



Titre de l'action :

MicroPlasticRivers : Développement d'une méthodologie harmonisée de mesure des concentrations et des flux de micro-plastiques sur le continuum Rhône-Méditerranée

Rapport final

Action n°85 du Programme 2021 au titre de l'accord cadre Agence de l'Eau ZABR

Thème Flux polluants, écotoxicologie, écosystèmes

Observatoire des Sédiments du Rhône

Marina Coquery, UR RiverLy, INRAE
David Gateuille, EDYTEM, Université Savoie-Mont-Blanc
Brice Mourier, LEHNA, ENTPE
Gaëlle Darmon, HISA, WAO Nature & Conservation

juin 2025

Z A B R

Zone Atelier Bassin du Rhône

Ont contribué à la réalisation de ce projet :

RiverLy - INRAE :

Marina Coquery
Alexandra Gruat
Loïc Richard
Aymeric Dabrin
Emma Lootgieter

EDYTEM :

David Gateuille
Kathleen Lefevre
Yeva Jeumont

ENTPE – LEHNA :

Brice Mourier
Solène Lelay
Nathan Guiraud
Zoé Iannuzzi

HISA, WAO Nature & Conservation :

Gaëlle Darmon
Maria-Aurélia Sabatte

Cerege :

Jérôme Labille
Antoine Martelet



Sommaire

Introduction	5
I. Méthodes	8
I.1. Sites d'étude	8
I.2. Méthodes d'échantillonnage des microplastiques	8
I.2.1. Echantillonnage des matières en suspension pour la mesure des MP.....	8
I.2.2. Echantillonnage des eaux de surface pour la mesure des MP.....	9
I.3. Méthodes d'analyse	12
I.3.1. Analyse des microplastiques dans les MES (LEHNA-ENTPE).....	12
I.3.2. Analyse des microplastiques dans les eaux - filet 50 µm (EDYTEM)	14
I.3.3. Analyse des microplastiques dans les eaux – Babylegs (HISA).....	14
I.3.4. Analyse des nanoplastiques dans les eaux (Cerege)	15
I.4. Prévention de la contamination et contrôles qualité	16
I.5. Stratégie expérimentale	17
I.5.1. Test inter-laboratoires sur un échantillon de MES	17
I.5.2. Campagnes de terrain le long du continuum du Rhône	18
I.5.3. Campagnes de terrain en amont et aval de l'agglomération de Lyon.....	19
I.6. Exploitation des résultats	20
I.6.1. Expression des résultats.....	20
I.6.2. Traitement des données	20
II. Résultats	22
II.1. Test inter-laboratoires sur un échantillon de MES	22
II.2. Comparaison des différentes méthodes d'échantillonnage	26
II.2.1. Abondances des microplastiques dans les échantillons de MES prélevés par piège à particules et centrifugeuse en continue	26
II.2.2. Abondances des microplastiques mesurés après prélèvement manuel ou par pompage, suivi d'une filtration 50 µm <i>in situ</i>	27
II.2.3. Variabilité spatiale et temporelle des concentrations en microplastiques par filtration à 50 µm.....	29
II.2.4. Concentrations et composition des microplastiques prélevés par babylegs	31
II.2.5. Analyse chimique des nanoplastiques par pyrolyse GC-MS	34
II.2.6. Comparaison des prélèvements intégratifs par piège à particules versus prélèvements ponctuels pour évaluer le gradient amont-aval de l'agglomération lyonnaise	35
II.2.6.1. Prélèvements par pièges à particules (PAP).....	35
II.2.6.2. Prélèvements ponctuels d'eau et filtration par mini-filet 50 µm.....	37
II.2.7. Estimation des flux de microplastiques sur le continuum du Rhône pour différentes méthodes d'échantillonnage	38
II.2.8. Discussion	40
II.3. Synthèse et recommandations	42
Conclusions et perspectives	44
Bibliographie	47
Annexes	49

Introduction

À l'instar d'autres polluants persistants, les microplastiques (MP) sont désormais reconnus comme étant omniprésents dans l'environnement à l'échelle mondiale. De nombreuses initiatives portent sur l'évaluation des concentrations des MP dans l'environnement ; elles se sont longtemps concentrées sur leur principal réservoir : l'océan. Plus récemment, les chercheurs ont élargi leur champ d'étude pour inclure les écosystèmes d'eau douce et terrestres (Rochman, 2018). Il s'agit d'une évolution primordiale, étant donné qu'environ 80% de la pollution microplastique dans l'océan provient des terres (Jambeck et al., 2015) et que les rivières constituent l'une des principales voies de transport des MP vers les océans (Lebreton et al., 2017). Par conséquent, une meilleure compréhension de l'origine et de la dispersion des microplastiques sur le continuum fleuve-mer est nécessaire pour pouvoir mettre en œuvre des actions concrètes et efficaces sur la réduction des flux globaux et des impacts potentiels. Les méthodologies employées pour la mesure des microplastiques, depuis la collecte des échantillons sur le terrain jusqu'à leur analyse en laboratoire, restent très disparates, rendant les résultats difficilement comparables entre les études (Dusaucy et al., 2021) et empêchant une analyse globale fiable à l'échelle d'un grand bassin versant.

L'objectif du projet MicroPlasticRivers est de mutualiser les compétences de scientifiques experts du domaine afin de tester et de comparer différentes méthodologies les plus adaptées pour la mesure des microplastiques (MP) dans les rivières, depuis l'échantillonnage jusqu'à l'extraction et l'identification en laboratoire. Il vise également à étudier les facteurs méthodologiques et environnementaux susceptibles d'expliquer la variabilité des concentrations observées. Le projet a pour ambition de formuler des recommandations pour la mise en œuvre d'une méthodologie harmonisée pour mesurer les concentrations et des flux de MP dans les cours d'eau sur le bassin versant du Rhône. Il s'agit aussi de proposer une première évaluation de l'abondance et des flux de MP sur différentes stations du bassin du Rhône.

Il existe de nombreuses définitions pour les MP. La classification habituelle se fait en fonction de leur taille, en utilisant la plus grande longueur de la particule. Dans le cadre du projet MicroPlasticRivers, nous avons retenu la définition des MP proposée par Frias et Nash (2019) : « *toute particule synthétique solide ou matrice polymère, de forme régulière ou irrégulière et de taille comprise entre 1 µm et 5 mm, dont l'origine de fabrication est primaire ou secondaire et qui est insoluble dans l'eau* ». Au-delà de 20 mm, il s'agit de macro-plastique ; la gamme intermédiaire de 5 à 20 mm est dénommée méso-plastique. En-dessous de 1 µm, il s'agit de nano-plastique.

Pour évaluer les variations de distribution spatiale des plastiques, des protocoles standards ont été proposés en milieu marin, liés notamment aux indicateurs de distribution et d'impacts mis en œuvre par les pays membres de la Directive cadre stratégie pour le milieu marin (DCSMM, 2008/56/CE) et les conventions des mers régionales associées. Ces protocoles sont aujourd'hui bien cadrés pour les macro-plastiques mesurant plus de 1 mm, mais les méthodologies sont toujours discutées pour les plastiques de taille inférieure. Aussi, à notre connaissance, aucun protocole standard n'est mis en œuvre officiellement pour surveiller la distribution des microplastiques dans les eaux continentales.

Afin de mesurer les MP dans les hydrosystèmes, différentes techniques d'échantillonnage sont mises en œuvre. La plupart sont issues d'études sur le milieu marin et ont été adaptées au milieu fluvial. Le

choix de la technique dépend de l'objectif de la recherche, du milieu échantillonné (e.g., eau vs sédiment ; petit cours d'eau vs fleuve), des conditions hydrologiques et des ressources financières. Pour plus de détails, une synthèse des techniques d'échantillonnage couramment utilisées dans la littérature est disponible dans les rapports de stage de Nathan Guiraud (2024) et de Soline Lelay (2023), réalisés dans le cadre de ce projet.

Les résultats des mesures sont exprimés différemment selon la méthode d'échantillonnage utilisée. Les unités sont généralement exprimées en nombre ou en masse de MP par volume d'eau échantillonné ou par masse de sédiment/particules (sec). La caractérisation des MP permet également de définir leur taille et la composition/nature des polymères, en fonction de la technique d'analyse utilisée.

Avant analyse, une extraction est nécessaire afin de les séparer les MP de leur matrice environnementale d'origine. Le but est d'éliminer les matières organiques et inorganiques de l'échantillon, afin d'isoler au mieux les MP. Les méthodes d'extraction varient notamment en fonction de la matrice échantillonnée (e.g., teneur en matière organique). Dans les hydrosystèmes, les méthodes les plus courantes sont (1) la séparation densimétrique qui utilise différents types de solutions salines de densité plus élevée que celle des MP et (2) la dégradation de la matière organique, réalisée par des traitements acides, alcalins, oxydants ou enzymatiques (Lelay, 2023).

Enfin, différentes méthodes d'analyse ont été développées et sont utilisées pour identifier et caractériser les MP (cf. synthèse dans Lelay, 2023 ; Campanale et al., 2020). L'analyse visuelle était couramment pratiquée au début des études sur les MP dans l'environnement marin. Cependant, avec l'essor de la recherche sur les MP et le développement d'appareils technologiques de pointe permettant d'abaisser considérablement les seuils de détection et d'obtenir des détails précis sur chaque particule, l'inspection visuelle est maintenant moins pratiquée pour les particules < 1 mm. Dans le cadre de ce projet, nous avons privilégié l'utilisation de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), une technique largement utilisée dans la littérature et disponible dans plusieurs laboratoires partenaires du projet (LEHNA-ENTPE et EDYTEM). La FTIR permet de dénombrer et mesurer la taille des particules de plastique et de déterminer les principaux polymères présents. Cette technique est relativement simple d'utilisation, non-destructible pour l'échantillon, mais elle présente l'inconvénient d'un temps d'analyse assez long. De plus, la masse des MP est estimée de manière indirecte à partir de la taille et de la densité des polymères de MP identifiés. En comparaison, la pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Pyr-GC-MS) donne une caractérisation chimique globale de l'échantillon mais c'est une méthode destructive. Elle permet potentiellement une mesure directe de la masse totale de MP dans l'échantillon et des types de polymères (sauf le PVC - polychlorure de vinyle), mais elle ne donne pas le nombre de particules de MP, ni leur taille. Il s'agit d'une décomposition thermique des MP présents dans l'échantillon ; le gaz formé est cryocapté et séparé sur une colonne chromatographique, et identifié par spectrométrie de masse. Comme pour la FTIR, cette technique n'est pas encore totalement prête pour une utilisation généralisée, et des travaux de développement et de recherche sont toujours en cours. Cette technique a été utilisée dans le cadre de ce projet pour caractériser les nano-plastiques dans des eaux prélevées dans le Rhône à Arles.

De nombreuses méthodes d'échantillonnage et d'analyse sont utilisées pour mesurer les MP dans les cours d'eau. Cependant, il n'existe actuellement pas de consensus sur une méthode « universelle » pour l'échantillonnage ou pour l'analyse, chaque approche ayant ses avantages et inconvénients. De

plus, très peu de comparaison entre méthodes ont été réalisées car elles ne mesurent pas exactement la même chose, ce qui reste un réel défi.

Il nous a donc paru important de tester plusieurs méthodes d'échantillonnage et de mesurer les concentrations de MP à différentes périodes afin d'estimer les flux de MP des stations stratégiques du bassin versant du Rhône. Ce projet a été menée sur le continuum du Rhône et de ses affluents, qui constitue un modèle idéal, d'une part, pour analyser l'influence de facteurs anthropiques et environnementaux et, d'autre part, pour bénéficier de stations expérimentales existantes (Observatoire des Sédiments du Rhône - OSR, Thollet *et al.*, 2021).

A ce jour, très peu d'études permettent de documenter l'état des lieux sur la pollution en microplastiques dans le Rhône. Une étude ciblant les macro-plastiques, menée dans le cadre du projet RIMMEL, avait évalué un flux de 0,7 tonnes de plastique par an à l'embouchure du Rhône (Castro-Jimenez *et al.*, 2019), confirmant l'intérêt et la nécessité de la mise en œuvre d'un programme spécifique aux microplastiques. Les travaux de Constant *et al.* (2020), également menés à l'embouchure du Rhône, ont rapporté des teneurs en MP de l'ordre de 12-19 items/m³ (filets 300-330 µm) et des premières estimations de flux annuel moyen entre 5,92 et 22 t·yr⁻¹.

Dans ce rapport, après une brève description du site d'étude, nous détaillons les méthodes d'échantillonnage et d'analyse des MP, et présentons la stratégie expérimentale adoptée. Nous avons tout d'abord réalisé un test de comparaison des méthodes d'analyse avec des échantillons réels de MES afin de comparer les résultats en termes de détection des MP et de caractérisation des types de polymères. Dans un second temps, plusieurs méthodologies de prélèvement des eaux de surface ont été mises en œuvre simultanément sur différentes rivières/sites dans des conditions hydrologiques contrastées, afin de faciliter leur comparaison. Ce rapport synthétise les principaux résultats obtenus et propose, in fine, un premier classement des avantages ou inconvénients des différents systèmes d'échantillonnage testés dans ce projet pour la mesure des MP dans les eaux de rivière.

I. Méthodes

Ce chapitre présente le site d'étude et décrit les méthodes d'échantillonnage des MP qui ont été mises en œuvre sur plusieurs stations de l'OSR, les méthodes d'analyses et les contrôles qualité associés. La stratégie expérimentale proposée est ensuite détaillée avec, d'une part, un test de comparaison inter-laboratoires réalisé sur un échantillon de MES et, d'autre part, plusieurs campagnes de mesure menées sur le continuum du Rhône et quelques affluents du Haut Rhône en 2023 et 2024.

I.1. Sites d'étude

Le réseau de suivi de l'OSR, en place depuis 15 ans, est particulièrement bien instrumenté (Figure 1). Il permet le suivi continu des concentrations et flux de matières en suspension (MES) et de contaminants associés sur une douzaine de stations. Ce réseau de stations peut servir à documenter les concentrations et flux de microplastiques sur le bassin du Rhône et s'avère donc idéal pour la stratégie expérimentale du projet.

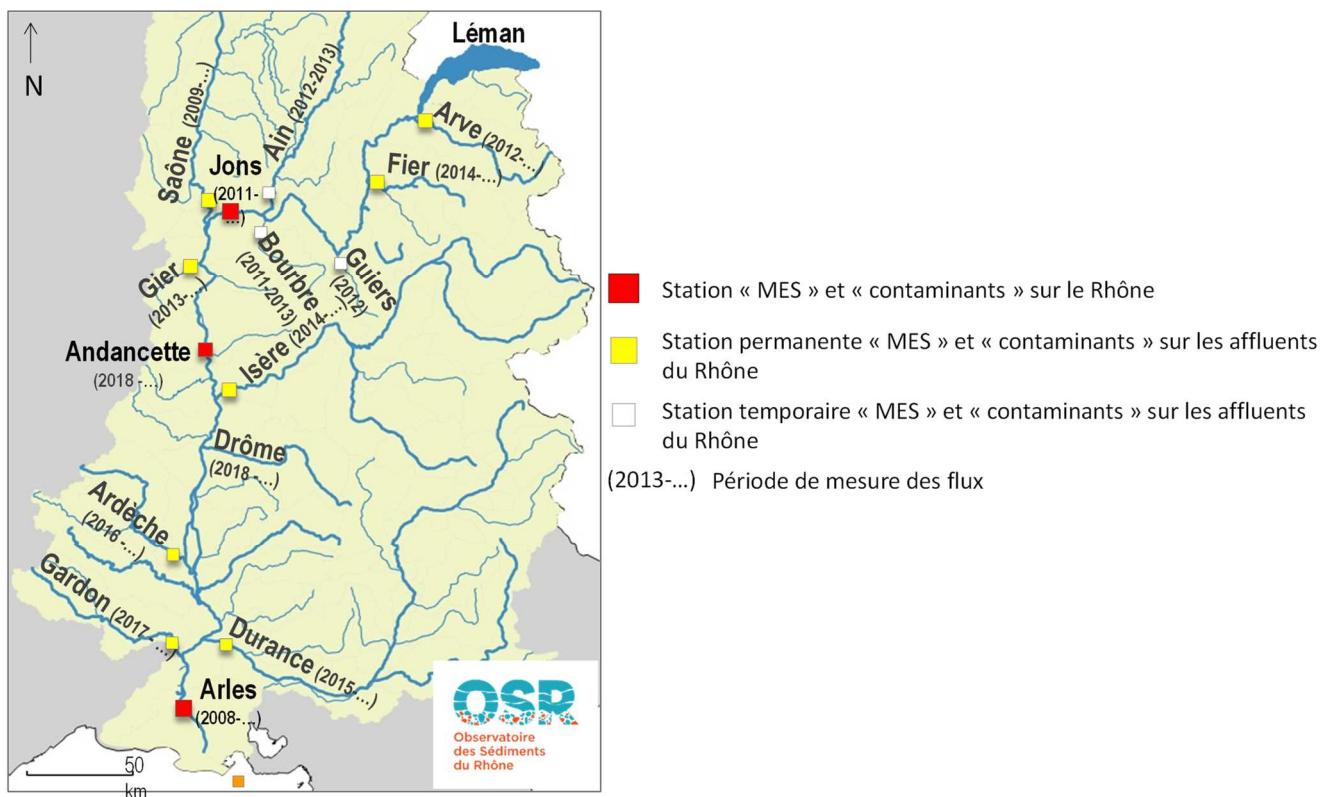


Figure 1 : Réseau des stations de mesures hydro-sédimentaires de l'OSR – Observatoire des Sédiments du Rhône (source : <https://bdoh.inrae.fr/OBSERVATOIRE-DES-SEDIMENTS-DU-RHONE/>)

I.2. Méthodes d'échantillonnage des microplastiques

I.2.1. Echantillonnage des matières en suspension pour la mesure des MP

Nous avons testé d'une part, des équipements disponibles sur les stations de l'OSR comme les pièges à particules (PAP) et la centrifugation en continue (centrifugeuse fixe disponible sur les sites de Jons et d'Arles sur le Rhône ; centrifugeuse mobile). Un des objectifs visés dans ce projet est de tester la capacité des PAP à échantillonner les microplastiques dans les grands cours d'eau tel que le Rhône ou

la Saône. Quelques études récentes ont reporté l'utilisation de ces systèmes d'échantillonnage des particules en suspension pour la mesure des MP dans des fleuves européens, tel que le Danube (Kittner et al., 2022) ou le Rhin (Range et al., 2025).

- **Les pièges à particules** sont des boites en inox qui sont immergés dans la colonne d'eau et permettent de collecter des MES de manière intégrée et représentative (Masson et al., 2018 ; Gruat et al., 2022). Ils sont installés sur plusieurs stations sur le Rhône et ses principaux affluents (Figure 1), et sont relevés sur des intervalles d'un mois. Une fois déployés, les PAP permettent à l'eau de traverser le système, provoquant une réduction de la vitesse d'écoulement et entraînant ainsi la décantation des particules à l'intérieur de l'outil. Lors du retrait du PAP, les MES déposées au fond sont mélangées à l'aide d'une spatule en silicone, puis transvasées dans un flacon en verre préalablement calciné et recouvert d'aluminium pour éviter toute contamination (Figure 2).
- Les stations d'Arles et de Jons sur le Rhône sont également équipées d'une centrifugeuse tubulaire à haute vitesse (CEPA Z61), dite **centrifugeuse fixe**. L'eau du Rhône est pompée en continu puis acheminée vers la centrifugeuse avec un débit entrant d'environ 700 L par heure. Ce débit est contrôlé à l'aide d'un compteur d'eau et d'un chronomètre. L'eau pénètre par le bas de la centrifugeuse puis entre dans un cylindre en inox qui tourne à 17 000 tours par minute et qui renferme une feuille de Téflon amovible préalablement lavée (déttergent, neutralisant et rinçage à l'eau déminéralisée). L'eau remonte à travers le cylindre grâce à la force centrifuge ; les MES adhèrent à la feuille de Téflon amovible qui est plaquée sur les parois du cylindre, tandis que l'eau clarifiée est évacuée vers l'extérieur par le haut du cylindre (Le Bescond et al., 2018 ; Masson et al., 2018) (Figure 2). Après la centrifugation, la feuille de Téflon est récupérée puis déroulée à plat pour prélever l'échantillon de MES, à l'aide d'une spatule en silicone alimentaire préalablement lavée (Figure 2).
- L'OSR dispose en plus d'une **centrifugeuse mobile** (Westfalia KA-2) embarquée sur une remorque (Figure 2) (Gruat et al., 2023), dont le design est différent mais qui fonctionne sur le même principe que la centrifugeuse fixe.

