



HAL
open science

Analyse de l'impact du cycle de vie des NPs TiO₂ manufacturées à l'échelle du site spécifique: cas de la vallée de la Thur, 68, France

Aurélie Schulz

► **To cite this version:**

Aurélie Schulz. Analyse de l'impact du cycle de vie des NPs TiO₂ manufacturées à l'échelle du site spécifique: cas de la vallée de la Thur, 68, France. Sciences de la Terre. Université de Strasbourg, 2020. Français. NNT: 2020STRAH022 . tel-03597095

HAL Id: tel-03597095

<https://theses.hal.science/tel-03597095>

Submitted on 4 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'ENVIRONNEMENT

Laboratoire d'hydrologie et de Géochimie de Strasbourg

THÈSE présentée par :

Aurélie SCHULZ

soutenue le : **31 janvier 2020**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Géochimie

**Analyse de l'impact du cycle de vie des NPs
TiO₂ manufacturées à l'échelle du site
spécifique : cas de la vallée de la Thur, 68,
France**

THÈSE dirigée par :

QUARANTA Gaetana

Maître de conférences, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

LESPEL Gaetane

Professeur, Université de Pau

GIAMBERINI Laure

Professeur, Université de Lorraine

AUTRES MEMBRES DU JURY :

LAWNICZAK Stéphanie

Maître de conférences, Université de Strasbourg

LARATTE Bertrand

Maître de conférences, Arts et Métiers, Bordeaux, Talence

FLAHAUT Emmanuel

Directeur de recherche, CNRS, Université de Toulouse

Table des matières

Remerciements	6
Liste des abréviations	8
Liste des figures	11
Liste des tableaux	14
CHAPITRE 1 : LES NPS TiO₂ MANUFACTUREES : DE LA PRODUCTION A L'ENVIRONNEMENT	23
1. GENERALITES SUR LES NANOPARTICULES	23
2. LE DIOXYDE DE TITANE (TiO ₂)	25
2.1. <i>Introduction</i>	25
2.2. <i>Procédés de fabrication</i>	26
2.2.1. Le procédé sulfate	26
2.2.2. Le procédé chlorure	26
3. LES NANOPARTICULES DE DIOXYDE DE TITANE (NPS TiO ₂)	28
3.1. <i>Productions et utilisations</i>	28
3.2. <i>Réglementations</i>	31
3.3. <i>Les émissions dans l'environnement</i>	36
3.4. <i>Comportement dans l'environnement</i>	38
3.5. <i>Toxicité</i>	40
3.5.1. Toxicité pour les mammifères et l'Homme	40
3.5.2. Toxicité pour les plantes	42
3.5.3. Toxicité pour d'autres organismes (bactéries, invertébrés et poissons)	43
Bibliographie	46
CHAPITRE 2 : METHODES ET OUTILS POUR L'ANALYSE ET LA CARACTERISATION DU TITANE PRESENT DANS L'ENVIRONNEMENT	69
1. CONTEXTE SPECIFIQUE	69
2. CAMPAGNES DE PRELEVEMENTS SUR SITE	74
2.1. <i>Présentation des trois campagnes d'échantillonnage</i>	74
2.2. <i>Prélèvement des échantillons d'eau et de sédiments</i>	75

2.3. Prélèvement des échantillons de sols	77
2.4. Traitements et analyses des échantillons d'eau.....	79
2.4.1. Analyse du titane et d'autres éléments majeurs dans les échantillons d'eau par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES).....	79
2.4.2. Caractérisation des échantillons d'eau par microscopie électronique en transmission (MET)	80
2.5. Traitements et analyses des échantillons de sols et de sédiments	81
2.5.1. Analyse du titane dans les échantillons de sols et de sédiments secs par ICP-AES	81
2.5.2. Fractionnement des échantillons de sols frais et de sédiments et analyse par ICP-AES	82
2.5.3. Analyse des fractions fines des sols et sédiments par diffraction des rayons X (DRX)	85
2.5.3.1. Principe de la diffraction des rayons X.....	85
2.5.3.2. Mode opératoire et paramètres utilisés	86
2.5.4. Analyse des fractions fines des sols et sédiments par microscopie électronique en transmission (MET).....	88
Bibliographie	90
CHAPITRE 3 : MISE EN EVIDENCE DE NPS TIO₂ ANTHROPIQUES DANS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS ENVIRONNEMENTAUX DU SITE D'ETUDE	95
1. ETUDE SUR LES EAUX ET SEDIMENTS	95
1.1. Conductivité, pH, température et concentrations en calcium, magnésium, sodium et potassium des échantillons d'eau.....	95
1.2. Concentrations en titane dans les échantillons d'eau, de sédiments totaux et des fractions granulométriques des sédiments.....	98
1.3. Caractérisation du titane dans les eaux et les sédiments	101
1.3.1. Caractérisation des nanoparticules du site de production par DRX et MET.....	101
1.3.2. Analyses des eaux par microscopie électronique en transmission (MET)	104
1.3.2.1. Analyses du point Amont	104
1.3.2.2. Analyses du point T	105
1.3.2.3. Analyses des eaux du canal et de la rivière de la Thur.....	107
1.3.3. Analyses des fractions des sédiments canal et confluence.....	111
1.3.3.1. Répartition du titane dans les différentes fractions de sédiments.....	112

1.3.3.2. Analyses par diffraction des rayons X des fractions granulométriques des sédiments.....	113
1.3.3.3. Analyses par microscopie électronique en transmission (MET) des fractions granulométriques des sédiments.....	115
1.4. Comportement des NPs TiO ₂ manufacturées dans l'eau et les sédiments	121
2. ETUDE SUR LES SOLS.....	122
2.1. Concentrations en titane dans les échantillons de sols totaux de surface et en profondeur.....	122
2.2. Analyses des fractions des sols.....	126
2.2.1. Texture, teneurs en eau, en matière organique et en carbone inorganique des fractions de sol.....	127
2.2.2. Répartition du titane dans les différentes fractions de sols	129
2.2.3. Analyses par diffraction des rayons X des fractions granulométriques des sols	133
2.2.4. Analyses par microscopie électronique en transmission des fractions granulométriques des sols	133
2.2.4.1. Analyses du point Amont	133
2.2.4.2. Analyses du point Vignes	135
2.2.4.3. Analyses du point Confluence.....	138
2.2.4.4. Analyses du point Aval.....	141
2.3. Comportement des NPs TiO ₂ manufacturées dans les sols	145
Bibliographie	147

CHAPITRE 4 : DETERMINATION D'UN FACTEUR DE CARACTERISATION DES NPS TiO₂ POUR L'EVALUATION DE L'ECOTOXICITE TERRESTRE 153

1. POSITIONNEMENT DE LA PROBLEMATIQUE.....	153
1.1. Historique de l'Analyse du Cycle de Vie.....	153
1.2. Méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie.....	154
1.3. La méthode USEtox.....	157
1.3.1. Le facteur de devenir.....	158
1.3.2. Le facteur d'effet.....	159
1.3.3. Le facteur d'exposition	161
1.3.4. Les limites de la méthode USEtox.....	162
2. DETERMINATION D'UN FACTEUR DE DEVENIR POUR LES NPS TiO ₂ DANS LE SOL A UNE ECHELLE DE SITE SPECIFIQUE.....	163

2.1. Présentation des modèles de devenir	163
2.2. Méthode de calcul du facteur de devenir	165
2.2.1. Présentation de la formule du facteur de devenir	165
2.2.2. Détermination des paramètres nécessaires au calcul du facteur de devenir des NPs TiO ₂ dans le sol	167
2.3. Résultats.....	170
2.4. Interprétation et conclusions	171
3. DETERMINATION D'UN FACTEUR D'EFFET DES NPs TiO ₂ POUR LES ESPECES DE L'ECOSYSTEME TERRESTRE.....	174
3.1. Introduction	174
3.1.1. Approche du facteur d'effet par la détermination de la PNEC sur les espèces les plus sensibles.....	175
3.1.2. Approche du facteur d'effet par la détermination d'une HC _{5NOEC}	176
3.1.3. Approche du facteur d'effet par la méthode HC ₅₀	177
3.2. Etude bibliographique de la toxicité des NPs TiO ₂ sur les espèces de l'écosystème terrestre	182
3.2.1. Le cloporte rugueux (<i>Porvillio scaber</i>).....	182
3.2.2. Le ver de terre	186
3.2.3. <i>Caenorhabditis elegans</i>	190
3.2.4. Les communautés bactériennes du sol.....	194
3.3. Méthode de calcul du facteur d'effet	197
3.3.1. Qualification du type de toxicité de chaque espèce en fonction de la durée d'exposition.....	197
3.3.2. Effets des NPs TiO ₂ pris en compte dans le calcul du facteur d'effet	198
3.3.3. Détermination des concentrations des NPs TiO ₂ dans l'eau (mg/L) par rapport à celles dans le sol (mg/g).....	198
3.3.4. Sélection des NPs TiO ₂ prises en compte pour le calcul du facteur d'effet	199
3.3.5. Valeurs de référence et facteurs de correction	200
3.3.5.1. Facteurs de conversion appliqués aux NOEC et LOEC	200
3.3.5.2. Conversion des EC ₅₀ _{aiguë} en EC ₅₀ _{chronique}	200
3.3.6. Détermination des valeurs de référence pour le calcul du facteur d'effet.....	200
3.4. Résultats.....	202
3.5. Interprétations et conclusions.....	206
4. DETERMINATION D'UN FACTEUR DE CARACTERISATION DES NPs TiO ₂ POUR L'EVALUATION DE L'ECOTOXICITE TERRESTRE SUR LE SITE D'ETUDE DE THANN....	208

Bibliographie	211
Liste des annexes.....	229

Remerciements

La thèse ne se résume pas au travail de son auteur mais à la contribution de nombreuses autres personnes. Je souhaite ainsi prendre le temps de remercier ceux qui ont permis cet aboutissement.

Tout d'abord, j'aimerais remercier la Région Grand Est ainsi que l'Ecole Doctorale des Sciences de la Terre et de l'Environnement de Strasbourg pour avoir accepté de financer le projet de thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier Tania et Stéphanie pour la confiance qu'elles m'ont accordée et leur encadrement durant ces trois années. Vous avez consacré énormément de temps afin de me guider et de me conseiller durant chaque étape de ce travail qui n'aurait pas été possible sans votre aide. Au-delà du côté scientifique, vos encouragements et votre soutien moral sans faille m'ont permis de continuer à avancer malgré des périodes difficiles et je vous en suis très reconnaissante.

Je remercie l'entreprise « Tronox » pour nous avoir ouvert ses portes et pour avoir accepté de partager leur connaissance et leur savoir-faire en matière de nanoparticules.

Je souhaite également remercier les membres du jury qui ont accepté de rapporter et d'examiner la thèse, mais également les membres du comité de pilotage pour leurs conseils et leur intérêt porté à mon travail.

J'exprime aussi toute ma gratitude à Amélie, Thierry, René et Colin pour leur aide technique et leurs conseils durant ces années. Merci également aux autres personnes permanentes du laboratoire pour leurs discussions et les moments conviviaux passés en leur compagnie. Un grand merci à Martine pour sa disponibilité et sa générosité, ainsi qu'à Dris pour les nombreux jours passés ensemble au microscope.

Je remercie également les membres du personnel administratif pour ce qu'ils font au quotidien. Je tiens à adresser une mention spéciale pour notre secrétaire Rosite qui par son honnêteté et sa joie de vivre contribue énormément à l'ambiance conviviale du LHyGeS.

Un grand merci à Arnaud, Fatima, Matthias, Coralie, Behshad, Flora, Jean-Michel, Marianna et Mylène. Vous avez été un réel soutien et je ne compte plus tous les bons moments passés ensemble qui ont su me motiver et me donner du courage durant des moments de doute.

Arian, malgré la distance tu as su être présent et me soutenir à toute épreuve et pour cela je te dis merci du fond du cœur.

Enfin, je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude pour les deux personnes qui me sont les plus chères. Maman, Papa, si j'en suis à devoir écrire les remerciements de ma thèse c'est d'abord grâce à vous. Vous avez toujours été là pour moi et vous avez su me porter et m'encourager durant toutes ces années. Les mots ne sont pas assez forts pour exprimer à quel point je vous en suis reconnaissante.

Liste des abréviations

ACR : Acute Chronic Ratio - Ratio permettant de convertir des données toxicologiques aiguës en chronique

ACV : Analyse du Cycle de Vie - Méthode d'évaluation des impacts environnementaux d'un produit

AICV : Analyse de l'Inventaire du Cycle de Vie

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AOA : Ammonia-Oxidizing Archaea - Organismes impliqués dans le cycle biogéochimique de l'azote

AOB : Ammonia-Oxidizing Bacteria - Organismes impliqués dans le cycle biogéochimique de l'azote

BSS : Basse Surface Spécifique

CAT : Catalase - Enzyme qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène

CMR : Cancérogène, Mutagène et Reprotoxique

CSSC : Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs

DRX : Diffraction des rayons X

EC₅₀ : Effective Concentration – Concentration effective à laquelle on observe un effet de 50 % par rapport au contrôle

EDS : Energy Dispersive Spectroscopy

EF : Effect Factor – Paramètre indiquant la sensibilité d'espèces animales ou végétales face à un polluant

EFg : Facteur d'effet calculé à partir de toutes les études traitant des NPs TiO₂

EFs : Facteur d'effet calculé à partir d'études traitant de NPs TiO₂ similaires au site de production à Thann

EICV : Evaluation des Impacts du Cycle de Vie - Troisième étape de l'analyse du cycle de vie

EPA : Environmental Protection Agency - Agence de protection de l'environnement aux Etats-Unis

GST : Glutathione S-Transferase - Enzyme qui fixe et métabolise le glutathion

HC₅ : Hazardous Concentration - Concentration à laquelle on observe un effet de 5 % par rapport au contrôle

HC₅₀ : Hazardous Concentration - Moyenne logarithmique des EC₅₀ qui représente la concentration en polluant pour laquelle 50 % des organismes sont affectés

HSS : Haute surface Spécifique

ICDD : International Centre for Diffraction Data

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

IPU : Institut de Développement des Produits – Institut de l'Université technique du Danemark

ISO : Organisation internationale de normalisation

ISRIC : International Soil Reference and Information Centre

LC₅₀ : Lethal Concentration - Concentration à laquelle on observe un effet de mortalité de 50 % des espèces

LOEC : Low Observed Effect Concentration - Concentration la plus faible à laquelle on observe un effet

MET : Microscopie Electronique en Transmission

NOEC : No Observed Effect Concentration - Concentration la plus élevée à laquelle on n'observe aucun effet

NPs TiO₂ : Nanoparticules de dioxyde de titane

NTC : Nanotube de carbone

PAF : Potential Affected Species - Fraction d'espèce dans un écosystème qui sera affectée par un effet suite à une exposition à un polluant

PCB : PolyChloroBiphényle

PDMS : PolyDiMéthylSiloxane – Polymère organique à base de silicium (silicone)

PEC : Predicted Environmental Concentration

PNEC : Predicted No-Effect Concentration - Concentration la plus élevée d'une substance sans risque pour l'environnement

PZC : Point of Zero Charge - Valeur de pH pour laquelle la charge d'une particule sera globalement nulle

RIVM : Institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement

ROS : Reactive Oxygen Species – Espèces chimiques réactives composées d'oxygène

SB4N : SimpleBox4Nano

SETAC : Society for Environmental Toxicology And Chemistry

SSD : Species Sensitivity Distribution – Méthode statistique d'extrapolation de données toxicologiques

UF : Unité Fonctionnelle

UV : UltraViolet – Rayonnement possédant une longueur d'onde comprise entre 100 et 400 nm

Liste des figures

Figure 1 : La coupe de Lycurgue (Heiligtag et al. 2013) : éclairée de face (gauche) et éclairée de l'intérieur (droite)	23
Figure 2 : Structures cristallines du dioxyde de titane (Etacheri et al. 2015)	25
Figure 3 : Méthodes de synthèse des nanoparticules « top-down » et bottom-up » (Runowski, 2014).....	28
Figure 4 : Position des bandes d'énergie pour un métal, un semi-conducteur et un isolant (adapté de Elghniji et al. 2012)	29
Figure 5 : Couleur de la crème solaire sur la peau en fonction de la taille des particules de TiO ₂	30
Figure 6 : Déversement accidentel de TiO ₂ à Vieux-Thann en Alsace (Nowack et al. 2014).....	36
Figure 7 : Carte pédologique du bassin versant de la Thur (Hissler, 2003).....	70
Figure 8 : Procédé de fabrication de « Cristal » du dioxyde de titane micrométrique et nanométrique (Adam, 2017) .	71
Figure 9 : Présentation du site d'étude.....	72
Figure 10 : Carte d'échantillonnage des eaux et des sédiments de la rivière de la Thur.....	76
Figure 11 : Carte d'échantillonnage des sols	77
Figure 12 : Fractionnement des sols et des sédiments	84
Figure 13 : Concentrations en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2016 (Valeurs en Annexe 1)	97
Figure 14 : Concentration en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2017 (Valeurs en Annexe 1)	97
Figure 15 : Concentration en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2018 (Valeurs en Annexe 1)	98
Figure 16 : Concentrations en titane dans les eaux et les sédiments (Valeurs en Annexe 2)	99
Figure 17 : Microanalyses élémentaires des NPs TiO ₂ BSS (gauche) et HSS (droite) – (Adam, 2015).....	101
Figure 18 : Micrographies (MET) de nanoparticules de TiO ₂ BSS (Adam, 2015)	102
Figure 19 : Micrographies (MET) de nanoparticules de TiO ₂ HSS (Adam, 2015)	103
Figure 20 : Micrographie et analyse EDS d'une particule de titane contenue dans l'eau de la Thur au point Amont	104
Figure 21 : Micrographies de NPs TiO ₂ trouvées dans l'effluent industriel au point T en 2016 (A), 2017 (B et C) et 2018 (D).....	106
Figure 22 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les eaux du canal en 2017 (A) et 2018 (B).....	107
Figure 23 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées dans les eaux du canal en 2017 (A et B) et 2018 (C et D)	108
Figure 24 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les eaux à la confluence (A) et en aval en 2017(B)	109
Figure 25 : Micrographies en haute résolution de nanoparticules de titane rondes de 5 nm détectées dans les eaux en confluence (A et B) et en aval (C) en 2017.....	110
Figure 26 : Micrographies de nanoparticules de titane ovales de 10 à 20 nm détectées dans les eaux en confluence (A) et en aval (B) en 2018	111
Figure 27 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions des sédiments canal et confluence.....	113
Figure 28 : Micrographies de particules trouvées dans les sédiments : fractions 20 - 2 µm du canal (A), 50 - 20 à la confluence (B) et 50 - 20 µm du canal (C).....	115
Figure 29 : Micrographies et analyses EDS d'agrégats de nanoparticules de fer trouvées dans les sédiments : fractions 20 - 2 µm du canal (A), 20 - 2 µm à la confluence (B).....	116

