

IMPACT DES MOLÉCULES EXTRAITES DE GÉOMEMBRANES SUR L'ACTIVITÉ DES MICRO-ORGANISMES EN MILIEUX AQUEUX

IMPACT OF POLYETHYLENE AND POLYPROPYLENE GEOMEMBRANES IN SENSITIVE AQUATIC ENVIRONMENT

Marielle GUEGUEN MINERBE ¹, Claude DURRIEU ², Angéline GUENNE ³, Lénaïck ROUILLAC ³, Dinarzed DIAFI ¹, Issam NOUR ¹, Laurent MAZEAS ³, Nathalie TOUZE ³, Fabienne FARCAS ¹

¹ Ifsttar, Marne La Vallée, France

² ENTPE, Lyon, France

³ Irstea, Antony, France

RÉSUMÉ – Certains additifs ajoutés aux GMB (Géomembranes) utilisées pour l'étanchéité des ouvrages hydrauliques sont extraits vers le milieu environnant (eau et sol). Afin d'évaluer l'impact écotoxicologique de ces composés chimiques sur le milieu, des GMB en polypropylène (PP) et polyéthylène haute densité (PEHD) sont immergées dans des solutions aqueuses à pH 4,3 et 6,7, et à 80, 55 et 25°C. À différentes échéances, les effets des solutions d'extraction sur le comportement des micro-organismes sont évalués. Les tests d'écotoxicité montrent que les molécules extraites les 11 premiers jours nuisent à la croissance des micro-algues et au comportement des micro-crustacés, alors qu'une exposition prolongée stimule la croissance des micro-algues. Ces résultats sont reliés à un changement de la nature chimique des molécules extraites observé par spectrométrie UV.

Mots-clés : Géomembranes, Ouvrages hydrauliques, Additifs, Daphnies, Écotoxicité.

ABSTRACT – Some additives contained in GMs used for hydraulic applications are extracted to water or soil. To evaluate the ecotoxicological impacts of these chemical compounds on the environment, polypropylene (PP) and high density polyethylene (HPDE) GMs are immersed in aqueous solutions (pH 4 and 7) at 80, 55 and 25°C. At various times intervals, effects of the extracted solutions on microorganisms are evaluated. Ecotoxicological tests highlight negative effects of the first 11 days extracted molecules on microalgae growth and microcrustacean behavior. However, after prolonged exposure, microalgae growth is stimulated. These results may be related to the change of the chemical nature of the molecules detected by UV spectroscopy.

Keywords: Geomembrane, Hydraulic works, Additives, Ecotoxicity.

1. Introduction

Il existe en France des milliers de petits barrages en terre, construits pour la plupart dans les zones rurales. Depuis le début des années 1990, les agriculteurs des régions de plaine - dans l'ouest de la France notamment – font de plus en plus souvent édifier des bassins de stockage d'eau d'irrigation à étanchéité mince, assurée par une géomembrane. Les polymères utilisés dans la fabrication des géomembranes (GMB) pour ces applications sont multiples : polyéthylène (PE), polypropylène (PP), polychlorure de vinyle (PVC), éthylène propylène terpolymère (EPDM) et bitume (Touze-Foltz, 2010). Un certain nombre d'additifs (composés chimiques) sont ajoutés pour assurer la durabilité des matériaux polymères. Au cours du temps, ces additifs subissent des phénomènes d'extraction, dû à des mécanismes de lixiviation et de diffusion, car leur concentration dans la géomembrane est supérieure à la concentration dans le milieu environnant, générant une migration des additifs vers le milieu environnant. C'est le cas des plastifiants pour les géomembranes en PVC (Blanco et al., 2012), des antioxydants pour les géotextiles en polypropylène (PP) (Farcas et al., 2012) et pour les géomembranes en polyéthylène (PE) (Pons et al., 2012).

En fonction de leur nature chimique, les molécules constitutives des additifs comme leurs produits de dégradation représentent des sources potentielles de pollution qui modifient le fonctionnement des écosystèmes. Dans le cas où les géomembranes sont situées dans des sites sensibles comme en montagne (fabrication de neige de culture), dans des zonages écologiques sensibles, près de captages d'eau potable, de sites d'agriculture biologique ou dans des retenues collinaires en bassin versant agricole par exemple, le devenir des additifs extraits devient une vraie question environnementale (Grosclaude, 1999 ; Lacaze, 1993).

