes. Un autre résultat marquant de ces travaux est l'identification de bactéries du genre *Vibrio* plus prépondérantes sur ces microplastiques collectés que dans l'eau de mer environnante. Puisque ce genre *Vibrio* contient des bactéries pathogènes notamment pour les organismes marins, ce résultat soulève la question du rôle des microplastiques dans le transfert d'organismes nuisibles ou pathogènes.

La question est maintenant de savoir si ces espèces disséminées à la surface des plastiques peuvent contribuer à transmettre des maladies. Pour cela, nous avons voulu dans un premier temps avoir une vision plus exhaustive de l'interaction entre microplastiques et micro-organismes pathogènes par une approche *in situ* par trempage de microplastiques en zone côtière aquacole et analyse des espèces colonisatrices pathogènes à la surface de ces microplastiques.

L'expérience de trempage *in situ* de granulés plastiques industriels, matière première de la plasturgie, a été réalisée en zone côtière aquacole en rade de Brest pour 3 types de polymère : polyéthylène, polypropylène et PVC.



Figure 23 : Photographie du plan expérimental à différents niveaux (flottant dans la colonne d'eau, posé sur le sédiment) et dans deux zones, une immergée, et sur la zone de balancement des marées, (représentées par les étoiles jaunes). Les granulés plastiques de trois polymères ont été placés dans des berlingots eux-mêmes disposés avec des huîtres dans des poches ostréicoles fixées sur des supports à 70 cm du sol (pour la zone de balancement des marées) ou flottant (pour la zone immergée) ou à plat sur le sédiment.

Les résultats de détection de deux agents responsables de mortalité d'huîtres en rade de Brest, *Vibrio crassostreae*, un groupe de bactéries pathogènes au sein du groupe *Vibrio splendidus*, et le virus de type herpes (OsHV-1) montrent que les trois polymères de granulés plastiques trempés en zone côtière sont colonisés par ces agents pathogènes avec la détection la plus élevée sur les granulés de polyéthylène (45%). La charge en *V. crassostreae* et d'OsHV-1 est apparue quasi-uniquement pour les courtes immersions de 7 jours ce qui suggérerait une adhérence non durable. Le caractère colonisateur secondaire de ce type de *Vibrio* a également été évalué et est décrit ci-dessous.

Les charges virales importantes, jusqu'à 60 copies/ng d'ADN extrait sur des granulés en plastique pose la question de l'état infectieux de ces détections virales à la surface de microplastique et donc d'un possible rôle des MP dans la transmission de maladie. Il est donc nécessaire de réaliser des analyses microscopiques et des tests expérimentaux (challenge infectieux) pour tester si cette détection d'ADN viral correspond à une réalité fonctionnelle potentiellement pathogénique.

Pour faire suite à l'identification d'espèces bactériennes du genre *Vibrio* à la surface de microplastiques collectés et trempés en zone côtière, des travaux en laboratoire ont été initiés sur les interactions entre MP et bactérie *Vibrio*. La mise en contact de microbilles de polystyrène et de bactérie *Vibrio crassostreae* (notée J2-9 GFP car modifiée en laboratoire pour devenir fluorescente avec la protéine verte GFP) a été réalisée en conditions strictes de laboratoire et a été suivie de quelques heures à plusieurs jours grâce à des outils de microscopie.

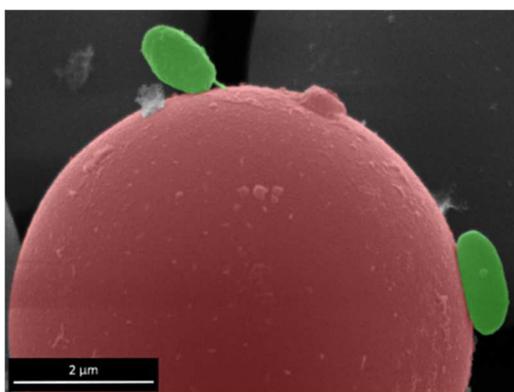


Figure 24 : Microscopie confocale à balayage laser de la colonisation de *Vibrio crassostreae* J2-9 GFP (vert) sur les microparticules de polystyrène fluorescentes (rouge) en eau de mer artificielle (Foulon *et al.*, 2016).

Des mouvements rapides de la bactérie J2-9 GFP d'une particule à une autre ont été observés par microscopie confocale à balayage laser (CLSM) suggérant une mobilité active et une capacité de dispersion rapide, qui sont essentielles pour la fixation des bactéries aux microparticules. Après 1 h 30 d'interaction, des cellules bactériennes ont été observées adhérentes sur des micro-PS. Les observations en microscopie électronique à balayage (MEB) ont confirmé l'attachement du *Vibrio crassostreae* J2-9 GFP aux micro-PS de 6 µm via des structures spécifiques telles que les pili, petites structures visibles sur la Figure 24 connus pour être essentielles pour l'adhérence, la colonisation et la pathogénicité des bactéries.

Dans toutes les conditions testées, la dynamique de colonisation est apparue en deux phases : d'abord, le pourcentage de MP colonisés a augmenté à un maximum compris entre 30 min et 7 h de contact, puis une phase de décolonisation s'est produite avec une diminution du nombre de particules colonisées pour arriver proche de zéro après 24 h de contact, suggérant le caractère colonisateur secondaire de ce type de *Vibrio* (également discuté ci-dessus). Pour obtenir une colonisation durable par *V. crassostreae*, il a fallu la formation de biofilm sur les micro-PS. En effet, la présence d'agrégats naturels autour des particules incubées dans l'eau de mer naturelle semble avoir favorisée la colonisation pérenne des micro-PS par *V. crassostreae*. Cette colonisation a été durablement observée après 96 h de contact. Par conséquent, *V. crassostreae* serait davantage un colonisateur secondaire, nécessitant d'autres communautés microbiennes (premiers colonisateurs) pour fournir des sources alternatives de carbone permettant de coloniser durablement la surface des microbilles de polystyrène testées ici.

D'autres expériences utilisant d'autres souches de *Vibrio* et d'autres polymères plastiques (par exemple, le polyéthylène et le polypropylène) doivent être menées et notamment des particules,

fragments de plastiques non lisses et sphériques car il est attendu que les anfractuosités de surfaces peuvent favoriser les colonisations. De plus, il faudra inclure l'étude fonctionnelle des bactéries et/ou virus pour tester leur pathogénicité en relation avec les caractéristiques d'adhérence et de colonisation des micro-organismes sur des supports microplastiques.

#### 6.3.4 Effets combinés MP et HAP sur les bivalves : approche expérimentale

Les microplastiques peuvent interagir avec les polluants hydrophobes présents dans l'eau de mer, ce qui peut entraîner des effets toxiques plus importants lorsqu'ils sont ingérés par des organismes marins. En effet, l'ingestion de MP par les organismes peut engendrer à la fois des effets physiques par leur simple présence dans le tube digestif des organismes qui les ont ingérés mais aussi des effets chimiques par libération durant le transit digestif de constituants chimiques qui les composent (additifs, plastifiants) ou de polluants organiques persistants adsorbés à leur surface.