Figure 30 : Micrographies et analyses EDS de particules de titane naturel trouvées dans les sédiments : fractions 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm à la confluence (B)	116
Figure 31 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les sédiments : fraction 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm à la confluence (B).....	117
Figure 32 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées dans les fractions de sédiments 50 - 20 μm du canal (A et C) et 20 - 2 μm en confluence (B et D).....	118
Figure 33 : Clichés de diffraction des électrons de nanoparticules de titane détectées dans les fractions de sédiments 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm en confluence (B).....	119
Figure 34 : Micrographies de nanoparticules de titane engluées dans de la matière organique pour les fractions 20 - 2 μm (A) et < 2 μm (B) des sédiments du canal	120
Figure 35 : Concentrations en titane dans les sols	123
Figure 36 : Localisation des points de prélèvements Vignes et Rivière	124
Figure 37 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point Amont.....	125
Figure 38 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point PPC.....	125
Figure 39 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point Aval.....	126
Figure 40 : Diagramme triangulaire des textures du sol (Gobat et al. 2010).....	128
Figure 41 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol en amont	130
Figure 42 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol au point Vignes.....	131
Figure 43 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol au point Rivière.....	131
Figure 44 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol à la confluence	132
Figure 45 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol en aval.....	132
Figure 46 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol au point Amont : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm , (C) < 2 μm	134
Figure 47 : Micrographies de particules de titane contenues dans des fractions du sol Amont : (A) 20 - 2 μm et (B) < 2 μm	135
Figure 48 : Micrographies d'un agrégat complet de particules (A) et d'un autre agrégat zoomé (B), trouvé dans la fraction < 2 μm du sol Vignes	136
Figure 49 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées sur une même zone (A et B) dans la fraction < 2 μm du sol Vignes.....	136
Figure 50 : Micrographies de NPs TiO_2 HSS (A et C) et BSS (B et D) engluées dans la matière organique de la fraction < 2 μm du sol Vignes	137
Figure 51 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol à la confluence : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm et (C) < 2 μm	138
Figure 52 : Analyses EDS et micrographies de particules de titane naturelles dans le sol à la confluence : (A) 50 - 20 μm et (B et C) 20 - 2 μm	139
Figure 53 : Micrographies de nanoparticules de titane agrégées (A) et en haute résolution (B) contenues dans la fraction 50 μm - 20 μm du sol à la confluence.....	140
Figure 54 : Micrographies de nanoparticules de titane agrégées (A) et en haute résolution (B) contenues dans la fraction 20 μm - 2 μm du sol à la confluence.....	140
Figure 55 : Micrographies de nanoparticules de titane (A et B) contenues dans la fraction < 2 μm du sol à la confluence.....	141

Figure 56 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol en aval : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm et (C) < 2 μm	142
Figure 57 : Analyses EDS et micrographies de particules de titane naturelles (A) et en haute résolution (B) dans la fraction < 2 μm du sol en aval.....	143
Figure 58 : Micrographies de nanoparticules de titane engluées dans une matrice de fer prises sur deux zones différentes (A et B) contenues dans la fraction 50 - 20 μm du sol en aval	143
Figure 59 : Micrographies de nanoparticules de titane rondes (A) et ovales (B) prises en haute résolution contenues dans la fraction < 2 μm du sol en aval	144
Figure 60 : Méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie (ISO 14040, 2006 ; 14044, 2006)	154
Figure 61 : Catégories d'impacts « midpoint » et « endpoint » de la méthode « Impact 2002+ » (Jolliet et al. 2003)..	156
Figure 62 : Matrice du facteur de devenir exprimée avec deux compartiments environnementaux : l'air et le sol.....	158
Figure 63 : Compartiments environnementaux et échelles utilisés dans USEtox (USEtox 2.0 documentation, 2017)	159
Figure 64 : Nombre d'organismes en fonction de la concentration d'un polluant	160
Figure 65 : Processus affectant des composés organiques (gauche) et des nanoparticules enrobées (droite) dans le compartiment aquatique (Praetorius et al. 2012)	164
Figure 66 : Emplacements des prélèvements de sol et des dépôts surfaciques de TiO_2 des jauges de retombées.....	169
Figure 67 : Facteurs de devenir des NPs TiO_2 (années) à chaque point d'échantillonnage et spécifique au site d'étude de Thann	171
Figure 68 : Calcul d'une HC_5 par la méthode SSD (De Zwart, 2002).....	176
Figure 69 : Comparaison entre les $\text{EC}_{50_{\text{aigüe}}}$ et les $\text{NOEC}_{\text{aigüe}}$ (Payet, 2004).....	178
Figure 70 : <i>Porcellio scaber</i>	183
Figure 71 : Profil d'un sol brun	186
Figure 72 : Différentes espèces de vers de terre (de gauche à droite : <i>Lumbricus terrestris</i> , <i>Eisenia fetida</i> et <i>Eudrilus euginiae</i>)	187
Figure 73 : <i>Caenorhabditis elegans</i>	191

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des substances cancérigènes (Parlement Européen, 2008).....	33
Tableau 2 : Classification des substances mutagènes (Parlement Européen, 2008).....	34
Tableau 3 : Classification des substances toxiques pour la reproduction (Parlement Européen, 2008)	34
Tableau 4 : Paramètres contrôlés sur les effluents industriels du site de production « Cristal ».....	73
Tableau 5 : Températures, durée d'ensoleillement et précipitations durant les campagnes de prélèvement et les jours précédents.....	75
Tableau 6 : Distances inter-réticulaires de certains minéraux argileux en fonction du traitement subi par l'échantillon	87
Tableau 7 : Valeurs du pH des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018.....	95
Tableau 8 : Valeurs de la température des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018	96
Tableau 9 : Valeurs de conductivité des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018	96
Tableau 10 : Pourcentage massique (%) des fractions granulométriques dans les sédiments canal et confluence	111
Tableau 11 : Moyenne sur 3 triplicats des concentrations en titane (mg/kg) des fractions granulométriques dans les sédiments canal et confluence.....	112
Tableau 12 : Structure cristalline du TiO ₂ dans les fractions des sédiments canal et confluence.....	114
Tableau 13 : Pourcentage massique (%) des fractions granulométriques dans les sols totaux	127
Tableau 14 : Pourcentage massique (%) des sables, limons et argiles dans les sols totaux et détermination de leur texture.....	127
Tableau 15 : Moyennes sur 3 triplicats des concentrations en titane (mg/kg) des fractions granulométriques dans les sols	129
Tableau 16: Concentrations moyennes en TiO ₂ et en NPs TiO ₂ (mg/kg) dans les sols pour la campagne 2018.....	167
Tableau 17 : Densité du sol sec (kg/m ³) des différents échantillons de sol pour la campagne 2018	168
Tableau 18: Dépôts surfaciques de TiO ₂ des jauges de retombées pour la campagne 2018 (µg/m ² /jour).....	169
Tableau 19 : Variation de masse des NPs TiO ₂ au sol en 2018 (mg/jour).....	170
Tableau 20 : Facteurs de devenir (années) des NPs TiO ₂ des différents points d'échantillonnages de sol.....	170
Tableau 21 : Facteurs de sécurité pour la dérivation de la PNEC (Commission Européenne, 2003)	175
Tableau 22 : Type de toxicité en fonction des espèces animales et végétales (Payet, 2004).....	177
Tableau 23 : Facteurs de conversion des NOEC et LOEC en EC ₅₀ (Payet, 2004)	178
Tableau 24 : ACR estimés pour l'extrapolation de données de toxicité aiguë en chronique (Payet, 2004)	179
Tableau 25 : Calcul des ACR de 14 métaux pour les crustacés et les poissons (Dong et al. 2014).....	180
Tableau 26 : Densité du sol sec des différents échantillons de sol	199
Tableau 27 : Facteurs de conversion des NOEC et LOEC en EC ₅₀	200
Tableau 28 : Valeurs de référence en NPs TiO ₂ (mg/kg de sol sec) issues des tests toxicologiques sur les vers de terre et la communauté bactérienne du sol	201
Tableau 29 : Valeurs de référence en NPs TiO ₂ (mg/L) issues des tests toxicologiques sur <i>Caenorhabditis elegans</i> 201	
Tableau 30 : Valeurs de référence en NPs TiO ₂ (mg/L) issues des tests toxicologiques sur les espèces de l'écosystème terrestre utilisées dans le calcul du facteur d'effet	202
Tableau 31 : Calcul des HC ₅₀ nécessaires à la détermination du facteur d'effet.....	203

Tableau 32 : Valeurs de référence en NPs TiO ₂ (mg/kg) supplémentaires issues des tests toxicologiques sur les vers de terre	204
Tableau 33 : Valeurs de référence en NPs TiO ₂ (mg/L) supplémentaires issues des tests toxicologiques sur <i>Caenorhabditis elegans</i>	204
Tableau 34 : Valeurs de référence supplémentaires (mg/L) en NPs TiO ₂ issues des tests toxicologiques sur les espèces de l'écosystème terrestre	205
Tableau 35 : Calcul des HC ₅₀ supplémentaires nécessaires à la détermination du facteur d'effet global.....	205

Introduction

Les nanomatériaux manufacturés participent à une des révolutions technologiques majeures de ces dernières années. Ils se distinguent des autres substances par leur taille et sont définis comme des matériaux contenant au moins 50 % de particules dont au moins une des dimensions se trouve dans l'intervalle 1 à 100 nm (Commission Européenne, 2011). Ils possèdent un rapport surface/volume élevé qui leur confère une grande réactivité. C'est cette particularité qui leur donne un grand intérêt auprès des industriels, si bien que de nos jours les nanomatériaux font partie intégrante de notre quotidien. Ils sont utilisés dans de nombreux domaines qui vont de l'industrie automobile (catalyseurs, capteurs), à l'industrie textile (tissus « intelligents », vêtements antibactériens), en passant par la médecine (administration de médicaments, implants), la construction (revêtements de façade, agents ignifuges) et l'industrie alimentaire (agents blanchissants et autres additifs).

Cette utilisation intensive et généralisée a déclenché des craintes auprès de l'opinion publique concernant les risques liés aux nanomatériaux. En France, un débat national sur les nanotechnologies a été mis en place par la Commission nationale du débat public (CNDP) de 2009 à 2010, permettant aux citoyens d'exprimer leur inquiétude face au développement d'une telle technologie. Cependant, du fait de la grande diversité et du manque de traçabilité de la filière « nanomatériaux », ce débat n'a pas permis une avancée considérable en matière de définitions et de réglementations.

Les différents gouvernements et les organismes de normalisation peinent à établir une définition commune du terme « nanomatériaux », créant ainsi un obstacle aux producteurs et utilisateurs à se conformer aux exigences réglementaires. Les lois spécifiques aux nanomatériaux présentent plusieurs manques, si bien qu'il n'existe actuellement aucun texte en vigueur mentionnant des restrictions quant à leur production, leur utilisation ou leur fin de vie. Ces lacunes sont directement liées à de fortes incertitudes scientifiques qui résultent de la conjugaison de plusieurs facteurs (ANSES, 2015) :

- la spécificité de chaque nanomatériau, liée à la diversité de leurs paramètres physico-chimiques
- la difficulté à caractériser les nanomatériaux (mesure de leurs propriétés physico-chimiques)
- des connaissances encore limitées dans les domaines de la toxicologie et de l'écotoxicologie des nanomatériaux

- l'évolution possible des paramètres physico-chimiques d'un nanomatériau intégré initialement dans un produit fini au cours du cycle de vie du produit

Pour pallier ces incertitudes scientifiques, nombre de projets de recherche ont vu le jour, aussi bien des projets européens (le 7^{ème} Programme cadre de recherche et développement technologique a budgétisé 3,475 milliards d'euros pour les projets de recherche nano entre 2007 et 2013) que des projets nationaux (ANR MESONNET, P2N Nanotechnologies et Nanosystèmes). Ce travail de thèse s'inscrit en partie dans le cadre d'un projet ADEME-CORTEA (NANOIDENT) où sont associés l'INERIS, deux laboratoires de recherche français (CEREGE et LHyGeS) et un producteur de nanoparticules de dioxyde de titane (NPs TiO₂). NANOIDENT a pour objectif la mise en place de campagnes d'échantillonnage afin d'identifier la présence de nanoparticules dans l'environnement, sur et autour du site de production, à l'aide de différentes techniques analytiques.

Démarche et originalité de la thèse

Ce sont ces fortes incertitudes sur le devenir et sur l'effet des NPs TiO₂ depuis les émissions du site de production, qui ont conduit à la construction de ce projet de thèse. Celui-ci vise à évaluer l'impact des NPs TiO₂ sur l'écosystème terrestre à une échelle de site spécifique par la méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie. Deux approches ont été adoptées : une approche expérimentale et une approche d'évaluation de l'impact. La première a permis d'acquérir des données propres au site étudié, au milieu naturel environnant ainsi qu'aux nanoparticules produites par l'usine. Des campagnes d'échantillonnage d'eau, de sédiments et de sols ont été réalisées, afin d'estimer le transfert des NPs TiO₂ depuis l'usine vers les différents compartiments environnementaux considérés. La seconde approche a permis de caractériser les NPs TiO₂ à une échelle de site spécifique par la méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie en déterminant un facteur de devenir des nanoparticules dans les sols, ainsi qu'un facteur d'effet pour l'écosystème terrestre de la vallée de la Thur localisé à Thann (68).

Le facteur de devenir des NPs TiO₂ a pu être calculé grâce aux données collectées dans le cadre du projet NANOIDENT, notamment sur les concentrations en nanoparticules dans la matrice sol mais également sur les paramètres spécifiques liés à la zone d'étude.

La partie relative au calcul du facteur d'effet pour l'écotoxicité terrestre a été construite à partir de données de la littérature, les objectifs étant d'identifier les espèces vivant sur les sols du site

d'étude, les effets qu'elles peuvent subir sous l'action des NPs TiO_2 et les paramètres qui influencent cette toxicité.

Les calculs des facteurs de devenir et d'effet à l'échelle de site spécifique constituent une approche novatrice dans les modèles d'évaluation de l'impact du cycle de vie puisque jusqu'à alors, ces méthodes font référence à des échelles continentales et globales.

Cette thèse répond donc à un besoin réel de l'industrie et de la recherche publique en apportant de nouvelles données concernant les NPs TiO_2 manufacturées, leur devenir dans les sols et les sédiments et en proposant un nouveau calcul de leurs impacts environnementaux. L'originalité de ce travail repose sur la collaboration avec un industriel et sur l'application d'une échelle de site spécifique.

Construction du mémoire

Le premier chapitre du manuscrit constitue le cadre général de l'étude. Il commence par un bref historique consacré aux nanoparticules ainsi qu'à une présentation générale sur le dioxyde de titane. Il décrit par la suite les voies de production et l'utilisation des NPs TiO_2 , ainsi que leur émission et comportement dans l'environnement. La toxicité des NPs TiO_2 pour les mammifères, les plantes et d'autres organismes est également détaillée.

Le chapitre 2 se consacre à la description de la zone d'étude et du site de production. Les protocoles de traitement des échantillons d'eau, de sédiments et de sols ainsi que les techniques analytiques utilisées au cours de la thèse sont également inclus dans cette section.

La troisième partie de ce mémoire comprend les résultats obtenus concernant la mise en évidence de NPs TiO_2 manufacturées dans trois compartiments environnementaux : l'eau, les sédiments et les sols. Les concentrations en titane total (ICP-AES) ainsi que les analyses en microscopie électronique en transmission et en diffraction des rayons X (sols et sédiments) sont également présentées. Deux synthèses sur le comportement des NPs TiO_2 anthropiques dans l'environnement (eau/sédiments et sols) sont également disponibles.

Enfin, le 4^{ème} et dernier chapitre est entièrement consacré à l'évaluation de l'impact des NPs TiO_2 de l'écosystème terrestre de la région de Thann. La méthodologie de l'Analyse du Cycle de vie et la méthode USEtox sont décrites ainsi que les facteurs de devenir et d'effet qui interviennent lors de la caractérisation d'un polluant. La détermination du facteur de devenir des NPs TiO_2 est alors présenté et les résultats obtenus sont interprétés. Une synthèse

bibliographie sur la toxicité des NPs TiO_2 sur les espèces de l'écosystème terrestre est également détaillée, suivi du calcul du facteur d'effet et de son interprétation. Le chapitre se termine par le calcul du facteur de caractérisation des NPs TiO_2 pour l'écotoxicité terrestre propre à la région de Thann.

Bibliographie

ANSES. *Méthode d'évaluation des niveaux de risques sanitaires et des dangers écotoxicologiques des produits contenant des nanomatériaux manufacturés*. 1–222 (2015).