Les différentes molécules pouvant présenter un impact sur l'environnement sont les monomères, les catalyseurs, les solvants, les additifs dont les antioxydants, les antistatiques, les stabilisants de température et les pigments (Fátima et Hogg, 2007).

La majeure partie des recherches de toxicité des additifs contenus dans les plastiques sont réalisées dans le domaine de l'alimentation et du médical (Lau et Wong, 2000 ; Piotrowska, 2005 ; Brocca et al., 2002 ; Lahimer et al., 2013). Dans le domaine du génie civil, très peu d'études cherchent à évaluer l'impact écotoxicologique des additifs et de leurs produits de dégradation extraits des différents types de géomembranes utilisées dans les ouvrages hydrauliques. Or, de nombreux additifs présents dans les plastiques sont connus pour leur toxicité (Grosclaude, 1999 ; Lacaze, 1993 ; Lahimer et al., 2013).

L'objectif de cette étude est de déterminer le potentiel toxique des produits chimiques (antioxydants, plastifiants, produits de dégradation des GMB) extraits pendant l'utilisation de GMB en PP et PEHD. Pour cela, nous avons cherché à identifier les composés extraits dans les différentes conditions de pH correspondants aux natures de sols français (pH 4 et 7) et à différentes températures pour accélérer les phénomènes. Enfin nous avons évalué le pouvoir toxique des molécules extraites dans un milieu aqueux en testant la croissance de microalgues et l'activité de micro-crustacés.

2. Matériaux et méthodes

2.1. Matériaux

Des GMB en PP et PEHD, couramment utilisées dans les ouvrages hydrauliques, d'épaisseurs respectives de 2,0 mm et 1,5 mm ont été étudiées. Les temps d'induction à l'oxydation, qui traduit la quantité d'antioxydants, mesurés à 190°C en se basant sur la norme NF-EN 728 (1997), sont de 320 ± 2 minutes pour la GMB en PEHD et de 140 ± 2 minutes pour la GMB en PP. Dans une étude précédente, les analyses des solutions d'extraction au dichlorométhane par spectrométries InfraRouge à Transformée de Fourier (IRTF) et Ultraviolet (UV) et Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) nous ont permis de mettre en évidence de façon univoque la présence de l'antioxydant (AO) Irgafos 168 et d'un AO de type phénol encombré contenant des fonctions esters dans les deux GMB (Gueguen Minerbe et al., 2018).

2.2. Conditions d'immersion

L'extraction des additifs dépend fortement de la composition chimique, du pH et de la température du milieu dans lequel la GMB se trouve, donc de la localisation géographique de l'ouvrage. La distribution des pH du sol français est, en majorité, faiblement acide ($5,5 < \text{pH} < 6,5$) et basique ($7,5 < \text{pH} < 8,5$) (Antoni et al., 2013). Afin d'accélérer les extractions, nous avons choisi d'immerger les GMB dans des solutions aqueuses de $\text{pH } 4,3 \pm 0,2$, situation rencontrée majoritairement dans le sud-ouest et le Nord-est de la France, et de pH voisin de 7, représentatif du sol de l'est et le centre de la France.

La solution aqueuse de $\text{pH } 4,3 \pm 0,2$ est obtenue par ajout de la quantité nécessaire d'acide formique (HCOOH) à de l'eau distillée.

La solution aqueuse de $\text{pH } 6,7 \pm 0,2$ est obtenue par ajout de la quantité nécessaire d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) à 0,25% à de l'eau distillée.

Les phénomènes d'extraction sont accélérés en réalisant les immersions à des températures de 80°C et 55°C (Sangame et Rowe, 2002).

Afin de se rapprocher des conditions réelles, une immersion à 25°C est également réalisée aux deux pH ($4,3 \pm 0,2$ et $6,7 \pm 0,2$).

Des éprouvettes rectangulaires de 10 g sont immergées dans 250 mL, soit 40g de GMB pour 1 L de solution aqueuse. Deux éprouvettes sont analysées après 11, 18, 96, 150 et 300 jours à 80°C, 300 jours à 55°C et 500 jours à 25°C.