Les effets des MP de polystyrène (Micro-PS en mélange de 2 et 6  $\mu\text{m}$  à une concentration finale de 32  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) sur la bioaccumulation, la dépuración et la toxicité du composé chimique fluoranthène, constituant de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à la dose finale de 30  $\mu\text{g L}^{-1}$ , ont été étudiés chez les moules marines *Mytilus* spp après 7 jours d'exposition puis après 7 jours de dépuración (sans plus aucune contamination, ni de micro-PS ni de fluoranthène).

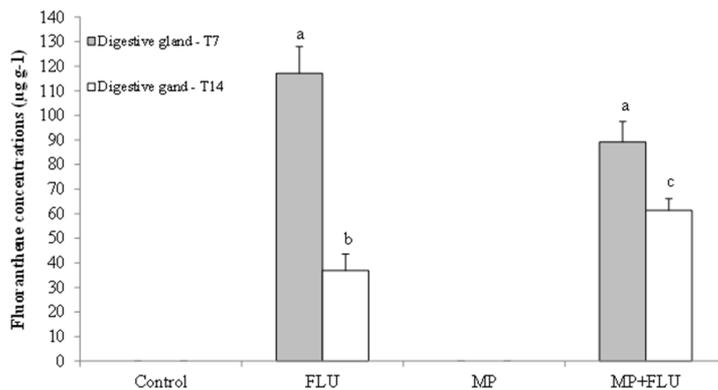


Figure 25 : Concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , w.w.) de fluoranthène dans la glande digestive des moules après les phases d'exposition (T7, gris) et de dépuración (T14, blanc). MP: microbilles de polystyrène; FLU: fluoranthène. Les résultats sont exprimés en concentration moyenne  $\pm$  erreur standard (SE) (n = 9).

Après 7 jours d'exposition, les moules exposées au fluoranthène (FLU) seul ou MP + FLU présentaient des concentrations similaires de FLU dans les tissus. Puis, après 7 jours de dépuración, la concentration de FLU était significativement plus faible chez les moules exposées au FLU seul que chez les moules exposées au MP + FLU (Figure 25).

Les MP ont été détectés exclusivement à l'intérieur du tube digestif et de l'intestin des moules exposées aux micro-PS. Aucun MP n'a été détecté dans un autre tissu. Après 7 jours de dépuración, quelques microplastiques étaient encore observés dans l'intestin des moules exposées aux MP et MP + FLU.

Des altérations cellulaires et moléculaires ont été observées dans toutes les moules exposées au micro-PS, exposées de façon concomitante ou non au fluoranthène. Les MP seuls ont entraîné une augmentation de la mortalité des cellules circulantes appelées hémocytes, et déclenché une augmentation du stress avec la production des radicaux libres (ROS). Les lésions aux cellules et aux tissus les plus élevées ont été observées chez les moules exposées au MP avec du fluoranthène, de même que pour les niveaux les plus élevés de défense anti-oxydante pour se protéger des radicaux libres.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que, dans le contexte de notre étude, les microbilles de polystyrène ont entraîné des effets toxiques directs aux niveaux des tissus et des cellules et de leur fonctionnement qui aurait modifié la vitesse et la quantité de fluoranthène accumulé dans les tissus de la moule. Des recherches supplémentaires sont maintenant nécessaires pour comparer ces résultats expérimentaux avec des études environnementales.

### 6.3.5 Effets combinés MP et additifs (Irgafos) sur les poissons : approche expérimentale

La plupart des additifs plastiques ne sont pas chimiquement mais physiquement liés à la matrice polymérique et peuvent donc être relargués (lixiviés) dans le milieu environnant. En plus des sources habituelles de ces additifs plastiques dans l'environnement marin, comme les eaux usées ou domestiques, les dépôts atmosphériques et le ruissellement, la présence de débris plastiques peut être une source supplémentaire d'additifs plastiques. Du fait de la contamination de l'environnement par les MP et de leur ingestion par les espèces marines, le devenir des additifs plastiques une fois les MP ingérés est une question importante à se poser.

C'est pourquoi nous avons évalué la toxicité de l'irgafos 168® (tris(2,4-di-tert-butylphényl)phosphite), additif plastique incorporé notamment dans le polypropylène et le polyéthylène, chez les jeunes larves de poisson, ici le bar. Aucun effet n'a pu être mis en évidence suite à l'ingestion de MP chargés ou non en Irgafos sur les paramètres physiologiques étudiés du bar. Néanmoins, cette absence d'effet doit être mise en perspective avec le fait que l'Irgafos était présent à des niveaux similaires dans les poissons quel que soit le traitement y compris dans les témoins non exposés. Cette découverte fortuite nous a amené à rechercher et quantifier cet additif plastique irgafos 168® dans nos environnements de travail expérimental en laboratoire. Cela révèle que l'Irgafos était présent à des concentrations non négligeables dans tous les produits chimiques et leurs contenants utilisés en laboratoire ainsi que l'eau. Il est essentiel dans le futur d'évaluer le niveau « naturel » de ce contaminant dans divers prélèvements (eaux, sédiments et organismes marins) avant de conduire de nouvelles expérimentations écotoxicologiques sur cet additif et également d'évaluer sa présence dans les aliments classiques aquacoles. Ce conseil pourrait être élargi à nombres d'études s'intéressant aux additifs plastifiants.

### 6.3.6 Translocation : passage des particules de plastiques à travers les membranes biologiques

Une fois ingérés, les micro et nanoplastiques (NP) peuvent soit obstruer le système digestif, soit simplement y transiter et c'est la voie primordiale que nous avons observée dans nos expériences en laboratoire chez la moule et les larves de bar, soit, pour les plus petites particules à savoir les nanoplastiques, passer au travers des membranes digestives et migrer dans le système circulatoire voir dans d'autres organes, phénomène appelé translocation.

Cependant, les mécanismes impliqués dans la translocation, et en particulier d'un franchissement potentiel de la barrière intestinale par des particules plastiques est toujours sujet à controverse. Pour la première fois, la translocation des NP dans l'intestin du bar européen, *Dicentrarchus labrax* a été évaluée par une approche in vitro, basée sur un outil innovant pour ce type de questionnement : les chambres d'Ussing. En combinaison avec des mesures de fluorescence, des mesures par microscopie électronique du site séreux de l'intestin, des nanoparticules de polystyrène mises d'un seul côté de la chambre ont été identifiées de l'autre côté montrant le passage des nanoplastiques à travers la barrière intestinale. Les plus grosses particules, petits microplastiques de quelques microns, ne passent pas. Ces résultats suggèrent un passage de nanoplastiques à travers la membrane intestinale, quel que soit le segment intestinal considéré. Cette étude serait la première à valider la translocation du NP à travers la membrane intestinale posant la question sur le devenir de ces nanoparticules dans l'organisme une fois passée la barrière intestinale.