Commission Européenne. *COMMISSION RECOMMENDATION on the definition of nanomaterial*. 1–6 (2011).

Chapitre 1 : les NPs

TiO₂ manufacturées : de la production à l'environnement

Chapitre 1 : les NPs TiO_2 manufacturées : de la production à l'environnement

1. Généralités sur les nanoparticules

D'après les normes ISO/TS 80004-1, 2011 et ISO/TS 80004-2, 2011, les nanoparticules constituent une classe de matériaux caractérisée par trois dimensions dont les tailles sont comprises entre 1 et 100 nm. Naturellement présentes dans l'environnement, les nanoparticules sont issues des processus terrigènes (érosion), des activités volcaniques, des feux de forêt, des activités marines (aérosols de sel) et sont présentes dans tous les compartiments environnementaux (Nowack *et al.* 2007 ; Tsao *et al.* 2011). Les nanoparticules ont été utilisées dès l'Égypte ancienne il y a plus de 4000 ans dans les colorants capillaires. Un mélange entre de l'oxyde de plomb (PbO), de l'hydroxyde de calcium ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) et de l'eau permet de fabriquer une pâte qui, au contact des cheveux, va former des nanoparticules de PbS de 5 nm (le soufre provient des acides aminés de la kératine) et leur donner une couleur noire (Walter *et al.* 2006). La coupe de Lycurgue (4^{ème} siècle) est également un exemple intéressant (Freestone *et al.* 2007) : son procédé de fabrication est inconnu à ce jour, mais les artisans de l'époque ont réussi à inclure des nanoparticules métalliques d'or et d'argent dans le verre, qui lui donne une couleur verte opaque lorsqu'elle est éclairée de face et rouge lorsqu'elle est éclairée de l'intérieur (Fig. 1).



Figure 1 : La coupe de Lycurgue (Heiligtag *et al.* 2013) : éclairée de face (gauche) et éclairée de l'intérieur (droite)

La première description scientifique sur la synthèse contrôlée de nanoparticules (solution colloïdale de nanoparticules d'or) a été rédigée par Michael Faraday en 1857 (Jeevanandam *et*

al. 2018). Il faut cependant attendre 1959 pour que Richard Feynman suggère lors d'une conférence, que les principes de la physique ne s'opposent pas à la manipulation de la matière à l'échelle atomique, invitant ainsi la communauté scientifique à s'intéresser à l'échelle de l'infiniment petit (Hulla *et al.* 2015). C'est finalement en 1974 que le terme « nanotechnologie » est utilisé pour la première fois dans une publication par Norio Taniguchi (Taniguchi, 1974).

De nos jours, les nanoparticules présentent un grand intérêt auprès des industriels de par leur petite taille et leur surface spécifique très importante qui leur confèrent des propriétés physiques et chimiques nouvelles. La composition chimique des nanoparticules manufacturées est variée et regroupe des composés carbonés tels que les nanotubes de carbone (NTC) ou les fullerènes (C₆₀), des polymères (acide polylactique), des semi-conducteurs (CdSe), des nanoparticules métalliques (Ag) ou encore des oxydes métalliques comme les dioxydes de cérium (CeO₂) ou de titane (TiO₂).

2. Le dioxyde de titane (TiO_2)

2.1. Introduction

Le titane est le 8^{ème} élément le plus abondant de la croûte terrestre et représente environ 0,45 % de sa composition totale (Yaroshevsky, 2006). Il est présent dans de nombreux minéraux comme l'ilménite (FeTiO_3), la pérovskite (CaTiO_3) ou encore la sphène, appelée également titanite (CaTiSiO_5). Il se trouve également sous forme de TiO_2 et peut prendre plusieurs structures cristallines (Fig. 2) : l'anatase (quadratique), le rutile (quadratique) et la brookite (orthorhombique).

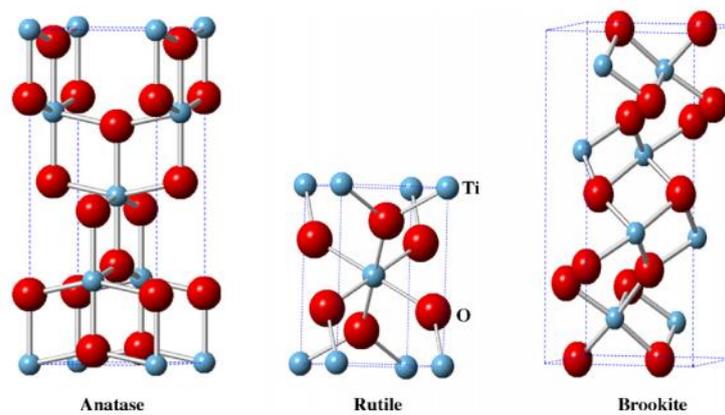


Figure 2 : Structures cristallines du dioxyde de titane (Etacheri *et al.* 2015)

A des conditions normales de pression et de température, le rutile est la forme la plus stable thermodynamiquement. Cependant, si la taille des particules atteint la dizaine de nanomètres, l'anatase devient la forme cristalline la plus stable (Zhang *et al.* 1998).

Sous sa forme micrométrique, le dioxyde de titane est utilisé en tant que pigment blanc dans les peintures (blanc de titane, Pigment White 6), les aliments (E171), les médicaments (E171) ou encore les dentifrices (CI 77891). Il possède un indice de réfraction élevé (environ 2,45 pour l'anatase et 2,7 pour le rutile) et peut ainsi disperser la lumière du visible, apportant aux produits une couleur blanche opaque et brillante (Tao *et al.* 2011). Le dioxyde de titane nécessite cependant des tailles de particules de quelques centaines de nanomètres (entre 150 et 300 nm) afin de maximiser son pouvoir de réflexion (Poisson, 2015).

Il existe deux voies principales de synthèse permettant d'obtenir du dioxyde de titane pur à partir de minerais : le procédé sulfate et le procédé chlorure (Blanchart, 2019). Le procédé sulfate est historiquement le plus ancien et reste le plus utilisé en Europe, tandis que le procédé

chlorure est plus populaire dans le reste du monde et tout particulièrement aux Etats-Unis. Les formes cristallines anatase et rutile peuvent être obtenues par le procédé sulfate, mais seule la forme cristalline rutile peut être fabriquée par le procédé chlorure, car l'anatase commence à se transformer en rutile à environ 400°C (Kumar, 1995).

2.2. Procédés de fabrication

2.2.1. Le procédé sulfate

La synthèse par la méthode sulfate est un procédé devenu commercial en 1931 pour la fabrication du TiO₂ de forme anatase. La forme rutile ne sera fabriquée par ce procédé qu'à partir de 1941.

La première étape de ce procédé consiste à dissoudre l'ilménite préalablement broyée à 150°C dans de l'acide sulfurique concentré, afin de former des sulfates de titanyle et de fer :



La solution est ensuite refroidie à environ 15°C afin de faire précipiter le sulfate de fer et de pouvoir l'éliminer par filtration. La solution restante est ensuite chauffée à 110°C afin d'hydrolyser le TiOSO₄ :

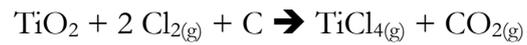


Dans la dernière étape, le dioxyde de titane hydraté est chauffé afin d'éliminer les molécules d'eau puis calciné dans un four tournant à environ 1000°C. Des germes de cristaux de l'une des deux formes (rutile ou anatase) sont ajoutés durant cette étape afin d'orienter la cristallisation (Baillon, 2002).

2.2.2. Le procédé chlorure

La synthèse par le procédé chlorure a été commercialisée par DuPont en 1958 et permet de produire du TiO₂ de forme cristalline rutile. Ce procédé nécessite l'utilisation de minerais de rutile, dans le but d'extraire le titane et de le purifier en éliminant d'autres minéraux comme le quartz ou les oxydes de fer (Dugua *et al.* 1996).

Les minerais de titane sont mis en contact avec du dichlore gazeux et du coke afin d'effectuer une carbochloration entre 800 et 1000°C, permettant la formation de tétrachlorure de titane gazeux :



Le tétrachlorure de titane gazeux est ensuite condensé puis purifié par distillation. La prochaine étape consiste à l'oxyder dans une flamme à environ 1500°C afin d'obtenir du dioxyde de titane. Le dichlore est ainsi récupéré en fin de réaction.



Ces procédés permettent exclusivement la production de dioxyde de titane « micrométrique » c'est pourquoi, d'autres approches (descendante et ascendante) ont été développées afin de fabriquer du dioxyde de titane « nanométrique ».

3. Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPs TiO₂)

3.1. Productions et utilisations

Il existe de nombreuses méthodes de synthèse de nanoparticules qui peuvent être classées en deux catégories (Fig. 3) : la voie descendante (top-down) et la voie ascendante (bottom-up).

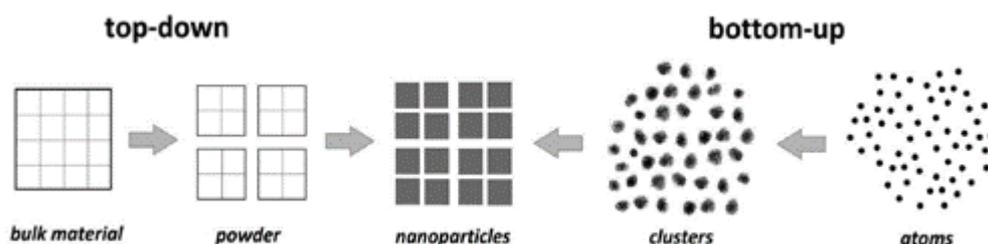


Figure 3 : Méthodes de synthèse des nanoparticules « top-down » et bottom-up » (Runowski, 2014)

La première regroupe des procédés qui fabriquent des nanoparticules en fractionnant un matériau massif, jusqu'à obtenir des particules de dimensions nanométriques (Ostiguy *et al.* 2010). Ces voies de synthèse peuvent être de nature mécanique ou chimique et leurs utilisations dépendent du type et de la taille de nanoparticules souhaités. La méthode la plus utilisée consiste à broyer le matériau grossier dans une chambre fermée contenant des billes d'acier en rotation. Les paramètres comme la taille des billes, leur vitesse de rotation, le temps de broyage et la température permettent de fixer la taille des nanoparticules. Ce procédé est particulièrement utilisé pour la production de nanoparticules en grande quantité, mais n'est pas adapté pour des synthèses de morphologie contrôlée (Prasad Yadav *et al.* 2012). L'approche ascendante (bottom-up) est une méthode plus adaptée si on souhaite obtenir une taille de nanoparticules bien précise car elle consiste à fabriquer des nanostructures atome par atome ou molécule par molécule (Runowski, 2014). De nombreuses méthodes de synthèse utilisant cette approche ont été mises au point et ce type de développement est toujours d'actualité.

Un recensement des nanoparticules produites, importées et distribuées sur le territoire français est effectué chaque année depuis 2013. Le rapport d'étude de 2017 indique que la quantité de NPs TiO₂ manipulées en 2016 est estimée entre 10 000 et 100 000 tonnes. Elles représentent ainsi avec quatre autres substances (noir de carbone, silice, carbonate de calcium et silicate de magnésium) environ 97 % des nanoparticules déclarées en France (Ministre de la transition écologique et solidaire, 2017).

Les NPs TiO_2 sont principalement utilisées pour leurs propriétés électroniques/optiques et entrent ainsi dans la composition de nombreux produits du quotidien. Elles sont ajoutées aux matériaux de construction comme le ciment, mais également dans des peintures pour leurs propriétés photocatalytiques, conférant au matériau la capacité de s'auto-nettoyer (Li *et al.* 2016). Le dioxyde de titane fait partie de la catégorie des semi-conducteurs. Il possède une bande de valence et une bande de conduction qui sont séparées par une bande interdite. Cette bande interdite n'est pas large, ce qui permet aux électrons de la bande de valence, après un apport d'énergie (thermique ou lumineuse), de passer dans la bande de conduction. Les électrons peuvent ainsi circuler dans le composé (Fig. 4).

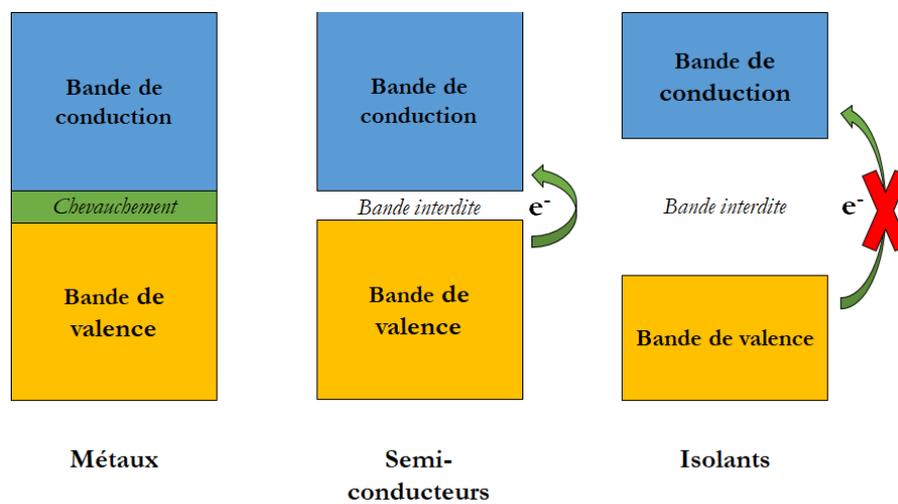


Figure 4 : Position des bandes d'énergie pour un métal, un semi-conducteur et un isolant (adapté de Elghniji *et al.* 2012)

Pour les matériaux conducteurs, la bande de valence et de conduction se chevauchent, les électrons peuvent donc circuler librement. Cependant, dans le cas d'un isolant, la largeur de la bande interdite est tellement importante que les électrons ne peuvent pas passer d'une bande à l'autre (Etacheri *et al.* 2015). Lorsque les NPs TiO_2 sont exposées aux rayonnements UV, l'absorption de photons va permettre le passage d'un électron de la bande de valence vers la bande de conduction, laissant ainsi une lacune dans la bande de valence. La formation de cette paire « d'électron-trou » va permettre de générer des radicaux libres qui vont pouvoir réagir avec les composés présents dans le milieu (comme des polluants) et les dégrader. Ces polluants peuvent être des composés organiques, inorganiques ou encore des espèces biologiques comme des virus ou des bactéries.

Les NPs TiO_2 sont également utilisées dans les cosmétiques et plus particulièrement dans les crèmes solaires pour leur capacité à atténuer les rayons ultraviolets (Cole *et al.* 2016). Elles sont capables d'absorber les UVB (320-290 nm), cancérigènes et responsables des coups de soleil. Ces nanoparticules sont utilisées en complément de l'oxyde de zinc, qui lui est capable d'absorber les UVA (400-320 nm) qui composent la majorité du rayonnement UV, mais qui sont moins énergétiques donc théoriquement moins dangereux que les UVB, bien que restant cancérigènes pour la peau (Smijjs *et al.* 2011). Les UVC (290-100 nm) quant à eux sont les UV les plus nocifs car les plus énergétiques, mais sont entièrement filtrés par la couche d'ozone. Pendant environ une quinzaine d'années, le dioxyde de titane a été utilisé sous la forme de microparticules dans les crèmes solaires. Cependant, cette taille induisait une coloration blanche sur la peau, donnant un aspect peu esthétique. Pour contrer ce problème, le dioxyde de titane a été réduit à une taille nanométrique, rendant ainsi la crème solaire transparente sur la peau (Fig. 5).



Source : <http://veillenanos.fr/wakka.php?wiki=NanoTiO2>

Figure 5 : Couleur de la crème solaire sur la peau en fonction de la taille des particules de TiO_2

Dans les crèmes solaires, les NPs TiO_2 sont cependant enrobées avec des couches de silice ou d'alumine afin de protéger la peau, en empêchant la formation de radicaux libres (ROS) (Sharma *et al.* 2019).

Ces nanoparticules entrent également dans la composition de certains textiles (polyester, laine, coton...) afin de leur procurer des propriétés antibactériennes et/ou de barrière anti-UV (Rivero *et al.* 2015).

Enfin, les NPs TiO₂ peuvent se retrouver de manière non intentionnelle dans le colorant E171 (TiO₂ micrométrique), puisque des analyses ont permis de mettre en évidence la présence de 19 à 35 % de particules de TiO₂ inférieures à 100 nm (Weir *et al.* 2012 ; Yang *et al.* 2014). Ces nanoparticules sont contenues ainsi dans de nombreux produits de consommation (nourriture, dentifrices...), dont la teneur dans un produit peut varier de 5 à 44 % selon les études (Chen *et al.* 2013 ; Peters *et al.* 2014). Leur omniprésence dans les produits du quotidien a d'ailleurs fait surgir de plus en plus d'inquiétudes auprès des populations, si bien qu'une réglementation se met peu à peu en place dans certains pays.

3.2. Réglementations

La France est le premier pays à établir une réglementation pour les nanoparticules, dont les NPs TiO₂ (Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, 2012). Depuis le 1^{er} janvier 2013, toute entreprise qui fabrique, importe ou distribue sur le marché des nanomatériaux doit effectuer une déclaration sur le site www.R-Nano.fr géré par l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). La substance à l'état nanoparticulaire est définie comme étant composée d'au moins 50 % de particules présentant une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm : cette définition découle des travaux effectués par la Commission Européenne (Commission Européenne, 2011). La déclaration doit comporter plusieurs informations sur le nanomatériau en question, comme ses propriétés (taille des particules primaires et des agrégats, enrobage ou non, forme, structure cristalline ...), la quantité produite, importée ou distribuée ou encore son utilisation. Ceci s'applique pour tout nanomatériau dépassant la production annuelle de 100 grammes et concerne également les organismes publics de recherche. Ce signalement a pour objectif d'avoir une meilleure connaissance du marché des nanomatériaux en France, notamment en termes de production et d'utilisation.