Ces échantillons de MES sont conservés au frigo ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) avant analyse.

I.2.2. Echantillonnage des eaux de surface pour la mesure des MP

D'autre part, les équipes de recherche du projet ont mis en œuvre des équipements spécifiques déjà utilisés pour l'échantillonnage des MP dans les eaux de surface dans le cadre d'autres projets de recherche (dronamaran avec filet 50 μm ; prélèvements manuels avec du matériel tout inox), ou de sciences participatives (Babylegs, approche proposée par l'association La Pagaie Sauvage) (Figure 2).

Nous avons testé ces différents systèmes d'échantillonnage dans différentes configurations (position dans le linéaire, taille du cours d'eau) afin d'évaluer leur applicabilité et avantages/inconvénients dans différentes conditions hydrologiques usuellement rencontrées sur le bassin du Rhône.

Plusieurs méthodes d'échantillonnage testées



Figure 2 : Illustration des méthodes d'échantillonnage testées sur le Rhône à Arles et Andancette. (A) : piège à particules - PAP ; (B) : centrifugeuse mobile - CMO ; (C) : centrifugeuse fixe - CF ; (D) : filet Manta 300 µm ; (E) : pompage + mini-filet 50 µm ; (F) : filet 50 µm sur drone aquatique ; (G) : Babylegs ; (H) : manuel + mini-filet 50 µm ; (I) : manuel nanofiltration. Photos : INRAE-RiverLy.

- **Le dronamaran / filet 50 µm :**

Ce système a été développé par EDYTEM pour le prélèvement des MP dans les lacs d'altitude. Le dronamaran est constitué d'une structure métallique fixée à deux flotteurs et propulsée par deux moteurs électriques (type scooter sous-marin). La structure permet de déplacer un filet de 50 µm, doté d'une ouverture de 0,29 m² et d'une surface de filtration d'environ 1,8 m². Le dronamaran est téléguidé et possède une centrale d'acquisition mesurant en continu la position GPS, la vitesse d'écoulement dans le filet (mesurée grâce à un micro-moulinet placé dans la bouche du filet) et la hauteur d'eau dans le filet. Ces paramètres permettent de calculer précisément le volume filtré et de suivre les conditions de filtration, notamment le colmatage du filet. Une fois un volume filtré suffisant (quelques mètres cubes), le filet est rincé abondamment et l'échantillon est récupéré dans le fond amovible du filet (Figure 3). L'échantillon est alors placé dans un pot en verre et conservé au congélateur (-20°C) jusqu'à l'analyse.

Nous avons testé ce dispositif dans différentes configurations (taille de cours d'eau, débit). Les prélèvements ont été réalisés en triplicat pour chaque site (+ un prélèvement de rinçage/contrôle en début de manip).



Figure 3 : Fond amovible du filet (« mini-filet ») servant à récupérer l'échantillon

- **Pompage + mini-filet 50 µm :**

L'eau de la rivière est prélevée par pompage (à l'aide de la pompe et tuyaux utilisés pour la centrifugeuse mobile) et versée directement dans un embout amovible de maille 50 µm – aussi dénommé « mini-filet » (Figure 2). Le volume prélevé était de 200 L à 1 m³ selon les sites et les conditions hydrologiques. La durée de prélèvement était d'environ 30 min et les prélèvements ont été réalisés en triplicat pour chaque site. A la fin de chaque prélèvement, les embouts amovibles sont récupérés et placés dans des bocaux en verre préalablement calcinés.

- **Prélèvement manuel + mini-filet 50 µm :**

Il s'agit de réaliser un prélèvement de 100 à 200 L d'eau (selon les sites) à l'aide d'un bidon en inox (25 L), puis de les déverser dans un large entonnoir également en inox, avec pour finalité l'arrivée de l'eau et sa filtration dans un mini-filet de maille 50 µm (Figure 2). Les prélèvements ont été réalisés en triplicat pour la plupart des sites, excepté la dernière campagne réalisée à l'amont et aval de Lyon début juillet 2024. A la fin de chaque filtration, les mini-filet sont récupérés et placés dans des bocaux en verre propre.

- **Le Babylegs :**

L'approche proposée par l'association La Pagaie Sauvage vise à être simple, mettant en œuvre un outil de prélèvement libre de droits et facile à reproduire, afin d'engager tout citoyen dans la collecte d'échantillons et ainsi augmenter la distribution des jeux de données. Le Babylegs¹ se compose d'un collant en polyamide et élasthanne enfilé sur une bonbonne en plastique d'une capacité de 5 L retenue par un collier de serrage. Il a été déployé en surface des cours d'eau, dans le sens du courant, sur une durée de prélèvement de 30 min et en triplicat pour chaque site (Figure 2). A la fin de chaque déploiement, les collants sont récupérés, noués à l'extrémité dès qu'ils sont retirés de l'eau, et placés dans des sachets plastiques hermétiques. Ils sont congelés à -20°C avant analyse.

Sans possibilité de détection infrarouge, les bénévoles de l'association La Pagaie Sauvage se basent sur la forme et la couleur pour évaluer visuellement l'abondance en particules de polyéthylène et

¹ <https://lapagaiесauvage.org/wp-content/uploads/2020/11/Guide-Babylegs.pdf>

polyéthylène téréphthalate (PE et PET) trouvées sur un tamis de maille 300 µm, lorsque le contenu de l'échantillon n'est pas trop dense (en-dessous de 500 particules).

Dans le cadre de ce projet, nous avons évalué la possibilité de mener des détections de MP plus précises. Notre étude visait à évaluer les contraintes d'échantillonnage de terrain avec le Babylegs et d'évaluer sa capacité à échantillonner les microplastiques comparativement à d'autres méthodes de prélèvement.

I.3. Méthodes d'analyse

Les méthodes d'analyse des MP de trois partenaires du projet (LEHNA-ENTPE et EDYTEM et HISA) sont basées sur la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (μ FTIR) et couvrent une gamme de taille de 25 à 500 µm. Pour la matrice sédimentaire et l'eau brute, l'analyse des microplastiques par μ FTIR est réalisée après une extraction densimétrique et une digestion de la matière organique. Pour le Cerege, la pyrolyse GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) a été utilisée directement sur l'eau préconcentrée.

Les limites de détection de taille des MP imposées techniquement pour l'analyse par μ FTIR sont les suivantes : 25 - 500 µm. Tous les MP considérés par la suite sont compris dans cette limite. La fraction 500-5000 µm est estimée visuellement après tamisage à 500 µm et observation visuelle ou par loupe binoculaire. Dans la grande majorité des cas, cette fraction ne contenait pas de MP.

I.3.1. Analyse des microplastiques dans les MES (LEHNA-ENTPE)

- Préparation des échantillons :

Après avoir homogénéisé et tamisé l'échantillon à 500 µm, la première étape de l'extraction des MP d'un échantillon de MES (environ 3 g masse sèche) consiste en une séparation densimétrique à l'aide d'une solution d'iodure de sodium (NaI) d'une densité ρ comprise entre $1,67 \geq \rho > 1,70 \text{ g.cm}^{-3}$. Lors de cette étape, les propriétés densimétriques des MP ($0,80 \text{ à } 1,6 \text{ g.cm}^{-3}$) et des sédiments ($\sim 2,7 \text{ g.cm}^{-3}$) sont utilisées, afin de collecter uniquement les particules de densité inférieure à celle du NaI.

Suit une étape de dégradation de la matière organique à l'aide de H_2O_2 30% à 40 °C et sous agitation et sous sorbonne ; puis une filtration sur anodisc 25 (25 mm diamètre, porosité 0,2 µm) en oxyde d'aluminium. Ces filtres comprennent un anneau de support en polypropylène (PP) permettant une manipulation plus aisée. Après filtration, chaque anodisc est placé dans une boîte de pétri préalablement calcinée, puis ils sont conservés dans un dessiccateur. Selon la prise d'essai et la composition de l'échantillon de MES, il est nécessaire d'utiliser entre 1 à 10 filtres pour éviter un dépôt trop épais et une saturation des filtres, ce qui pourrait compromettre l'analyse au FTIR.

L'ensemble de cette méthodologie est synthétisé sur la Figure 4. Ces protocoles ont été optimisés pour les échantillons de MES prélevés dans le bassin du Rhône, dans le cadre de ce projet, lors des travaux de stage de Nathan Guiraud (2024) et de Soline Lelay (2023).

- Analyse par μ FTIR :

L'analyse par μ FTIR, consiste à obtenir un spectre d'absorption de chaque pixel sur le filtre par l'infrarouge. Le LEHNA est équipé d'un système d'imagerie de type FTIR Microscope Spotlight 400 (Perkin-Elmer). La mesure consiste à émettre un faisceau de multiples lumières infrarouges (3650 à 1250 cm^{-1}) sur un pixel du filtre (25 µm de côté) et à en mesurer son absorption pour chaque fréquence

émise. Lorsque cette opération est terminée, le faisceau est projeté sur le pixel suivant et la séquence recommence sur la totalité du filtre, afin de créer une cartographie de l'absorption infrarouge (l'analyse est réalisée en transmittance). Avant toute analyse, une calibration du spectre de fond à partir d'un filtre Anodisc vierge est nécessaire.

L'analyse de l'ensemble d'un filtre anodisc prend en moyenne 103 minutes, selon les paramètres spécifiques utilisés au LEHNA-ENTPE.

- **Identification des MP avec le logiciel siMPLe :**

Le programme siMPLe compare les spectres infrarouges de chaque pixel d'un échantillon avec la base de données de référence mise en place dans le cadre du projet ANR Sedi-Plast², puis attribue aux particules plastiques un puis leur attribue un score de probabilité et un type de polymère associé. Le pixel est associé au polymère dont le score correspondant est le plus élevé auquel sont ajoutés les pixels adjacents composés d'un score similaire. Le traitement de données a pour résultat final trois documents : une carte thermique, une carte d'identification des MP et un fichier .csv comprenant diverses informations pour chaque particule :

- Données générales : le numéro de particule, ses coordonnées sur le filtre (en plusieurs unités)
- Données déterminées par siMPLe : le score de probabilité et le type de polymère associé pour chaque particule
- Données mesurées : nombre de pixels, l'aire, la taille (maximale et minimale de feret), le volume et la masse de chaque particule.

Extraction des MES

1. (Filtration)
2. Homogénéisation des MES
3. Séchage à l'étuve
4. Prise d'essai
5. Séparation densimétrique au NaI ($\rho > 1,6 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$)
6. Filtration (et tamisage de la fraction $> 500 \mu\text{m}$ si besoin)
7. Dégradation de la MO avec H_2O_2 30 %
8. Filtration sur filtre Anodisc (1 à 4 filtres par échantillon)

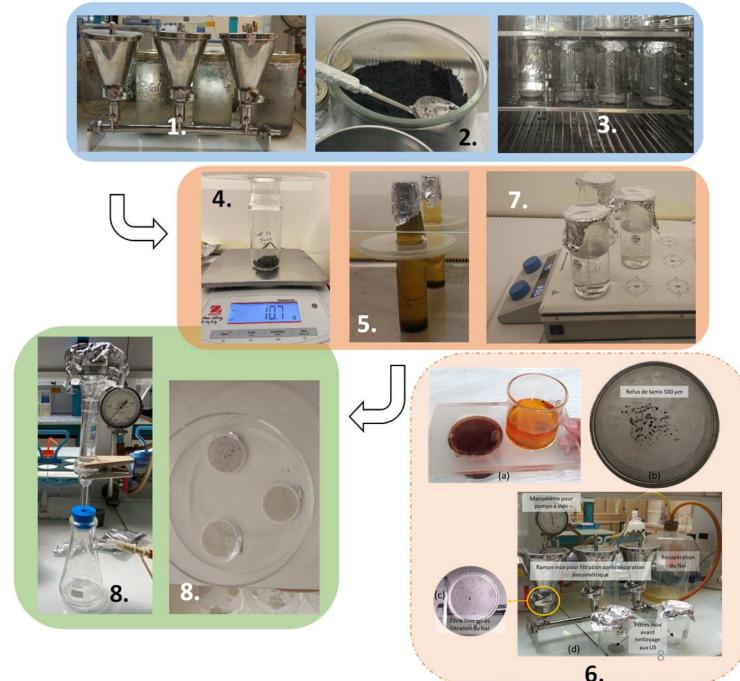


Figure 4 : Extraction des MES avant analyse des microplastiques par μ TFIR - protocole ENTPE.
Source : Lelay (2023).

² <https://anr-sedi-plast.univ-gustave-eiffel.fr/>

I.3.2. Analyse des microplastiques dans les eaux - filet 50 µm (EDYTEM)

- **Préparation des échantillons :**

La première étape est l'extraction des MP du mini-filet contenant l'échantillon. Pour ce faire, le mini-filet est retourné dans un pot en verre de 3 L (préalablement calciné à 525°C) et rincé abondamment avec de l'eau ultrapure filtrée sur un filtre GF/F (fibres de quartz - porosité 0,7 µm). L'échantillon passe alors à travers 2 tamis de maille 1 mm puis 10 µm. Les éléments piégés par le tamis 1 mm sont récupérés pour analyse en FTIR classique sans plus de traitement. Le refus du tamis 10 µm est transféré dans un pot en verre de 330 mL préalablement calciné et contenant une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , 15%) à 50°C. Cette étape est réalisée en chambre climatique pendant 3 à 5 jours et peut être répétée si l'opérateur suspecte des traces de matière organique résiduelle dans l'échantillon. A la fin de l'attaque oxydante, l'échantillon est passé sur un tamis 10 µm et rincé à l'eau ultrapure filtrée. Les microplastiques sont alors séparés de la matière minérale par une séparation densimétrique à l'aide d'une solution de bromure de sodium (NaBr) d'une densité de 1,60 g.cm⁻³. La séparation est faite par passage à la centrifugeuse à 1400 tr/min pendant 30 minutes. L'opération est répétée 3 fois. Après le tri densimétrique, l'échantillon est à nouveau rincé sur tamis 10 µm puis transféré sur filtre silicium (1 cm² - porosité 5 µm) et placé dans une boîte de pétri en verre à l'étuve à 45°C jusqu'à analyse.

NB : Si l'échantillon s'avère trop chargé (risque de superposition des particules), il est fractionné à l'aide d'une boîte de Motoda en inox. Cette étape permet de ne déposer que la moitié de l'échantillon sur le filtre et peut être répétée plusieurs fois. Cette technique favorise le comptage et l'identification des particules mais présente un risque de sous-estimation de la diversité de polymères présent dans l'échantillon.

- **Analyse par µFTIR :**

L'analyse par µFTIR est réalisée à EDYTEM selon le même principe et avec le même modèle de microscope que le LEHNA (FTIR Microscope Spotlight 400, Perkin-Elmer). Deux différences néanmoins, EDYTEM réalise l'analyse en réflectance et sur une gamme de nombre d'onde allant de 4000 à 650 cm⁻¹. L'analyse prend en moyenne environ 50 minutes.

- **Identification des MP avec le logiciel siMPLe :**

L'identification des MP se fait avec le même logiciel siMPLe mais en se basant sur notre propre base de données, développée pour la thèse de Julia Dusaucy (2023) sur la contamination en MP des lacs péri-lapins.

I.3.3. Analyse des microplastiques dans les eaux – Babylegs (HISA)

Les manipulations ont été réalisées dans les locaux de l'UMR 1208 IATE – université de Montpellier. Les collants sont retournés et rincés à l'eau du robinet au-dessus de 3 tamis superposés, avec des mailles respectives de 100 µm, 315 µm et 1 mm, ce qui permet d'une part, de faciliter l'extraction puis l'identification des particules et, d'autre part, de différencier des catégories de taille de particules. Le contenu de chaque tamis a été placé dans un bêcher, puis a subi plusieurs étapes :

- 1- Si besoin, mise en flottation dans un cylindre à décanter, dans une solution de $ZnCl_2$ à densité $d=1,5$;
- 2- Récupération et rinçage du fond du cylindre, filtration sur membrane en fibre de verre (47 mm) pour analyse visuelle de l'échantillon Bottom, en cas de sédimentation ;

- 3- Récupération, rinçage et digestion à l' H_2O_2 30% à 50°C du surnageant puis filtration sur membranes Anodiscs en alumine (taille 25 mm et porosité 0,2 µm) ;
- 4- Après capture de l'image des 35 anodiscs au stéréomicroscope SMZ18 Nikon :
 - a - Cartographie par demi-anodisc réalisée sur un µFTIR (Thermo Fischer, modèle Nicolet IN10, type de détecteur MCT refroidi à l'azote liquide), et un pas de détection fixé à 75 µm ;
 - b- Caractérisation des polymères de la partie "Top" (si besoin de mise en flottation préalable des échantillons) au µFTIR.
- 5- Comparaison des résultats cartographiques entre deux logiciels d'analyse pour caractériser les particules des tamis 315 µm et 100 µm : OMNIC Picta et siMPle.
 - a - Avec OMNIC Picta, la bibliothèque de spectres Hummel Polymer Sample, inclue dans le logiciel, a été complétée, en réalisant une bibliothèque à partir d'objets (rubalise, coton-tige, bouchon de bouteille, bolduc, scotch, filet de fruit, papier-bulle, pneu, sac plastique, mousse d'emballage, billes industrielles, support d'anodisc, lien de sac poubelle, gobelet en plastique, plaque industrielle, tuyau de conduit), récoltés dans l'environnement terrestre (afin de considérer qu'ils aient subi un vieillissement dans des conditions environnementales naturelles, e.g., radiations UV, érosion, lessivage par ruissellement, variations naturelles de températures, etc.). La cartographie des anodics a ensuite été analysée avec l'outil "wizard" qui sélectionne les particules par contraste. Le seuil de détection a été fixé à 100 µm.
 - b- Une cartographie infra-rouge a également été réalisée, acquise via le logiciel OMNIC Picta puis importée sur le logiciel siMPle pour analyse infrarouge. Le seuil de détection de siMPle est fixé automatiquement sur le pas de détection de 75 µm. La bibliothèque (ou base de données) utilisée est celle fournie par SiMPle (<https://simple-plastics.eu/>).

Dans les deux cas, le seuil du taux de corrélation entre les spectres observés et ceux des bibliothèques spectrales a été fixé à 70 %. Le pas de détection a été évalué après des tests, afin d'optimiser la durée d'analyse, fixé à 75 µm (soit 70 000 points de détection), soit un temps d'acquisition de 75 minutes (demi-anodisc) donc 3 heures pour un anodisc complet (40 000 points de détection pour un pas de 100 µm sur anodisc de 25 mm).

I.3.4. Analyse des nanoplastiques dans les eaux (Cerege)

La gamme de taille des nanoplastiques (< 1 µm) n'ayant pas été échantillonnée par les autres méthodes déployées dans ce projet, cette approche avait pour but de tester un protocole d'échantillonnage et d'analyse dédié à la détection de cette fraction. Trois types d'échantillon liquide ont été prélevés sur le terrain sur le Rhône. Il s'agit de :

- L'eau brute (stations d'Arles et d'Andancette) ;
- Le surnageant de centrifugeuse mobile (stations d'Arles et d'Andancette) ;
- Le surnageant de centrifugeuse fixe (station d'Arles).

La comparaison du signal de micro et nanoplastiques dans ces trois fractions repose sur l'hypothèse que l'eau brute contient le signal total, alors que le surnageant de centrifugeuse contient uniquement la fraction de taille de plastiques n'ayant pas décanté pendant la centrifugation, soit à peu près < 1 µm. De plus, les centrifugeuses fixes et mobiles étant alimentées par des tuyaux de matériaux différents (PVC de la station d'Arles/SORA pour la centrifugeuse fixe, et tuyau d'arrosage pour la centrifugeuse mobile), il était intéressant de comparer ces deux dispositifs.