## 7 Tâche 7 : Pilote traitement

Responsable de tâche : RP SUEZ

Participants : LOV, SISPIA, EVOSENS

L'objectif de cette tâche a consisté à définir des moyens de traitement efficaces face à la pollution aux microplastiques. La tâche s'est focalisée sur les flux transitant par les stations de traitement des eaux résiduaires urbaines (STEU). Elle se décline en différents éléments. Il a fallu dans un premier temps déterminer des protocoles analytiques dédiés à cette matrice d'eau puis identifier et tester une technologie de traitement à proprement parler. Un outil d'aide à la décision pour accompagner les exploitants des systèmes de traitement dans l'optimisation des performances a également été élaboré. Enfin, un capteur en ligne, permettant l'évaluation en continu des flux de microplastiques en sortie de la station, a été développé. Les sections suivantes présentent donc les méthodologies et résultats de chacune de ces sous-tâches.

### 7.1 Technologie de traitement des microplastiques

Dans le cadre du projet national FUI MICROPLASTIC2, nous avons suivi quatre phases, chacune liée à un objectif. Premièrement, il a fallu définir des méthodologies d'échantillonnage et de quantification fiables. Deuxièmement, une phase d'orientation technologique via des campagnes de terrain sur les stations d'épuration a permis une évaluation des performances d'une large gamme de procédés. Ce travail a abouti à un choix éclairé sur la technologie à tester à l'échelle pilote. Ainsi, une campagne de mesures a été réalisée sur un pilote de traitement primaire. Enfin les boues de STEU, concentrant les microplastiques, ont également été étudiées.

#### 7.1.1 Définition des protocoles

Afin d'être capable de quantifier ces particules plastiques sur des matrices telles que les eaux usées, un premier travail de définition méthodologique a été nécessaire. Tout d'abord, concernant l'échantillonnage, des recommandations matérielles ont été formulées. Tout matériel ou objet en plastique doit être prohibé. Les matériaux à privilégier sont le verre (en priorité), le Nalgene et le Téflon. Les échantillonneurs automatiques doivent donc être équipés de matériel adapté (tubes en Téflon, seau et flacons en verre...) pour garantir la fiabilité de l'échantillonnage. En outre, les MP étant omniprésents, il est impossible d'éviter totalement la contamination. Afin de la prendre en considération, une stratégie de constitution et évaluation de blancs d'échantillonnage a donc été appliquée. Il s'agit de reproduire avec de l'eau potable le même processus d'échantillonnage que les échantillons d'eaux usées pour évaluer la contamination due à l'échantillonnage lui-même.

Ensuite, concernant la partie analytique, la quantification a consisté à prétraiter les échantillons pour solubiliser les matières particulaires, à les filtrer (après dilution si nécessaire) sur un filtre en matériau non plastique puis à dénombrer manuellement tous les MP déposés sur chaque filtre. Après différents essais pour déterminer la nature du prétraitement oxydatif, son impact sur l'intégrité des MP, le volume à filtrer et la stabilité de la moyenne, le protocole suivant a été adopté :

- Hydrolyse à la soude à 0,2M à 60°C pendant 24h
- Filtration en triplicat sur filtre en fibre de verre 2 µm GFP (millipore)
  - Eau usée brute 40 ml diluée au 1/5 dans 160 ml d'eau millipore (200 ml total)
  - Eau usée traitée 250 ml (idem pour une eau de surface)
- Observation visuelle à la loupe binoculaire
- Dénombrement des microparticules

Ce protocole permet une quantification des microparticules (MPR) de taille supérieure à 10µm. Toutes les microparticules sans distinction de forme (fibres, fragments, billes, etc...) ou de matériau (plastique, cellulose...) sont comptabilisées. Sa fiabilité a été démontrée, notamment au travers d'essais Interlaboratoires en collaboration avec la Global Water Research Coalition (GWRC).

## 7.1.2 Orientation technologique

### 7.1.2.1 Les technologies membranaires

Une première campagne de prélèvements a eu lieu afin, en premier lieu, de tester et valider les protocoles précédemment décrits et, en second lieu, d'auditer une technologie dont les performances épuratoires sont parmi les plus élevées en assainissement, les bioréacteurs à membranes (BRM). La campagne a duré trois jours. La station d'épuration sélectionnée équivaut à une population de 60 000 EH. L'eau brute est d'abord prétraitée, elle est ensuite tamisée à 0,75 mm puis deux bassins assurent l'élimination biologique du carbone et de l'azote solubles. Enfin, la liqueur mixte entre dans le procédé d'ultrafiltration, est filtrée avec un seuil de coupure de 0,034 µm, avant d'être rejetée dans le milieu récepteur. Des échantillons d'eau tamisée (sortie tamis 0,75mm, considérée comme l'entrée dans l'étude) et d'eau sortie de station ont été collectés.

Les rendements d'élimination indiquent des abattements très élevés, compris entre 94 et 97%. Les résultats témoignent d'une concentration moyenne en entrée de 355 MPR/L ( $\pm 140$ ) contre 14 MPR/L ( $\pm 6$ ) en sortie. En dépit de ces très bons abattements, il est étonnant de constater des concentrations aussi élevées en aval de l'ultrafiltration. La comparaison de ces concentrations avec celles des blancs de prélèvements montre qu'il n'y a aucune différence statistique entre ces deux types d'échantillons. Cela implique que les rendements d'élimination calculés pourraient en réalité être supérieurs, mais qu'ils ne peuvent pas être mesurés en raison de la contamination. En d'autres termes, il n'est pas possible de mesurer un abattement de 100% mais il existe un abattement maximal mesurable.

Par ailleurs, une étude en laboratoire sur des micropilotes de filtration a permis d'étudier le possible relargage de microplastiques par la membrane d'ultrafiltration elle-même. Cette hypothèse a été écartée, les résultats sur les matériaux organiques, métalliques et céramiques étant semblables.

Ainsi, l'étude a démontré le fort intérêt des technologies membranaires pour l'élimination des microplastiques. Il a semblé ensuite très opportun d'élargir les données avec un éventail de technologies plus varié.

### 7.1.2.2 Les campagnes de terrains

Il a été décidé de lancer trois campagnes de prélèvements sur le terrain. Pour chaque campagne, plusieurs étapes de la filière de traitement sont étudiées, du prétraitement au traitement tertiaire en passant par les traitements primaires et biologiques. Le choix des sites a été fait de façon à agréger une grande diversité de procédés sur ces trois campagnes. Ces trois stations ont des capacités comprises entre 30 000 et 500 000 EH. Pour chaque campagne, des échantillons ponctuels, des moyens 24h et des blancs ont été prélevés. Au total, ce sont 89 échantillons collectés dont 53 d'eaux usées et 36 de blancs de contamination.