Plusieurs incohérences sont cependant à déplorer. Le taux de 50 % ainsi que l'échelle de taille entre 1 et 100 nm n'ont aucun fondement scientifique : il a été prouvé que des particules de silice mésoporeuses de 600 nm pouvaient avoir des effets indésirables sur la membrane cellulaire des globules rouges de l'être humain (Zhao *et al.* 2011). Il n'est d'ailleurs pas nécessaire de fournir des données concernant la toxicité des nanomatériaux mis sur le marché, qui pourtant permettraient d'acquérir davantage de connaissances sur les nanomatériaux et d'améliorer la réglementation dans l'objectif de protéger l'Homme et les écosystèmes.

Des dispositifs similaires à celui de la France ont été mis en place dans d'autres pays d'Europe, notamment en Belgique et au Danemark depuis janvier 2015 et plus récemment en Suède avec une date d'entrée en vigueur en février 2019 (VeilleNanos).

En dehors de l'Europe, seuls les Etats-Unis ont mis en place depuis le 12 mai 2017 un dispositif de recensement des nanomatériaux à l'échelle nationale (Environmental Protection Agency, 2017). Tous les producteurs et importateurs de nanomatériaux ont l'obligation d'effectuer un rapport unique contenant des informations sur leurs nanoparticules auprès de l'agence de protection de l'environnement (EPA). Les méthodes et le volume de production, les utilisations, les voies d'exposition, les rejets et émissions possibles ainsi que les effets sur la santé doivent y figurer. La législation s'applique uniquement pour des nanomatériaux fabriqués intentionnellement et pour les composés chimiques qui contiennent plus d'un pourcent en masse de particules nanométriques. Certaines molécules biologiques sont exclues (protéines, enzymes, liposomes, virus et microorganismes) mais également les substances chimiques capable de se dissocier complètement dans l'eau et de former des ions d'une taille inférieure à 1 nm. Enfin, cette réglementation exclut les nanomatériaux fabriqués dans le cadre de la recherche et du développement mais également les producteurs et importateurs dont le chiffre d'affaires est inférieur à 11 millions de dollars.

Plusieurs lacunes sont à déplorer dans les textes réglementaires américains. Tout d'abord, les nanomatériaux concernés ne sont pas clairement définis et peuvent être sujet à interprétation (Environmental Protection Agency, 2017) ; les NPs TiO_2 semblent pourtant être prises en compte dans la liste des composés à déclarer. De plus, le producteur/importateur est tenu d'apporter des informations seulement si elles sont disponibles ou facilement accessibles et n'a aucune obligation d'effectuer des tests ou des analyses sur le produit. Les fabricants et importateurs mettent ainsi sur le marché des composés auxquels la population et l'environnement sont plus ou moins exposés, mais dont les effets sur la santé humaine ou les écosystèmes sont inconnus. A cela s'ajoute la non obligation de fournir ces données si la présence de nanomatériaux dans un produit est non intentionnelle : cela n'enlève en rien le potentiel danger qu'ils représentent pour la communauté. Enfin, tous les industriels devraient avoir à fournir des informations sur les nanomatériaux qu'ils produisent ou vendent et aucune exception ne devrait être faite sur la base de leur chiffre d'affaires.

A l'échelle européenne, la réglementation REACH est actuellement revue afin d'inclure les nanomatériaux à compter de janvier 2020 (Conseil de l'Union Européenne, 2019). De manière

générale, REACH est un règlement qui s'applique à toute substance chimique et qui oblige les industriels à collecter des informations sur les risques liés aux composés qu'ils fabriquent. Les objectifs de cette démarche sont d'avoir une meilleure connaissance sur les effets de ces substances chimiques mais également de remplacer celles qui sont les plus dangereuses communément appelées « CMR » : Cancérogène, Mutagène et Reprotoxique (Parlement Européen, 2008). Il existe une classification de ces substances en fonction des études scientifiques menées (Tab. 1, 2 et 3) :

Tableau 1 : Classification des substances cancérogènes (Parlement Européen, 2008)

Effet	Catégorie	Critères
Cancérogène : substance ou mélange de substances chimiques qui induisent des cancers ou en augmentent l'incidence	1A	Substances dont le potentiel cancérogène pour l'Homme est avéré en s'appuyant majoritairement sur des données humaines.
	1B	Substances dont le potentiel cancérogène pour l'Homme est supposé en s'appuyant majoritairement sur des données animales.
	2	Substances suspectées d'être cancérogène pour l'Homme, dont les résultats proviennent d'études humaines et/ou animales mais qui sont insuffisamment convaincants pour classer la substance dans une des catégories 1.

Tableau 2 : Classification des substances mutagènes (Parlement Européen, 2008)

Effet	Catégorie	Critères
Mutagène : substances chimiques qui peuvent induire dans les cellules germinales humaines des mutations transmissibles à la descendance	1A	Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires est avérée en s'appuyant majoritairement sur des données humaines.
	1B	Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires est présumée en s'appuyant sur des données animales ou humaines (si la transmission des mutations à la descendance n'a pas été établie).
	2	Substances préoccupantes du fait qu'elles pourraient induire des mutations héréditaires chez l'Homme en s'appuyant sur des données animales ou des expérimentations <i>in vitro</i> .

Tableau 3 : Classification des substances toxiques pour la reproduction (Parlement Européen, 2008)

Effet	Catégorie	Critères
Toxique pour la reproduction : substances chimiques qui peuvent induire des effets néfastes durant la grossesse ou suite à une exposition des parents	1A	Substances dont la toxicité pour la reproduction humaine est avérée en s'appuyant majoritairement sur des données humaines.
	1B	Substances dont la toxicité pour la reproduction humaine est présumée en s'appuyant majoritairement sur des données animales.
	2	Substances suspectées d'être toxique pour la reproduction, dont les données humaines ou animales ne sont pas suffisamment probantes pour justifier une classification dans la catégorie 1.

Le conseil de l'Union Européenne s'est réuni le 26 Juin 2019 à Bruxelles afin de discuter des nanomatériaux et a conclu qu'il était important de les redéfinir, de réactualiser les informations concernant leurs utilisations et leurs expositions et d'améliorer la gestion des risques liés à ces composés. A ce jour dans la réglementation REACH, aucune autre information n'est disponible concernant les nanomatériaux (Conseil de l'Union Européenne, 2019) et ce même si la mise en place d'un système commun pour les pays membres de l'Union Européenne devient de plus en plus urgente.

En dehors des dispositifs de recensement des nanomatériaux, il existe des réglementations à l'échelle de l'Union Européenne sur leur utilisation dans certains produits. Dans le cas des produits cosmétiques, les fabricants, les distributeurs et les importateurs doivent informer la Commission Européenne de la présence de nanomatériaux dans leur produit avant leur mise sur le marché (Parlement Européen, 2009). Ils doivent également fournir un rapport détaillé contenant au minimum le type, la taille et les propriétés du nanomatériau, sa quantité dans le produit cosmétique, sa toxicité et les voies d'expositions possibles. Ils ont également pour obligation de les spécifier dans la liste des ingrédients en ajoutant la mention [nano] après le nom du nanomatériau concerné. La définition de nanomatériau est également précisée et concerne « un matériau insoluble ou bio-persistant, fabriqué intentionnellement et se caractérisant par une ou plusieurs dimensions externes, ou une structure interne, sur une échelle de 1 à 100 nm ». Les agrégats sont également inclus dans la définition à partir du moment où ils sont composés de particules possédant une ou plusieurs dimensions entre 1 et 100 nm. Une liste des composés autorisés est également fournie et regroupe de nombreuses substances à l'état nanométrique comme le dioxyde de titane. Si des produits cosmétiques contiennent des substances à l'état nanométrique non répertoriées, une demande doit être transmise au Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC) qui se réserve le droit d'autoriser (avec ou sans restriction) ou non son utilisation. Une réglementation supplémentaire est venue s'ajouter en juillet 2016 pour certains nanomatériaux, dont le dioxyde de titane nanoparticulaire. Le CSSC a conclu que l'utilisation des NPs TiO_2 dans les produits en spray conduisait à un risque d'exposition par inhalation de l'utilisateur ; elles sont par conséquent interdites dans ce type de produit (Commission Européenne, 2016).

Pour les denrées alimentaires, il est également obligatoire de signaler la présence de nanomatériaux en ajoutant la mention [nano] après le nom du composé concerné. Cette réglementation s'applique à tous les pays membres de l'Union Européenne et a été mise en

vigueur dès décembre 2014. La définition d'un nanomatériau est identique à celle utilisée dans la réglementation des produits cosmétiques (Parlement Européen, 2011).

Concernant les émissions des nanomatériaux dans l'environnement, elles ne sont actuellement pas réglementées. Il n'existe actuellement aucun texte réglementaire à l'échelle de l'Union Européenne fournissant des recommandations ou des restrictions concernant le rejet du TiO₂ nanométrique dans les différents compartiments environnementaux, et ce même si les NPs TiO₂ sont susceptibles d'interagir avec le milieu environnant et de provoquer des effets à court ou long terme.

3.3. Les émissions dans l'environnement

La fabrication, l'utilisation et le traitement des déchets contenant des NPs TiO₂ conduisent inévitablement à des rejets dans les différents compartiments environnementaux (air, eaux/sédiments et sols).

Durant la phase de fabrication, des nanoparticules peuvent être émises dans l'atmosphère à l'état de pristine, si le procédé de production ne forme pas un circuit hermétique (Maynard, 2006). Des émissions accidentelles sont également à prendre en compte lors du transport et du stockage des nanoparticules. En 2011, un camion transportant du dioxyde de titane a perdu plusieurs sacs de 750 kg chacun qui se sont déversés sur le côté droit de la chaussée (Fig. 6 - Nowack *et al.* 2014).



Figure 6 : Déversement accidentel de TiO₂ à Vieux-Thann en Alsace (Nowack *et al.* 2014)

En France, les effluents provenant du secteur industriel sont analysés afin de quantifier les substances dites « polluantes » pour l'environnement. Si les concentrations mesurées ne dépassent pas les limites imposées par l'arrêté du 24 Août 2017 (Ministre de la transition écologique et solidaire, 2017), les installations ont l'autorisation de rejeter ces eaux dans le milieu naturel. Dans le cas contraire, elles doivent être prises en charge et traitées avant tout rejet à l'environnement. Les NPs TiO_2 ne font pas partie de la liste des substances concernées, c'est pourquoi, les eaux résiduaires contenant des nanoparticules sont également une voie de transfert du site de production vers l'environnement (Gottschalk *et al.* 2011).

L'utilisation de produits du quotidien contenant des NPs TiO_2 comme les dentifrices ou certaines denrées alimentaires peut conduire à un rejet dans les eaux usées (Weir *et al.* 2012). Il en est de même pour les eaux de lavage et de rinçage des vêtements de protection anti-UV (Windler *et al.* 2012). En effet, des NPs TiO_2 de 4 à 50 nm ont été détectées dans les eaux usées et plus particulièrement dans les eaux après épuration avant leur rejet dans le milieu naturel (Kiser *et al.* 2009 ; Westerhoff *et al.* 2011). La majeure partie de ces nanoparticules s'accumule cependant dans les boues des stations d'épuration et sont susceptibles d'être utilisées en épandage agricole (Kim *et al.* 2012). L'arrêté du 8 Janvier 1998 fournit des valeurs limites de concentrations de métaux lourds (Cd, Cr, Ni, Pb...) et composés organiques (PCB, benzopyrène...) dans les boues à ne pas dépasser. Le titane et le TiO_2 nanométrique ne font pas partie des substances à surveiller : des boues contenant des NPs TiO_2 peuvent être considérées comme conformes et être déposées sur les sols agricoles.

Une autre voie de transfert possible concerne les nanoparticules contenues dans les crèmes solaires. Elles sont appliquées sur la peau avant toute exposition au soleil, les NPs TiO_2 entrent alors en contact avec l'eau et se retrouvent dans les compartiments aquatiques tels que les lacs, les rivières ou les océans (Labille *et al.* 2010 ; Botta *et al.* 2011).

Les matériaux de construction sont également une voie de transfert des nanoparticules vers les différents compartiments environnementaux (Mackevica *et al.* 2016). Hsu *et al.* 2007 ont étudié l'émission des NPs TiO_2 de trois matériaux différents (polymères, bois et tuiles) exposés aux UV, à un ventilateur et à un couteau en caoutchouc dans le but de simuler respectivement la lumière du soleil, le vent et le contact humain. L'exposition aux UV des trois matériaux augmente de manière significative l'émission de particules dont la taille est inférieure à 200 nm. Aucune analyse n'a cependant été menée dans le but de déterminer si les particules émises contenaient des NPs TiO_2 . Al-Kattan *et al.* 2013 ont cependant mené une expérience similaire

sur une peinture photocatalytique et ont mis en évidence une émission de NPs TiO_2 due à une exposition aux UV. Les compartiments environnementaux les plus impactés par ces émissions sont l'eau, car les pluies lessivent les murs et entraînent des NPs TiO_2 dans les eaux de ruissellement (Kaegi *et al.* 2008) et l'air, les nanoparticules étant émises par l'abrasion de la peinture (Shandilya *et al.* 2015).

Enfin, la fin de vie des matériaux (vêtements, bois, plastique...) représente elle aussi une voie d'entrée des NPs TiO_2 dans l'environnement. Elle s'effectue lors du traitement des déchets dans leur phase d'incinération : les NPs TiO_2 ne sont pas émises directement à l'air mais sont contenues dans le résidu solide après la combustion des déchets (Vejerano *et al.* 2014 ; Massari *et al.* 2014) qui peut être dans certains cas réutilisé dans des matériaux de construction.

3.4. Comportement dans l'environnement

Le comportement et la répartition des NPs TiO_2 dans l'environnement sont directement liés aux propriétés intrinsèques des nanoparticules et aux conditions du milieu dans lequel elles se trouvent. Dans l'eau, les nanoparticules sont considérées comme stables si elles sont réparties uniformément dans le liquide. Elles deviennent instables lorsque ces particules s'agrègent et sédimentent. Leur comportement peut ainsi être expliqué par la théorie Derjaguin, Landau, Verwey, et Overbeek (DLVO). D'après celle-ci, les interactions entre les particules (comme les phénomènes d'agrégation) dépendent uniquement des forces répulsives électrostatiques et des forces attractives de Van der Waals (Kamiya *et al.* 2008). L'équilibre entre ces deux forces va déterminer si lors d'un contact entre deux entités, celles-ci vont s'attacher ou se repousser.

Il existe de nombreux paramètres capables de modifier cet équilibre et donc de favoriser ou non les processus d'agrégation (Bundschuh *et al.* 2018). Le pH est un paramètre important à prendre en compte dans l'explication du comportement des nanoparticules dans un milieu. Le point isoélectrique (PZC) d'une particule représente la valeur de pH pour laquelle la charge de celle-ci est globalement nulle, c'est-à-dire où le potentiel zêta mesuré sera proche de 0 mV. Loosli *et al.* 2014 ont montré que les NPs TiO_2 sont agrégées pour des potentiels compris entre -30 et 30 mV. Ces valeurs sont obtenues lorsque le pH du milieu est proche du PZC des nanoparticules. Au contraire, pour des pH largement supérieurs ou inférieurs au PZC, elles sont respectivement chargées négativement et positivement. Ces nanoparticules auront une charge de même signe dans les deux cas ; elles vont donc se repousser et se stabiliser, ce qui permet de les protéger des phénomènes d'agrégation. Cette expérience a cependant été réalisée

pour une force ionique très faible car celle-ci joue également un rôle dans l'agrégation des nanoparticules.

Dans le cas d'une force ionique élevée et d'un pH du milieu supérieur au PZC, les cations présents en solution vont neutraliser les charges négatives à la surface des NPs TiO_2 : les nanoparticules vont ainsi s'agréger (Adam *et al.* 2016). Les mêmes constatations concernant l'influence du pH et de la force ionique ont été observées par Solobitch *et al.* 2010 lors d'expériences en milieu poreux saturé. Il a été également démontré que les cations divalents (calcium ou magnésium) favorisent davantage l'agrégation des nanoparticules comparé aux cations monovalents comme le sodium, et ce dans l'eau comme dans un milieu poreux (French *et al.* 2009 ; Esfandyari Bayat *et al.* 2015). Cependant, à charge égale, la nature du cation joue également un rôle : l'ion ammonium est plus efficace que l'ion sodium pour agréger les NPs TiO_2 . Dans des conditions similaires (force ionique élevée), la présence simultanée de NH_4^+ et Na^+ , va induire une compétition entre les deux ions. Le potentiel zêta va diminuer vers des valeurs plus négatives, ce qui va diminuer la taille des agrégats et ainsi faciliter leur transport dans le milieu poreux (Xu *et al.* 2017).

La matière organique présente dans le milieu va également interagir avec les nanoparticules et avoir une influence sur les processus d'agrégation. Cependant, elle va jouer différents rôles suivant les conditions de pH et de force ionique du milieu. A force ionique faible, l'agrégation des NPs TiO_2 est favorisée par l'adsorption de la matière organique (hétéroagrégation), seulement si les nanoparticules sont chargées positivement, c'est-à-dire si le pH est inférieur au PZC (Zhu *et al.* 2014). Quand le pH = PZC, la matière organique se fixe sur les nanoparticules, modifiant ainsi leur charge de surface qui devient négative. Les nanoparticules vont se désagréger et être stabilisées *via* des répulsions électrostatiques mais également *via* des encombrements stériques provenant de la matière organique (Loosli *et al.* 2014). Enfin pour des pH acides, la matière organique n'aura pas le même effet suivant sa concentration. Si celle-ci est faible, la charge globale des nanoparticules (positive quand pH < PZC) sera neutralisée par la matière organique, le potentiel zêta sera proche de zéro et les NPs TiO_2 vont s'agréger. Si celle-ci est élevée, la charge globale des NPs TiO_2 va devenir négative, ce qui va permettre de les stabiliser en solution grâce aux répulsions électrostatiques (Romanello *et al.* 2013). Enfin, la présence de matière organique dans un milieu à force ionique élevée avec pH > PZC peut induire la formation de ponts si le milieu contient des ions calcium. La matière organique et les nanoparticules sont chargées négativement. Les ions calcium vont se placer entre ces deux

entités, ce qui va réduire les répulsions électrostatiques et former des hétéroagrégats entre les NPs TiO₂ et la matière organique dans le milieu (Ottofuelling *et al.* 2011 ; Liu *et al.* 2013).