Un volume de 20 L a été échantillonné pour chaque modalité étudiée, directement récupéré dans des jarres en verre de 20 L.

De retour au laboratoire, les échantillons de 20 L ont été préconcentrés par filtration tangentielle dans le but de réduire leur volume d'eau d'un facteur 100, tout en concentrant les fractions particulières d'autant. Pour cela, un kit de filtration à fibres creuses d'un seuil de coupure à 500 kDa (environ 20 nm) a été utilisé. Le matériau des fibres creuses est le polyester sulfone et les tuyaux de la pompe sont en silicium. L'échantillon final obtenu avait un volume de 20 mL. Le facteur exact de concentration a été déterminé par pesée avant et après la filtration.

Deux types d'analyse ont été testés :

1. Analyse chimique par pyrolyse GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) directement sur l'eau préconcentrée ;
2. Mesure de taille des micro et nanoplastiques après prétraitement.

Seule la première approche a pu être menée à terme, grâce à l'accueil de J. Labille dans l'unité IRL Takuvik à Québec en 2023. Cette période d'accueil a permis d'analyser les eaux échantillonnées à Arles et Andancette en février 2023, mais pas les eaux prélevées lors de la campagne en période de crue de janvier 2024. Un aperçu des résultats est présenté dans ce rapport.

La deuxième approche reposait sur l'élimination préalable des matières en suspension naturelles ultra fines de nature minérale ou organique, qui cohabitent avec les micro- et nano-plastiques dans les eaux préconcentrées. Une première étape d'oxydation par traitement H₂O₂ a permis d'éliminer la matière organique. Ensuite, une deuxième étape visait à séparer gravimétriquement les plastiques des particules minérales à l'aide d'une liqueur dense. Cependant, la spécificité des colloïdes minéraux micrométriques restant stables en suspension impliquait que cela soit réalisée sous centrifugation. Malheureusement, cette étape n'a pas pu aboutir, car les contenants en verre, utilisés pour prévenir une contamination plastique de l'échantillon, n'ont pas tenu la centrifugation. Ces derniers ont cassé, causant la perte de l'échantillon.

I.4. Prévention de la contamination et contrôles qualité

Les procédures pour prévenir la contamination des échantillons durant les étapes d'échantillonnage et d'analyse sont basées sur les mêmes principes dans les différents labo partenaires du projet. Il s'agit d'éviter le contact avec du matériel en plastique ou des vêtements synthétiques, de nettoyer le matériel spécifiquement (calcination, rinçage avec de l'eau microfiltrée), de travailler en laboratoire sous atmosphère contrôlée, et de réaliser des contrôles ou « blancs » régulièrement. Les précautions et contrôles mis en œuvre par chaque laboratoire sont détaillées ci-après.

- Pour le LEHNA, la prévention de la contamination est basée sur les procédures suivantes :
 - Choix et nettoyage du matériel : pas de matériel plastique, verrerie calcinée 550°C et protection avec feuilles d'aluminium, outils inox.
 - Travailler sous une hotte à flux laminaire ;
 - Porter une blouse en coton, des gants latex ;
 - Solutions microfiltrées : NaI, H₂O₂, eau.
 - Nettoyage ustensiles : eau – éthanol – eau microfiltrée.
 - Contrôles :
 - Blancs atmosphériques : 0 – 1 particule.
 - Blancs de manipulation (sans / avec matrice) : maximum 3 particules.

- Pour EDYTEM, voici les précautions mises en place :
 - Limiter au maximum l'usage du plastique ;
 - Limiter le temps de contact avec l'atmosphère en plaçant systématiquement une boîte de pétrie en verre sur les échantillons en attente ;
 - Faire des blancs réguliers ;
 - Travailler sous une hotte à flux laminaire ;
 - Utiliser de la verrerie nettoyée ;
 - Porter des vêtements en coton (même sous la blouse).
 - Contrôles: les blancs sont considérés comme normaux s'ils ne dépassent pas 3 particules pour les blancs labo et 10 particules pour les blancs terrains.
- Pour HISA, la prévention de la contamination a été réalisée selon les procédures suivantes :
 - Limitation des éléments constitués de plastique, avec du matériel en verre ou inox, et utilisation de blouse en coton ;
 - Limitation des déplacements des échantillons et protection des bêchers avec des feuilles d'aluminium en particulier pendant la digestion chimique ;
 - Travail sous hotte à flux laminaire ;
 - Emploi de solutions filtrées ;
 - Contrôle des contaminations potentielles sur des blancs (boîtes de Pétri) avec évaluation à chaque étape de manipulation par stéréo-microscope et µFT-IR.

Dans le cadre de ce projet, afin de contrôler la reproductibilité des méthodes, des analyses ont été réalisées en duplicat ou en triplicat sur plusieurs échantillons de MES. Les prélèvements d'eau de surface ont été réalisés en triplicats (cf. Tableau 1).

I.5. Stratégie expérimentale

Dans un premier temps, des échantillons « contrôles » de MES ont été prélevés (station d'Andancette sur le Rhône), et partagés entre trois laboratoires afin de comparer les résultats en termes de détection des microplastiques et de caractérisation des types de polymères.

Dans un second temps, plusieurs méthodologies de prélèvement des eaux de surface (différents modèles de filets, pompage, centrifugeuse en continu, piège à particules) ont été mises en œuvre simultanément sur plusieurs stations sur le Rhône (stations d'Arles et d'Andancette) et certains affluents dans des conditions hydrologiques contrastées.

Enfin, des campagnes spécifiques ont été réalisées à l'amont et à l'aval de Lyon.

I.5.1. Test inter-laboratoires sur un échantillon de MES

L'objectif était de comparer les méthodes employées en laboratoire pour l'extraction et l'identification des microplastiques dans un échantillon homogène de MES.

Nous avons préparé un échantillon de MES à partir d'un mélange d'échantillons de MES prélevés par PAP ou centrifugeuse, prélevés en janvier 2023 sur la station OSR d'Andancette sur le Rhône. Ces échantillons de MES ont été mélangés et homogénéisés en laboratoire, en utilisant du matériel propre en verre ou inox. Le sédiment humide a été réparti dans des flacons en verre ambré (100 mL), et préservés au frigo.

Afin de différencier la dispersion entre l'analyse intra-labo versus inter-laboratoires, le design initial était le suivant : chaque laboratoire a reçu 3 flacons de MES du matériel de référence (RM) et devait analyser les MP dans ces 3 flacons de MES en triplicat, en conditions de répétabilité. Ce qui donnait n=9 analyses par laboratoire.

Au final, les analyses de ces échantillons ont pu être réalisées par deux laboratoires partenaires du projet (LEHNA-ENTPE et EDYTEM). Du fait du temps nécessaire pour ces analyses, les analyses n'ont pas toutes été réalisées en triplicat.

I.5.2. Campagnes de terrain le long du continuum du Rhône

Deux campagnes ont été menées sur le Rhône, en régime de base et en crue, sur les stations d'Andancette (aval de Lyon) et d'Arles (SORA) à l'exutoire du Rhône ; et deux campagnes ont été effectuées en régime de base uniquement sur trois affluents du Haut Rhône (Ain, Fier, Canal de Savière) (Figure 1). Pour chacune des stations, différents systèmes d'échantillonnage ont été mis en œuvre en fonction des conditions hydrologiques (Tableau 1).

Les débits et flux de MES durant les périodes étudiées ont été obtenus à partir de la base de données des Observatoires en hydrologie (BDOH³) et sont représentés pour les stations d'Andancette et Arles en Annexe 1. Les dates des prélèvements ponctuels et par piège à particules sont aussi indiquées.

En régime de base – hiver/printemps 2023

- 08/02 : Rhône à Arles (MES 23 mg/L – débit moyen journalier 1069 m³/sec)
- 09/02 : Rhône à Andancette (MES 2,4 mg/L - débit moyen journalier 795 m³/sec)
- 17/04 : Fier à Motz (MES 2,6 mg/L - débit moyen journalier 56 m³/sec) ; et Canal de Savières à Conjux (turbidité 0 NTU)
- 15/06 : Ain à Pont-de-Chazey (turbidité 0 NTU - débit moyen journalier 23,6 m³/sec à Port-Galland)

En hautes eaux – hiver 2024

- 18/01 : Rhône à Arles (MES 35 mg/L - débit moyen journalier 2323 m³/sec)
- 19/01 : Rhône à Andancette (MES 128 mg/L – débit moyen journalier 2800 m³/sec)

Comme illustré sur les hydrogrammes présentés en Annexe 1, les conditions hydrologiques sont celles d'une montée de crue : le seuil de crue était dépassé à Andancette (> 1600 m³/s), mais pas à Arles (< 2900 m³/s) où les prélèvements ont été réalisés un jour avant. Le seuil de crue de chaque station correspond à la moitié de la valeur de son débit de crue biannuelle (Q2, période de retour deux ans) (Gruat *et al.*, 2023 ; valeurs des seuils en Annexe 3).

³ <https://bdoh.inrae.fr/OBSERVATOIRE-DES-SEDIMENTS-DU-RHONE/>

Tableau 1 : Récapitulatif des échantillons / modes d'échantillonnage testés lors des différentes campagnes sur deux stations le long du continuum du Rhône et sur trois affluents du Haut Rhône.
PAP : piège à particules ; CFI : centrifugeuse fixe ; CMO : centrifugeuse mobile ; FIL300 : filet manta 300 µm ; FIL 50 : dronamaran + filet 50 µm ; c50 : mini-filet 50 µm
v : régime de base ; v : crue

Station	PAP	CFI	CMO	FIL 300 (n=3)	Nano-filtration	Drona maran FIL 50 (n=3)	Babylegs (n=3)	Pompage + c50 (n=3)	Manuel + c50 (n=3)
Arles (Rhône)	v / v	v	v / v	v	v / v	v	v / v	v ^a / v	v RD + RG
Andancette (Rhône)	v / v		v	v	v / v	v	v / v	v	v RD + RG
Fier			v			v	v		
Canal Savières			-			v	v	v	
Ain			-			v	v ^b	v	
TOTAL (# échantillons)	4	1	4	6 ^b	5	15	18	13	12

a : prélèvement d'eau brute (via robinet de la station SORA) et n =1.

b : non analysés.

I.5.3. Campagnes de terrain en amont et aval de l'agglomération de Lyon

En complément, plusieurs campagnes d'échantillonnage ont été menées à l'amont et à l'aval de Lyon pour évaluer la variabilité des apports de microplastiques au niveau de l'agglomération. Trois stations de l'OSR ont été investiguées dans des conditions hydrologiques contrastées entre janvier et début juillet 2024 : la Saône à Caluire et Jons sur le Rhône (amont de Lyon), Andancette/St Vallier sur le Rhône à l'aval de l'agglomération lyonnaise (Cf. stage de Nathan Guiraud, 2024). Sur cette période, trois échantillons de MES ont été collectés sur chacune des trois stations à l'aide des pièges à particules exposés durant environ un mois.

Les débits et flux de MES durant les périodes étudiées ont été obtenus à partir de BDOH³ et sont représentés pour les stations de Jons et Andancette sur le Rhône, et la Saône à Lyon en Annexe 2. Les dates des prélèvements par piège à particules sont aussi indiquées.

De plus, une campagne spécifique a été organisée le 5 juillet 2024 afin de comparer l'échantillonnage par piège à particules avec des prélèvements manuels ponctuels (240 L) réalisés à l'aide d'un bidon en inox + entonnoir en inox + et mini-filet 50 µm (cf. Figure 2). Les prélèvements manuels ont été réalisés en rive droite et en rive gauche sur les trois stations.

I.6. Exploitation des résultats

I.6.1. Expression des résultats

En premier lieu, il est essentiel de s'accorder sur la manière dont les résultats sont exprimés dans les différents laboratoires. Suite aux premières analyses et à des échanges entre les partenaires du projet, les paramètres ont été harmonisés comme suit :

- ✓ Masse analysée = environ 3 g (masse sèche de MES)
- ✓ Type de polymère⁴ = 6 principaux PE, PP, PET, PA, PS, PVC + autres

Nombre total de particules (MP) exprimé par kg (de MES) ou m³ (d'eau filtrée)

Nombre total de polymères, abondance relative %

- ✓ Classes de taille = < 100, 100-300, 300-500, 500-1000, > 1000 µm

Expression des unités (nombre et masse) : Min, max, moyenne, médiane et erreur standard

- ✓ Fibre textiles non prises en compte
- ✓ Conversion en masse = Logiciel SiMPLe

Masse totale de particules ; concentration particules en mg/kg (ou µg/m³)

- ✓ Incertitudes = erreur standard relative calculée sur triplicats

I.6.2. Traitement des données

Les mesures des MP sont réalisées par µFTIR et l'exploitation des spectres infrarouges obtenus est réalisée avec le logiciel siMPLe, qui permet l'identification des MP par comparaison avec ceux d'une base de données de référence propre à chaque laboratoire (cf. partie I.3).

Ensuite, chaque laboratoire calcule le nombre de particules par kg de MES (masse sèche) ou par litre (en fonction du volume filtré lors de l'échantillonnage). Il s'agit de la concentration en MP ou abondance particulaire.

Ces données peuvent être converties en masse, en utilisant certaines hypothèses liées à l'estimation du volume particules plastiques et la densité des polymères, ce qui permet une estimation de la masse de MP par kg de MES ou par litre.

Enfin, en utilisant les données de débit et de concentration en MES à la station d'échantillonnage, il est possible de calculer les flux de microplastiques (MP) (en nombre et en masse), aussi bien pour les prélèvements ponctuels (filet ou manuel, par exemple) que pour les déploiements de plus longue durée (PAP). Ces flux sont estimés sur 24 heures pour les prélèvements ponctuels et sur un mois pour les PAP.

⁴ PE : polyéthylène, PP : polypropylène, PET : polyéthylène téréphthalate, PA : polyamide (nylon), PS : polystyrène, PVC : polychlorure de vinyle + autres (PMA : polyméthylacrylate, PU : polyuréthane, polyester, ...)

- Calcul des flux de microplastiques pour les prélèvements par filet/manuels (filtration 50 µm) :

Deux flux peuvent être estimés à partir des concentrations particulières (C_p) et massiques (C_m), exprimées en nombre ou en masse de MP :

$$Flux_{Cp}(p/s) = Q(m^3/s) \times C_p(p/L)$$

$$Flux_{Cm}(g/s) = Q(m^3/s) \times C_m(mg/L)$$

- Calcul des flux de microplastiques pour les prélèvements par pièges à particules (PAP) :

Concernant les pièges à particules, il s'agit de calculer un flux de MES à la station d'échantillonnage dans un premier temps. L'hypothèse forte de ce calcul est que le débit (Q) mensuel moyen et la concentration de MES mensuelle moyenne ($CMES$) sont représentatifs pendant la période de déploiement et uniformes sur le site étudié (Gruat et al., 2023).

Les flux de MES sont obtenus selon l'équation suivante (extraction directe de BDOH ; Thollet et al. 2021) :

$$Flux_{MES}(g/s) = Q(m^3/s) \times CMES(mg/L)$$

Les flux de MP sont ensuite estimés à partir des abondances particulières Ap (ou massiques Am) sur une temporalité déterminée (environ un mois pour la plupart des prélèvements) :

$$Flux_{Ap}(p/s) = Flux_{MES}(g/s) \times Ap(p/kg)$$

$$Flux_{Am}(g/s) = Flux_{MES}(g/s) \times Am(mg/kg)$$

II. Résultats

II.1. Test inter-laboratoires sur un échantillon de MES

Résultats stage Soline Lelay, LEHNA-ENTPE, 2023 (Figure 5) :

Les trois échantillons de comparaison inter-laboratoire MR-MES-AND-1/2/3 ont été analysés en triplicats ($n=9$). Les abondances particulières varient entre 50 000 et 100 000 MP/kg (masse sèche) pour la plupart des échantillons, sauf deux valeurs extrêmes. En moyenne, l'abondance particulaire est de 84 980 MP/kg (RSD 60%) entre les 3 flacons (RSD de 40 à 57% pour les triplicats de chaque flacon). La diversité des polymères identifiée varie entre 8 et 10 pour la plupart des échantillons (sauf une valeur faible à 6). Les profils d'abondance relative se ressemblent aussi, avec une forte présence de PVC, suivi du PP et PE. Ces résultats spécifiques réalisés sur un échantillon composite de MES prélevées sur la station d'Andancette (au sud de Lyon, sur le Rhône) seront confirmés dans la partie suivante (cf. section II.2).

Les résultats des premières analyses des différents échantillons de MES ont révélé une variation de l'abondance particulaire en fonction de la masse de la prise d'essai initiale. Plusieurs masses d'essais ont été testées (entre 3 g et 9 g). Une masse sèche de MES entre 3 et 4 g est retenue pour la suite de cette étude.

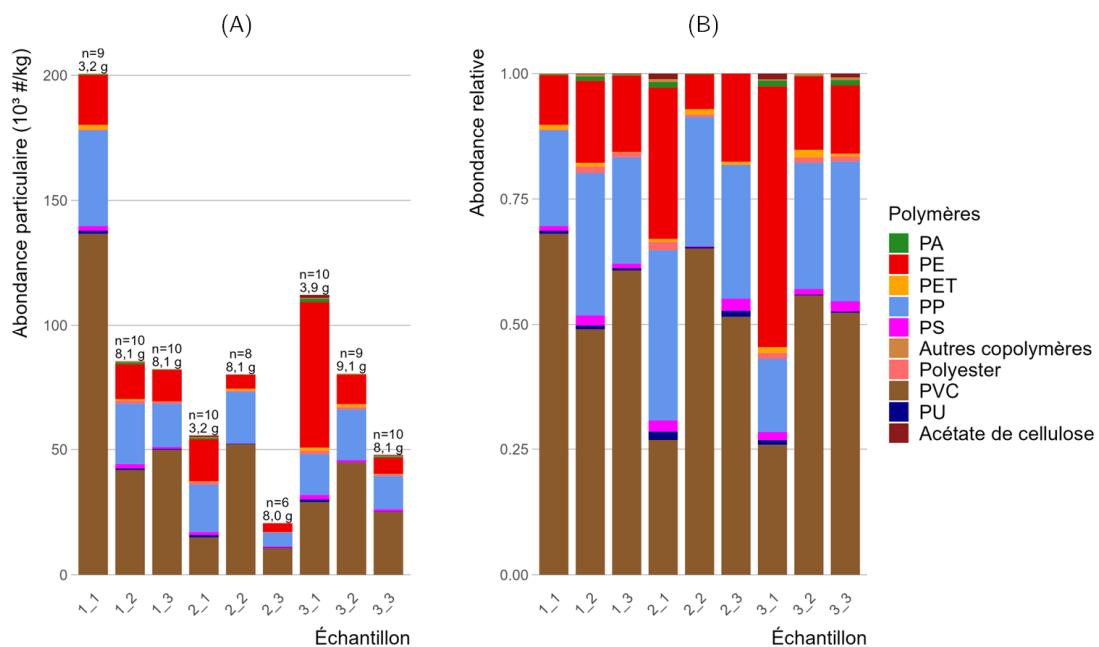


Figure 5 : Résultats de l'abondance particulaire (10^3 # MP/kg) en microplastiques (A) et abondance relative des polymères (B) d'échantillons de MES (matériel de référence) analysés en triplicat (3 analyses x 3 flacons du même échantillon) ; prise d'essai variable (3,2 – 9,1 g masse sèche) ; n= nombre de polymères identifiés (source : Lelay, 2023)

Résultats stage Nathan Guiraud, LEHNA-ENTPE, 2024 (Figure 6) :

Dans le cadre de l'apprentissage du protocole, les 3 échantillons de comparaison inter-laboratoire MR-MES-AND-1/2/3 ont été analysés une fois ($n=3$), avec une prise d'essai d'environ 4 g (masse sèche). Les abondances particulières de ce nouvel essai varient entre 76 000 et 90 244 MP/kg (masse sèche), ce qui confirme l'ordre de grandeur déterminé en 2023. La moyenne des abondances particulières est

de $84\,872 \pm 7\,740$ MP/kg (RSD 9%) ; avec entre 7 et 8 polymères identifiés selon les flacons. Les mêmes signatures sont retrouvées dans les trois échantillons analysés avec une majorité de PVC, une forte présence de PE, suivi par le PP et enfin du PS et PET en très faible abondance. Ces résultats démontrent donc une bonne répétabilité de la mesure, avec une prise d'essai qui permet d'avoir un compromis raisonnable entre la représentativité du sous-échantillon et le nombre d'analyses (filtres) à mesurer pour chaque réplicat.