2.3. Ecotoxicité

2.3.1 Croissance algale

L'objectif de l'essai est d'évaluer l'effet des solutions d'immersion sur la croissance de microalgues. Les essais sont réalisés sur *Chlorella vulgaris* provenant de l'algobanque du Muséum d'Histoires Naturelles de Paris. L'évaluation de la croissance se fait par dénombrement cellulaire sur cellule de Thoma, 72 heures après l'inoculation dans le milieu test sous éclairage continu 10000 lux à 20°C. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules obtenues rapporté à un témoin testé dans les conditions de

l'essai. Les essais sont réalisés en microplaques de 48 puits ; le milieu réactionnel est composé de 100 µL de milieu nutritif concentré 10 fois, d'un volume de solution d'immersion à 90%, 50% ou 10 % dans l'essai. Le volume final est ajusté à 1mL dans chaque puit avec de l'eau distillée. Un témoin est réalisé pour chaque dilution d'essai avec 90 %, 50% ou 10% de la solution d'extraction.

2.3.2 Test de mobilité de microcrustacés

Les tests d'écotoxicité sur *Daphnies sp.* sont réalisés sur des néonates. L'élevage est réalisé dans du milieu M4 avec une photopériode de 16h de lumière puis 8h d'obscurité à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ selon les recommandations de la norme NF EN ISO 6341:2012. Les Daphnies sont nourries avec un apport en cellules algales deux fois par semaine. Cinq Daphnies sont placées dans un volume de 10 mL contenant différentes concentrations de solution d'immersion de PEHD ou PP à pH 6,7 (6,25 ; 12,5 et 25 %). Les expériences sont réalisées en triplicat. Les observations sur la mobilité des daphnies sont réalisées après 24 et 48h. Lors de chaque essai, trois témoins contenant 5 daphnies avec 10 mL sont réalisés.

2.4. Méthodes de caractérisation chimique

2.4.1 Analyses par spectrométrie UV

Les analyses par spectrométrie UV sont réalisées à l'aide d'un spectromètre à double faisceaux Jasco V-630 associé au logiciel d'exploitation Spectra Manager version 2. Les spectres sont enregistrés entre 190 nm et 400 nm avec une bande passante de 2 nm et une vitesse de $400 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$.

Les solutions d'immersion sont analysées dans des cuves de quartz de 1 cm d'épaisseur après avoir été filtrées sur des filtres seringues en acétate de cellulose de porosité 0,45 µm.

2.4.2 Analyses par calorimétrie différentielle

La quantité d'AO résiduelle dans les GMB est déterminée par mesure du temps d'induction à l'oxydation (TIO) suivant la méthode proposée dans la norme NF-EN 728 (1997) à une température de 190°C par analyse AED à l'aide d'un appareil d'analyse enthalpique différentielle Q10 apparatus (TA instrument).

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse des solutions d'immersion

Pour les deux GMB, les absorbances UV des solutions d'immersion à pH 4,3 et 6,7 sont similaires (Figure 1). Le pH n'influe donc pas sur la nature des composés extraits. Ces spectres UV mettent en évidence l'extraction de composés organiques qui absorbent à 240 nm pour le PEHD et 230 nm pour le PP. L'intensité d'absorption lue sur les spectres augmente avec le temps d'immersion et s'accompagne d'un déplacement du maximum vers les grandes longueurs d'onde à partir de 96 jours (240 à 262 nm pour la GMB en PEHD et 230 à 240 nm pour la GMB en PP). Cet effet bathochrome traduit une modification dans la composition chimique de la solution d'immersion que l'on peut attribuer à l'extraction de nouvelles molécules, et/ou une décomposition des composés préalablement extraits. La comparaison avec le spectre UV de l'AO Irganox 1010 commercial dont l'absorption maximale est à 274 nm, indique que les molécules extraites des GMB ne sont pas des phénols encombrés (Guéguen Minerbe et al., 2018).

Après 11 jours d'immersion, l'apparition d'un épaulement à 277 nm laisse supposer le début de l'extraction d'un AO phénolique. La faible absorption à 360 nm correspond à un composé de type quinone qui résulte de la dégradation des AO phénoliques (Pospíšil et al., 2002 ; Beißmann et al., 2013).