Ces constatations sont également valables pour un milieu poreux saturé où, si les conditions de pH, force ionique et de matière organique forcent les nanoparticules à s'agréger, elles seront plus retenues dans le milieu poreux et leur mobilité sera limitée (Ben-Moshe *et al.* 2010 ; Wang *et al.* 2012 ; Han *et al.* 2014 ; Zhang *et al.* 2015). D'autres paramètres dans le cas d'un milieu poreux sont cependant à prendre en compte pour expliquer l'état d'agrégation des nanoparticules (et donc leur mobilité) comme l'enrobage, la taille et la concentration des NPs TiO₂ (Chowdhury *et al.* 2011 ; Petosa *et al.* 2012 ; Chen *et al.* 2015), la présence de surfactant (Godinez *et al.* 2013 ; Sun *et al.* 2015) ou encore la composition du milieu poreux (Fang *et al.* 2009 ; Lv *et al.* 2016). Dans ce dernier cas, les études dans des milieux poreux non saturés ont montré que les paramètres de force ionique et de pH influencent l'agrégation de la même manière qu'en milieu poreux saturé (Fang *et al.* 2013). Cependant, l'interface eau/air ajoute une difficulté supplémentaire car les conditions d'un milieu poreux non saturé (évaporation, infiltration...) changent régulièrement dans le temps. Enfin, Chen *et al.* 2010 ont mis en évidence la difficulté de remobiliser des NPs TiO₂ une fois retenues par le milieu et ce même dans des conditions qui favorisent en temps normal leur transport.

3.5. Toxicité

3.5.1. Toxicité pour les mammifères et l'Homme

Pour l'Homme, il existe principalement trois voies d'exposition aux NPs TiO₂ (Shakeel *et al.* 2016) : l'inhalation, l'ingestion et la voie cutanée. Par conséquent, l'évaluation de la toxicité humaine liée au NPs TiO₂ est une nécessité. Les études conduites directement sur l'Homme sont cependant limitées et concernent principalement des expérimentations *in vitro* sur des cellules humaines.

De nombreux effets ont été détectés sur différentes cellules humaines comme de la cytotoxicité, où dans certains cas les nanoparticules étaient capables de s'introduire et de s'accumuler dans les cellules (Park *et al.* 2007 ; Zhang *et al.* 2011 ; Saquib *et al.* 2012 ; Gitrowski *et al.* 2014 ; Hattori *et al.* 2017) et de la génotoxicité (Shukla *et al.* 2011 ; Srivastava *et al.* 2013 ; Shukla *et al.* 2013 ; Periasamy *et al.* 2015). Dans le cas particulier des cellules de l'intestin, les NPs TiO₂ étaient également capables de réduire l'absorption des nutriments (Guo *et al.* 2017). Enfin, même si les NPs TiO₂ semblent pouvoir pénétrer dans certains cas la première couche cellulaire (*stratum*

corneum), elles n'atteignent pas les couches les plus profondes de l'épiderme (Lademann *et al.* 1999 ; Filipe *et al.* 2009 ; Senzui *et al.* 2010). Les études sur les cellules humaines reflètent cependant difficilement ce qui peut se passer à l'échelle d'un organisme complet. C'est pourquoi, de nombreux tests de toxicité ont été mis en place sur des mammifères (souris, rats, porcs...), dans le but d'identifier des effets qu'il serait possible de retrouver chez l'Homme après une exposition similaire.

Concernant l'inhalation, une exposition à des NPs TiO₂ a généré dans certains cas une inflammation pulmonaire (Scuri *et al.* 2010), une bioaccumulation dans les poumons (Van Ravenzwaay *et al.* 2009) qui peut s'étendre jusque dans les alvéoles (Rossi *et al.* 2010), et de la génotoxicité (Halappanavar *et al.* 2011). Lors d'une instillation intratrachéale¹ ou d'une administration directe par voie nasale, des effets supplémentaires sur le système respiratoire ont été observés, comme des dommages sur les parois alvéolaires ou une hyperémie² (Tang *et al.* 2011). Enfin, les systèmes nerveux, cardiovasculaire et rénal sont également touchés avec notamment une bioaccumulation de titane dans le cerveau (Li *et al.* 2010), une dégénérescence neuronale (Wang *et al.* 2008), du stress oxydatif (Leblanc *et al.* 2010) ou encore une modification des paramètres biochimiques (Tang *et al.* 2011).

La toxicité des NPs TiO₂ a également été démontrée par voie orale où elle se manifeste de plusieurs façons, notamment par une accumulation des nanoparticules et un stress oxydatif dans plusieurs organes (Shrivastava *et al.* 2014 ; Vasantharaja *et al.* 2015). De la génotoxicité (Faddah *et al.* 2013), des dommages sur le système reproducteur (Sharkawy *et al.* 2010) et sur le muscle cardiaque (Wang *et al.* 2007), une modification de la flore intestinale (Bu *et al.* 2010) et une nécrose du foie ont également été détectés chez des souris et des rats (Cui *et al.* 2011).

Enfin, l'application des NPs TiO₂ par voie cutanée sur des mammifères est moins bien documentée que les deux voies d'expositions précédentes, mais plusieurs études ne semblent pas détecter de pénétration des NPs TiO₂ jusqu'au derme, susceptibles alors de se retrouver

¹ L'instillation intratrachéale consiste à étudier l'exposition par l'inhalation d'une substance toxique mais où celle-ci est directement injectée dans la trachée.

² L'hyperémie est une augmentation anormale du flux sanguin dans un organe.

dans le sang et d'être transportées vers les organes (Bennat *et al.* 2000 ; Newman *et al.* 2009 ; Sadrieh *et al.* 2010 ; Sagawa *et al.* 2012). *A contrario*, Wu *et al.* 2009 ont observé une pénétration dans les couches profondes de la peau ainsi qu'une accumulation de nanoparticules et des dommages dans certains organes. Une diminution de la concentration du collagène a également été détectée dans cette même expérimentation, pouvant ainsi provoquer un vieillissement prématuré de la peau.

L'exposition des mammifères aux NPs TiO₂ provoquent indéniablement des dommages sur les organismes, pouvant à long terme favoriser le développement de maladies.

3.5.2. Toxicité pour les plantes

Les NPs TiO₂ sont capables d'adhérer et de s'accumuler à la surface des algues, provoquant des dommages dans les cellules (Sadiq *et al.* 2011 ; Chen *et al.* 2012 ; Wang *et al.* 2016). A des concentrations de l'ordre de 1 mg/L, une stimulation de la croissance est observée, alors qu'à des concentrations plus élevées, celle-ci se voit inhibée : les NPs TiO₂ ont donc une réponse hormétique sur les algues (Hartmann *et al.* 2010 ; Xia *et al.* 2015). Des modifications de l'activité enzymatique ont également été détectées (Li *et al.* 2015 ; Deng *et al.* 2017). Certaines espèces d'algues semblent également être plus sensibles que d'autres aux nanoparticules : pour une même concentration, des dommages plus importants ont été observés pour *Chlorella* comparé à *Scenedesmus* (Roy *et al.* 2016). La toxicité des NPs TiO₂ sur les algues provient de deux mécanismes principaux : la production de radicaux libres (ROS) et la fixation des nanoparticules à la surface des algues empêchant la lumière d'atteindre les cellules chlorophylliennes (Ji *et al.* 2011 ; Lin *et al.* 2012).

Sur d'autres plantes, les nanoparticules ont la capacité d'accélérer la germination des graines, d'augmenter l'élongation des racines et de stimuler la croissance de plusieurs plantes à faible concentration, de l'ordre du mg/L ou g/L suivant le milieu d'exposition (Laware *et al.* 2014 ; Feizi *et al.* 2012). Une augmentation de la biodisponibilité des éléments tels que le phosphore ou le magnésium a également été détectée (Zheng *et al.* 2005 ; Zahra *et al.* 2015). Cependant, à des concentrations plus élevées, les nanoparticules induisent des effets néfastes sur les plantes comme une diminution du taux de croissance ou de la taille des ramifications (Song *et al.* 2013 ; Moll *et al.* 2016). Des modifications des activités enzymatiques, une génotoxicité, et une accumulation de titane dans les racines ont été observées, et ce, même à de faibles concentrations en nanoparticules (Larue *et al.* 2011 ; Ruffini Castiglione *et al.* 2011 ; Frazier *et*

al. 2014 ; Samadi *et al.* 2014). Servin *et al.* 2013 ont mis en évidence leur présence dans la partie consommable du concombre, pouvant suggérer un possible transfert dans la chaîne trophique. Tumburu *et al.* 2015 indiquent que les effets bénéfiques sur les plantes seraient dus au stress oxydatif (compte tenu des modifications génétiques et sur les activités enzymatiques), et qu'un mécanisme de défense permettrait d'accélérer la croissance de la plante. Cependant, si la quantité en NPs TiO₂ augmente, ce stress devient alors plus important et engendre des effets néfastes sur la plante pouvant aller jusqu'à des dommages sur l'ADN (Pakrashi *et al.* 2014).

3.5.3. Toxicité pour d'autres organismes (bactéries, invertébrés et poissons)

Les bactéries sont affectées par la présence de NPs TiO₂ dans leur milieu. Ge *et al.* 2011 ont détecté une diminution de l'abondance des bactéries dans le sol ainsi qu'un changement dans la diversité bactérienne : toutes les bactéries ne répondent pas de la même manière aux nanoparticules, comme *Escherichia coli* qui semble plus sensible aux nanoparticules que *Bacillus subtilis* (Erdem *et al.* 2015). De plus, en étudiant plus d'une centaine de taxons différents, Ge *et al.* 2012 ont mis en évidence la capacité des NPs TiO₂ à réduire certaines populations en particulier, tandis que d'autres pouvaient voir leur abondance augmenter (*cf.* Chapitre 4).

Les NPs TiO₂ induisent des effets sur de nombreuses espèces comme *Daphnia magna*, un crustacé d'eau douce ou *Caenorhabditis elegans*, un nématode présent dans les sols. Une mortalité, une baisse de la mobilité et de la reproduction ainsi qu'une bioaccumulation du titane ont été observées sur ces organismes (Wiench *et al.* 2009 ; Zhu *et al.* 2010 ; Wu *et al.* 2012 ; Angelstorff *et al.* 2014). Les vers de terre sont également affectés par les NPs TiO₂ mais dans une moindre mesure. Une augmentation de la mortalité a uniquement été détectée sur *Pheretima hawayana* une espèce exotique de vers de terre (Khalil *et al.* 2015). Leur reproduction semble également affectée car une inhibition de leur cycle circannuel³ a été constatée sur *Eisenia andrei* (Schlich *et al.* 2012 ; Hund-Rinke *et al.* 2012). Des modifications sur l'activité enzymatique, une bioaccumulation ainsi qu'une tendance à éviter le sol contaminé ont également été relevées (Bigorgne *et al.* 2011 ; McShane *et al.* 2012). La production de ROS, générant ainsi un stress oxydatif sur l'organisme a été retenue comme mécanisme principal de toxicité des NPs TiO₂.

³ Le cycle circannuel consiste en une régulation naturelle de l'organisme qui voit son taux de reproduction diminuer en hiver même si l'animal est élevé en laboratoire.

Enfin, sur les poissons et notamment *Danio rerio* qui est le plus étudié à ce jour, des effets similaires ont été détectés comme une augmentation de la mortalité, une baisse de la reproduction, une inhibition de la taille, des dommages sur l'ADN ainsi qu'une bioaccumulation de titane dans tous les organes (Wang *et al.* 2011 ; Chen *et al.* 2011 ; Xiong *et al.* 2011 ; Rocco *et al.* 2015). La génération de ROS par les NPs TiO₂ provoquant des dommages sur toutes les cellules de l'organisme serait également le mécanisme responsable de leur toxicité.

Ce qu'il faut retenir

- Les NPs TiO_2 sont omniprésentes dans les produits du quotidien.
- Il existe de nombreuses voies d'entrée de ces nanoparticules dans l'environnement.
- L'Homme et les écosystèmes sont exposés aux NPs TiO_2 et ces dernières provoquent des effets néfastes sur les organismes.
- Pourtant, aucune réglementation ne limite leur production, leur utilisation et leurs émissions ; il est nécessaire de multiplier les études afin de combler ces manques.

Bibliographie

- Adam, V. *et al.* Aggregation behaviour of TiO₂ nanoparticles in natural river water. *J Nanopart Res* **18**, 13 (2016).
- Al-Kattan, A. *et al.* Release of TiO₂ from paints containing pigment-TiO₂ or nano-TiO₂ by weathering. *Environ. Sci.: Processes Impacts* **15**, 2186 (2013).
- Angelstorf, J. S., Ahlf, W., von der Kammer, F. & Heise, S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO₂ nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*: Light exposure increases nanoscale-TiO₂ toxicity. *Environ Toxicol Chem* **33**, 2288–2296 (2014).
- Baillon, F. Procédé de synthèse du dioxyde de titane : analyse et modélisation des solutions titane - sulfate ; influence des ultrasons et de la précipitation. (Ecole des mines de Paris, 2002).
- Ben-Moshe, T., Dror, I. & Berkowitz, B. Transport of metal oxide nanoparticles in saturated porous media. *Chemosphere* **81**, 387–393 (2010).
- Bennat & Müller-Goymann. Skin penetration and stabilization of formulations containing microfine titanium dioxide as physical UV filter. *International Journal of Cosmetic Science* **22**, 271–283 (2000).
- Bigorgne, E. *et al.* Ecotoxicological assessment of TiO₂ byproducts on the earthworm *Eisenia fetida*. *Environmental Pollution* **159**, 2698–2705 (2011).
- Blanchart, P. Dioxyde de titane - Propriétés et applications. *Techniques de l'ingénieur* 1–17 (2019).

- Botta, C. *et al.* TiO₂-based nanoparticles released in water from commercialized sunscreens in a life-cycle perspective: Structures and quantities. *Environmental Pollution* **159**, 1543–1550 (2011).
- Bu, Q. *et al.* NMR-based metabonomic study of the sub-acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats after oral administration. *Nanotechnology* **21**, 125105 (2010).
- Bundschuh, M. *et al.* Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? *Environ Sci Eur* **30**, 1-17 (2018).
- Chen, J., Dong, X., Xin, Y. & Zhao, M. Effects of titanium dioxide nano-particles on growth and some histological parameters of zebrafish (*Danio rerio*) after a long-term exposure. *Aquatic Toxicology* **101**, 493–499 (2011).
- Chen, L. *et al.* Toxicological effects of nanometer titanium dioxide (nano-TiO₂) on *Chlamydomonas reinhardtii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **84**, 155–162 (2012).
- Chen, L., Sabatini, D. A. & Kibbey, T. C. G. Retention and release of TiO₂ nanoparticles in unsaturated porous media during dynamic saturation change. *Journal of Contaminant Hydrology* **118**, 199–207 (2010).
- Chen, M. *et al.* Facilitated transport of anatase titanium dioxides nanoparticles in the presence of phosphate in saturated sands. *Journal of Colloid and Interface Science* **451**, 134–143 (2015).
- Chen, X.-X. *et al.* Characterization and Preliminary Toxicity Assay of Nano-Titanium Dioxide Additive in Sugar-Coated Chewing Gum. *Small* **9**, 1765–1774 (2013).

- Chowdhury, I., Hong, Y., Honda, R. J. & Walker, S. L. Mechanisms of TiO₂ nanoparticle transport in porous media: Role of solution chemistry, nanoparticle concentration, and flowrate. *Journal of Colloid and Interface Science* **360**, 548–555 (2011).
- Cole, C., Shyr, T. & Ou-Yang, H. Metal oxide sunscreens protect skin by absorption, not by reflection or scattering. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **32**, 5–10 (2016).
- Commission Européenne. *COMMISSION RECOMMENDATION on the definition of nanomaterial.* 1–6 (2011).
- Commission Européenne. *RÈGLEMENT (UE) 2016/1143 DE LA COMMISSION - du 13 juillet 2016 - modifiant l'annexe VI du règlement (CE) no 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil relatif aux produits cosmétiques.* 1-4 (2016)
- Conseil de l'Union Européenne. *Towards a Sustainable Chemicals Policy Strategy of the Union - Council conclusions* -. 1–14 (2019).
- Cui, Y. *et al.* Signaling pathway of inflammatory responses in the mouse liver caused by TiO₂ nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res.* **96A**, 221–229 (2011).
- Deng, X.-Y. *et al.* Biological effects of TiO₂ and CeO₂ nanoparticles on the growth, photosynthetic activity, and cellular components of a marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Science of The Total Environment* **575**, 87–96 (2017).
- Dugua, J. & Sibony, M. Chloration des métaux et carbochloration des oxydes. *Techniques de l'ingénieur* 1–11 (1996).

Elghnji, K. Préparation et caractérisation des nanomatériaux à base de dioxyde de Titane modifié par des éléments non métalliques (N, F et P) et métallique (Fe) pour la dépollution par photocatalyse UV-Visible et Solaire. (Université de Sfax, 2012).

Environmental Protection Agency. Chemical Substances When Manufactured or Processed as Nanoscale Materials; TSCA Reporting and Recordkeeping Requirements. *Rules and Regulations* **82**, 3641–3655 (2017).