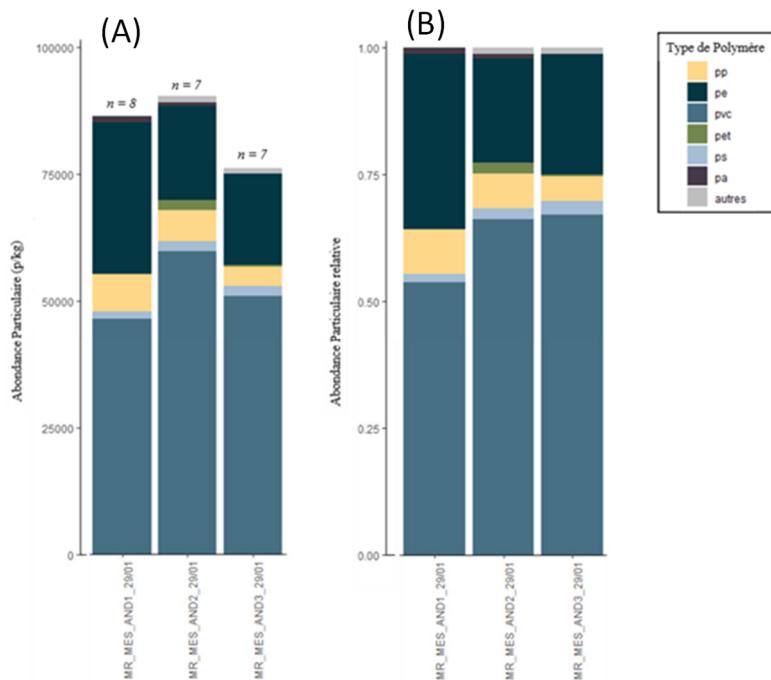


Figure 6 : Résultats de l'abondance particulaire en microplastiques (# MP/kg ms) (A) et abondance relative des polymères (B) d'échantillons de MES (matériel de référence) (une analyse sur 3 flacons différents) ; prise d'essai d'environ 4 g (masse sèche) ; n= nombre de polymères identifiés (source : Guiraud, 2024)

Résultats EDYTEM, 2023 (Figure 7) :

Les trois échantillons de comparaison inter-laboratoire MR-MES-AND-1/2/3 ont été analysés en triplicats ($n=9$). Les abondances particulières varient entre 88 000 et 330 000 MP/kg (masse sèche) pour la plupart des échantillons, sauf une valeur extrême à plus de 400 000 MP/kg (masse sèche). En moyenne, l'abondance particulaire est de 221 370 MP/kg (RSD 46%) entre les 3 flacons (RSD de 0, 21 et 37% pour les triplicats de chacun des 3 flacons). Même si les résultats varient fortement entre les échantillons, une relative homogénéité au sein des triplicats est constaté pour un même échantillon de référence. La diversité des polymères identifiés varie de 4 à 7. Les profils d'abondance sont caractérisés par une forte présence de PVC, suivi du PP et PE, ce qui est conforme aux analyses de l'autre laboratoire.

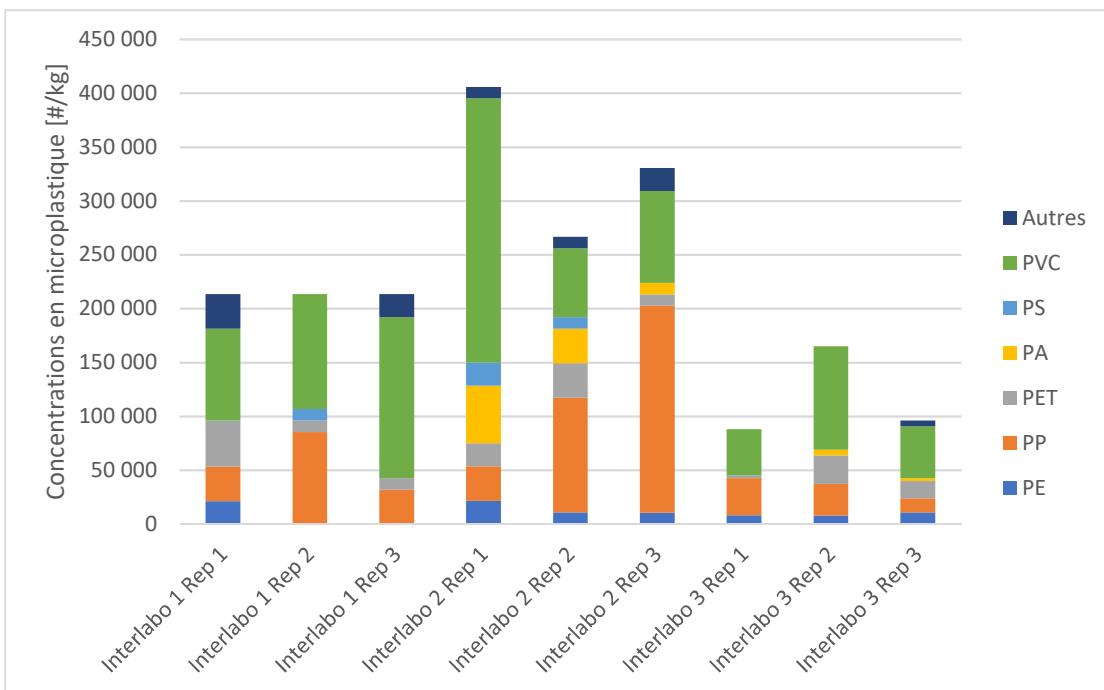


Figure 7 : Résultats de l'abondance particulaire en microplastiques (# MP/kg ms) d'échantillons de MES (matériel de référence) ($n=9$, trois analyses sur 3 flacons différents) ; prise d'essai d'environ 3 g (masse sèche) ; n = nombre de polymères identifiés (source : EDYTEM, 2023)

Les différences observées entre les deux laboratoires sont importantes, elles reflètent la difficulté d'estimation de l'abondance des MP dans les matrices solides (ici les MES). Néanmoins, on constate une certaine reproductibilité des analyses en triplicats réalisées sur un même échantillon. Pour le LEHNA-ENTPE, la moyenne des abondances particulières était de 84 980 MP/kg lors du premier essai ($n=9$) et de 84 872 MP/kg pour le deuxième ($n=3$), ce qui démontre une certaine homogénéité dans les estimations. Pour EDYTEM, l'abondance particulaire moyenne est de 221 370 MP/kg, soit 2,6 fois plus que pour le LEHNA-ENTPE. Ces différences de concentration sont comparables à celles d'une étude d'intercomparaison sur des sédiments marins où un facteur 2,4 est mis en évidence entre les valeurs hautes et basses estimées par 6 laboratoires (Gerigny et al., 2024). Néanmoins, il est difficile de comparer cette étude avec la nôtre étant donné la taille minimale des MP ciblées (dans la gamme 500 – 1 000 µm), la masse de la prise d'essai (50 g) ou l'absence d'information sur les méthodes d'extraction et d'analyse.

Dans notre étude, une certaine homogénéité au sein des triplicats est constatée pour un même échantillon de référence. La diversité des polymères est aussi globalement reproductible. Les profils d'abondance des deux laboratoires sont caractérisés par une forte présence de PVC, suivi du PP, PE, PET et PS, pour la plupart des échantillons. Compte tenu de ces différences, l'influence de la méthode d'extraction, des modalités d'analyse par FTIR (type de filtre et paramétrage) et de la base de donnée spectrale utilisée dans siMPle sont certainement des facteurs analytiques dont l'influence est à préciser.

A titre d'exemple, voici quelques éléments identifiés pendant la durée du projet, susceptibles d'influencer les abondances et la variabilité inter-laboratoires :

1. LEHNA-ENTPE analyse l'ensemble de l'extrait de l'échantillon (prise d'essai d'environ 3-4 g masse sèche) ce qui implique l'utilisation de plusieurs filtres (5 filtres environ) et augmente le temps/cout de l'analyse par μ FTIR.

EDYTEM travaille sur une prise d'essai similaire (3 g) mais fractionne l'extrait obtenu à partir d'un échantillon afin de réaliser une analyse à partir d'un seul filtre. Cette méthode permet de diminuer le temps et cout de l'analyse par μ FTIR car les filtres en silicium utilisés sont chers. Cette méthode conserve la diversité polymérique mais induit une incertitude plus grande sur le nombre total de particules. Cette incertitude augmente lorsque la quantité de MP est importante car l'échantillon doit être fractionné plusieurs fois. Cela explique la variabilité plus importante observée dans les échantillons analysés à EDYTEM.

2. LEHNA-ENTPE et EDYTEM travaillent avec le même modèle d'analyseur (microscope Spotlight 400 – PerkinElmer) mais les deux laboratoires travaillent avec des modes différents (transmission – réflectance) qui ont chacun leurs avantages et leurs inconvénients. L'utilisation de modes et de filtres différents jouent également sur les longueurs d'onde utilisées pour la reconnaissance de plastiques. Ainsi le LEHNA-ENTPE travaille de 3650 à 1250 cm^{-1} quand la base de données EDYTEM couvre la gamme 3600 – 700 cm^{-1} . Ces différences de mode et de base de données peuvent expliquer une partie des différences observées.

II.2. Comparaison des différentes méthodes d'échantillonnage Abondances des microplastiques dans les échantillons de MES prélevés par piège à particules et centrifugeuse en continue

- Résultats de la campagne de terrain en régime de base sur le Rhône (février 2023) :

A la station d'Arles, proche de l'embouchure du Rhône, l'abondance particulaire est comprise entre 10 100 et 83 500 MP/kg ; elle est plus élevée pour les MES prélevées par piège à particules (PAP) que pour les MES prélevées à l'aide des centrifugeuses en continue (fixe CFI ou mobile CMO) (Figure 8). La diversité des polymères est similaire entre ces échantillons ; avec trois polymères présents - PP, PE et PS (en abondance moindre) - comme attendu, mais également du PVC en forte proportion dans la plupart des échantillons. Cette présence de PVC nous a paru surprenante à premier abord ; en réalité cela a été confirmé par les mesures effectuées à l'aide d'un filet 50 µm (voir partie II.2.2).

A la station d'Andancette, au sud de l'agglomération lyonnaise, l'abondance particulaire varie entre 21 900 et 26 300 MP/kg, et elle est similaire pour les MES prélevées à l'aide de la centrifugeuse en continue (CMO) ou avec le piège à particules (Figure 8). La diversité des polymères est similaire entre ces deux échantillons (6 et 7 polymères respectivement). De même qu'à Arles, PP, PE et PVC sont les trois polymères majoritaires.

Bien que les conditions d'étiage soient assez favorables, il est difficile de comparer directement un prélèvement de type « ponctuel » réalisé avec une centrifugeuse sur quelques heures, avec celui des pièges à particules, qui représente un échantillon de MES intégré sur un mois. Pour obtenir une comparaison robuste, il serait nécessaire de réaliser plus de prélèvements ponctuels sur la période de déploiement du piège. Cela a été réalisé pour tester la représentativité des échantillons de MES prélevés pour l'analyse des métaux par exemple (Le Bescond et al. 2018 ; Masson et al. 2018). Malheureusement cela n'était pas envisageable dans le cadre du présent projet, car une telle comparaison systématique nécessite un trop grand nombre d'analyses. Néanmoins, comme indiqué ci-après, les résultats obtenus lors de prélèvements réalisés en crue semblent confirmer la capacité du piège à collecter les MP de manière représentative.

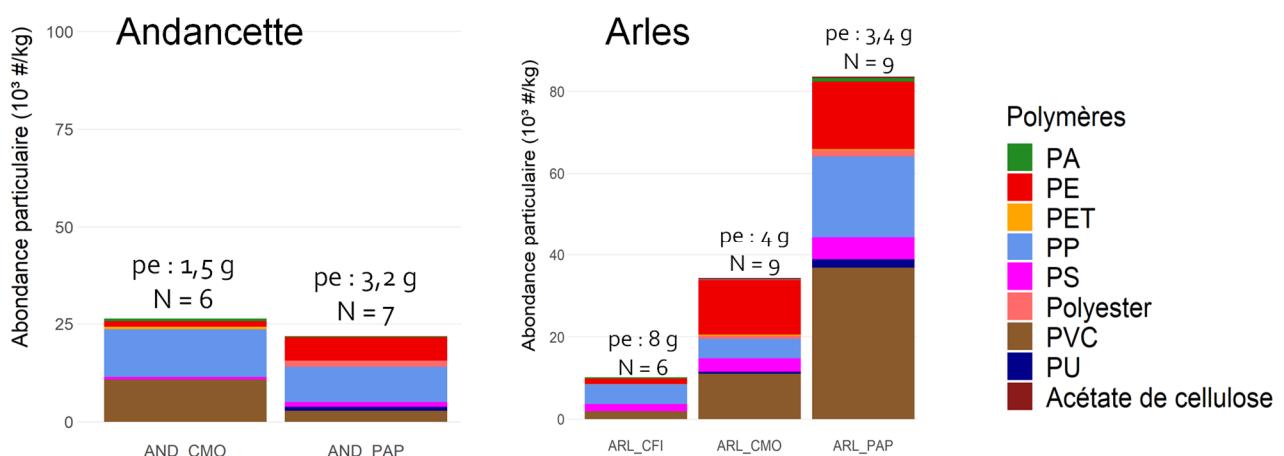


Figure 8 : Abondances particulières (10^3 # MP/kg) des échantillons de MES prélevés par piège à particules (PAP) ou centrifugeuse fixe (CFI) ou mobile (CMO) à Andancette et à Arles sur le Rhône (février 2023). Source : Lelay et al. (2023).

- Résultats de la campagne de terrain en crue sur le Rhône (janvier 2024) :

En crue, à la **station d'Arles**, l'abondance particulaire varie entre 35 000 et 36 700 MP/kg pour le prélèvement par centrifugeuse ou par piège à particules, respectivement ; elle est donc similaire pour les MES prélevées à l'aide de la centrifugeuse mobile (CMO) ou avec le piège à particules (cf. Figure 16). La diversité des polymères est similaire entre ces deux échantillons (8 et 6 polymères respectivement). On retrouve des proportions similaires à ce que nous avons observé en régime de base, avec les polymères PP, PE et PVC largement majoritaires, puis viennent PS, PA et PET.

Malheureusement, lors de cette deuxième campagne sur le Rhône, la centrifugeuse fixe n'était plus fonctionnelle à Arles ; et la centrifugeuse mobile a eu un problème électrique qui a empêché la récupération d'un échantillon de MES sur la station d'Andancette.

Ces premiers résultats de comparaison entre piège à particules et centrifugation pour la mesure des MP dans les MES collectées sont tout à fait encourageants, ce qui nous a mené à poursuivre les expérimentations à partir des pièges à particules déployés sur le réseau de suivi de l'OSR, comme nous le présentons dans la partie II.2.6.

II.2.2. Abondances des microplastiques mesurés après prélèvement manuel ou par pompage, suivi d'une filtration 50 µm *in situ*

- Résultats de la campagne de terrain en crue sur le Rhône (janvier 2024) - répétabilité de la mesure et étude de l'homogénéité de la section :

Les résultats en termes d'abondances particulières dans les échantillons d'eau prélevés manuellement ou par pompage et filtré *in situ* (50 µm) à Arles et Andancette sont présentés dans la Figure 9.

A la station d'Arles, on obtient une bonne répétabilité de la mesure pour les prélèvements réalisés par bidon + filtration en rive droite ($CV = 29\%$) et en rive gauche ($CV = 30\%$) du Rhône. Les prélèvements par pompage + filtration sont nettement plus variables ($CV = 98\%$) ; de même, la signature est assez variable avec un changement de polymère dominant pour un des échantillons (PVC → PET). Pour les prélèvements manuels, on retrouve des proportions de polymères similaires à ce que nous avons observé précédemment, avec les polymères PP, PVC et PE majoritaires, mais avec aussi une présence notable de PET.

Les résultats sont également similaires entre les deux rives comme l'indiquent les moyennes et écarts type de l'abondance particulaire calculés pour les triplicats réalisés pour chaque technique/point de mesure :

$$[MP]RD = 3\ 300 \pm 1\ 000 \text{ MP/m}^3$$

$$[MP]RG = 3\ 400 \pm 1\ 000 \text{ MP/m}^3$$

$$[MP]POMPE = 4\ 800 \pm 4\ 700 \text{ MP/m}^3$$

A la station d'Andancette, on observe une relativement bonne répétabilité de la mesure ($n=3$) d'abondance particulaire pour les échantillons prélevés à l'aide de bidon + filtration en rive droite ($CV = 42\%$) et en rive gauche ($CV = 52\%$) du Rhône. Les prélèvements par pompage + filtration sont un peu plus variables ($CV = 75\%$).

Globalement, les résultats sont similaires sur les deux rives, comme l'indiquent les moyennes et écarts type de l'abondance particulaire calculés pour les triplicats réalisés pour chaque technique/point de mesure :

$$[\text{MP}]_{\text{RD}} = 8\,200 \pm 3\,500 \text{ MP/m}^3$$

$$[\text{MP}]_{\text{RG}} = 11\,200 \pm 5\,800 \text{ MP/m}^3$$

$$[\text{MP}]_{\text{POMPE}} = 7\,900 \pm 5\,900 \text{ MP/m}^3$$

La contribution des différents polymères est relativement constante et similaire sur les deux rives pour les prélèvements manuels (PP, PVC, PE + PET). Les proportions sont plus variables pour le prélèvement à la pompe, avec une disparition du PVC dans certains échantillons qui paraît surprenante. Les prélèvements manuels ont été réalisés sur un temps très court, puisqu'ils prennent environ 5 min chacun. Les prélèvements avec la pompe étaient de 30 min chacun, donc les triplicats ont été réalisés sur une durée plus longue et le tuyau de prélèvement n'était pas situé exactement à la même profondeur entre les différents prélèvements.