En termes de résultats, la Figure 26 récapitule les filières, les concentrations en MPR/L ainsi que les rendements obtenus tout au long de la filière. Des concentrations de 180 à 1 800 MPR/L ont été mesurées dans les eaux brutes contre 5 à 50 MPR/L dans les eaux traitées. En dépit de cette variabilité en entrée de station, des abattements globaux de 89 à 98% ont été obtenus. De plus, aucune différence en concentration de MPR n'a pu être statistiquement démontrée entre les blancs et les eaux traitées (t-tests, p-value>0,2). L'abattement maximal mesurable a donc été obtenu pour l'ensemble des trois campagnes.

En outre, l'étude des procédés unitaires a démontré le fort intérêt des traitements primaires qui permettent un abattement de 80% et 79% de la charge en MPR sur les STEU 1 et 2, respectivement. La clarification finale et la biofiltration, respectivement, permettent de compléter ces abattements jusqu'au maximum mesurable (97 et 93%). La STEU 3, dépourvue de traitement primaire, témoigne d'abattements moindres en sortie des clarificateurs (89%). Il faut ici noter que cette filière est la plus fréquemment rencontrée dans le parc français. Cependant, la filtration tertiaire dont la STEU 3 dispose a totalement compensé ce manque de traitement primaire et des rendements épuratoires de 97% ont été obtenus.

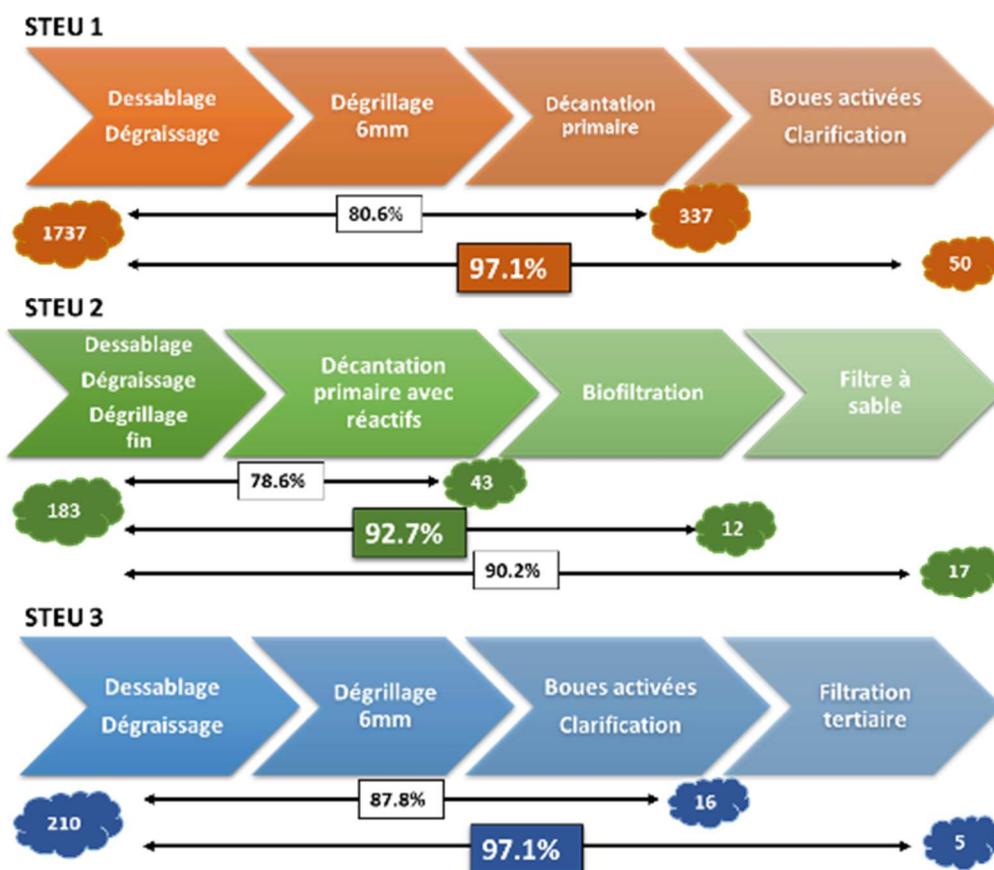


Figure 26 : Récapitulatif des abattements en microplastiques obtenus lors des trois campagnes de prélèvements. (Nuage : concentration en MPR/L, rectangle : abattement en %)

Ainsi, dans l'ensemble, les résultats témoignent de rendements épuratoires de 89 à 98% sur les files eau. Par ailleurs, la présence de traitement primaire ou tertiaire apparaît comme essentielle pour obtenir les abattements maximaux mesurables. Cela sous-entend qu'il existe une marge de progrès sur les stations dépourvues de tels procédés et qu'un déploiement de ces technologies permettrait de mieux lutter contre cette pollution microplastique.

### 7.1.3 Pilote de traitement

Suite à ces conclusions, un pilote de traitement primaire a été exploité pour approfondir l'intérêt démontré. La solution retenue, le PrimeGreen™ (filtre Salsnes®), présente l'intérêt d'une plus grande compacité par rapport aux décanteurs circulaires classiques et peut venir s'ajouter plus aisément à des filières existantes dépourvues de traitement primaire. Le système PrimeGreen™ permet une filtration primaire en continu à l'aide d'une toile mobile filtrante (Figure 276). La toile filtrante est en

polyéthylène et la taille des pores est de 350µm. Le pilote est directement alimenté avec de l'eau usée prétraitée.

Les résultats présentés ici, entrée et sortie de pilote, sont focalisés sur 24h, avec cinq tranches horaires d'une heure. Une concentration moyenne en entrée de 698 MPR/L ( $\pm 101$ ) a été mesurée, contre 236 MPR/L ( $\pm 57$ ) en sortie. Les abattements sont compris entre 59 et 75% (Figure 27). En moyenne, ce sont donc les deux tiers des MPR qui sont retenus grâce cette technologie.

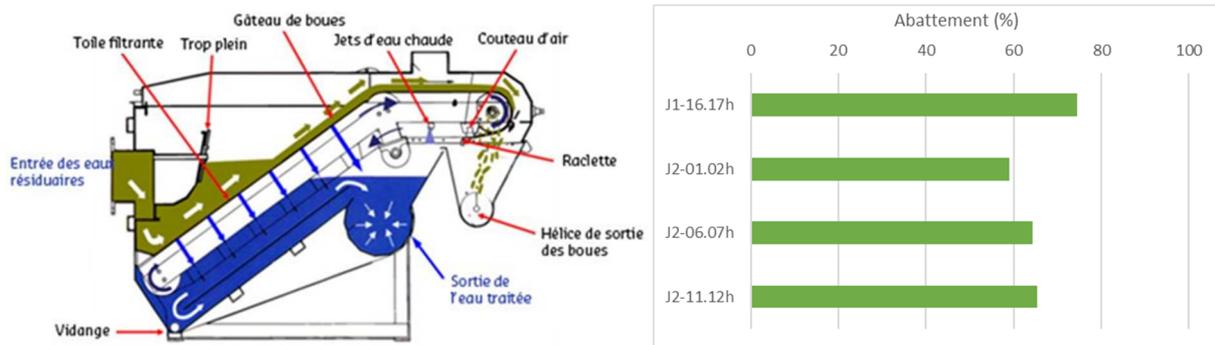


Figure 27 : Schéma détaillé sur PrimeGreen™ Salsnes et abattements obtenus.