Erdem, A., Metzler, D., Cha, D. K. & Huang, C. P. The short-term toxic effects of TiO₂ nanoparticles toward bacteria through viability, cellular respiration, and lipid peroxidation. *Environ Sci Pollut Res* **22**, 17917–17924 (2015).

Esfandyari Bayat, A., Junin, R., Derahman, M. N. & Samad, A. A. TiO₂ nanoparticle transport and retention through saturated limestone porous media under various ionic strength conditions. *Chemosphere* **134**, 7–15 (2015).

Etacheri, V., Di Valentin, C., Schneider, J., Bahnemann, D. & Pillai, S. C. Visible-light activation of TiO₂ photocatalysts: Advances in theory and experiments. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **25**, 1–29 (2015).

Faddah, L. M., Abdel Baky, N. A., Al-Rasheed, N. M. & Al-Rasheed, N. M. Biochemical responses of nanosize titanium dioxide in the heart of rats following administration of idepenone and quercetin. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **7**, 2639–2651 (2013).

Fang, J., Shan, X., Wen, B., Lin, J. & Owens, G. Stability of titania nanoparticles in soil suspensions and transport in saturated homogeneous soil columns. *Environmental Pollution* **157**, 1101–1109 (2009).

- Fang, J., Xu, M., Wang, D., Wen, B. & Han, J. Modeling the transport of TiO₂ nanoparticle aggregates in saturated and unsaturated granular media: Effects of ionic strength and pH. *Water Research* **47**, 1399–1408 (2013).
- Feizi, H., Rezvani Moghaddam, P., Shahtahmassebi, N. & Fotovat, A. Impact of Bulk and Nanosized Titanium Dioxide (TiO₂) on Wheat Seed Germination and Seedling Growth. *Biol Trace Elem Res* **146**, 101–106 (2012).
- Filipe, P. *et al.* Stratum Corneum Is an Effective Barrier to TiO₂ and ZnO Nanoparticle Percutaneous Absorption. *Skin Pharmacol Physiol* **22**, 266–275 (2009).
- Frazier, T. P., Burklew, C. E. & Zhang, B. Titanium dioxide nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Funct Integr Genomics* **14**, 75–83 (2014).
- Freestone, I., Meeks, N., Sax, M. & Higgitt, C. The Lycurgus Cup - A Roman Nanotechnology. *Gold Bulletin* **40**, 270–277 (2007).
- French, R. A. *et al.* Influence of Ionic Strength, pH, and Cation Valence on Aggregation Kinetics of Titanium Dioxide Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 1354–1359 (2009).
- Ge, Y., Schimel, J. P. & Holden, P. A. Evidence for Negative Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles on Soil Bacterial Communities. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 1659–1664 (2011).
- Ge, Y., Schimel, J. P. & Holden, P. A. Identification of Soil Bacteria Susceptible to TiO₂ and ZnO Nanoparticles. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 6749–6758 (2012).

- Gitrowski, C., Al-Jubory, A. R. & Handy, R. D. Uptake of different crystal structures of TiO₂ nanoparticles by Caco-2 intestinal cells. *Toxicology Letters* **226**, 264–276 (2014).
- Godinez, I. G., Darnault, C. J. G., Khodadoust, A. P. & Bogdan, D. Deposition and release kinetics of nano-TiO₂ in saturated porous media: Effects of solution ionic strength and surfactants. *Environmental Pollution* **174**, 106–113 (2013).
- Gottschalk, F. & Nowack, B. The release of engineered nanomaterials to the environment. *J. Environ. Monit.* **13**, 1145 (2011).
- Guo, Z., Martucci, N. J., Moreno-Olivas, F., Tako, E. & Mahler, G. J. Titanium dioxide nanoparticle ingestion alters nutrient absorption in an in vitro model of the small intestine. *NanoImpact* **5**, 70–82 (2017).
- Halappanavar, S. *et al.* Pulmonary response to surface-coated nanotitanium dioxide particles includes induction of acute phase response genes, inflammatory cascades, and changes in microRNAs: A toxicogenomic study. *Environ. Mol. Mutagen.* **52**, 425–439 (2011).
- Han, P., Wang, X., Cai, L., Tong, M. & Kim, H. Transport and retention behaviors of titanium dioxide nanoparticles in iron oxide-coated quartz sand: Effects of pH, ionic strength, and humic acid. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **454**, 119–127 (2014).
- Hartmann, N. B. *et al.* Algal testing of titanium dioxide nanoparticles-Testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability. *Toxicology* **269**, 190–197 (2010).

- Hattori, K. *et al.* Exposure to nano-size titanium dioxide causes oxidative damages in human mesothelial cells: The crystal form rather than size of particle contributes to cytotoxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **492**, 218–223 (2017).
- Heiligtag, F. J. & Niederberger, M. The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today* **16**, 262–271 (2013).
- Hsu, L.-Y. & Chein, H.-M. Evaluation of nanoparticle emission for TiO₂ nanopowder coating materials. *J Nanopart Res* **9**, 157–163 (2007).
- Hulla, J., Sahu, S. & Hayes, A. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol* **34**, 1318–1321 (2015).
- Hund-Rinke, K., Schlich, K. & Klawonn, T. Influence of application techniques on the ecotoxicological effects of nanomaterials in soil. *Environ Sci Eur* **24**, 30 (2012).
- ISO/TS 80004-1:2015. Nanotechnologies - Vocabulaire - Partie 1 : Termes « cœur » (2015).
- ISO/TS 80004-2:2015. Nanotechnologies - Vocabulaire - Partie 2 : Nano-objets (2015).
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. & Danquah, M. K. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J. Nanotechnol.* **9**, 1050–1074 (2018).
- Ji, J., Long, Z. & Lin, D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp. *Chemical Engineering Journal* **170**, 525–530 (2011).
- Kaegi, R. *et al.* Synthetic TiO₂ nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment. *Environmental Pollution* **156**, 233–239 (2008).

- Kamiya, H. *et al.* Characteristics and Behavior of Nanoparticles and Its Dispersion Systems. *Nanoparticle Technology Handbook* 109–168 (Elsevier, 2018).
- Khalil, A. M. Neurotoxicity and biochemical responses in the earthworm *Pheretima hawayana* exposed to TiO₂ NPs. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **122**, 455–461 (2015).
- Kim, B., Murayama, M., Colman, B. P. & Hochella, M. F. Characterization and environmental implications of nano- and larger TiO₂ particles in sewage sludge, and soils amended with sewage sludge. *J. Environ. Monit.* **14**, 1128–1136 (2012).
- Kiser, M. A. *et al.* Titanium Nanomaterial Removal and Release from Wastewater Treatment Plants. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 6757–6763 (2009).
- Kumar, K.-N. P. Growth of rutile crystallites during the initial stage of anatase-to-rutile transformation in pure titania and in titania-alumina nanocomposites. *Scripta Metallurgica et Materialia* **32**, 873–877 (1995).
- Labille, J. *et al.* Aging of TiO₂ nanocomposites used in sunscreen. Dispersion and fate of the degradation products in aqueous environment. *Environmental Pollution* **158**, 3482–3489 (2010).
- Lademann, J. *et al.* Penetration of Titanium Dioxide Microparticles in a Sunscreen Formulation into the Horny Layer and the Follicular Orifice. *Skin Pharmacol Physiol* **12**, 247–256 (1999).
- Larue, C. *et al.* Investigation of titanium dioxide nanoparticles toxicity and uptake by plants. *J. Phys.: Conf. Ser.* **304**, 012057 (2011).

- Laware, S. L. & Raskar, S. Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on Hydrolytic and Antioxidant Enzymes during Seed Germination in Onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **3**, 749–760 (2014).
- LeBlanc, A. J. *et al.* Nanoparticle Inhalation Impairs Coronary Microvascular Reactivity via a Local Reactive Oxygen Species-Dependent Mechanism. *Cardiovasc Toxicol* **10**, 27–36 (2010).
- Li, F. *et al.* Toxicity of nano-TiO₂ on algae and the site of reactive oxygen species production. *Aquatic Toxicology* **158**, 1–13 (2015).
- Li, Q., Liu, Q., Peng, B., Chai, L. & Liu, H. Self-cleaning performance of TiO₂ - coating cement materials prepared based on solidification/stabilization of electrolytic manganese residue. *Construction and Building Materials* **106**, 236–242 (2016).
- Li, Y. *et al.* Systematic Influence Induced by 3 nm Titanium Dioxide Following Intratracheal Instillation of Mice. *J. Nanosci. Nanotech.* **10**, 8544–8549 (2010).
- Lin, D., Ji, J., Long, Z., Yang, K. & Wu, F. The influence of dissolved and surface-bound humic acid on the toxicity of TiO₂ nanoparticles to *Chlorella* sp. *Water Research* **46**, 4477–4487 (2012).
- Liu, W., Sun, W., Borthwick, A. G. L. & Ni, J. Comparison on aggregation and sedimentation of titanium dioxide, titanate nanotubes and titanate nanotubes-TiO₂: Influence of pH, ionic strength and natural organic matter. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **434**, 319–328 (2013).
- Loosli, F., Le Coustumer, P. & Stoll, S. Effect of natural organic matter on the disagglomeration of manufactured TiO₂ nanoparticles. *Environ. Sci.: Nano* **1**, 154 (2014).

- Lv, X. *et al.* Effects of grain size and structural heterogeneity on the transport and retention of nano-TiO₂ in saturated porous media. *Science of The Total Environment* **563–564**, 987–995 (2016).
- Mackevica, A. & Foss Hansen, S. Release of nanomaterials from solid nanocomposites and consumer exposure assessment – a forward-looking review. *Nanotoxicology* **10**, 641–653 (2016).
- Massari, A., Beggio, M., Hreglich, S., Marin, R. & Zuin, S. Behavior of TiO₂ nanoparticles during incineration of solid paint waste: A lab-scale test. *Waste Management* **34**, 1897–1907 (2014).
- Maynard, A. D. Nanotechnology: assessing the risks. *Nano Today* **1**, 22–33 (2006).
- McShane, H., Sarrazin, M., Whalen, J. K., Hendershot, W. H. & Sunahara, G. I. Reproductive and behavioral responses of earthworms exposed to nano-sized titanium dioxide in soil: Effects of nano-TiO₂ on the earthworm. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31**, 184–193 (2012).
- Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie. *Arrêté du 6 août 2012 relatif au contenu et aux conditions de présentation de la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire, pris en application des articles R. 523-12 et R. 523-13 du code de l'environnement.* 1–4 (2012).
- Ministre de la transition écologique et solidaire. *Arrêté du 24 août 2017 modifiant dans une série d'arrêtés ministériels les dispositions relatives aux rejets de substances dangereuses dans l'eau en provenance des installations classées pour la protection de l'environnement.* 1–182 (2017).

- Ministre de la transition écologique et solidaire. *Éléments issus des déclarations des substances à l'état nanoparticulaire*. 1–317 (2017).
- Moll, J. *et al.* Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on Red Clover and Its Rhizobial Symbiont. *PLoS ONE* **11**, e0155111 (2016).
- Newman, M. D., Stotland, M. & Ellis, J. I. The safety of nanosized particles in titanium dioxide– and zinc oxide–based sunscreens. *Journal of the American Academy of Dermatology* **61**, 685–692 (2009).
- Nowack, B. & Bucheli, T. D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution* **150**, 5–22 (2007).
- Nowack, B., Mueller, N. C., Krug, H. F. & Wick, P. How to consider engineered nanomaterials in major accident regulations? *Environ Sci Eur* **26**, 1-10 (2014).
- Ostiguy, C., Roberge, B., Woods, C. & Soucy, B. *Les nanoparticules de synthèse connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST*. 1–159 (2010).
- Ottofuelling, S., Von Der Kammer, F. & Hofmann, T. Commercial Titanium Dioxide Nanoparticles in Both Natural and Synthetic Water: Comprehensive Multidimensional Testing and Prediction of Aggregation Behavior. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 10045–10052 (2011).
- Pakrashi, S. *et al.* In Vivo Genotoxicity Assessment of Titanium Dioxide Nanoparticles by Allium cepa Root Tip Assay at High Exposure Concentrations. *PLoS ONE* **9**, e87789 (2014).

Park, S. *et al.* Cellular Toxicity of Various Inhalable Metal Nanoparticles on Human Alveolar Epithelial Cells. *Inhalation Toxicology* **19**, 59–65 (2007).

Parlement Européen. RÈGLEMENT (CE) No 1169/2011 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) no 1924/2006 et (CE) no 1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) no 608/2004 de la Commission Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE. 1–46 (2011).

Parlement Européen. RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. 1–151 (2009).

Parlement Européen. RÈGLEMENT (CE) No 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006. 1–1357 (2008).

Periasamy, V. S. *et al.* Identification of titanium dioxide nanoparticles in food products: Induce intracellular oxidative stress mediated by TNF and CYP1A genes in human lung fibroblast cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **39**, 176–186 (2015).

Peters, R. J. B. *et al.* Characterisation of titanium dioxide nanoparticles in food products: Analytical methods to define nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62**, 6285–6293 (2014).

- Petosa, A. R., Brennan, S. J., Rajput, F. & Tufenkji, N. Transport of two metal oxide nanoparticles in saturated granular porous media: Role of water chemistry and particle coating. *Water Research* **46**, 1273–1285 (2012).
- Poisson, R. Applications et propriétés de TiO₂. *L'actualité chimique* 63–64 (2015).
- Prasad Yadav, T., Manohar Yadav, R. & Pratap Singh, D. Mechanical Milling: a Top Down Approach for the Synthesis of Nanomaterials and Nanocomposites. *NN* **2**, 22–48 (2012).
- Rivero, P. J., Urrutia, A., Goicoechea, J. & Arregui, F. J. Nanomaterials for Functional Textiles and Fibers. *Nanoscale Res Lett* **10**, 1–22 (2015).
- Rocco, L. *et al.* Genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles in the teleost *Danio rerio*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **113**, 223–230 (2015).
- Romanello, M. B. & Fidalgo de Cortalezzi, M. M. An experimental study on the aggregation of TiO₂ nanoparticles under environmentally relevant conditions. *Water Research* **47**, 3887–3898 (2013).
- Rossi, E. M. *et al.* Airway Exposure to Silica-Coated TiO₂ Nanoparticles Induces Pulmonary Neutrophilia in Mice. *Toxicological Sciences* **113**, 422–433 (2010).
- Roy, R., Parashar, A., Bhuvaneshwari, M., Chandrasekaran, N. & Mukherjee, A. Differential effects of P25 TiO₂ nanoparticles on freshwater green microalgae: *Chlorella* and *Scenedesmus* species. *Aquatic Toxicology* **176**, 161–171 (2016).

- Ruffini Castiglione, M., Giorgetti, L., Geri, C. & Cremonini, R. The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. *J Nanopart Res* **13**, 2443–2449 (2011).
- Runowski, M. Nanotechnology – nanomaterials, nanoparticles and multifunctional core/shell type nanostructures. *Chemik* **68**, 766–775 (2014).
- Sadiq, I. M., Dalai, S., Chandrasekaran, N. & Mukherjee, A. Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **74**, 1180–1187 (2011).
- Sadrieh, N. *et al.* Lack of Significant Dermal Penetration of Titanium Dioxide from Sunscreen Formulations Containing Nano- and Submicron-Size TiO₂ Particles. *Toxicological Sciences* **115**, 156–166 (2010).
- Sagawa, Y. *et al.* Lack of promoting effect of titanium dioxide particles on chemically-induced skin carcinogenesis in rats and mice. *J. Toxicol. Sci.* **37**, 317–327 (2012).
- Samadi, N. Effect of TiO₂ and TiO₂ Nanoparticle on Germination, Root and Shoot Length and Photosynthetic Pigments of *Mentha Piperita*. *IJPSS* **3**, 408–418 (2014).
- Saquib, Q. *et al.* Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells. *Toxicology in Vitro* **26**, 351–361 (2012).
- Schlich, K., Terytze, K. & Hund-Rinke, K. Effect of TiO₂ nanoparticles in the earthworm reproduction test. *Environ Sci Eur* **24**, 5 (2012).

- Scuri, M. *et al.* Effects of Titanium Dioxide Nanoparticle Exposure on Neuroimmune Responses in Rat Airways. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **73**, 1353–1369 (2010).
- Senzui, M. *et al.* Study on penetration of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles into intact and damaged skin in vitro. *J. Toxicol. Sci.* **35**, 107–113 (2010).
- Servin, A. D. *et al.* Synchrotron Verification of TiO₂ Accumulation in Cucumber Fruit: A Possible Pathway of TiO₂ Nanoparticle Transfer from Soil into the Food Chain. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 11592–11598 (2013).
- Shakeel, M. *et al.* Toxicity of Nano-Titanium Dioxide (TiO₂-NP) Through Various Routes of Exposure: a Review. *Biol Trace Elem Res* **172**, 1–36 (2016).
- Shandilya, N., Le Bihan, O., Bressot, C. & Morgener, M. Emission of Titanium Dioxide Nanoparticles from Building Materials to the Environment by Wear and Weather. *Environ. Sci. Technol.* **49**, 2163–2170 (2015).
- Sharkawy, E.- & Hamza, M. Toxic Impact of Titanium Dioxide (TiO₂) In Male Albino Rats with Special Reference to its Effect on Reproductive System. *Journal of American Science* **6**, 865–872 (2010).
- Sharma, S. *et al.* Fueling a Hot Debate on the Application of TiO₂ Nanoparticles in Sunscreen. *Materials* **12**, 1–24 (2019).
- Shrivastava, R., Raza, S., Yadav, A., Kushwaha, P. & Flora, S. J. S. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug and Chemical Toxicology* **37**, 336–347 (2014).