Pour les deux GMB et les deux pH, après 300 jours, l'absorption maximale des spectres UV des solutions d'immersion à 50°C sont identiques à ceux enregistrés après 11 jours d'immersion à 80°C des GMB mais les intensités diffèrent.

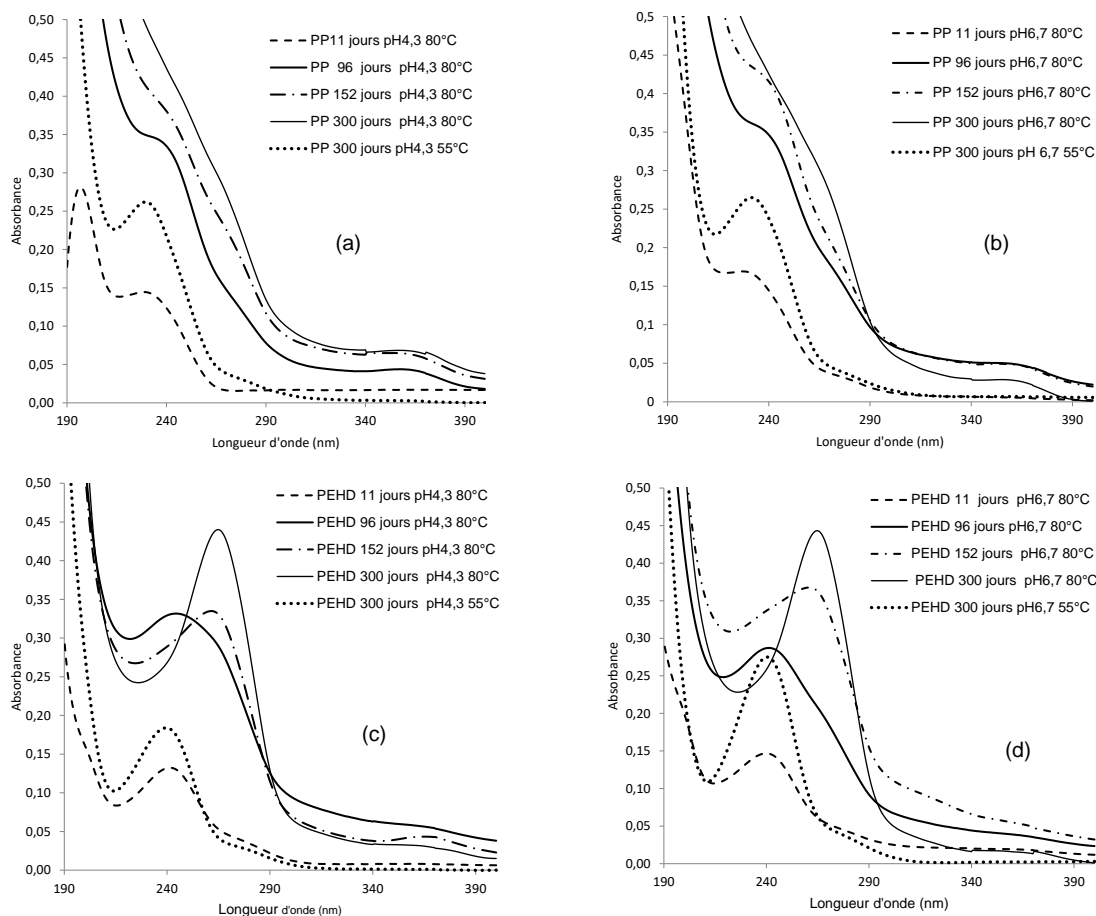


Figure 1. Spectres UV des solutions d'immersion à pH $4,3 \pm 0,2$ (a, c) et pH $6,7 \pm 0,2$ (b,d) des GMB en PEHD (c,d) et en PP(a,b)

La diminution des valeurs de TIO des GMB avec le temps d'immersion (Figure 2) confirme une extraction d'AO indépendante du pH et de la température. Après 96 jours à 80°C, 95% des AO sont extraits de la GMB en PP et 63% de la GMB en PEHD. Cette différence entre les deux GMB est attribuée en partie à la nature des AO et en partie à la différence d'épaisseur des GMB. Plus l'épaisseur est faible plus la diffusion des molécules du cœur de la matrice vers la surface est rapide. Quelles que soient les conditions et les durées d'immersion, les valeurs des TIO des GMB diminuent et se stabilisent sans atteindre zéro. Les valeurs de TIO résiduelles montrent que dans les conditions d'immersion que nous avons utilisées tous les stabilisants ne sont pas extraits des matrices.