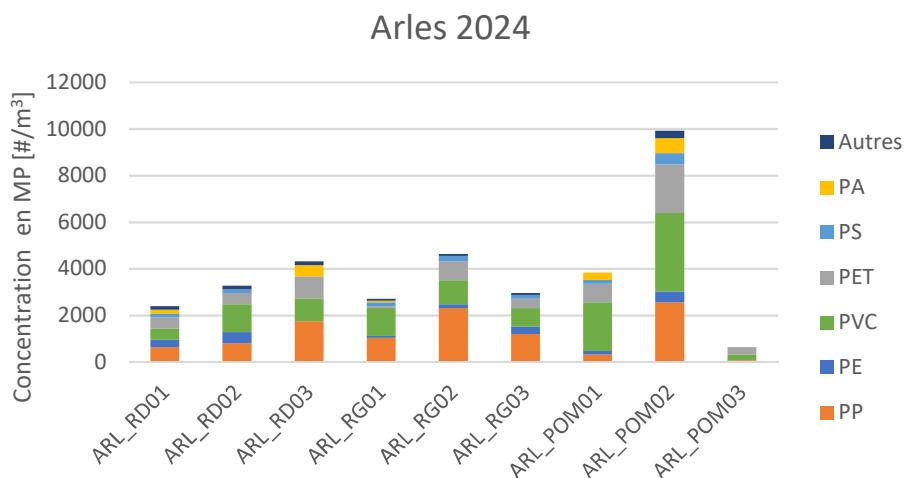
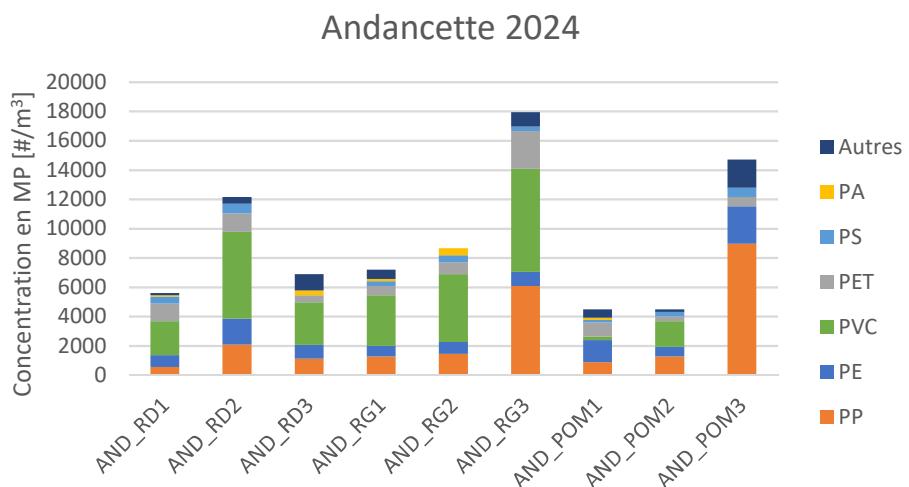


Figure 9 : Abondances particulières (# MP/m³) des échantillons d'eau prélevés manuellement ou par pompage et filtrés à 50 µm à Andancette et à Arles sur le Rhône (janvier 2024) ; prélèvements manuels en rive droite (RD) ou rive gauche (RG) et prélèvement par pompage (POM) ; (n=3 pour chaque mode de prélèvement).

En conclusion, cette expérimentation réalisée en période de crue sur deux stations sur le Rhône a permis de démontrer la faisabilité d'un échantillonnage manuel avec filtration 50 µm direct *in situ* pour la mesure des MP. Pour ces deux stations de l'OSR, les résultats montrent une faible dispersion des résultats de MP, en termes d'abondance particulaire totale et de proportion des différents polymères, entre les triplicats de prélèvement d'une part, et entre la rive droite et la rive gauche du fleuve, d'autre part. Cela conforte le choix des stations de l'OSR pour un suivi des MP sur le Rhône, puisque leur localisation avait été définie après vérification de l'homogénéité de la lame d'eau en particulier en période de hautes eaux, qui correspondent au pic de flux de MES (Launay, 2014). Ce mode d'échantillonnage est rapide et facile à réaliser, mais il se limite à des prélèvements d'eaux de surface à proximité des berges.

II.2.3. Variabilité spatiale et temporelle des concentrations en microplastiques par filtration à 50 µm

Les différents échantillonnages des eaux réalisés par dronamaran-filet 50 µm permettent de comparer les abondances en MP observées sur deux stations dans le Rhône (Andancette et Arles) et plusieurs affluents du Haut Rhône (Figure 10). Ces résultats confirment que la contamination du Rhône et de ses affluents est extrêmement contrastée spatialement et en fonction des conditions hydrologiques.

Les relativement faibles contaminations du Fier et du Canal de Savière, affluents du Rhône depuis le Lac d'Annecy et le lac du Bourget respectivement, sont cohérentes avec celles mesurées dans ces lacs et leurs tributaires dans le cadre de la thèse de Julia Dusaucy (2023). La concentration en MP est plus élevée dans le Rhône, notamment à la station d'Andancette, où elle atteint les valeurs maximales observées à l'étiage et surtout en crue. L'abondance importante de PVC observée en crue à cet endroit (cf. Figure 9) laisse supposer la présence de sources spécifiques, notamment des industries situées dans le couloir de la chimie à Lyon, qui expliquerait ces fortes contaminations, avec ensuite un effet de dilution vers l'aval. La synthèse du PVC est une activité historique dans cette région, avec deux unités de production majeures, dont la principale produit plus de 300 000 tonnes par an (Dhivert et al., 2024).

Les concentrations en MP augmentent fortement pendant la période des hautes eaux, un phénomène fréquemment observé. Cette hausse peut s'expliquer par différents processus à l'échelle du bassin versant et de la bande active du cours d'eau. Dans le bassin versant, le lessivage des sols et des surfaces imperméables entraîne les plastiques déposés vers les cours d'eau. Dans le fleuve ou ses affluents, la remobilisation des sédiments contaminés et l'augmentation de la fragmentation des plastiques sous l'effet des contraintes de cisaillement dans l'écoulement contribuent à cette élévation des concentrations. Néanmoins, ces résultats sont à prendre avec du recul puisqu'il s'agit d'échantillons ponctuels pouvant, par définition, être impactés par des phénomènes transitoires.

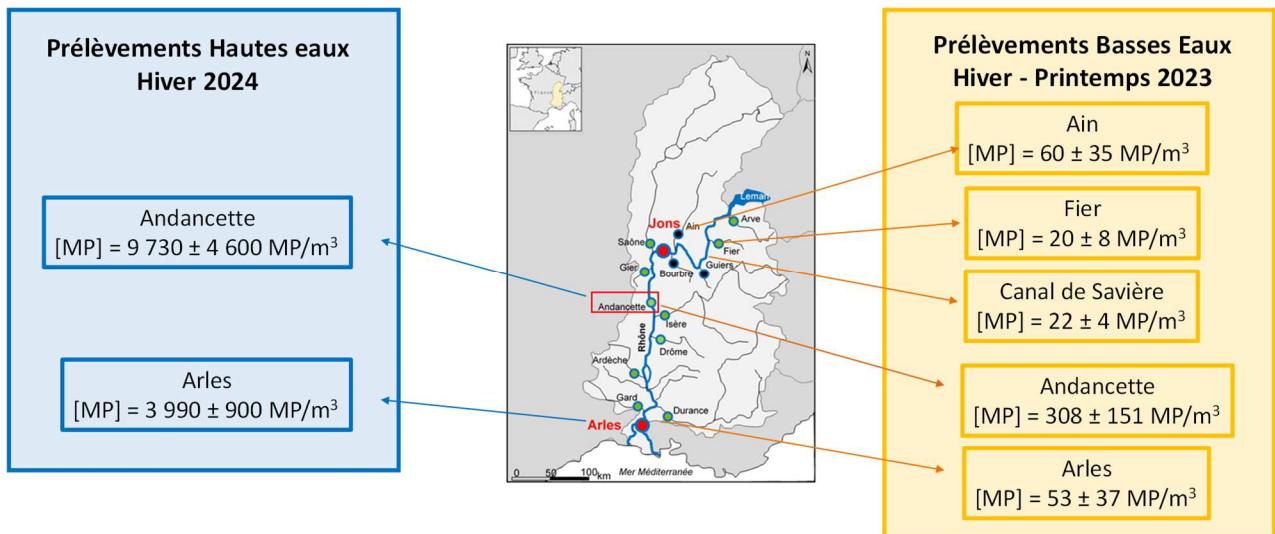


Figure 10 : Abondances particulières (# MP/m³) des échantillons d'eau prélevés par dronamaran + filet 50 µm en basses eaux et par prélèvement manuel en crue lors de différentes conditions hydrologiques sur le Rhône à Andancette et à Arles et sur trois affluents.

Le projet a aussi été l'occasion de comparer les prélèvements au dronamaran et à la pompe. Cette comparaison n'a pu être réalisée qu'en période de basses eaux à cause de la faible vitesse de déplacement du drone (non adaptée aux vitesses d'écoulement en crue). Il est à noter que même si les prélèvements sont faits à proximité, ils ne sont pas pour autant identiques. Le pompage a lieu au bord du cours d'eau et à environ 20 cm de profondeur (profondeur réglable). Le drone peut se décaler de la berge et se placer à environ 5 mètres du bord. Le filet filtre les 12 cm de surface. Les durées de prélèvements varient également. Elles sont d'environ 5 minutes pour filtrer 6 à 7 m³ avec le dronamaran et d'environ 30 minutes pour pomper 1 m³. Ces différences d'échantillonnage peuvent expliquer en partie les différences de résultats obtenus avec les deux méthodes.

Ainsi, à Pont d'Ain (Figure 11), les concentrations moyennes observées à la pompe ($180 \pm 80 \text{ MP/m}^3$; CV = 44%) sont environ 3 fois supérieures à celles mesurées au filet ($60 \pm 35 \text{ MP/m}^3$; CV = 59%). Les diversités polymériques sont également différentes. Le filet montre une prédominance de PP (33%), suivi du PE (25%) puis du PVC (15%) et PS (12%), alors que la pompe présente des proportions similaires de PP, PET et PVC (24%). Ces différences sont encore plus marquées dans le Canal de Savières (Figure 12) où les concentrations moyennes ($925 \pm 500 \text{ MP/m}^3$; CV = 54%) dans les échantillons prélevés à la pompe sont 42 fois supérieures à celles du filet ($22 \pm 4 \text{ MP/m}^3$; CV = 19%). Là encore, les abondances polymériques sont différentes avec une majorité de PP (34%) et de PA (32%) pour le filet, et une majorité de PE (48%) et de PP (40%) pour la pompe. Plus étonnant, la signature polymérique est très variable entre les échantillons prélevés à la pompe : le PE est absent d'un échantillon et représente plus de 900 MP/m³ dans un autre. Ces différences pourraient s'expliquer par une contamination de la pompe ou par l'aspiration d'un méso-plastique. L'utilisation d'une pompe pose en effet la question de l'effet des éléments mobiles (roue/hélice) sur la fragmentation des particules en entrée. Par ailleurs, les essais de réalisation de blancs terrain avec la pompe ont été peu concluants, les blancs présentant des quantités significatives de microplastiques. Une piste d'amélioration potentielle est l'utilisation d'un tuyau plus court et plus facile à nettoyer que celui utilisé pour nos essais.

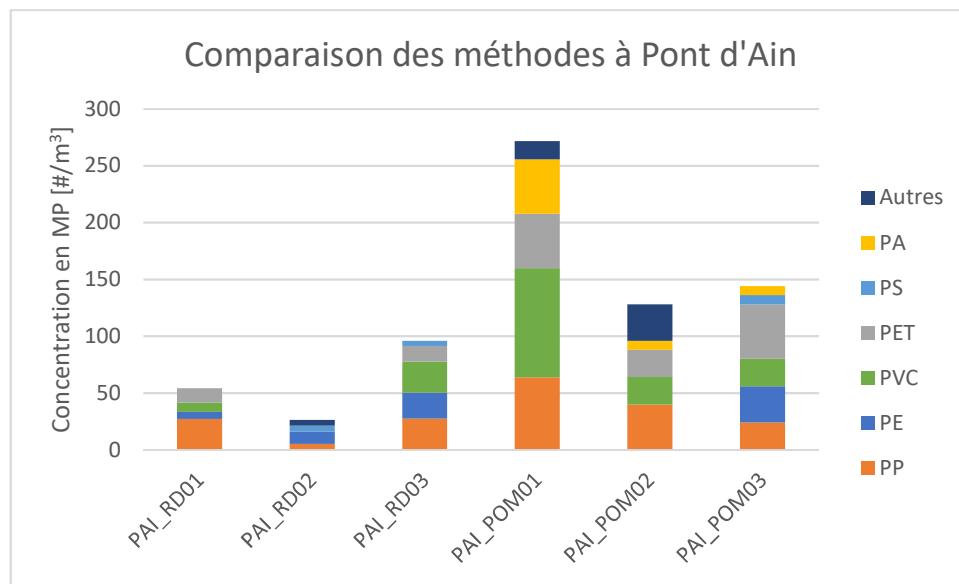


Figure 11 : Abondances particulières (# MP/ m³) des échantillons d'eau prélevés par filet 50 µm à Pont d'Ain en période de base (2023) ; prélèvements par dronamaran en rive droite (RD) et prélèvement par pompage (POM) ; (n=3 pour chaque mode de prélèvement).

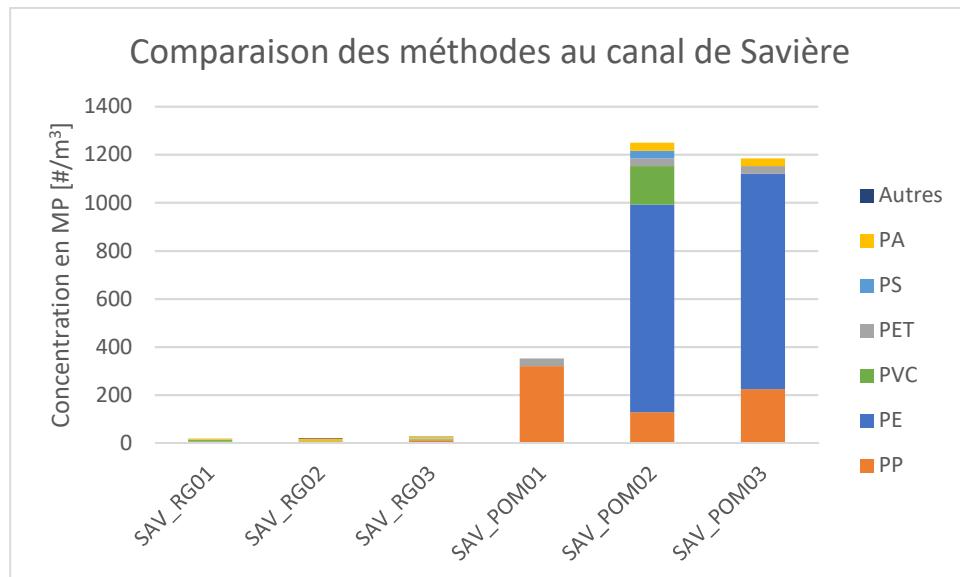


Figure 12 : Abondances particulières (# MP/ m³) des échantillons d'eau prélevés par filet 50 µm au canal de Savière en période de base (2023) ; prélèvements par dronamaran en rive gauche (RG) et prélèvement par pompage (POM) ; (n=3 pour chaque mode de prélèvement).

II.2.4. Concentrations et composition des microplastiques prélevés par babylegs

Résultats fournis par La Pagaie Sauvage :

L'association met en œuvre un protocole d'analyse des MP inspiré de celui de la NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration USA ; Masura et al., 2015). Après un tamisage des échantillons sur tamis de 5 mm et 0,3 mm, l'échantillon est passé 24 h en digestion chimique avec du peroxyde d'hydrogène 35 % sur plaque chauffante à 50°C. Le mélange est ensuite soumis à une

séparation de densité par NaCl. Les particules sont ensuite comptées visuellement au stéréomicroscope et classées par couleur et classe de tailles, excluant les fibres synthétiques.

Seuls deux échantillons ont pu être analysés par La Pagaie Sauvage :

- Celui de Arles prélevé le 8/2/2023: seulement 4 microparticules ont été retrouvées. L'association fournit une description de couleur : 3 translucides et 1 blanche. Elle décrit également la forme : 2 anguleuses, 1 film et 1 mousse, et note retrouver moins de 10 fibres.

- Celui d'Andancette prélevé le 9/2/2023, dans lequel aucune particule n'a été retrouvée.

Les observateurs suggèrent que les volumes filtrés étaient certainement trop faibles ou le temps de déploiement trop court pour obtenir assez de matière. Pour rappel, ces deux échantillons ont été prélevés en régime de base (relativement faible débit et vitesse de courant) (cf. section 1.5.2).

Comparaison des résultats entre logiciels (Omnic et siMPle) :

Les résultats diffèrent grandement selon le logiciel de traitement des données utilisé. Le nombre de particules détectées est très inférieur avec Omnic qu'avec siMPle (26 versus 1010), et les deux logiciels n'identifient pas les mêmes types de polymère (Cf. Annexe 3). Ils évaluent donc une abondance totale en particules et une distribution différente des polymères selon les sites et les dates de prélèvements (Figure 13). Nous pouvons retenir ici les résultats obtenus avec le logiciel siMPle également employé par de nombreux laboratoires, dont les partenaires de ce projet.

La Figure 14 détaille les abondances particulières moyennes des différents polymères des échantillons d'eau prélevés sur le Rhône à Andancette et à Arles et sur trois affluents.

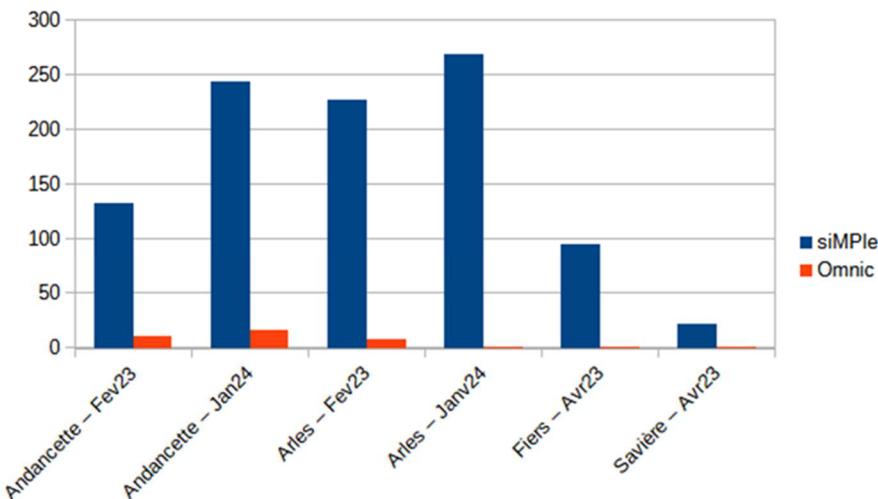


Figure 13 : Abondance particulaire totale (# MP) des échantillons d'eau prélevés par Babylegs à partir des logiciels Omnic (rouge) et siMPle (bleu) par site et date de prélèvement (différentes conditions hydrologiques sur le Rhône à Andancette et à Arles et sur deux affluents)

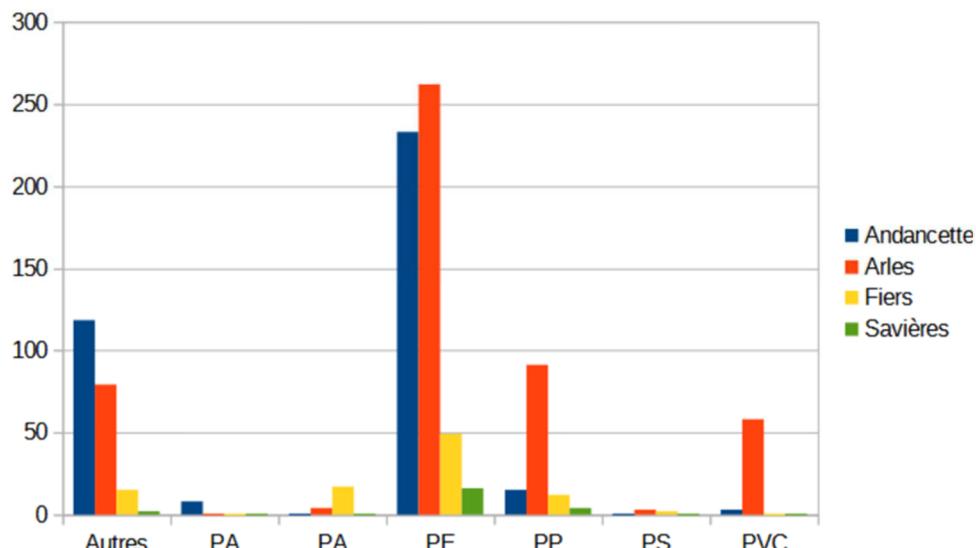


Figure 14 : Abondance particulière totale (# MP) par polymère des échantillons d'eau prélevés par Babylegs (logiciel siMPle) classés par site de prélèvement (différentes conditions hydrologiques sur le Rhône à Andancette et à Arles et sur deux affluents)

Discussion :

En comparaison des filets Manta (lourds et nécessitant une traction ou un courant conséquent pour que le dispositif ne coule pas), le Babylegs, léger, est très facile à mettre en œuvre. Il doit toutefois être adapté pour se maintenir en surface. Certaines associations intègrent des flotteurs, mais la dégradation de ceux-ci pourrait contaminer les échantillons. L'attache à une perche facilite l'échantillonnage depuis une plateforme.