- Shukla, R. K. *et al.* ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology in Vitro* **25**, 231–241 (2011).
- Shukla, R. K. *et al.* TiO₂ nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in human liver cells. *Nanotoxicology* **7**, 48–60 (2013).
- Smijs, T. & Pavel. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *NSA* **4**, 95–112 (2011).
- Solovitch, N. *et al.* Concurrent Aggregation and Deposition of TiO₂ Nanoparticles in a Sandy Porous Media. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 4897–4902 (2010).
- Song, U. *et al.* Functional Analysis of TiO₂ Nanoparticle Toxicity in Three Plant Species. *Biol Trace Elem Res* **155**, 93–103 (2013).
- Srivastava, R. *et al.* Nano-titanium dioxide induces genotoxicity and apoptosis in human lung cancer cell line, A549. *Hum Exp Toxicol* **32**, 153–166 (2013).
- Sun, P. *et al.* Transport of TiO₂ nanoparticles in soil in the presence of surfactants. *Science of The Total Environment* **527–528**, 420–428 (2015).
- Tang, M. *et al.* Metabonomic Studies of Biochemical Changes in the Serum of Rats by Intratracheally Instilled TiO₂ Nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotech.* **11**, 3065–3074 (2011).
- Taniguchi, N. On the Basic Concept of Nano-Technology. *Proceedings of the International Conference on Production Engineering* **2**, 18–23 (1974).
- Tao, P. *et al.* TiO₂ nanocomposites with high refractive index and transparency. *J. Mater. Chem.* **21**, 18623 (2011).

- Tsao, T. M., Chen, Y. M. & Wang, M. K. Origin, separation and identification of environmental nanoparticles: a review. *J. Environ. Monit.* **13**, 1156 (2011).
- Tumburu, L., Andersen, C. P., Rygielwicz, P. T. & Reichman, J. R. Phenotypic and genomic responses to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticles in *Arabidopsis* germinants: *Arabidopsis* response to TiO₂ and CeO₂ nanoparticle exposure. *Environ Toxicol Chem* **34**, 70–83 (2015).
- Van Ravenzwaay, B. *et al.* Comparing fate and effects of three particles of different surface properties: Nano-TiO₂, pigmentary TiO₂ and quartz. *Toxicology Letters* **186**, 152–159 (2009).
- Vasantharaja, D., Ramalingam, V. & Reddy, G. A. Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomedicine Journal* **2**, 46–53 (2015).
- VeilleNanos. Les différents (projets de) registres nano nationaux. [Consulté le 18/11/2019] <http://veillenanos.fr/wakka.php?wiki=LesDifferentesRegistresNanoEchelleNationale>
- Vejerano, E. P., Leon, E. C., Holder, A. L. & Marr, L. C. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration. *Environ. Sci.: Nano* **1**, 133–143 (2014).
- Walter, P. *et al.* Early Use of PbS Nanotechnology for an Ancient Hair Dyeing Formula. *Nano Lett.* **6**, 2215–2219 (2006).
- Wang, J. *et al.* Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters* **168**, 176–185 (2007).

- Wang, J. *et al.* Disruption of zebrafish (*Danio rerio*) reproduction upon chronic exposure to TiO₂ nanoparticles. *Chemosphere* **83**, 461–467 (2011).
- Wang, J. *et al.* Time-dependent translocation and potential impairment on central nervous system by intranasally instilled TiO₂ nanoparticles. *Toxicology* **254**, 82–90 (2008).
- Wang, Y. *et al.* TiO₂ nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae *Phaeodactylum tricornutum*. *Science of The Total Environment* **565**, 818–826 (2016).
- Wang, Y. *et al.* Transport of titanium dioxide nanoparticles in saturated porous media under various solution chemistry conditions. *J Nanopart Res* **14**, 1095 (2012).
- Weir, A., Westerhoff, P., Fabricius, L., Hristovski, K. & von Goetz, N. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 2242–2250 (2012).
- Westerhoff, P., Song, G., Hristovski, K. & Kiser, M. A. Occurrence and removal of titanium at full scale wastewater treatment plants: implications for TiO₂ nanomaterials. *J. Environ. Monit.* **13**, 1195–1203 (2011).
- Wiench, K. *et al.* Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere* **76**, 1356–1365 (2009).
- Windler, L. *et al.* Release of Titanium Dioxide from Textiles during Washing. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 8181–8188 (2012).

- Wu, J. *et al.* Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. *Toxicology Letters* **191**, 1–8 (2009).
- Wu, Q. *et al.* Small sizes of TiO₂-NPs exhibit adverse effects at predicted environmental relevant concentrations on nematodes in a modified chronic toxicity assay system. *Journal of Hazardous Materials* **243**, 161–168 (2012).
- Xia, B. *et al.* Interaction of TiO₂ nanoparticles with the marine microalga *Nitzschia closterium*: Growth inhibition, oxidative stress and internalization. *Science of The Total Environment* **508**, 525–533 (2015).
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X. & Zhu, W. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: Acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of The Total Environment* **409**, 1444–1452 (2011).
- Xu, X. *et al.* Transport and aggregation of rutile titanium dioxide nanoparticles in saturated porous media in the presence of ammonium. *Chemosphere* **169**, 9–17 (2017).
- Yang, Y. *et al.* Characterization of Food-Grade Titanium Dioxide: The Presence of Nanosized Particles. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 6391–6400 (2014).
- Yaroshevsky, A. A. Abundances of chemical elements in the Earth's crust. *Geochem. Int.* **44**, 48–55 (2006).
- Zahra, Z. *et al.* Metallic Nanoparticle (TiO₂ and Fe₃O₄) Application Modifies Rhizosphere Phosphorus Availability and Uptake by *Lactuca sativa*. *J. Agric. Food Chem.* **63**, 6876–6882 (2015).

- Zhang, H. & Banfield, J. F. Thermodynamic analysis of phase stability of nanocrystalline titania. *J. Mater. Chem.* **8**, 2073–2076 (1998).
- Zhang, R. *et al.* Facilitated transport of titanium dioxide nanoparticles by humic substances in saturated porous media under acidic conditions. *J Nanopart Res* **17**, 165 (2015).
- Zhang, X. Q., Yin, L. H., Tang, M. & Pu, Y. P. ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ Nanoparticles-induced Toxic Effects on Human Fetal Lung Fibroblasts. *Biomed Environ Sci* **24**, 661–669 (2011)
- Zhao, Y. *et al.* Interaction of Mesoporous Silica Nanoparticles with Human Red Blood Cell Membranes: Size and Surface Effects. *ACS Nano* **5**, 1366–1375 (2011).
- Zheng, L., Hong, F., Lu, S. & Liu, C. Effect of Nano-TiO₂ on Strength of Naturally Aged Seeds and Growth of Spinach. *BTER* **104**, 083–092 (2005).
- Zhu, M., Wang, H., Keller, A. A., Wang, T. & Li, F. The effect of humic acid on the aggregation of titanium dioxide nanoparticles under different pH and ionic strengths. *Science of The Total Environment* **487**, 375–380 (2014).
- Zhu, X., Chang, Y. & Chen, Y. Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere* **78**, 209–215 (2010).

Chapitre 2 : méthodes
et outils pour l'analyse
et la caractérisation du
titane présent dans
l'environnement

Chapitre 2 : méthodes et outils pour l'analyse et la caractérisation du titane présent dans l'environnement

1. Contexte spécifique

Situé dans la région Grand-Est de la France dans le département du Haut-Rhin (68), le bassin versant de la Thur s'étend sur 270 km². Il est drainé par la rivière du même nom d'une longueur de 54 km, qui prend sa source dans le massif vosgien et se jette dans l'Ill au niveau de la commune d'Ensisheim (Hissler *et al.* 2006). Son débit entre un et plusieurs dizaines de mètres cube par seconde varie en fonction des mois et des années (HYDRO).

La vallée est constituée de trois unités morphologiques principales qui se caractérisent par des spécificités pédologiques et sédimentaires : la zone montagneuse, la haute vallée et la plaine du bassin versant. L'altitude varie de 1400 m dans le massif des Vosges à 200 m dans la plaine d'Alsace.

Le bassin présente 5 socles principaux : les socles granitique et schisto-grawackeux qui recouvrent la zone montagneuse, volcanique (trachytes) et sédimentaire (grès et conglomérats) présents dans la haute vallée et des dépôts alluviaux qui recouvrent la plaine. Les types de sols composant la vallée de la Thur sont des sols bruns ou ocre, plus ou moins acides en fonction du substratum et des sols alluviaux (Fig. 7). Les sédiments de la rivière sont constitués principalement d'alluvions sablo-caillouteuses, récentes et grossières (Hissler, 2003).

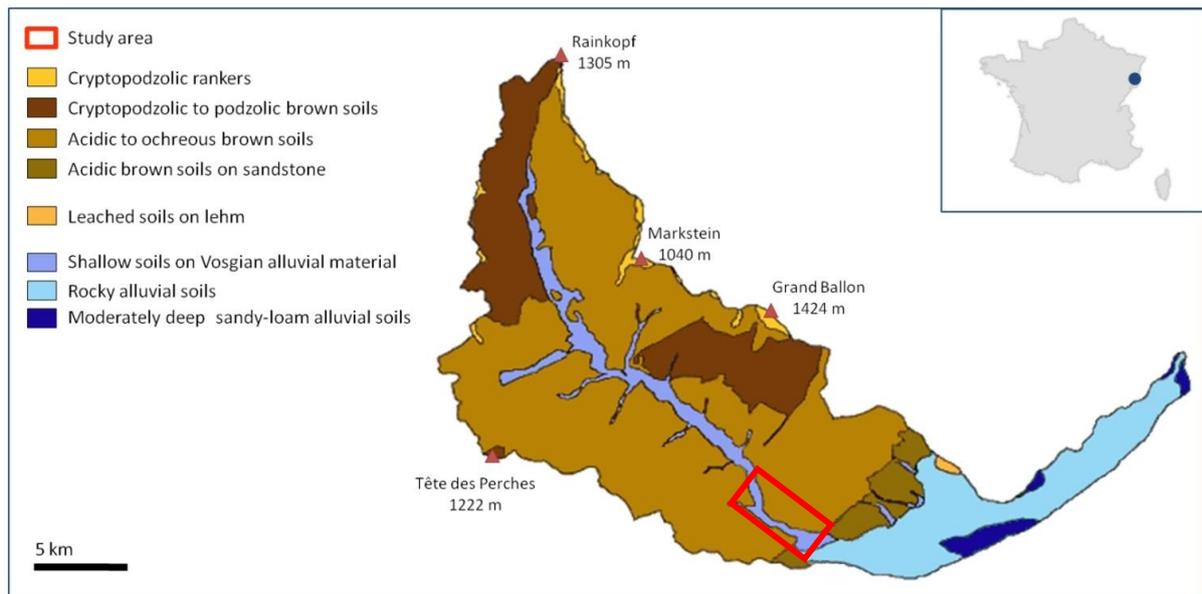


Figure 7 : Carte pédologique du bassin versant de la Thur (Hissler, 2003)

La zone d'étude à proximité de la ville de Thann est délimitée en rouge sur la figure 7. Elle comprend une industrie, « Cristal » présente depuis 1922 qui fût le premier producteur au monde capable de fabriquer du dioxyde de titane micrométrique. Récemment, celle-ci a été acquise par « Tronox », faisant actuellement de ce groupe le premier producteur mondial de TiO_2 . Ce dernier est utilisé en tant que pigment blanc et entre dans la composition de peintures et de papier permettant de leur apporter une couleur blanche opaque ainsi qu'une durabilité dans le temps. Ce site de production fabrique également du tétrachlorure de titane (TiCl_4), nécessaire à la fabrication du dioxyde de titane dans le procédé chlorure, mais également exploité dans divers domaines tels l'automobile, la joaillerie et l'électronique. Du chlorosulfate de fer (FeClSO_4) et du sulfate de fer (FeSO_4) sont également produits à des fins de traitement des eaux de piscine et d'élimination des mousses en jardinage. Enfin, des nanoparticules de TiO_2 appelées « Ultrafins » sont également manufacturées. Elles possèdent des propriétés catalytiques permettant d'éliminer les oxydes d'azote (NO_x), les oxydes de soufre (SO_x) et les composés organiques volatils (COV). Elles sont par conséquent utilisées dans l'industrie automobile (pots d'échappement), les raffineries et les centrales électriques dans le but de réduire les émissions de molécules polluantes. Les « Ultrafins » sont également capable de dégrader des composés organiques en présence de rayonnement UV et sont ainsi ajoutés dans divers matériaux tels que les verres autonettoyants ou le ciment.

Le dioxyde de titane fabriqué selon le procédé sulfate permet de former deux types de nanoparticules de forme cristalline anatase : des NPs TiO_2 « Haute Surface Spécifique » (HSS)

dont la taille n'excède pas 5 nm et des NPs TiO₂ « Basse Surface Spécifique » (BSS) dont les tailles sont comprises entre 20 et 40 nm (Fig. 8).

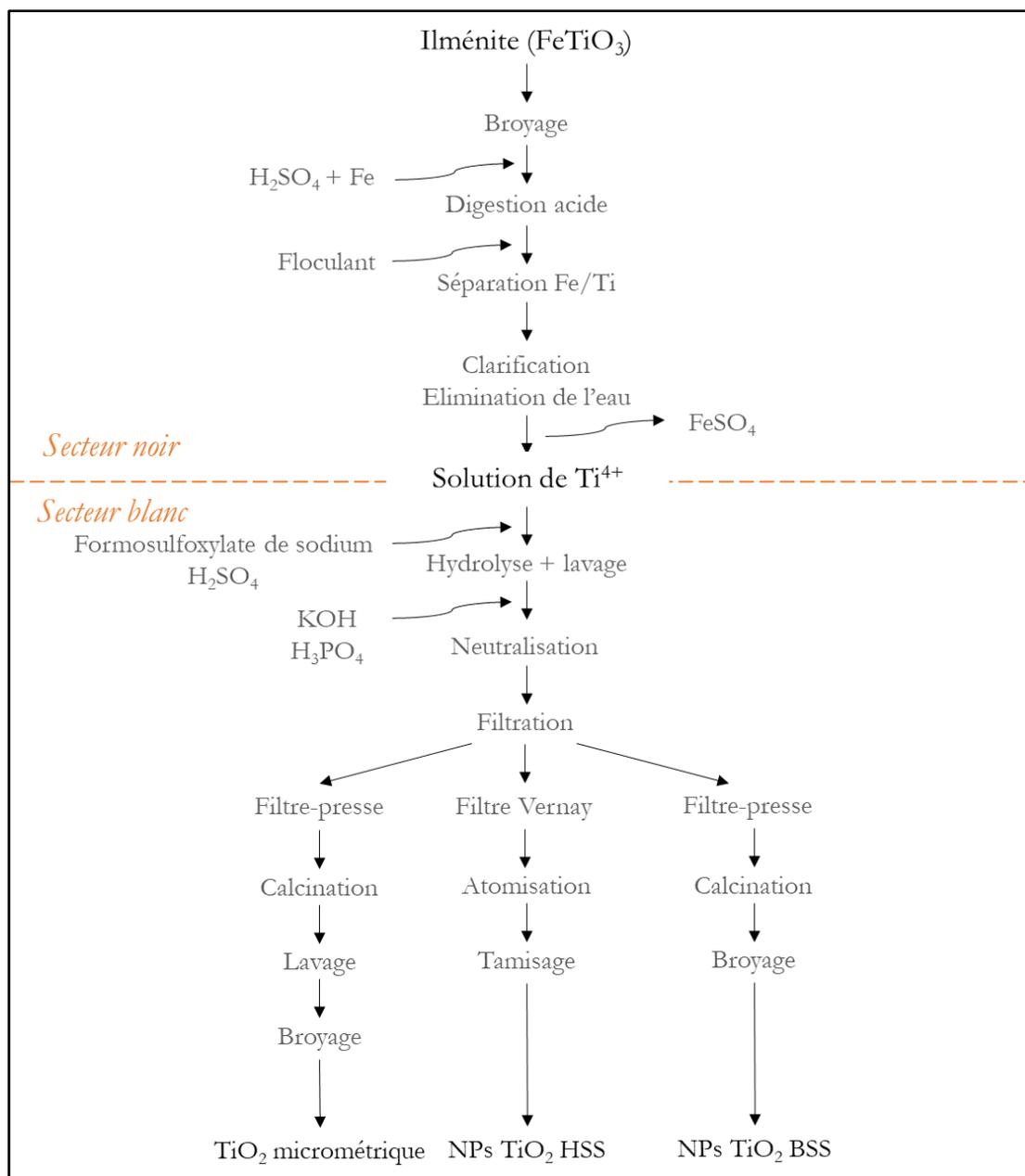


Figure 8 : Procédé de fabrication de « Cristal » du dioxyde de titane micrométrique et nanométrique (Adam, 2017)

Cette production de dioxyde de titane conduit potentiellement à différents types de rejets dans l'environnement. Tout d'abord, des émissions sont possibles durant les étapes de fabrication et plus particulièrement aux étapes de broyage du TiO₂ micrométrique et nanométrique. Une autre voie d'émission est également suspectée et concerne la cheminée sulfacide du site de production, présente lors de l'étape de neutralisation à l'acide sulfurique, dont le panache peut

être transporté par les vents et se déposer sur le sol et l'eau par voie sèche ou humide (précipitations). Dans cette région, les vents proviennent majoritairement de la direction Ouest-Nord-Ouest mais des vents minoritaires sont également présents qui ont pour origine le Sud-Sud-Est (ASPA, 2010-2014).

Enfin, les rejets des effluents de l'usine peuvent également induire une action sur l'environnement. Ils se composent des eaux de process mais également des eaux de ruissellement des toits et des voies d'accès du site de production. Plusieurs paramètres sont mesurés en continu sur ces effluents, notamment la turbidité, le débit, la température, le pH et la conductivité. Si les valeurs sont considérées comme étant conformes d'après l'arrêté préfectoral relatifs aux rejets de substances dangereuses dans l'eau en provenance des installations classées pour la protection de l'environnement (Ministre de la transition écologique et solidaire, 2017), les eaux sont directement rejetées dans un canal usinier qui se jette dans la rivière de la Thur. Si les limites de rejets sont dépassées (pH inférieur à 5,5 ou supérieur à 8,5 ; température supérieure à 30°C...), les eaux sont dirigées vers un bassin de décantation puis vers le centre de traitement de l'usine : l'Ochsenfeld (Fig. 9).