Ainsi il apparaît grâce à ce procédé PrimeGreen™ qu'une rétention moyenne de 66% des MPR pourrait être obtenue avec une compacité plus avantageuse. Mais si la file eau a bien été caractérisée, il a semblé judicieux d'investiguer la partie solide (boues), susceptible de concentrer tous les microplastiques dont la file eau s'est affranchie.

#### 7.1.4 Les boues d'épuration

Par conséquent, afin de mieux répondre aux interrogations majeures liées au traitement des microplastiques, il a été décidé d'investiguer la matrice boue. Trois campagnes sur site ont été mises en œuvre. Les résultats présentés dans cette synthèse ne concernent qu'une seule campagne, celle effectuée sur la STEU 1 (cf section « Campagnes de terrain »).

Les travaux ont permis de mesurer des concentrations de l'ordre de 5 millions de MPR par kilogramme de matière sèche (MS) dans les différents échantillons de boues, confirmant que les boues sont l'exutoire quasi-exclusif des microparticules hors de la station. Les résultats montrent une forte accumulation dans les boues primaires ( $5,9 \times 10^6$  MPR/kgMS), notamment par rapport aux boues biologiques ( $3,9 \times 10^6$  MPR/kgMS). En nombre, ce sont 9,5 milliards de MPR qui arrivent chaque jour sur la station d'épuration. Via le rejet de l'eau traitée, 1.5% de ce flux quitte la station, soit 140 millions de MPR. Le reste est donc évacué via les boues, soit plus de 9,3 milliards de MPR. Les bilans matière approximativement à environ 0.2 à 0.5% la contribution de MPR dans le poids de boues évacuées (en MS).

Pour conclure cette section dédiée aux traitements, les travaux réalisés dans le cadre du projet MICROPLASTIC2 ont permis de générer des connaissances nouvelles, concrètes et appliquées pour mieux appréhender cette pollution émergente et son comportement en station d'épuration. Les travaux décrits dans cette section peuvent s'enrichir d'une approche de modélisation et d'une métrologie dédiée. Le traitement des microplastiques dans les STEU pourrait en effet être optimisé par le biais d'outils de détection et d'aide à l'exploitation tels que présentés dans les sections qui suivent.

## 7.2 Conception, le développement, les tests et la validation d'un outil d'aide à la décision

Les objectifs de SISPIA dans le projet MICROPLASTIC2 ont visé la conception, le développement, les tests et la validation d'un outil d'aide à la décision (OPTISIS-MP) capable de paramétrer les CAPEX/OPEX d'une nouvelle installation de traitement des MP en fonction des performances qui lui sont imposées dans un environnement donné. Pour pouvoir paramétrer d'une manière générique tout processus de traitement des MP, l'outil OPTISIS-MP a été conçu sur la base des méthodologies avancées de type Data Science, Data Design, Data Mining, Data Driven Decision Making et des technologies d'Intelligence Artificielle (IA) de type Machine Learning et Deep Learning. Concernant les technologies d'IA implémentées, l'outil OPTISIS-MP permet à l'utilisateur de statuer à la fois sur les familles d'apprentissage (supervisé, non supervisé, renforcement d'apprentissage) et sur les métriques de performance associées (précision, confiance, taux de faux positifs, taux de faux négatifs...).

Les actions prévues et réalisées par SISPIA lors du projet MICROPLASTIC2 ont été :

- Analyse de l'existant (données existantes, données bibliographiques)
- Elaboration d'une grille exhaustive contenant les paramètres d'entrée, de réglage, d'environnement et de sortie d'un processus de traitement des MP
- Construction des plans d'expérience orthogonaux réduits pour croquer la significativité des expérimentations tout en réduisant le nombre d'essais
- Conception d'une matrice générique d'analyse permettant de structurer et d'analyser les données expérimentales liées aux stations de traitement des MP
- Ajustement de la matrice d'analyse à partir de la grille des paramètres pré-identifiés dans la phase précédente et en la déclinant spécifiquement au pilote et à ses variables d'actions.
- Analyses de cette matrice pour qualifier, quantifier les relations de type « causes-à-effet » caractérisant les procédés de traitement des MP
- Modélisation de ces relations directes et inverses permettant d'optimiser les indicateurs CAPEX/OPEX/Performance.

En parallèle avec les actions énumérées ci-dessus, SISPIA a réalisé les travaux suivants :

- Définitions fonctionnelles de l'outil d'aide à la décision OPTISIS-MP et de ses modules
- Elaboration des spécifications techniques de l'outil et de ses composantes logicielles
- Conception de l'architecture de l'outil d'aide à la décision et de ses sous-systèmes
- Développement algorithmique des sous-systèmes de l'outil (Optimisation des essais, Analyse et traitement des données, Génération d'alertes, Prédiction en « mode direct », Prédiction en « mode inverse » et Optimisation sous contraintes)
- Interfaçages entre les modules de l'outil
- Développement de l'interface utilisateur
- Paramétrage de l'outil sur des données du processus de traitement des MP fournies par SUEZ
- Entraînement de l'outil sur un jeu de données déjà existant mais limitatif du processus complet de traitement des MP
- Entraînement de l'outil sur des jeux de données externes élargies
- Tests et validation de l'outil sur des données expérimentales

A titre d'exemple, la grille paramétrique générée par l'outil OPTISIS-MP pour l'une des filières de traitement des MP est présentée dans la Figure 28.