Quand les GMB sont immergées 500 jours à 25°C, conditions proches des températures rencontrées sur site, la perte d'AO est équivalente à celle mesurée après 11 jours d'immersion à 80°C. Après 300 jours d'immersion à 55°C de la GMB en PEHD, la perte d'AO est équivalente à celle mesurée après 10 jours d'immersion à 80°C. Ce résultat confirme la plus grande facilité d'extraction des AO de la GMB en PP par rapport aux AO de la GMB en PEHD. Il est important de noter que les extractions réalisées à une température proche de celle rencontrée sur site (25°C) sont nettement plus faibles que celles mises en évidence à plus hautes températures (55 et 80°C).

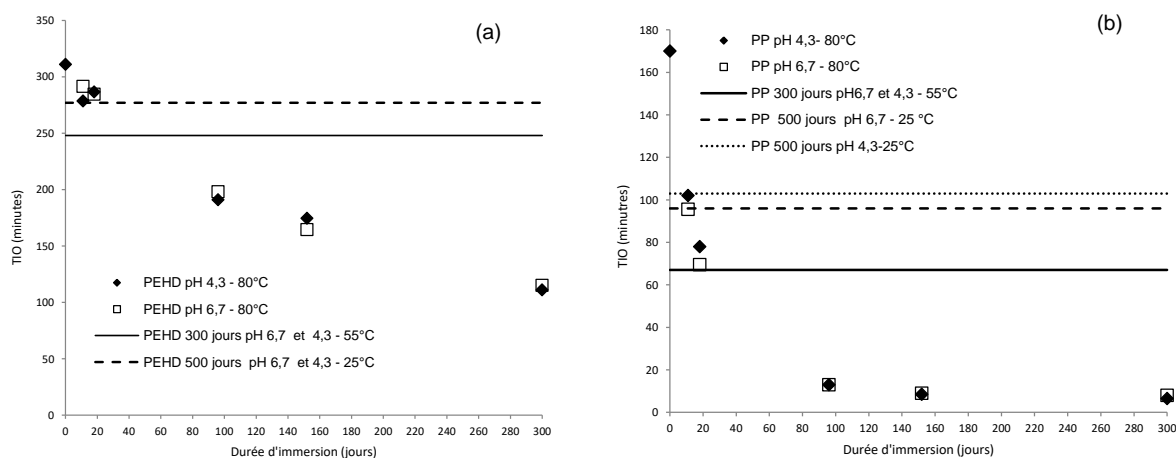


Figure 2. Temps d'induction à l'oxydation des GMB en PEHD (a) et en PP (b) immergées dans des solutions aqueuses de pH $4,3 \pm 0,2$ et $6,7 \pm 0,2$ à 80, 55 et 25°C.

Les analyses spectroscopiques des solutions d'immersion à pH $4,3 \pm 0,2$ et $6,7 \pm 0,2$ des GMB en PP et en PEHD mettent en évidence l'extraction de composés organiques. La diminution des valeurs de TIO montre que les GMB perdent des AO avec le temps d'immersion dans les solutions aqueuses acides (pH $4,3 \pm 0,2$) et neutres (pH $6,7 \pm 0,2$) à trois températures (80, 55 et 25°C). Aucune influence du pH n'a été mise en évidence. Les molécules extraites ne dépendent que de la nature de la GMB. Un changement de la composition moléculaire des solutions après 11 et 96 jours est détecté. Dans la suite de cet article nous évaluons le possible impact de ces molécules sur les systèmes aquatiques.