Lors des campagnes de terrain, un des échantillons prélevés en triplicat était prévu pour analyse par La Pagaie Sauvage. Seuls deux échantillons ont pu être analysés par l'association, la quantité de matière collectée dans les autres échantillons étant insuffisante pour mettre en évidence des MP, peut-être parce que le courant n'était pas assez fort ou que le filet n'a pas été laissé suffisamment longtemps pour collecter une quantité suffisante. La durée d'échantillonnage pourrait être adaptée au débit, mais cela reste à préciser. Le dispositif ne peut être employé que lors de débits modérés mais le cadre d'échantillonnage doit être défini.

En laboratoire, le risque de contamination par les collants, la bonbonne et les flotteurs peut être pris en compte en retirant ces types de polymères ou en employant des matériaux colorés pour mieux distinguer et retirer les particules potentiellement émises.

Les résultats diffèrent grandement entre les logiciels d'analyse en µFTIR : le nombre de particules détecté est très supérieur avec le logiciel siMPle en comparaison au logiciel Omnic (1010 vers 26). Des expérimentations de détectabilité sur des échantillons avec des particules de microplastiques connus, préalablement insérés dans des échantillons, seraient nécessaires pour évaluer la fiabilité des logiciels dans ce contexte de collecte.

Les résultats obtenus avec le logiciel siMPle, très communément employé comme le rapporte la littérature scientifique, montrent une grande variation sur le nombre de particules détectées et le type de polymères identifiés, en fonction des localisations et des dates. Les données de courant lors des prélèvements ne sont pas disponibles pour interpréter les données plus avant.

II.2.5. Analyse chimique des nanoplastiques par pyrolyse GC-MS

Les données d'analyse par pyrolyse GC-MS des eaux d'Arles échantillonnées le 8 février 2023 sont présentées en Figure 15. Les trois types de collecte d'eau sont comparés, ainsi qu'un blanc obtenu par filtration tangentielle d'une eau ultrapure (mode opératoire similaire à celui appliqué aux échantillons d'eau). D'un point de vue qualitatif, les patterns de polymère plastique identifiés uniquement dans l'eau brute (donc absent des surnageants de centrifugation et du blanc) correspondent aux microplastiques effectivement éliminés de l'eau lors de l'étape de centrifugation. En complément, les patterns de polymère plastique identifiés dans l'eau brute et dans les eaux de surnageant de centrifugation, mais absents du blanc, correspondent à la fraction nanoplastique non éliminée de l'eau par la centrifugation.

Ces patterns se caractérisent par la présence de monomères formés lors de la pyrolyse du polymère plastique. Certains monomères indicateurs d'un polymère parent spécifique sont reportés sur la Figure 15. Par exemple, le toluène couplé au styrène, et surtout l' α -méthylstyrène sont indicateurs du polystyrène parent. Le 2,4 diméthyle 1 heptène est indicateur du polypropylène. Les décènes sont indicateurs du polyéthylène.

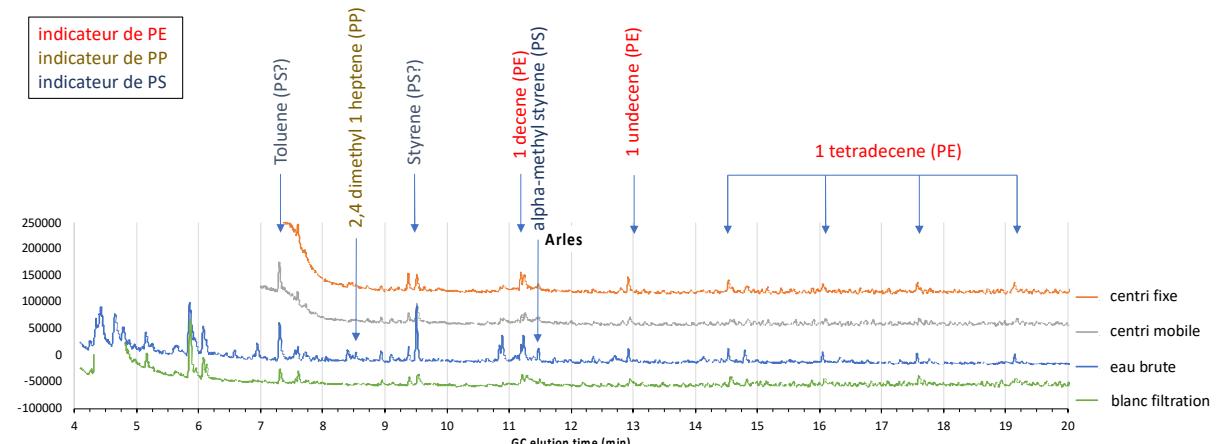


Figure 15 : Analyse par pyrolyse GC-MS des micro et nanoplastiques dans l'eau d'Arles (prélèvement en régime de base, février 2023)

Ainsi, ces données révèlent que :

- le polystyrène est essentiellement retrouvé sous forme de microplastique, car identifié seulement dans l'eau brute au-dessus du bruit de fond.
- le polypropylène est majoritairement retrouvé sous forme de microplastique dans l'eau brute, mais également faiblement rémanent dans le surnageant de centrifugeuse fixe, donc possiblement sous forme nanoplastique.
- Le polyéthylène est détecté dans l'eau du blanc, ainsi que dans les trois eaux d'échantillon. Son signal est plus intense dans l'eau brute, indiquant la forme microplastique, mais également dans le surnageant de centrifugeuse fixe, suggérant aussi la forme nanoplastique.

Il est intéressant de remarquer que le signal sur le surnageant de la centrifugeuse mobile est plus proche du bruit de fond que celui de la centrifugeuse fixe. Cela amène à se questionner quant à la possible contamination plastique par les tuyaux de la station SORA qui alimentent la centrifugeuse fixe.

Ainsi, les formes nano du PE et du PP retrouvées dans son surnageant pourraient ne pas être issues de l'eau du Rhône.

Les mêmes analyses par pyrolyse-GCMS ont été réalisées sur les échantillons d'eau d'Andancette prélevés le 9 février 2023 (données non présentées). Deux types d'eau ont été prélevés à cette station, l'eau brute, et le surnageant de centrifugeuse mobile. Les données mesurées révèlent :

- La présence de polystyrène dans les fractions d'eau brute et surnageant de la centrifugeuse mobile, révélé par un signal modéré, à peine supérieur au bruit de fond et peu reproductible. Cela suggère une concentration faible dans les fractions nano et microplastique.
- L'absence totale de polypropylène dans les eaux analysées, donc ni nano ni micro. Cette absence de signal est contradictoire avec les analyses de microplastique dans les MES par micro-FTIR présentées en Figure 8.
- La présence de polyéthylène fortement détecté dans l'eau brute, mais à peine détecté dans le surnageant de la centrifugeuse. Cela suggère sa distribution essentiellement sous forme de microplastique.

Cette approche a permis de démontrer l'intérêt de coupler l'analyse chimique par pyrolyse GC-MS sur un échantillon liquide à un mode de fractionnement de l'eau en amont (centrifugation pour la séparation nano / micro). Cette analyse se faisant sur l'eau brute sans limite de taille des micro ou nanoplastiques, cela permet d'investiguer une gamme de taille de plastiques en deçà de la limite de détection permise par microscopie FTIR.

L'interprétation quantitative des données de pyrolyse GC-MS n'a pas été envisagée dans cet essai, car cela impliquerait un temps d'optimisation considérable, avec notamment la calibration de l'appareil sur des échantillons de plastiques connus, de polymères variés et dans des matrices environnementales complexes. Elle pourrait cependant constituer un pan de recherche future.

II.2.6. Comparaison des prélèvements intégratifs par piège à particules versus prélèvements ponctuels pour évaluer le gradient amont-aval de l'agglomération lyonnaise

II.2.6.1. Prélèvements par pièges à particules (PAP)

Le bilan amont – aval de l'agglomération de Lyon, réalisé à l'aide de prélèvements par piège à particules entre janvier et juin 2024, montre la capacité de ces systèmes à intégrer la pollution plastique (stage Guiraud, 2024). Pour rappel, chaque PAP a été déployé sur une période d'environ un mois ; à chaque station, les 3 déploiements réalisés couvrent des conditions hydrologiques plutôt de hautes eaux ou crues, et un débit moyen plus faible en mars à Jons sur le Rhône, et en mars et surtout en juin pour la Saône (cf. Annexe 2). La Figure 16 présente l'abondance particulaire et la diversité polymérique des différents échantillons de MES prélevés aux stations de Jons et de la Saône à l'amont de Lyon, et d'Andancette à l'aval. Les résultats des prélèvements réalisés à la station d'Arles en janvier 2024 lors d'une montée de crue sont également présentés sur cette figure (cf. section II.2.1).

Un duplicat d'analyse a été réalisé pour l'échantillon de MES prélevé à Jons (prise d'essai 3 g ms) et montre une bonne répétabilité de la mesure (29 000 et 25 000 MP/kg ms et n=4 polymères) (Figure 16).

Les abondances particulières restent relativement proches entre les sites de Jons et de la Saône à l'amont de Lyon, avec des moyennes respectives de 22440 MP/kg et de 17070 MP/kg. C'est sur la station de la Saône où l'on retrouve les abondances particulières les plus faibles. En revanche, les abondances d'Andancette et d'Arles sur le Rhône doublent voire triplent par rapport à certains échantillons de l'amont. Elles sont de 31190 MP/kg en moyenne à Andancette et de 36667MP/kg à Arles. Ces stations, localisées en aval de l'agglomération de Lyon, montrent également les diversités polymériques les plus importantes avec en moyenne une diversité de 7 contre 5 en amont. Nous observons en particulier la forte augmentation de l'abondance du PVC à partir de la station d'Andancette, alors qu'il était peu détecté dans les deux stations à l'amont de Lyon. Cette abondance de PVC a également été détectée dans les prélèvements par filet de 50 µm (cf. II.2.3) et sur des archives sédimentaires (Dhivert et al., 2024), ce qui conforte notre hypothèse de sources spécifiques de PVC, en lien avec l'activité du couloir de la chimie à Lyon.

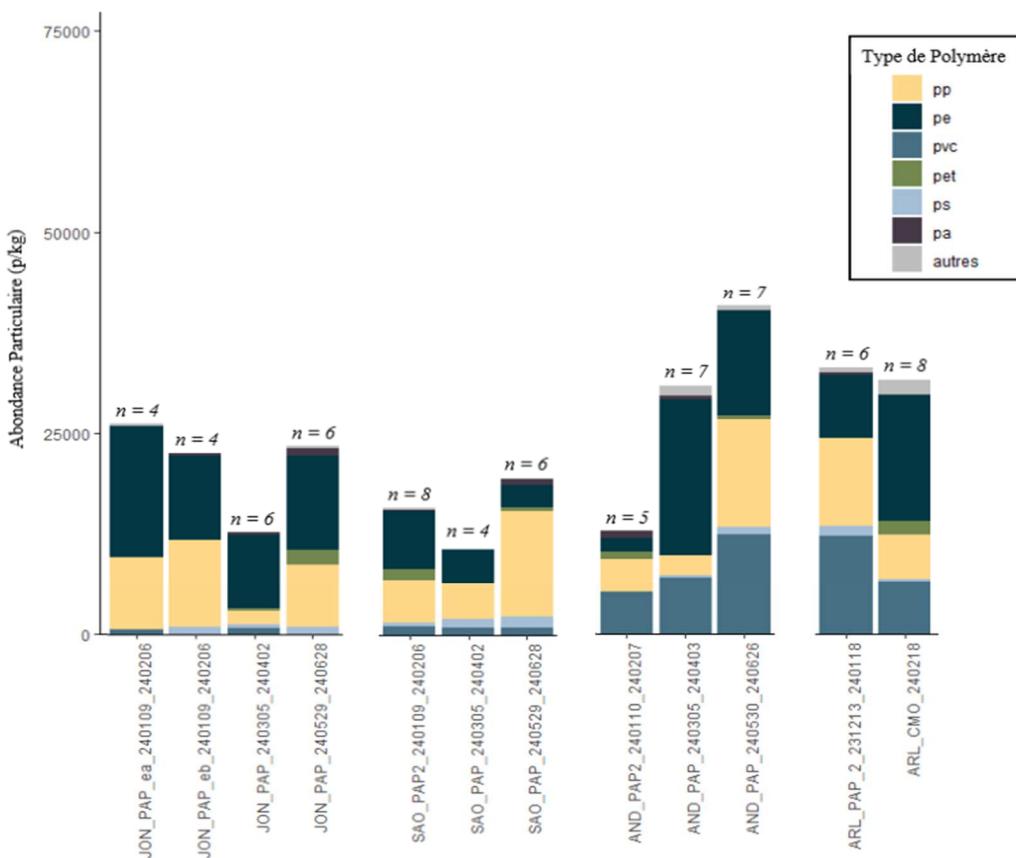


Figure 16 : Résultats des abondances particulières de MP (#MP/kg ms) dans les MES de PAP et CMO sur le Rhône et la Saône à l'amont de Lyon, et sur le Rhône à l'aval de l'agglomération de Lyon (d'après Guiraud, 2024)

En revanche, les abondances observées ne semblent pas être reliées aux variations de débits moyens observés sur les périodes de déploiements des PAP. L'absence de relation entre le régime hydrologique et la concentration en MP a aussi été observée sur le Rhône à l'aval de Lyon (stations d'Andancette et Arles) pour les prélèvements intégratifs par PAP de février 2023 (régime de base) et janvier 2024 (crue) (cf. section II.2.1).

II.2.6.2. Prélèvements ponctuels d'eau et filtration par mini-filet 50 µm

En complément des PAP, des prélèvements manuels filtrés sur place à 50 µm ont été réalisés le 5 juillet 2024 sur les trois sites du Y Lyonnais (Jons, Saône et Andancette). Pour chaque site, un prélèvement a été réalisé en rive gauche et rive droite, avec une filtration de 240 L d'eau par prélèvement. L'abondance particulaire par litre d'eau brute filtrée et la diversité polymérique sont présentées dans la Figure 17. A noter que ces analyses ont été réalisées à l'ENTPE alors que les précédents prélèvements ponctuels de MP dans les eaux par filet 50 µm ont tous été analysés à EDYTEM.

Sur le Rhône à Jons, l'abondance particulaire est de 0,70 à 0,92 MP/L avec une prédominance de PE, suivi du PP et PS.

A Andancette, l'abondance est plus élevée, allant de 2,14 à 2,41 MP/L, avec la même prédominance PE > PP > PS, mais avec un plus grand nombre de polymères identifiés, dont le PVC. Ce dernier est bien présent mais dans des proportions inférieures à celles observées dans les PAP.

Sur la Saône, les résultats sont plus complexes à interpréter, avec des abondances variant de 3,52 à 8,84 MP/L. La prédominance du PP y est particulièrement marquée avec plus de 70% des particules détectées. Cela n'a jamais été rencontré sur les autres sites ou pendant les campagnes antérieures. Ces fortes abondances peuvent être interprétées comme une contamination, dont l'origine est indéterminée.

Plus généralement, bien que les profils de polymères soient légèrement différents des PAP en proportion, l'augmentation des abondances entre Jons (amont) et Andancette (aval) est globalement conforme à celle observée lors des prélèvements par PAP sur ces deux sites. Enfin, ces échantillonnages étant ponctuels et représentant une mesure instantanée, il est plus difficile de démontrer l'influence de l'agglomération de Lyon sur l'abondance des MP avec cette méthode.

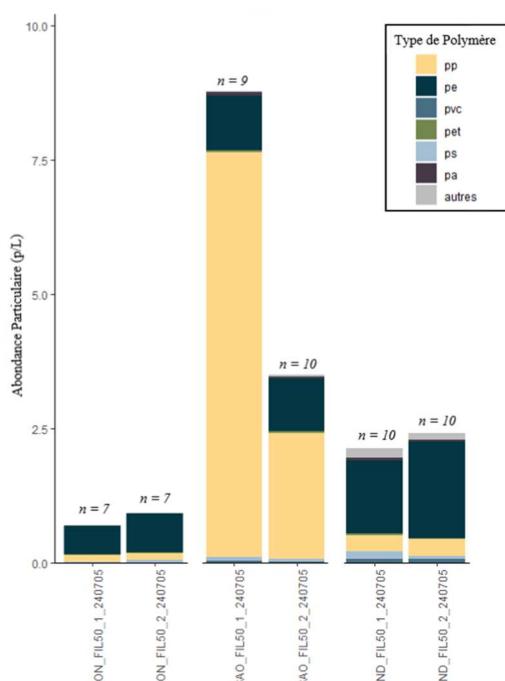


Figure 17 : Résultats des abondances particulières de MP (#MP/L) par prélèvement ponctuel + filet 50 µm sur le Rhône et la Saône à l'amont de Lyon, et sur le Rhône à l'aval de l'agglomération de Lyon ; les prélèvements ont été effectués en rive droite et en rive gauche sur les trois stations (source : Guiraud, 2024)

II.2.7. Estimation des flux de microplastiques sur le continuum du Rhône pour différentes méthodes d'échantillonnage

Nous cherchons ici à estimer les flux de MP transportés durant les périodes de prélèvement pour les stations d'Andancette et d'Arles sur le Rhône : d'une part, pour les prélèvements par filet 50 µm et, d'autre part, pour les prélèvements par PAP. Ces résultats vont permettre de comparer les flux de MP entre les conditions hydrologiques de base (février 2023) et en crue (janvier 2024), et aussi entre les deux stations.

Calcul des flux journaliers de MP à partir des prélèvements ponctuels (Tableau 2) :

Les abondances particulières ont été multipliées par le débit journalier pour obtenir une valeur de flux journalier exprimée en #MP/jour, ou en kg/jour. La variabilité des estimations est nettement plus élevée pour les résultats exprimés en masse qu'en nombre de MP. Ceci résulte des approximations du volume des particules détectées par µ-FTIR, puisque la masse des MP est estimée de manière indirecte à partie de la taille et de la densité des polymères de MP identifiés.

Calcul des flux mensuels de MP à partir des prélèvements par piège à particules (Tableau 3) :

Les abondances particulières ont été multipliées par la quantité de MES passée à la station durant la période de déploiement du PAP (21 à 36 jours), puis divisées par le nombre de jours de déploiement du PAP pour obtenir une valeur de flux moyen journalier exprimé en $\times 10^9$ #MP/jour, ou en kg MP/jour. La variabilité des estimations est nettement plus élevée pour les résultats exprimés en masse.

Pour rappel, les analyses de MP des échantillons collectés par prélèvements ponctuels ont été réalisées à Edytem ; les analyses de MP dans les MES collectées par piège à particules ont été réalisées à l'ENTPE (stages de Master, Nathan 2023 et Lelay 2024).

Des vérifications complémentaires restent à faire à partir des données acquises par PAP sur certaines stations, notamment du fait d'un défaut de mesure des concentrations en MES à Arles pendant les périodes d'observation (cf. Annexe 1).

Tableau 2 : Estimation des flux journaliers en MP sur le Rhône aux stations d'Arles et d'Andancette selon les conditions hydrologiques (prélèvements d'eau par filet 50 µm ; n=3 pour chaque station/condition hydrologique)

Station - Condition hydrologique Date de prélèvement	Débit moyen journalier (m ³ /s)	Concentration moyenne (# MP/m ³) (RSD %)	Concentration moyenne (µg MP/m ³) (RSD %)	Flux journalier (x10 ⁹ # MP/jour)	Flux journalier (kg MP/jour)
Arles - Régime de base 08/02/2023	1070	53 (69%)	15 (146%)	4,86	1,4
Arles - Crue (montée) 18/01/2024	2323	3390 (27%)	2900 (109%)	680	581
Andancette - Régime de base 09/02/2023	795	308 (49%)	16 (91%)	21,1	1,1
Andancette - Crue 19/01/2024	2800	9730 (46%)	10400 (141%)	2355	2523

Tableau 3 : Estimation des flux mensuels en MP sur le Rhône aux stations d'Arles et d'Andancette selon les conditions hydrologiques (prélèvements MES par pièges à particules ; période de déploiement d'un mois environ) – février 2023 (régime de base) et janvier 2024 (crue).