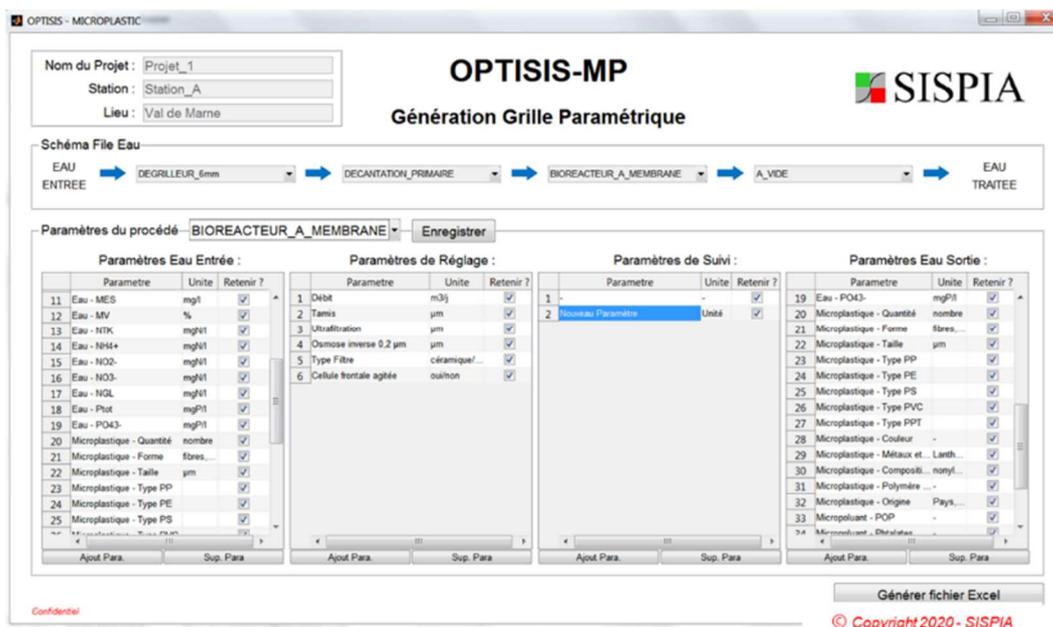


Figure 28 : Grille paramétrique générique de l’outil OPTISIS-MP

Les résultats obtenus sont basés sur une méthodologie globale de traitement des données et des connaissances métier et des algorithmes innovants de l’Intelligence Artificielle dédiés à l’aide à la décision pour l’optimisation des processus de traitement des MP.

Tout naturellement, l’outil d’aide à la décision OPTISIS-MP développé par SISPIA dans le cadre du projet MICROPLASTIC2 est destiné principalement au marketing prévisionnel pour l’optimisation d’une nouvelle filière de traitement des MP et il permet également l’optimisation du fonctionnement d’une usine de traitement des MP déjà existante et en exploitation. Cet outil permet à SISPIA de valoriser ses acquis méthodologiques, algorithmiques et techniques obtenus lors du projet MICROPLASTIC2 vers d’autres secteurs d’activité dans le domaine de l’environnement (traitement d’eau potable, dessalement, traitement de déchet...) voire vers d’autres domaines d’activités (pharmaceutique, chimie, industrie).

## 7.3 Capteur : détection des microplastiques sur prélèvement d’eau de surface

### 7.3.1 Contexte

L’objectif de cette tâche est le développement d’un capteur pour détecter des microparticules de plastiques à partir d’échantillons préalablement traités. Les principaux microplastiques présents dans les rades et BV d’intérêt et dans les STEP sont le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP) et le polystyrène (PS), qui ont une bonne réflectance dans le proche infrarouge (PIR). L’enjeu est de développer un produit à bas coût par rapport à des solutions actuelles d’imagerie onéreuse.

### 7.3.2 Développement d’un capteur monopixel pour la détection des MP

Dans un premier temps, une recherche des spectres de réflexion a été réalisée afin de connaître les bandes spectrales spécifiques dans le PIR. Nous avons déterminé des filtres interférentiels permettant de ne garder que l’absorbance maximale d’un seul plastique à la fois.

Au cours du projet, nous avons réalisé plusieurs prototypes de capteurs mono-pixel basés sur une méthode originale utilisant l'échantillonnage compressif (*compressive sensing* ou CS). Cette technique permet de reconstruire une image à partir du flux collecté sur un seul détecteur en projetant une illumination structurée et séquentiée dans le temps sur l'échantillon observé.

Le prototype PIR final est composé de trois parties essentielles : la source, permettant d'avoir un éclairage uniforme sur une matrice de micro-miroirs appelée DMD ; la projection, qui, avec le DMD, applique une modulation spatiale spécifique sur un échantillon et la détection, qui récolte le flux lumineux de réflectance de l'échantillon de plastique pour chaque matrice de modulation appliquée. La Figure 29 montre les conceptions optique et mécanique réalisées pour les trois parties (a) et une photographie du prototype sur table optique au laboratoire (b).

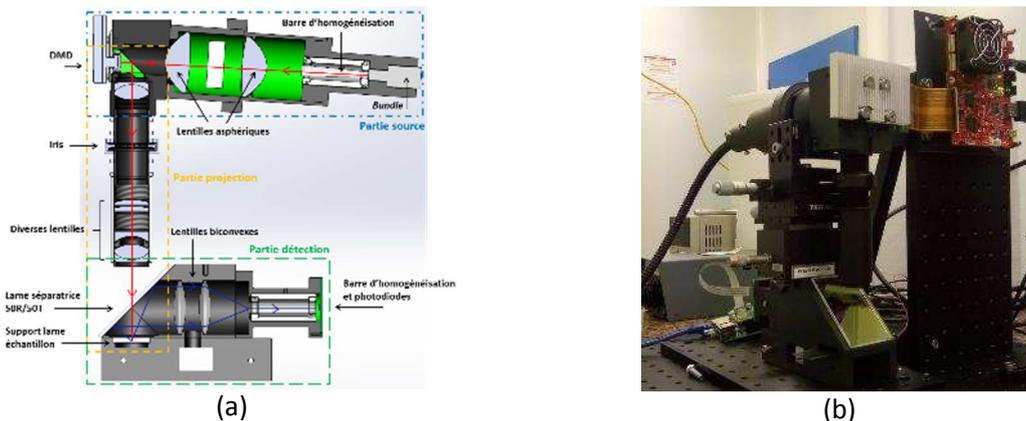


Figure 29 : Schéma de la modélisation numérique des pièces mécaniques assemblées (a) et photographie du prototype adapté au proche infrarouge (b).

### 7.3.3 Résultats expérimentaux obtenus

Les figures qui suivent donnent les résultats obtenus sur du PE et du PP synthétique de taille 2 mm avec le même algorithme de reconstruction d'image utilisant la technique du CS.

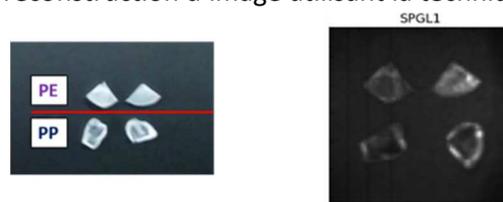


Figure 30. Résultats de reconstruction pour du polyéthylène et du polypropylène sur fond noir.

Des échantillons réels provenant des prélèvements de LABOCEA ont également été observés par le système comme le montre la Figure 31. Cela atteste une bonne reconstruction des images.

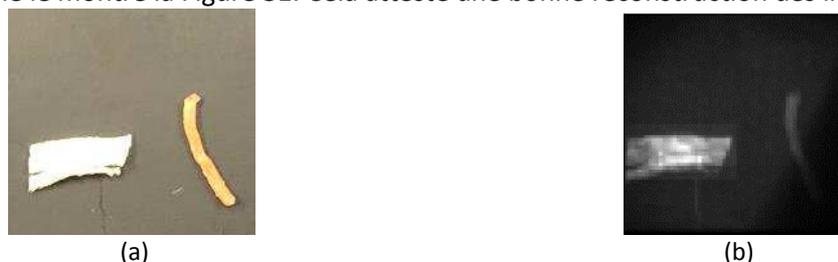


Figure 31. Image réelle (a) et résultat de la reconstruction (b) de fibres de PS ST1 2016 (gauche) et PE ST4 2017 (droite) issus d'échantillons de LABOCEA.