3.2 Impact des solutions d'immersion sur les écosystèmes aquatiques

3.2.1 Impact sur les microalgues

La figure 3 présente les essais réalisés dans les solutions à pH 4,3 et 6,7 après immersion des GMB en PP et en PEHD pendant 11, 18, 96, 150 et 300 jours. Les résultats sont exprimés en pourcentage de croissance algale dans la solution par rapport à la croissance obtenue dans la même solution avant extraction (témoin). Ainsi, les résultats obtenus permettent de noter l'absence d'impact du pH sur le comportement des micro-algues. Après 11 jours d'immersion à 80°C de la GMB en PP, les solutions obtenues inhibent la croissance des micro-algues avec une dose létale (DL) DL50 de l'ordre de 50%. Cette inhibition semble légèrement augmentée au bout de 18 jours. Les solutions d'immersion de la GMB en PEHD semblent légèrement moins inhibitrices pour la croissance des algues que celles des PP. Au bout de 96 jours les solutions d'immersion des deux GMB présentent un effet différent sur la croissance des algues. En effet, les solutions d'extraction des PP ont peu d'effet sur *C. vulgaris*. Les solutions d'extraction de la GMB en PEHD conservent un effet inhibiteur marqué sur la croissance algale. A partir de 152 jours d'immersion, c'est une stimulation de la croissance algale qui est observée pour atteindre 200% pour les solutions d'extraction de la GMB en PEHD. Les échantillons immergés 300 jours semblent mettre en évidence un effet de stimulation plus marquée lorsque l'immersion de la GMB en PEHD est réalisée dans la solution à pH 6.7.

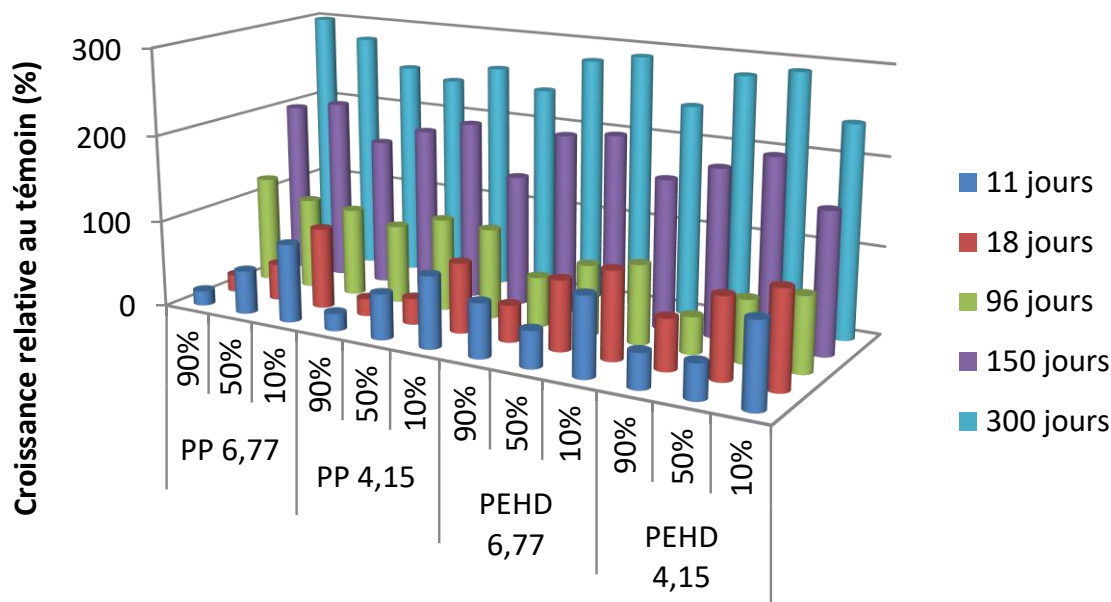


Figure 3. Croissance de *Chlorella Vulgaris* inoculée 72 heures dans les solutions d'extraction à différentes dilutions (90%, 50%, 10%).

3.2.2 Effets sur les microcrustacés

L'impact de la composition chimique des solutions d'immersion des GMB en PEHD et en PP sur les micro-crustacés suit une même évolution. En effet, à 11 jours les solutions d'immersion des deux GMB immobilisent les *Daphnia sp.* (avec une DI50 à 48 heures de 11 % pour le PEHD contre 16.5% pour le PP). Ensuite à 96 jours, les solutions d'immersion de la GMB en PP influencent peu la nage des micro-crustacés contrairement aux solutions d'immersion de la GMB en PEHD qui continuent à immobiliser la nage. A 150 jours, les solutions d'immersion n'ont plus d'impact sur la nage des *Daphnia sp.* (Figure 4).