Station - Condition hydrologique Date de prélèvement	Débit moyen journalier (m ³ /s)	Quantité de MES sur la période (t)	Concentration (# MP/kg)	Flux moyen journalier (x 10 ⁹ # MP/jour)	Flux moyen journalier (kg MP/jour)
Arles - Régime de base 11/01 – 08/02/2023	1420	(57660)* (28 jours)	83530 (70 mg/kg)	(172)*	(144)*
Arles - Crue (montée) 13/12/23 – 18/01/24	2600	(150160)* (36 jours)	36670 (20,9 mg/kg)	(153)*	(87)*
Andancette - Régime de base 11/01 – 1/02/2023	1365	56800 (21 jours)	21870 (136 mg/kg)	59,2	368
Andancette - Crue 10/01 au 7/02/2024	1620	57727 (28 jours)	14290 (15,6 mg/kg)	86,2	94

*valeur approximative (problème de mesure des MES à la station d'Arles-SORA à ces dates ; cf. Annexe 2).

II.2.8. Discussion

1) Choix de la méthode d'échantillonnage

Les prélèvements dit « ponctuel » par filet 50 µm, tels que nous les avons testés ici avec un déploiement in situ automatisé (dronamaran), sont applicables en rivière mais l'étape de rinçage du filet n'est pas facile, et cela prend du temps pour faire cela correctement, afin d'éviter tout risque de contamination. De plus, la mesure du volume exact filtré est difficile, à cause du colmatage progressif du filet au cours de l'échantillonnage. Le filet présente néanmoins l'avantage de filtrer rapidement de grands volumes de l'ordre de 1 m³/min.

L'échantillonnage par filet est donc une très bonne solution à réserver pour les milieux peu chargés, tel que les lacs d'altitude ou des cours d'eau très peu turbides et où les faibles concentrations en microplastiques impliquent nécessairement de travailler sur de très grands volumes d'eau. En revanche, ce mode de prélèvement s'avère beaucoup moins approprié pour les cours d'eau lorsque le débit est élevé, et particulièrement en crue, comme nous l'avons expérimenté durant ce projet.

Il semble donc difficile d'utiliser cette méthode sur les stations du Rhône, hors conditions d'étiage (faible turbidité). La comparaison avec les mesures réalisées par filet en milieu marin ou à l'embouchure du fleuve paraît donc difficile.

Le prélèvement manuel à l'aide de bidon en inox permet uniquement de prélever en surface. Tandis que le pompage permet de prélever aussi en profondeur dans le cours d'eau. Il faut néanmoins veiller à ce que le matériel utilisé soit adapté pour éviter tout risque de contamination.

Les essais de prélèvements ponctuels (bidon + mini-filet 50 µm) que nous avons réalisés sur les stations d'Arles et d'Andancette en rive droite et rive gauche ont montré que les résultats étaient reproductibles lorsque la localisation de la station est bien choisie ; c'est-à-dire à distance d'affluents ou rejets sur une rive, notamment. Ces résultats confortent le choix des stations de l'OSR pour réaliser un suivi des MP dans le Rhône.

L'approche participative Babylegs semble intéressante en particulier dans le cadre de sciences citoyennes. Mais elle nécessiterait de l'adapter : éviter le support plastique ou considérer sa contamination potentielle, écartement variable des mailles du collant... mais en condition contrôlée, et protocole labo standard, pourrait permettre une analyse qualitative (comparaisons inter-sites).

Enfin, les pièges à particules permettent clairement de piéger de très nombreux MP sur le Rhône, que ce soit en régime de base ou en crue. Ce mode de prélèvement intégratif est intéressant puisque les PAP sont faciles à installer et sont déployés sur une durée d'un mois environ. Cependant, l'évaluation de l'efficacité des pièges à particules à piéger les MP est difficile à réaliser, particulièrement en hautes eaux / crues, car cela nécessiterait un grand nombre d'échantillons et de réplicats.

2) Influence des conditions hydrologiques sur concentrations et flux MP

Les mesures ponctuelles de MP réalisées dans le Rhône sur les stations d'Andancette et d'Arles montrent clairement que les concentrations, et donc les flux de MP, augmentent fortement en crue par rapport au régime de base. Les MP sont entraînés par les autres particules en crue, lorsqu'il y a une forte charge en MES. Ces augmentations des flux de microplastiques peuvent être dues à la remobilisation de particules des surfaces du bassin versant, des sédiments ou un accroissement des rejets (déversoir d'orage, rejet d'eau pluviale, etc.).

En revanche, pour ces deux stations, les concentrations en MP ont tendance à diminuer dans les MES prélevées à l'aide des pièges à particule lors des crues, ce qui pourrait s'expliquer du fait d'un piégeage insuffisant des MP lorsque la vitesse du courant augmente, comme cela a été observé pour les particules les plus fines (Masson et al. 2018). La comparaison de la capacité de piégeage des différentes classes de taille des MP entre les PAP et les méthodes de prélèvement ponctuel testées dans cette étude reste à faire ; cette analyse complémentaire des résultats acquis pourrait apporter de premiers éléments de réponse pour expliquer ces résultats.

II.3. Synthèse et recommandations

La réalisation de plusieurs campagnes de prélèvement sur différentes rivières/sites et dans des conditions hydrologiques variées ont permis d'élaborer un premier classement des avantages ou inconvénients des différents systèmes d'échantillonnage testés dans ce projet (Tableau 2).

Pour un échantillonnage en surface (profondeur max 50 cm) et depuis la berge ou à proximité, nous avons comparé les différentes approches en termes de :

- Echantillonnage intégratif versus ponctuel : systèmes intégratifs *in situ* pour le prélèvement de MES comme les pièges à particules ; systèmes très grands volumes (1 – 5 m³) sur un temps de prélèvement variant entre quelques minutes (dronamaran + filet 50 µm) et quelques heures (centrifugeuse en continue pour les MES) ; ou prélèvements manuels ou par pompage de grands volumes (100 à 200 L).
- Temps de déploiement : variable selon les systèmes et selon les conditions hydrologiques. Pour les pièges à particules : typiquement entre 2 semaines et 1 mois (conditions du réseau de suivi des MES de l'OSR) mais peut être d'une moindre durée si besoin, lors d'évènements hydrologiques ou APAVER, par exemple. Pour la centrifugeuse en continue : entre 1 h (turbidité importante) et + 5 h (conditions d'étiage et faibles turbidité). Pour les filets, entre 5-10 min (Dronamaran + filet 50 µm) et 30 min (Babylegs).

Clairement, le système d'échantillonnage intégratif par piège à particules facilite les comparaisons spatio-temporelles (gradient amont/aval sur un cours d'eau, impact d'une agglomération, par exemple). En revanche la capacité de piégeage des MP en fonction des conditions hydrologiques reste incertaine et nécessite d'être étudiée plus spécifiquement.

- Importance du choix du site pour la représentativité des prélèvements sur la largeur d'un cours d'eau : les stations de mesure du réseau de l'OSR sont homogènes sur la section en ce qui concerne les concentrations en MES. Les tests réalisés avec le prélèvement manuel + filtration 50 µm (RD versus RG) sur les stations de Jons, Andancette et Arles sur le Rhône, ont confirmé que c'était aussi le cas pour les microplastiques.
- Question de la variabilité des concentrations en MP dans la colonne d'eau (surface versus profondeur) : de même que pour l'homogénéité des concentrations en MES dans la section du fleuve, les travaux de l'OSR ont montré que l'homogénéité des concentrations en profondeur était acceptable pour les MES (sédiments fins), lorsque la colonne d'eau est bien mélangée c'est-à-dire lorsqu'il y a du courant (donc hors période d'étiage), ce qui correspond aux conditions de transport maximum des MES. En revanche, il est difficile de savoir ce qu'il en est pour les microplastiques ; cette question n'a pas été abordée dans ce projet et mériterait des essais complémentaires.

Au final, au regard des observations et résultats obtenus durant ce projet, nous avons retenu trois méthodes d'échantillonnage pour lesquelles nous proposons une synthèse de recommandations en vue de leur utilisation future pour la mesure des microplastiques : le déploiement de pièges à particules (prélèvements intégrés de MES), le prélèvement manuel de grands volumes d'eau et filtration immédiate sur site (50 µm), le prélèvement par Babylegs (filtration *in situ* 300 µm, dispositif participatif). Le Tableau 5 détaille les principaux enseignements de la comparaison obtenue pour ces trois méthodes d'échantillonnage couplées à l'analyse des microplastiques par µFTIR.

Tableau 4 : Comparaison des méthodologies d'échantillonnage testées dans ce projet pour la mesure des microplastiques dans les eaux de rivière du bassin du Rhône

Technique d'échantillonnage	Avantage	Difficulté	Position	Temps de déploiement	Volume filtré	Coût	Technicité
Piège à particules	Intégratif, facilite les comparaisons spatio-temporelle	vandalisme, faible masse d'échantillon en période d'étiage, capacité de piégeage variable en fonction du débit	50 cm ^a	15 j à 1 mois	-	+	++
Centrifugeuse en continue	grand volume, représentatif MES	contamination, temps de prélèvement, accès	30 cm	1 – 5 h (selon les conditions hydrologiques)	2 - 4 m ³	+++	+++
Drone aquatique + Filet 50 µm	rapide, ok si faible courant et milieu peu turbide, grand volume	pas ok si fort courant, risque de colmatage, biais possible pour la mesure du volume filtré	surface	< 10 minutes	Environ 5 m ³	++	+++
Filet 300 µm (dans le cours d'eau)	Rapide	Rinçage pas facile (prend du temps), pas ok si faible courant ou très fort courant (crue), risque de colmatage	surface	30 min	?	++	++
Pompage + filtration 50 µm	Rapide, grand volume, profondeur de prélèvement adaptable	Contamination (matériel à adapter)	30 cm	< 1 h	200 L - 1 m ³	++	++
Bonne + filtration 50 µm	Rapide, facile à mettre en œuvre	manutention, prélèvement de surface uniquement	surface	instant	100 – 200 L	+	+
Babylegs (environ 300 µm)	Rapide, facile à mettre en œuvre, participatif (bon outil de sensibilisation et de sciences citoyennes), comparaisons qualitatives	Pas ok si faible courant ou crue, colmatage, mesure du courant pas intégrée au dispositif, conditions de déploiement à préciser, dispositif à adapter pour un maintien en sub/surface	surface	30 min	?	-	-

^a: il s'agit de la pratique sur les stations de l'OSR (Rhône et aval des principaux affluents). Un piège plus petit (dimensionné au ¼) est recommandé pour les plus petits cours d'eau (Dabrin et al. 2023).

Tableau 5 : Comparaison des trois méthodologies d'échantillonnage sélectionnées en fonction des caractéristiques et des performances observées pour la mesure des microplastiques par FTIR dans les eaux de rivière du bassin du Rhône

Technique d'échantillonnage	Fraction analysée (μ FTIR)	Répétabilité méthode (n=3)	Méthode préparation échantillon / extraction	Question à creuser ?
Piège à particules (MES) - Intégratif (2 semaines à 1 mois)	Particules > 25 μ m	OK pour analyse (sous-échantillon MES) dans un même labo	+ difficile, matière organique ++ Sous-estimation probable (étape d'extraction)	Capacité de piégeage des MP en fonction du débit. Comparaison PAP et prélèvement manuel (pas facile car demande beaucoup d'échantillons – temporalité de déploiement différente)
Bonbonne + filtration 50 μ m - manuel (5 min)	Particules > 50 μ m	OK pour prélèvement + analyse (triplicat de prélèvement sur site)	Sous-estimation pour les particules fines (étape de filtration in situ 50 μ m)	Filtration sur tamis plus fin (10 ou 20 μ m) Développements en cours à EDYTEM et ENTPE
Babylegs (environ 300 μ m) - manuel (30 min)	Particules > 300 μ m	OK pour prélèvement + analyse (triplicat de prélèvement sur site)	Sous-estimation pour les particules fines (étape de filtration in situ 300 μ m)	Inclure mesure du courant ; standardiser les conditions de déploiement

Conclusions et perspectives

Ce projet a permis de tester et comparer plusieurs approches pour mesurer les microplastiques dans les cours d'eau, d'évaluer leur variabilité spatiale et temporelle sur plusieurs stations sur le Rhône et trois affluents du Haut Rhône, et in fine de proposer des méthodologies adaptées pour déterminer les concentrations et les flux de microplastiques dans le Rhône. Une comparaison de systèmes de prélèvement variés a été réalisée sur le Rhône dans des conditions hydrologiques contrastées (régime de base, crue), ce qui a permis de tester leur robustesse et pertinence pour une future mise en œuvre, par exemple, dans le cadre du réseau de suivi de l'Observatoire des Sédiments du Rhône.

Au final, deux systèmes d'échantillonnage sont envisageables pour mesurer les concentrations de microplastiques dans les cours d'eau du bassin du Rhône :

- ✓ Prélèvement manuel grand volume (100-200 L) à l'aide d'un bidon en inox + mini-filet 50 μ m => prélèvement d'eaux ponctuel.
- ✓ Déploiement de pièges à particules => prélèvement intégratif (typiquement 2 à 4 semaines) de MES.

Il est aussi possible d'utiliser un système de pompage (en inox) associé à une filtration 50 μ m (voire 10 μ m), mais cela demande une technicité et un coût plus élevés.

Le système d'échantillonnage par filet (e.g., 50 μ m) est bien adapté aux milieux très peu contaminés (e.g., lacs de montagne) car il permet de filtrer de très grands volumes d'eau rapidement, mais semble

moins bien adapté pour les prélèvements dans le Rhône et ses affluents, notamment du fait des risques de colmatage et de la sous-estimation des concentrations de microplastiques qui en résulte.

Dans tous les cas, il est nécessaire d'adapter les méthodes de prélèvement en fonction des sites et de l'hydrologie (ex : période de déploiement du piège à particules, taille du piège à particules, volume d'eau prélevé, fréquence d'échantillonnage, ...).

La contamination du Rhône et de ses affluents est extrêmement contrastée spatialement et également en fonction des conditions hydrologiques. Les résultats de cette étude confirment l'importance des apports de MP durant les épisodes de crues et montrent une plus forte contamination en MP, et spécifiquement en PVC, au niveau de la station d'Andancette. De premières estimations de flux de MP (moyenne journalière) le long du continuum du Rhône (stations Andancette et Arles) ont été proposées, mais elles restent à consolider. Pour obtenir des données robustes sur la variabilité spatio-temporelle, cela nécessite donc une fréquence d'échantillonnage assez élevée et forcément couteuse.

Les deux méthodes proposées ici sont très complémentaires pour répondre à deux questions majeures sur la contamination du Rhône : les pièges à particules, par leur aspect intégrateur et la possibilité qu'ils donnent de comparer les sites, constituent de bons outils pour détecter les sous-bassins du Rhône caractérisés par une production spécifique importante (étude de la variabilité spatiale). Les prélèvements manuels au bidon permettraient quant à eux de quantifier plus précisément les flux de microplastiques transitant dans le Rhône en adaptant l'échantillonnage aux conditions hydrologiques et en étudiant précisément les périodes de hautes eaux qui semblent constituer la majorité des exports de microplastiques.

En complément, l'approche participative Babylegs est intéressante à poursuivre, notamment car elle est accessible au grand public ou aux scolaires et favorise la sensibilisation sur l'importance de diminuer l'usage des plastiques. Toutefois, il demeure difficile, à ce stade, de proposer un protocole standard de déploiement sur le terrain qui permette d'établir des tendances spatio-temporelles. Sous conditions environnementales encadrées (débit, durée de déploiement, etc.), le dispositif pourrait néanmoins apporter des informations qualitatives pertinentes pour des comparaisons spatiales ou temporelles.

L'analyse de la fraction nanoplastique (< 1-10 µm) nécessite le déploiement d'une approche analytique différente de la µFTIR, qui permet la détection des polymères sans limite de taille basse. La pyrolyse GC-MS couplée à un fractionnement en taille avant analyse a été testée ici. Elle a permis de révéler la présence de particules nanoplastiques dans les surnageants de centrifugation. Cette méthode permet ainsi une détection qualitative rapide des polymères plastiques tels que PE, PP, ou PS quelle que soit la taille des particules. Toutefois, cette méthode implique de rechercher les sous-produits de pyrolyse des polymères plastiques, lesquels peuvent être confondus avec des sous-produits de matière organique naturelle. Cela peut rendre délicate la détection des plastiques, voire nécessiter une étape de minéralisation de la matière organique naturelle. En perspective de cette approche, une analyse quantitative des nanoplastiques dans l'eau nécessiterait une étape préalable de calibration de l'outil avec des échantillons étalons de polymère connu, dilués dans une matrice liquide identique (filtrat d'eau du Rhône). De plus, afin de distinguer spécifiquement la fraction nanoplastique, une étape de filtration / concentration de l'eau à des seuils de coupure adaptés s'avère nécessaire avant analyse, pour cibler une gamme de taille comprise entre 10 et 1000 nm.

Enfin, les mesures de microplastiques restent dépendantes des techniques utilisées, avec une variabilité qui est maîtrisée en intra-labo (une seule technique échantillonnage et analyse), mais reste élevée en inter-labo/techniques d'échantillonnage.

En conclusion, **pour un suivi spatio-temporel des microplastiques dans les rivières, il faut identifier les techniques de choix à l'amont (échantillonnage et analyse) et privilégier la réalisation par un seul laboratoire mode opératoire.**

Quelques perspectives suite à ce projet :

- Les résultats et interprétation sont en cours pour les estimations de flux de MP sur le Y lyonnais (impact de l'agglomération de Lyon).
- De prochains tests des pièges à particules, en parallèle de prélèvements ponctuels, seront réalisés dans le Haut Rhône lors de l'APAVER 2025 pour estimer les concentrations et flux de MP.
- La réflexion est à poursuivre sur la conservation des échantillons de MES en vue de l'analyse des microplastiques – cf. Echantillothèque BANQUISE OSR. Cela nécessite sans doute de réaliser des tests complémentaires.
- Au vu des résultats obtenus, une étude portant sur les concentrations en microplastiques en période de crue, au cours d'une année hydrologique, serait une étape importante pour une quantification correcte du flux de plastiques dans le Rhône. L'idée serait d'étudier la relation concentration en MP-débit (ou MP-MES) et les phénomènes d'hystéresis pour quantifier plus finement le flux des microplastiques à partir du débit (ou des flux de MES).
- A plus long terme, il serait possible d'évaluer, à partir d'une seule méthode, les variations spatiales en microplastiques le long du continuum du Rhône (depuis tête de bassin → embouchure en mer) et l'influence des affluents principaux du Rhône ; ainsi que l'influence de l'occupation et usage du sol, ou de certains rejets ponctuels (ex : station d'épuration).
- D'un point de vue méthodologique, en ce qui concerne l'analyse des microplastiques, il est nécessaire de préciser les modalités d'utilisation de chacune des méthodes/protocoles d'analyse, et de mieux cerner quelles sont les causes principales des variations inter-labos. Les travaux d'intercomparaison devraient se poursuivre au niveau national (ex : étude métrologique de l'AMI Microplastiques dans les eaux continentales, OFB/Ademe avec le soutien technique d'AQUAREF) et européen (ex : réseau NORMAN).