### 7.3.4 Conclusion et perspectives

A l'aide de ces résultats, EVOSENS montre la faisabilité d'un capteur bas coût pour la détection de microplastiques, basée sur la technologie de l'échantillonnage compressif. Le choix de sources, de bandes spectrales pour la détermination des plastiques a pu être réalisé.

EVOSENS a conçu et réalisé un système pour le proche IR. Ce travail a pu être fait après une phase de simulation optique pour choisir les éléments optiques adéquats pour cette bande spectrale au-dessus du visible. La conception mécanique a permis au système d'être plus robuste que le prototype de laboratoire pour le rendre transportable. Le prototype est transportable en laboratoire, son intégration sera durcie pour le rendre transportable sur site. Le système a permis d'obtenir des reconstructions intéressantes de microplastiques (échantillons secs) recueillis lors des campagnes de 2016 et 2017.

Plusieurs voies d'amélioration du prototype sont envisagées :

- intégrer un filtre accordable au niveau de la détection pour reconstruire les spectres en réflexion des microplastiques et ainsi pouvoir différencier les différents types de plastiques,
- incrémenter le DMD vers un modèle plus rapide et utiliser une électronique ultra rapide de traitement des données afin de réduire les temps d'acquisition,
- adapter l'instrument à une mesure en ligne, in situ.

## 8 Tâche 8 : Mitigation, aide à la gestion

Tous les partenaires

### 8.1 Communication auprès des instances

**Communication auprès des instances** : 4, dont une intervention sur la problématique des microplastiques dans les océans lors de la 17ème réunion des présidents d'assemblée du G7 à Brest le 6 septembre 2019, par Ika Paul Pont.

### 8.2 Communication auprès du grand public

**Communication à destination du grand public** dans le cadre d'ateliers, de rencontres scientifiques, d'interventions dans les écoles, collèges et lycée.

Les partenaires sont intervenus lors de manifestations scientifiques : fêtes de la science, Journées mondiales de l'eau, Nuits européenne des chercheurs....





Le projet a fait l'objet d'articles de presse.

## 8.3 Communications scientifiques

### 8.3.1 Publications

Les développements du projet ont permis de réaliser des publications scientifiques (7) et d'autres sont en cours (9).

- Foulon, V., Le Roux, F., Lambert, C., Huvet, A., Soudant, P., Paul-Pont, I. (2016) Colonisation of polystyrene microparticles by *Vibrio crassostreae*: light and electron microscopic investigation. *Environmental Science & Technology* 50, 10988-10996.
- Long M, Paul-Pont I, Hégaret H, Moriceau B, Lambert C, Huvet A, Soudant P (2017) Interactions between polystyrene microplastics and marine phytoplankton lead to species-specific hetero-aggregation. *Environmental Pollution* 228, 454-463.
- Frère L, Paul-Pont I, Rinnert E, Jaffré J, Petton S, Bihannic I, Soudant P, Lambert C, Huvet A (2017) Influence of environmental and anthropogenic factors on the composition, concentration and spatial distribution of microplastics: a case study of the Bay of Brest (Brittany, France). *Environmental Pollution* 225, 211-222.
- Frère, L., Maignien, L., Chalopin, M., Huvet, A., Rinnert, E., Morrison, H., Kerninon, S., Cassone, A.L., Lambert, C., Reveillaud, J., Paul-Pont, I. (2018). Microplastic bacterial communities in the Bay of Brest: Influence of polymer type and size. *Environmental Pollution*, 242, 614-625.
- Paul-Pont, I., Tallec, K., Gonzalez Fernandez, C., Lambert, C., Vincent, D., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J.L., Brotons, G., Lagarde, F., Fabioux, C., Soudant, P., Huvet, A. (2018). Constraints and priorities for conducting experimental exposures of marine organisms to microplastics. *Frontiers in Marine Science*, 5, 252.
- Seoane, M., González-Fernández, C., Soudant, P., Huvet, A., Esperanza, M., Cid, Á., Paul-Pont, I. (2019) Polystyrene microbeads modulate the energy metabolism of the marine diatom *Chaetoceros neogracile*. *Environmental Pollution*, 251, 363-371.
- González-Fernández, C., Toullec, J., Lambert, C., Le, N. G., Seoane, M., Moriceau, B., Huvet, A., Berchel, M., Vincent, D., Courcot, L., Soudant, P., Paul-Pont, I. (2019). Do transparent exopolymeric particles (TEP) affect the toxicity of nanoplastics on *Chaetoceros neogracile*?. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 250, 873-882

Disponibles sur demande

### 8.3.2 Communications orales

14 communications orales et 6 posters scientifiques ont été présentés à des colloques nationaux et internationaux.

3 autres devraient être présentées en 2020.

### 8.3.3 Autres

#### Rapport de Congés recherche et/ou conversion thématique

- Vincent D. (2017) Transfert des microplastiques dans la chaîne trophique marine : application au zooplancton (*A. salina*) et aux larves de poisson (*D. labrax*). Développements méthodologiques et résultats préliminaires.

#### Faits illustrant les implications dans la formation par la recherche au cours du projet :

- Actions de formation par la recherche avec les étudiants de master 1 et 2 SML (UBO) mention biologie : travaux pratiques d'écophysiologie en lien avec les projets de recherche du laboratoire.
- Mise en place d'une unité d'enseignement dédié à l'écotoxicologie en master 1 Sciences de la mer et du littoral (UBO). Ce module envisage à tous les niveaux l'impact des pollutions accidentelles et chroniques sur les écosystèmes marins, dont les microplastiques et nanoplastiques.

### 8.3.4 Accueil de stagiaires

8 stagiaires ont été accueillis

## 9 Liste des participants au projet

### SUEZ Environnement :

Guillem GRAU, Jérôme ALBERTINI, **Mathieu DELAHAYE**, Pascal DAUTHUILLE, Bruno BARILLON, Thibaut SAUR, Alix GOSSET, Arnaud ROSTAN, Jean-François LORET, Jean-Michel GRENAINGAIRE.....

**Actimar** : Philippe Craneguy, Marc Pavéc, Christelle Herry, Alain Coat

### LABOCEA :

**Coordination, prélèvements, modélisation, interprétation des résultats** : **Gaël DURAND**, Valérie YEUC'H, Amélie CABON, Amandine SENANT, Emmanuelle GUILLERM, Michele DA SILVA PINTO, Estelle VILLAFAYOT, Ana-Maria HAPETTE-PRIGENT, Nolwenn BEAUMONT.