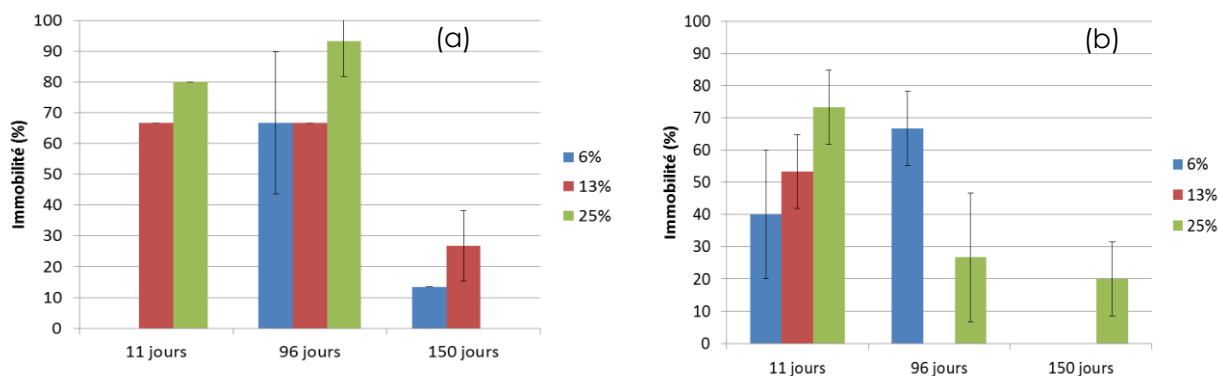


Figure 4. Immobilité des *Daphnies* en contact avec les solutions d'immersion à 80°C des GMB en PEHD(a) et en PP (b) après 11, 96 et 150 jours

Les composés extraits des GMB en PEHD et en PP ont une influence sur le comportement des micro-algues et des micro-crustacés dès 11 jours d'immersion à 80°C. Pour les deux GMB, on note une modification des comportements dans les mêmes périodes d'exposition considérées (11 jours inhibition, 150 jours activation).

3.2.3 Effets global sur le milieu aquatique environnant

Après immersion des GMB 11 jours à 80°C, les composés extraits influencent le comportement des microalgues et de microcrustacés. Pour les deux GMB en PEHD et en PP, le comportement des microalgues et des microcrustacés est modifié en fonction du temps d'immersion (*i.e.* inhibition de la croissance et de la mobilité après 11 jours d'immersion puis une activation de la croissance des

microalgues après 150 jours d'immersion). Ce changement écotoxicologique est attribué à un changement de composition chimique mis en évidence par spectrométrie UV.

La majeure partie de cette étude a été réalisée en laboratoire à des températures plus élevées que celles rencontrées sur site et avec un volume de solution aqueuse en contact avec les GMB beaucoup plus faible que dans les réservoirs. Cependant, même à 25°C, température qui correspond à la température rencontrée sur site, il existe une extraction des molécules dans le milieu aqueux environnant.

4. Conclusion

Cette première étude sur l'impact potentiel de GMB en PEHD et PP sur des zones écologiquement sensibles a permis de mettre en évidence l'extraction de composés organiques dont des additifs de type Irganox 1010 et Irgafos 168 après immersion dans des milieux aqueux de pH 4,3 et 6,7 à 80°C, 55°C et 25°C. Le pH du milieu n'a pas montré d'influence sur la nature des molécules extraites ni la vitesse d'extraction. Une augmentation de la température induit uniquement une accélération du phénomène d'extraction. Entre 11 et 96 jours d'immersion à 80°C, un changement de composition chimique dû à l'extraction de nouvelles molécules et/ou de dégradation des molécules préalablement extraites, a été mis en évidence par spectrométrie UV.