Bibliographie

- Campanale C., Savino I., Pojar I., Massarelli C., & Uricchio V. F. (2020). A Practical Overview of Methodologies for Sampling and Analysis of Microplastics in Riverine Environments. *Sustainability*, 12(17), 6755. <https://doi.org/10.3390/su12176755>
- Castro-Jiménez J., González-Fernández D., Fornier M., Schmidt N., Sempéré R. (2019). Macro-litter in surface waters from the Rhone River: Plastic pollution and loading to the NW Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 146, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.067>. <https://hal.science/hal-02151106v1>
- Constant M., Ludwig W., Kerhervé P., Sola J., Charrière B., Sanchez-Vidal A., Canals M., Heussner S. (2020). Microplastic fluxes in a large and a small Mediterranean river catchments: The Têt and the Rhône, Northwestern Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*, 716, 136984. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136984>
- Dabrin A., L. Richard, A. Simonneau, M. Masson. (2023). Représentativité des matières en suspension échantillonées par différents types de pièges à particules en petits cours d'eau. Rapport AQUAREF, 35 p. https://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref_2023_FG2.1f_PAP
- Dhivert E., Pruvost J., Winiarski T., Gasperi J., Delor-Jestin F., Tassin B., Mourier B. (2024). Time-varying microplastic contributions of a large urban and industrial area to river sediments. *Environmental Pollution*, 347, 123702. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123702>
- Dusaucy J., D. Gateuille, Y. Perrette, E. Naffrechoux (2021). Microplastic pollution of worldwide lakes. *Environmental Pollution*, 284:117075. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117075>
- Dusaucy J. (2023). Première étude sur la contamination aux microplastiques des environnements lacustres français, en étages alpin et subalpin. Thèse de doctorat, Université Savoie Mont Blanc, 225 p. <https://theses.hal.science/tel-04500629>
- Frias J. P. G. L., Nash R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145-147. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022>
- Gerigny O., G. Blanco, U. Lips, N. Buhhalko, L. Chouteau, E. Georges, N. Meyers, D. Vanavermaete, F. Galgani, M. Ourgaud, L. Papillon, R. Sempéré, B. De Witte. (2024). Comparative analysis of microplastics detection methods applied to marine sediments: A case study in the Bay of Marseille. *Marine Pollution Bulletin*, 207, 116787. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116787>
- Gruat A., M. Coquery, A. Dabrin, M. Masson (2022). Le piège à particules comme outil d'échantillonnage intégratif des matières en suspension pour la surveillance de la contamination dans les cours d'eau. Fiche Outil opérationnel – ZABR. https://www.zabr.assograie.org/wp-content/uploads/2022/03/Fiche_outil_ZABR_PAP.pdf
- Gruat A., Coquery M., Le Coz J., Thollet F., Lagouy M., Dabrin A., Masson M., Grisot G., Richard L., Bonnefoy A., Dur G., Ambrosi J-P., Labille J., Borschneck D., Vidal V., Lepage H., Giner F., Mourier D., Raimbault P., Fornier M., Pairaud I., Ravel C., Répécaud M., O Herlory (2023) – Rapport sur le fonctionnement du réseau d'observation des flux de matières en suspension et de contaminants particulaires pour l'année 2022. Rapport final. Observatoire des Sédiments du Rhône – 6ème programme d'action. 44 p. <https://hal.science/OSR/hal-04228357v1>
- Guiraud N. (2024). Évaluation de la pollution par les microplastiques dans le Rhône à proximité de la Région Lyonnaise. Rapport de stage de M1, Université Lyon 1, 54 p.
- Jambeck J.R., R. Geyer, C. Wilcox, T.R. Siegler, M. Perryman, A. Andrade, R. Narayan, K.L. Law (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347, 768-771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>

Kittner M., A. Kerndorff, M. Ricking, M. Bednarz, N. Obermaier, M. Lukas, M. Asenova, G. Bordós, P. Eisentraut, P. Hohenblum, H. Hudcova, F. Humer, T. G. István, M. Kirchner, O. Marushevska, D. Nemejcová, P. Oswald, M. Paunovic, M. Sengl, J. Slobodnik, K. Spanowsky, M. Tudorache, H. Wagensonner, I. Liska, U. Braun, C. G. Bannick. (2022). Microplastics in the Danube River Basin: A first comprehensive screening with a harmonized analytical approach. *ACS EST Water*, 2, 1174-1181. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00439>

Launay, M. (2014). Flux de matières en suspension, de mercure et de PCB particulaires dans le Rhône, du Léman à la Méditerranée. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard - Lyon I, 432 p. <https://hal.science/OSR/tel-01128294v2>

Le Bescond C., J. Le Coz, M. Coquery, et al. (2018). Rapport sur le fonctionnement du réseau OSR d'observation des flux de matières en suspension et de contaminants particulaires (OSR 5 – année 2018), 114 p. <https://hal.science/OSR/hal-03299208v1>

Lebreton L.C.M., J van der Zwet, J-W Damsteeg, B. Slat, A. Andrady, J. Reisser (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature Communication*, 8, 15611. <https://doi.org/10.1038/ncomms15611>

Lelay S. (2023). Méthodes de suivi et de quantification des microplastiques dans les hydrossystèmes - applications au bassin versant du Rhône. Rapport de stage de M2, Université Lyon 2, 88 p.

Masson M., Angot H., Le Bescond C., Launay M., Dabrin A., Miege C., Le Coz J., Coquery, M. (2018). Sampling of suspended particulate matter using particle traps in the Rhône River: Relevance and representativeness for the monitoring of contaminants. *Science of the Total Environment*, 637-638, 538-549, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.343>.

Masura J., Baker J., Foster G., Arthur C., Herring C. (2015). Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments. NOAA Marine Debris Program National Oceanic and Atmospheric Administration U.S. Department of Commerce.

Range D., J. Kamp, G. Dierkes , T. O. Hoffmann, T. A. Ternes (2025). A critical view on determination of annual microplastic loads in the Rhine River. *Water Research*, 283, 123835. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2025.123835>

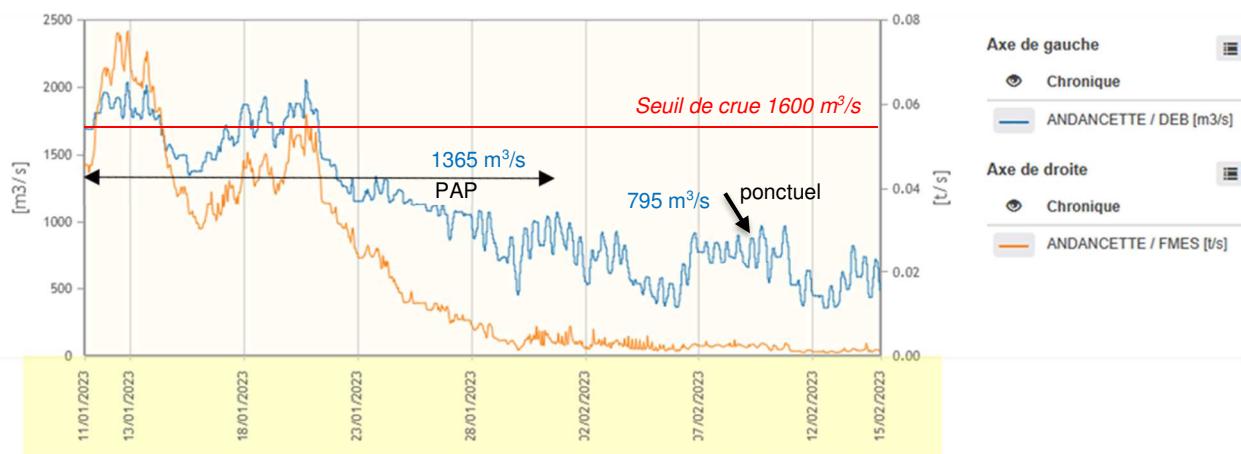
Rochman C. M. (2018). Microplastics research – from sink to source. *Science*, 360 (6384), 28-29. DOI: [10.1126/science.aar7734](https://doi.org/10.1126/science.aar7734)

Thollet F., Le Bescond C., Lagouy M., Gruat A., Grisot G., Le Coz J., Coquery M., Lepage H., Gairoard S., Gattaccea J.C., Ambrosi J.-P., Radakovitch O., Dur G., Richard L., Giner F., Eyrolle F., Angot H., Mourier D., Bonnefoy A., Dugué V., Launay M., Troudet L., Labille J., Kieffer L. (2021). Observatoire des Sédiments du Rhône; INRAE. <https://dx.doi.org/10.17180/OBS.OSR>

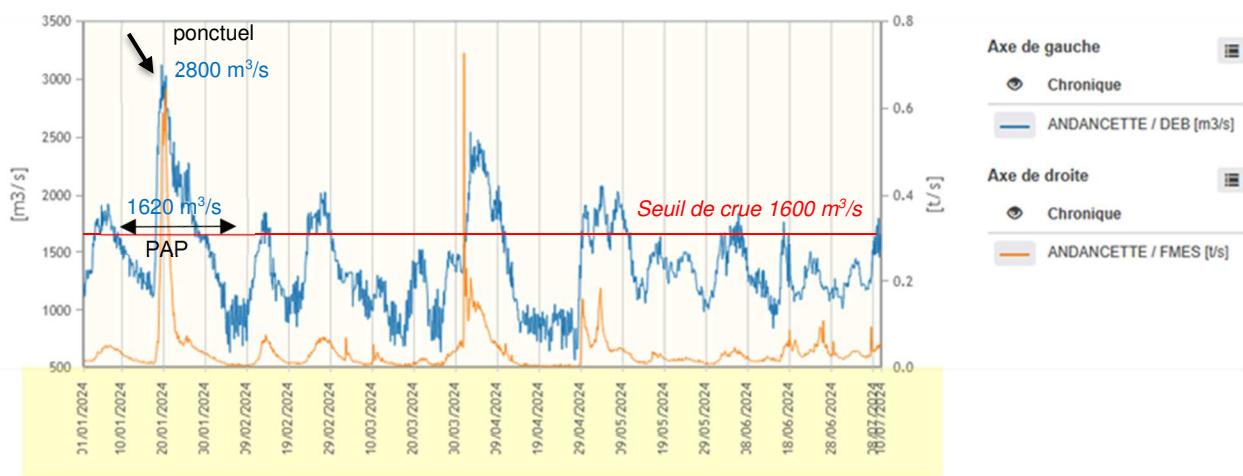
Annexes

Annexe 1 : Débit et flux de MES aux stations d'Andancette et Arles sur le Rhône durant les périodes de prélèvement en période de base et en hautes eaux/crue.

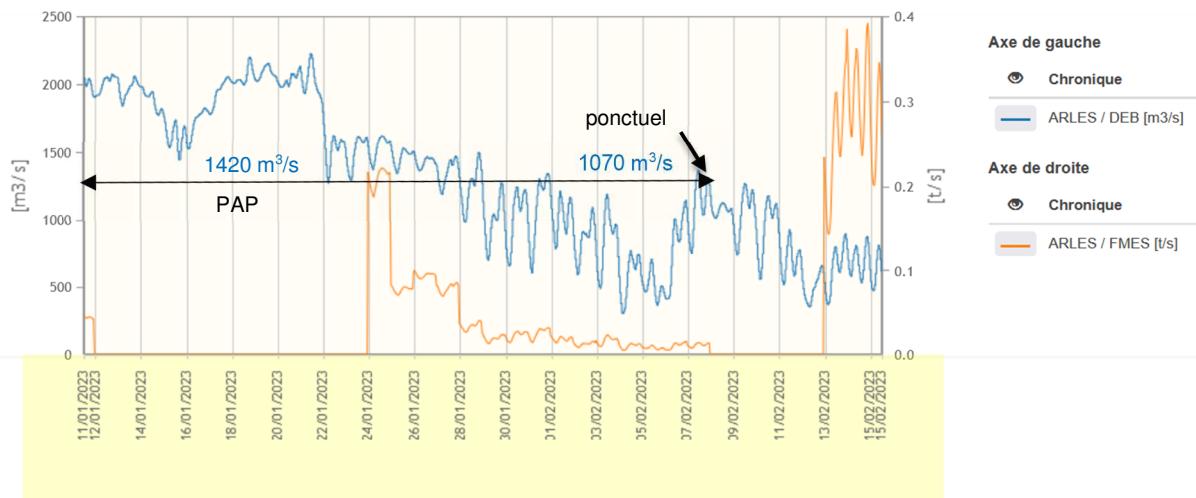
Andancette – prélèvements ponctuels le 9 février 2023 - en régime de base
 (déploiement du piège à particules du 11/01 au 01/02/2023)



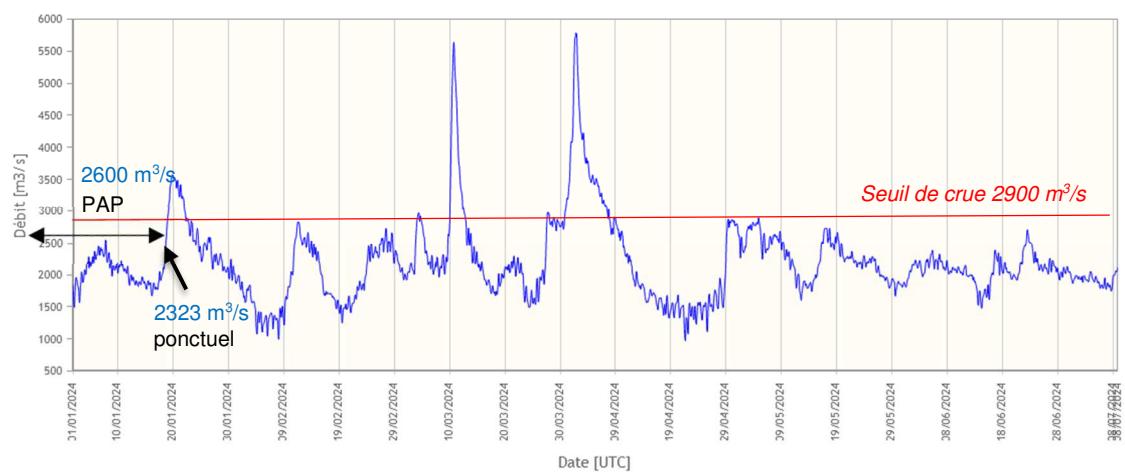
Andancette – prélèvements ponctuels le 19 janvier 2024 - en crue
 (déploiement du piège à particules du 10/01 au 07/02/2024)



*Arles – 8 février 2023 - en régime de base
(déploiement du piège à particules du 11/01 au 08/02/2023)*



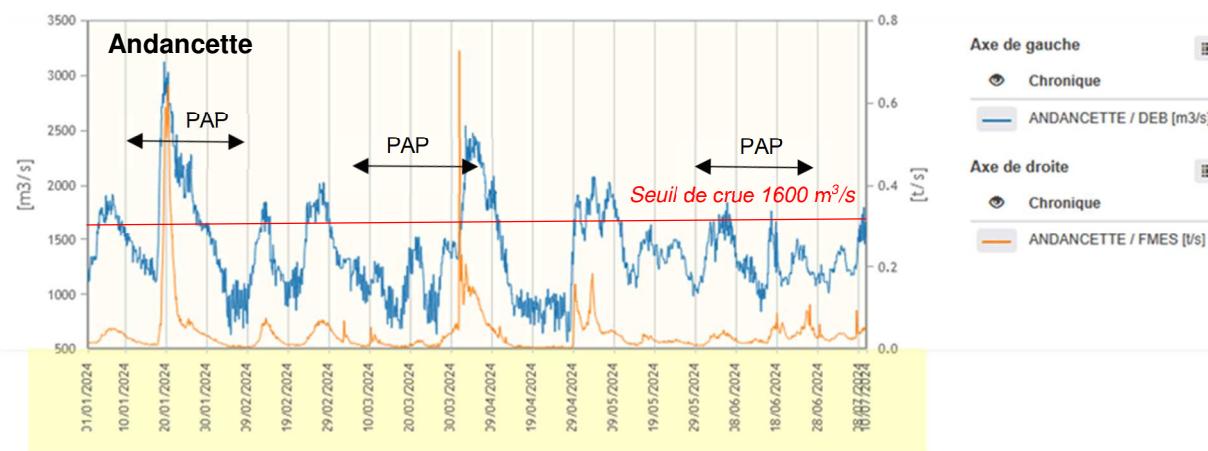
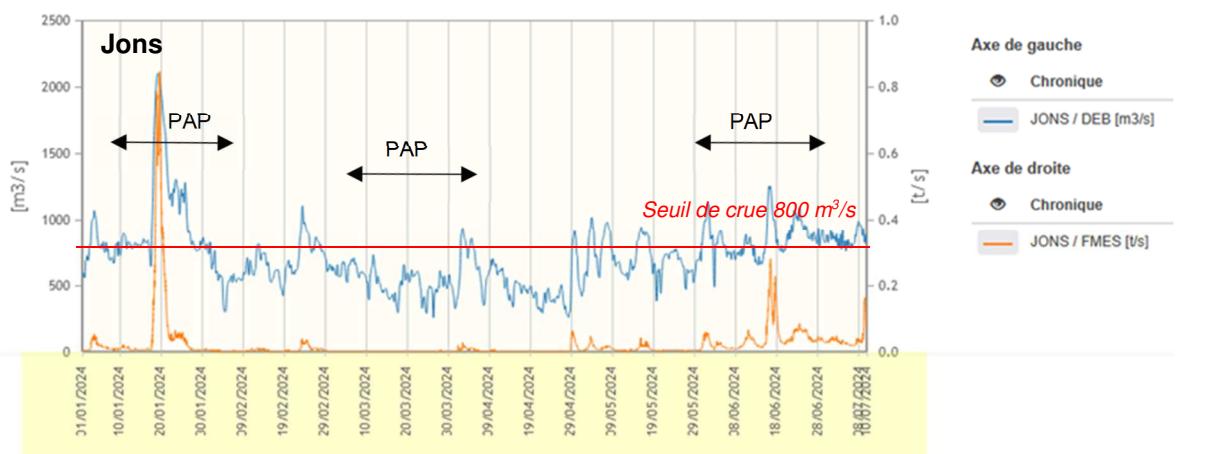
*Arles – 18 janvier 2024 - en hautes eaux
(déploiement du piège à particules du 13/12/2023 au 18/01/2024)*



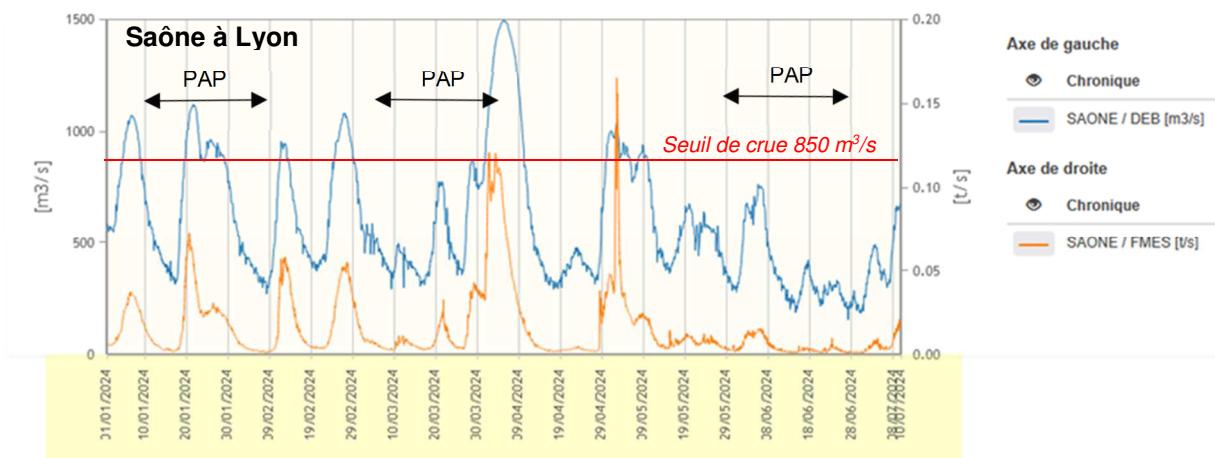
Annexe 2 : Débit et flux de MES aux stations de Jons et d'Andancette sur le Rhône et la Saône à Lyon durant les périodes de prélèvement

Prélèvements en amont et aval de l'agglomération de Lyon - janvier à juillet 2024

Rhône



Saône



Annexe 3 : Résultats détaillés sur les abondances particulières de microplastiques dans les échantillons d'eau prélevés par Babylegs

Types de polymères détectés par le logiciel Omnic et le logiciel siMPle (pourcentage du nombre)

Type de polymère	OMNIC (N=26)	siMPle (N=1010)
BR	8,33	0
PE	33,33	72,07
PE:PET	2,78	0
PET	19,44	0
PP	19,44	15,71
PU	11,11	0
PVC	5,56	7,8
PA	0	3,73
PS	0	0,64