**Analyses** : Jacques DUSSAUZE, Sophie GOULITQUER, Florent LE GLEAU, Aurélie EVEN, Solenne MAISONNAT, Nathalie BURGER, Gwladys NIZOU, Nicolas CADOUR, Tangy FOUREL, Gaëlle RIOU, Kinan HAIDAR, Etienne FITAMANT, Aude LE GRAND, Nolwenn BEAUMONT, Florent JESTIN, Zhazira YESBERGENOVA-CUNY.

### CNRS :

**Philippe SOUDANT**, Ika PAULPONT, Christophe LAMBERT, Nelly LE GOIC, Anne Laure CASSONNE (CDD CNRS), Carmen GONZALEZ-FERNANDEZ (postdoc CNRS)

### IFREMER :

Ifremer LER-PAC: Olivia GERIGNY (responsable scientifique du projet pour l'Ifremer, prélèvements, bancarisation, analyses, interprétation des résultats, rapportage, recherche) ; François GALGANI (montage du projet FUI), David JESTIN (gestionnaire administratif et financier du projet pour l'Ifremer).

Equipe technique : Maryvonne HENRI (prélèvements, analyses et bancarisation), Danielle LOUEDOC (bancarisation), Benoist DE VOGUË, Christophe RAVEL (prélèvements).

Ifremer LOPS-OC : Ivane PAIRAUD (modélisation)

Ifremer VIGIES : Mélanie BRUN (script)

Ifreme- PFOM : Arnaud HUVET, David Mazurais, Christine Dubreuil, José Zambonino, Virgile Quillien, Charlotte Corporeau, Arianna Servili  
Ifremer-LDCM : Florence Mazéas, Maria EL RAKWE

## **UBO :**

Pierre Sansjofre

## **LOV :**

Maria Luiza PEDROTTI, Stéphanie PETIT, Marie Emmanuelle KERROS, Juliette MAURI

## **EVOSENS :**

Frédéric BERIER, François FRENEAT, Justin ROUXEL, Nicolas FRAVAL

## **SISPIA :**

Ion BERECHET, Stefan BERECHET

## **SEDISOR :**

Sidonie REVILLON, Alice PELOTE

## 10 Liste des Figures

Figure 1 : Filet d'échantillonnage en rivière (maille 330 $\mu\text{m}$ ) .....	3
Figure 2 : Points de prélèvements sur les bassins versants des rades de Brest et Marseille.....	3
Figure 3 : Stations d'échantillonnage en rade de Brest.....	4
Figure 4 : Filet Manta (à gauche), filet double neuston (milieu gauche), nettoyage du filet et récupération de l'échantillon sur un tamis en inox de maille 300 $\mu\text{m}$ (à droite).....	5
Figure 5 : Localisation des sites de prélèvements des échantillons de microplastiques dans la rade de Marseille pour les campagnes 2016, 2017 et 2018.....	6
Figure 6 : Prélèvements d'eau de surface en rade de Brest .....	7
Figure 7 : Schéma synthétisant les différentes étapes réalisées pour l'extraction des microplastiques dans des échantillons d'eau de surface. ....	7
Figure 8 : Comparaison du nombre de MP/ $\text{m}^3$ par temps sec et par temps de pluie .....	9
Figure 9 : Abondance et distribution des polymères identifiés dans les différents sites de la rade de Brest en 2016 et 2017 .....	10
Figure 10 : Nombre de MP par type de polymère et par $\text{m}^3$ filtré, campagne de juin 2018 .....	10
Figure 11 : Récapitulatif du type de particules dans tous les points de prélèvements .....	11
Figure 12 : Concentration en C (%) en fonction de leur composition isotopique de C.....	15
Figure 13 : Compositions isotopiques de carbone des polymères urbains.....	16
Figure 14 : Contribution à l'apport des MP, par sous bassin versant de la rade de Brest .....	19
Figure 15 : Carte occupation du sol bassin versant Marseille.....	19
Figure 16 : Contribution à l'apport des MP, par sous bassin versant de la rade de Marseille.....	20
Figure 17 : Formation de vortex par le courant à marée montante en rade de Brest.....	21
Figure 18 : Points d'injection des microplastiques dans le modèle en Rade De Brest.....	21
Figure 19 : Gauche: Cellule lysée d'H. triquetra avec MP-PS (vert) piégés dans des produits de lyse des cellules d'algues. Droite: Hétéro-agrégat H. triquetra / micro-PS .....	23
Figure 20 : Visualisation des Micro-PE par microscopie en lumière visible dans les artémies et sous loupe binoculaire à fluorescence dans les larves de bar.....	24

Figure 21 : Esterase activity (A) and neutral lipid content (B) of <i>C. neogracile</i> cells in control cultures and cultures exposed to 2.5 µg mL <sup>-1</sup> of 0.5 and 2 µm PS-NH <sub>2</sub> MP for 24, 48 and 72 h.....	25
Figure 22 : Analyse des microplastiques et du plancton avec le ZooScan. ....	26
Figure 23 : Photographie du plan expérimental à différents niveaux (flottant dans la colonne d'eau, posé sur le sédiment) et dans deux zones, une immergée, et sur la zone de balancement des marées, (représentées par les étoiles jaunes). Les granulés plastiques de trois polymères ont été placés dans des berlingots eux-mêmes disposés avec des huîtres dans des poches ostréicoles fixées sur des supports à 70 cm du sol (pour la zone de balancement des marées) ou flottant (pour la zone immergée) ou à plat sur le sédiment.....	27
Figure 24 : Microscopie confocale à balayage laser de la colonisation de <i>Vibrio crassostreae</i> J2-9 GFP (vert) sur les microparticules de polystyrène fluorescentes (rouge) en eau de mer artificielle (Foulon <i>et al.</i> , 2016).....	28
Figure 25 : Concentrations (µg g <sup>-1</sup> , w.w.) de fluoranthène dans la glande digestive des moules après les phases d'exposition (T7, gris) et de dépuraction (T14, blanc). MP: microbilles de polystyrène; FLU: fluoranthène. Les résultats sont exprimés en concentration moyenne ± erreur standard (SE) (n = 9). .....	29
Figure 26 : Récapitulatif des abattements en microparticules obtenus lors des trois campagnes de prélèvements. (Nuage : concentration en MPR/L, rectangle : abattement en %).....	33
Figure 27 : Schéma détaillé sur PrimeGreen™ Salsnes et abattements obtenus. ....	34
Figure 28 : Grille paramétrique générique de l'outil OPTISIS-MP .....	36
Figure 29 : Schéma de la modélisation numérique des pièces mécaniques assemblées (a) et photographie du prototype adapté au proche infrarouge (b). ....	37
Figure 30. Résultats de reconstruction pour du polyéthylène et du polypropylène sur fond noir. ....	37
Figure 31. Image réelle (a) et résultat de la reconstruction (b) de fibres de PS ST1 2016 (gauche) et PE ST4 2017 (droite) issus d'échantillons de LABOCEA.....	37

Version du 17/04/2020.