Les tests écotoxicologiques ont montré une influence des molécules extraites sur la croissance de micro-algues de types *C. vulgaris* et de crustacés de types *Daphnia sp.*. Le changement de composition chimique du milieu se traduit par une modification de la croissance de ces microorganismes. Les molécules contenues dans les solutions correspondant à 11 jours d'immersion des GMB inhibent la croissance des microorganismes alors qu'après 96 jours d'immersion des GMB on note une inversion de l'impact des molécules extraites jusqu'à une activation de la croissance des micro-algues dès 150 jours. Cette stimulation de la croissance algale peut être rapprochée des produits détectés en UV. Ces derniers pourraient jouer le rôle de fertilisant ; si ce point est confirmé l'emploi des GMB pour stockage réservoir pourrait représenter un risque accru d'eutrophisation des volumes d'eau.

Il est important de noter que lors de cette étude, nous nous sommes placés dans les conditions les plus favorables pour extraire et concentrer les additifs contenus dans les GMB (température, volume d'eau, ...). Cependant, après 500 jours d'immersion à 25°C on observe des extractions de molécules vers le milieu aqueux.

5. Références bibliographiques

- Antoni V., Arrouays, Bispo A., Brossard A., Le Bas C., Stengel P., Villaneau E. (2013). The state of the soils in France in 2011, a synthesis. Groupement d'intérêt scientifique sur les sols, Chromatiques Editions, France, 24 pages.
- Beißmann S., Stiftinger M., Grabmayer K., Wallner G., Nitsche D., Buchberger W. (2013). Monitoring the degradation of stabilization systems in polypropylene during accelerated aging tests by liquid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *Polymer Degradation and Stability*, 98, 1655-1661.
- Blanco M., Touze-foltz N., Castillo F., Soriano J., Noval A.M., Pargadal R.G., Aguiar E. (2012). Comparative study of three different kinds of PVC-P, HDPE, EPDM used in the waterproofing of reservoirs. *Proceedings Eurogeo 5*, 8 pages.
- Brocca D., Arvin E., Mosbæk H. (2002). Identification of organic compounds migrating from polyethylene pipelines into drinking water, *Water research* 36, 3675-3680.
- Guéguen Minerbe M., Durrieu C, Guenne A., Rouillac L., Diafi D, Nour I., Mazéas L., Touze Foltz N., Farcas F. (2018). Impact of polyethylene and polypropylene geomembranes in sensitive aquatic environment, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148, 884-891.
- Fátima M.P, Hogg T. (2007). Exposure assessment of chemicals from packaging materials in foods: a review. *Trends in Food Science & Technology* 18, 219-230.
- Grosclaude G. (1999). L'eau, milieu et maîtrise (Tome 1). INRA Edition, Paris.
- Lacaze J.C. (1993). La dégradation de l'environnement côtier-conséquences écologiques. Ed. Masson, Paris.
- Lahimer M.C., Ayed N., Horriche J., Belgaied S. (2013). Characterization of plastic packaging additives: Food contact, stability and toxicity, *Arabian Journal of Chemistry* 10, 1938-1954.

- Lau O.W, Wong S.K. (2000). Contamination in food from packaging material. *Journal of Chromatography A* 882, 255–270.
- Pons C., Farcas F., Kademi H., Richaud E., Fayolle B. (2012). Behavior of antioxidants present in HDPE geomembranes used in municipal solid waste landfills, EuroGeo5, Valencia (Espagne), 16-19 septembre 2012, technical session; Environmental applications, 8 pages.
- Piotrowska B., (2005). Toxic component of food packaging materials, *Toxins in Food*, Chapter 14, Edited by Zdzislaw E. Sikorski and Waldemar M. Dabrowski.
- Pospíšil J., Nešpůrek S., Zweifel H., Kuthan J. (2002). Photo-bleaching of polymer discoloration caused by quinone methods, *Polymer Degradation and Stability* 78, 251-255
- Sangam H.P., Rowe R.K. (2002). Effects of exposure conditions on the depletion of antioxidants from high-density polyethylene (HDPE) geomembranes. *Canadian Geotechnical Journal* 39, 1221–1230.
- Norme NF EN 728:1997. Systèmes de canalisations et de gaines en plastique - Tubes et raccords en polyoléfine - Détermination du temps d'induction à l'oxydation.
- Norme ISO 6341:2012. Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) -- Acute toxicity test
- Touze-Foltz N. (2010). State of the art and durability insights regarding the use of geosynthetics for lining in hydraulic and environmental applications. Invited lecture. Proceedings 9th International Conference on Geosynthetics, Guarujá, Brazil, 19 p.