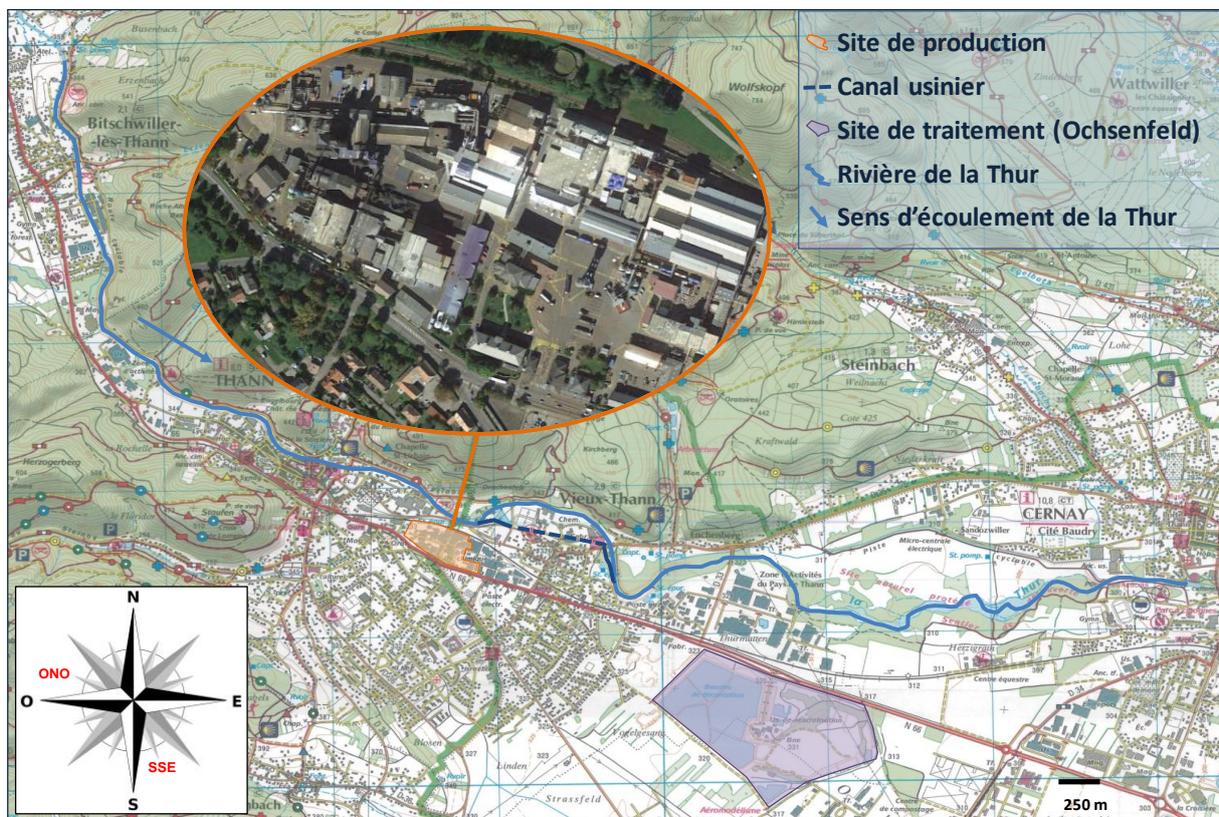


Figure 9 : Présentation du site d'étude

D'autres paramètres sont également mesurés à des intervalles de temps différents (Tab. 4).

Tableau 4 : Paramètres contrôlés sur les effluents industriels du site de production « Cristal »

Intervalle de temps	Paramètres mesurés
<i>Journalier</i>	Fe et matières en suspension
<i>Mensuel</i>	Demande chimique en oxygène (DCO), Cl, SO ₄ , Na
<i>Trimestriel</i>	Les formes de l'azote (NTK), Al, Mg, Mn, Zn, Cu, Cr, As, Hg
<i>Annuel</i>	Cd, Sn, Pb, Ni, V

Ces transferts posent la question de la concentration en titane total dans les différents compartiments environnementaux à proximité du site, mais également la question de la part de titane dévolue aux minéraux naturels et/ou à l'action anthropique.

2. Campagnes de prélèvements sur site

2.1. Présentation des trois campagnes d'échantillonnage

Au total, trois campagnes d'échantillonnage d'eau, de sédiments et de sols ont été menées durant trois années consécutives à différentes saisons : 28 octobre 2016 (automne), 21 septembre 2017 (été) et 23 mars 2018 (printemps). Elles ont été effectuées en accord avec les responsables du site industriel, lorsque le site de Thann était en production de nanoparticules de dioxyde de titane. Ces campagnes ont également été planifiées en fonction de la météo car la présence de fortes précipitations ou de gelées auraient pu considérablement gêner la collecte d'échantillons.

Des données concernant la pluviométrie, les températures minimales et maximales, la durée d'ensoleillement durant les différentes campagnes, ainsi que les cinq jours les précédents ont été répertoriées (*Tab. 5* - Météo France).

Tableau 5 : Températures, durée d'ensoleillement et précipitations durant les campagnes de prélèvement et les jours précédents

Dates	T°C minimale	T°C maximale	Durée ensoleillement (heure)	Précipitations (mm)	Débit de la Thur (m ³ /s)
23/10/2016	-0,7	8,9	0	1,8	1,14
24/10/2016	7,5	16,8	0	17,2	1,24
25/10/2016	12,8	15,2	0	0	1,80
26/10/2016	10,2	15,2	1	0	1,40
27/10/2016	1,4	15,6	7	0	1,34
28/10/2016	1,4	10,7	2	0	1,23
16/09/2017	3,7	17,5	3	5	2,26
17/09/2017	4,6	18	4	4	2,04
18/09/2017	8,7	16,6	3	0	1,96
19/09/2017	7,8	17,3	3	1	1,80
20/09/2017	5,3	18,2	7	0	1,69
21/09/2017	2,1	20,7	11	0	1,59
18/03/2018	-3,3	-0,2	0	0,4	7,65
19/03/2018	-1,6	1,6	0	0	6,64
20/03/2018	-2,5	4,7	7	0	5,75
21/03/2018	-1,3	6,6	10	0	5,20
22/03/2018	-7,8	6,9	3	0	4,90
23/03/2018	2,3	11,1	2	0	4,72

Aucune précipitation n'a été enregistrée durant les campagnes de prélèvement et les températures étaient proches des moyennes normales de saison. Des données concernant les débits de la Thur à la station Willer-Sur-Thur à environ 6 km au nord du site d'étude étaient également disponibles pour des périodes similaires (Tab. 5 - HYDRO). Des débits entre 1 et 2 m³/s sont observés pour les campagnes d'automne et d'été (2016 et 2017) alors que la campagne d'hiver de 2018 a connu des débits de 2 à 6 fois plus importants.

2.2. Prélèvement des échantillons d'eau et de sédiments

Des échantillons d'eau et de sédiments de la rivière de la Thur ont été collectés à proximité du site de production (Fig. 10).

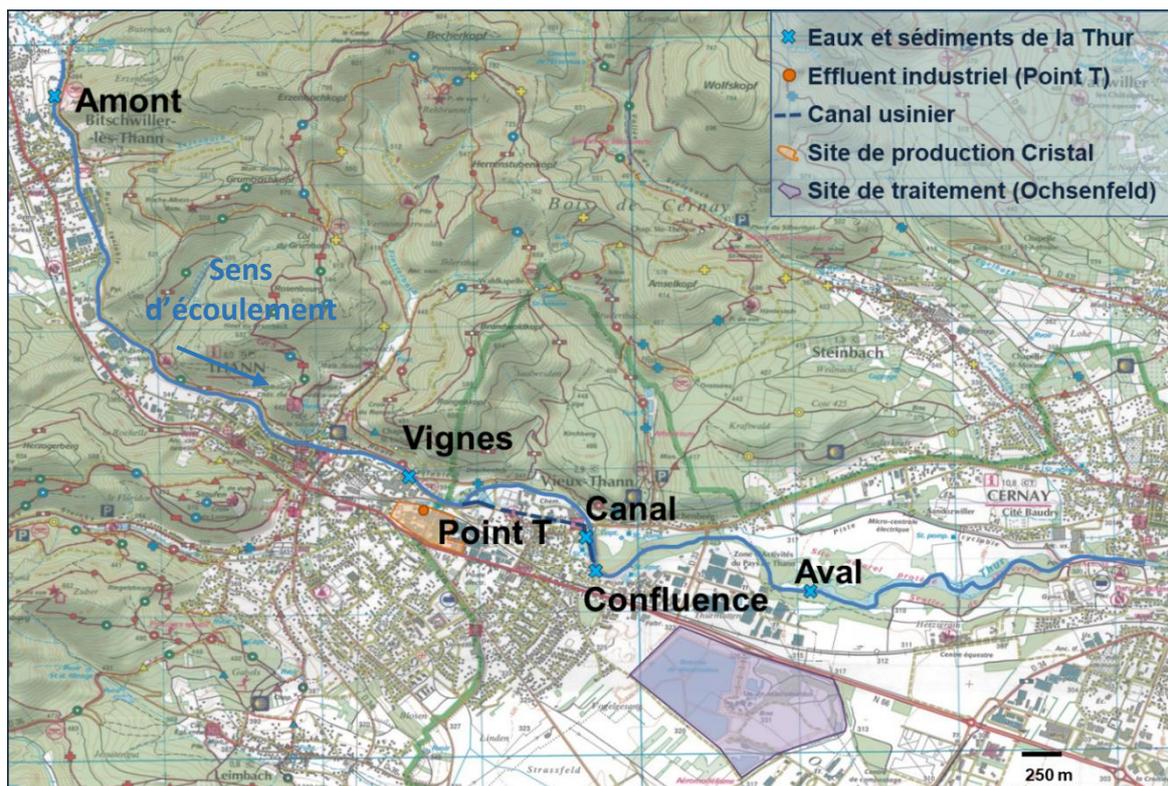


Figure 10 : Carte d'échantillonnage des eaux et des sédiments de la rivière de la Thur

Un échantillon d'eau à 3,5 km en amont de l'usine a été prélevé afin d'obtenir les concentrations de référence des différents éléments chimiques présents dans la rivière de la Thur. Un point Vignes prélevé à partir de 2017 et localisé à 250 m au Nord-Ouest de l'usine permet de tracer l'impact des émissions liées aux vents minoritaires depuis la sortie de cheminée de l'usine. Des eaux du canal usinier et de la confluence de celui-ci avec la rivière ont également été collectées, permettant d'estimer l'impact du rejet industriel sur le milieu récepteur. Enfin, un point à 2,5 km en aval de l'usine a été prélevé pour évaluer l'étendue de l'empreinte du site de production sur son environnement. De plus, les effluents industriels liquides ont été également collectés au sein du site industriel avant rejet dans le canal usinier (point T).

Les échantillons liquides sont prélevés à environ 4 à 5 mètres des berges de la rivière et les effluents industriels directement au sein du site de production, à l'aide de contenants d'un litre en perfluoroalkoxy (PFA) préalablement décontaminés. La température, le pH et la conductivité sont mesurés avec un conductimètre/pH-mètre portatif (914 pH conductimer, Metrohm) directement dans la rivière ou dans le contenant en PFA dans le cas du point T. Deux aliquotes d'environ un litre sont collectées par point de prélèvement.

Tous les échantillons d'eau sont ramenés à un volume exact d'un litre à l'aide d'une fiole et d'un bécher préalablement décontaminés. Une aliquote de chaque prélèvement est acidifiée avec 1 mL de HNO₃ et toutes sont placées au réfrigérateur à 4°C.

Les sédiments de la Thur ont été prélevés à l'aide d'une pelle en plastique et déposés dans un sac en polypropylène aux mêmes endroits que les échantillons d'eau de la rivière. Pour la campagne 2016, seuls les points Amont et Confluence ont été collectés car l'important débit de la rivière au point Aval n'a pas permis le prélèvement de sédiments.

Les points Vignes et Canal ont été ajoutés à partir de la campagne de 2017 afin d'évaluer d'une part un apport potentiel par les vents minoritaires et d'autre part, l'impact du rejet industriel sur les sédiments du canal usinier.

Une masse de 500 g à 1 kg est prélevée pour chaque échantillon. Au laboratoire, les sédiments sont placés dans une étuve à 40°C dans des clayettes recouvertes de papier sulfurisé pendant quelques jours.

2.3. Prélèvement des échantillons de sols

Des échantillons de sols ont été prélevés en amont et en aval du site de production (Fig. 11).

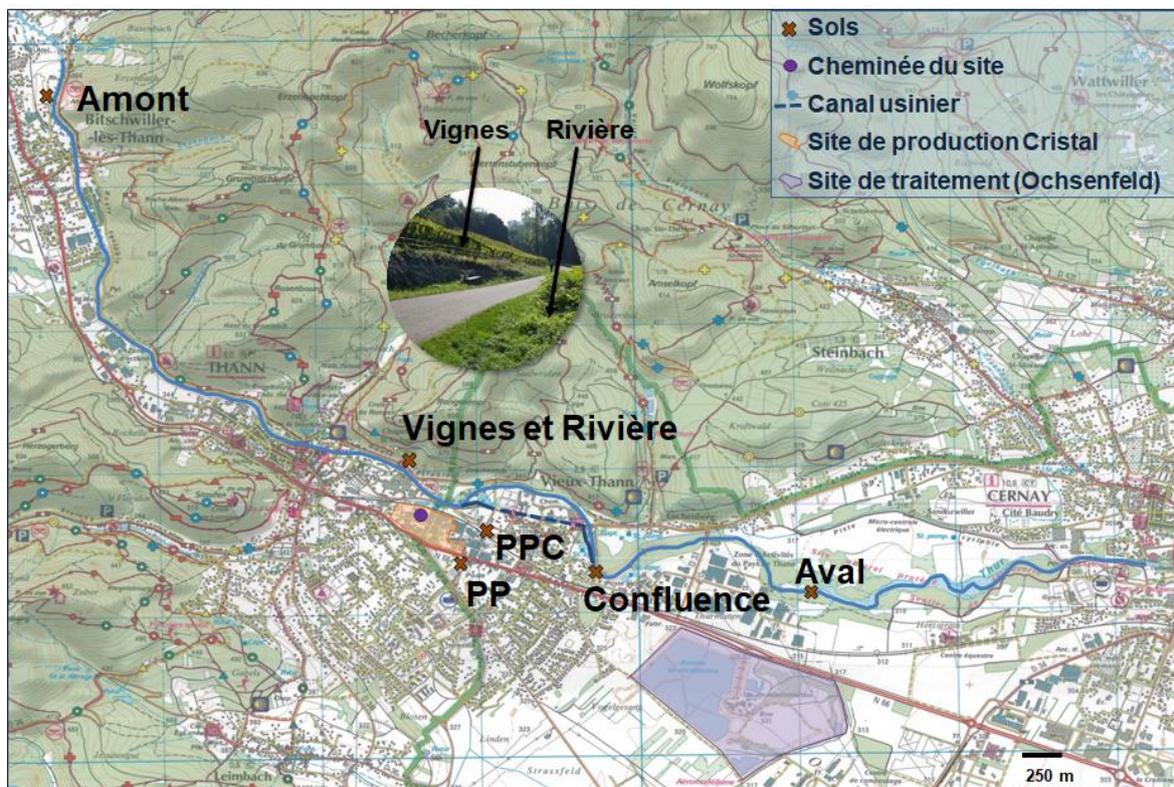


Figure 11 : Carte d'échantillonnage des sols

Le point Amont de l'usine représente le point de référence considéré comme le fond géochimique⁴ dans cette étude. Deux points de prélèvements ont été effectués à proximité de l'usine (à 250 mètres, sur la rive gauche de la Thur au Nord-Nord-Ouest), « Rivière » et « Vignes », afin de tracer l'impact des émissions liées aux vents minoritaires.

Les sols des points PP et PPC situés à environ 500 mètres à l'Est et au Sud-Est dans la direction des vents majoritaires ont été prélevés durant la campagne 2018 afin d'évaluer l'influence des retombées atmosphériques sur les concentrations en titane dans les sols. Enfin, des échantillons ont aussi été collectés aux points Confluence et en aval du site de production sous couvert végétal, permettant d'étudier si un transport en provenance de l'usine (panache de cheminée) est possible sur une distance de 2,5 km.

Les échantillons de sols sont prélevés en surface entre 0 et 20 cm à l'aide d'une tarière. Lorsqu'il y a présence de végétation, la surface est préalablement dévégétalisée afin de mettre le sol à nu. Le contenu des tarières est mélangé à la main en utilisant un gant et l'échantillon est ensuite réparti dans deux sacs de 800 g à 1 kg.

De plus, des prélèvements en profondeur ont également été mis en place pour les points Amont, Aval et PPC, afin de mettre en évidence un éventuel transfert du titane de la surface vers les horizons plus profonds du sol. Ces prélèvements ont aussi été effectués à l'aide d'une tarière et 150 à 250 g des différents horizons ont été placés dans des sacs en polypropylène.

Dès le retour au laboratoire, un des deux prélèvements de sol est étalé dans des clayettes recouvertes de papier sulfurisé, puis mis à sécher à l'étuve à 40°C pendant quelques jours. Le second prélèvement de sol est gardé à l'état frais et placé au réfrigérateur à 4°C. Tous les échantillons doivent subir un traitement avant de procéder à leur analyse. Les protocoles de traitement des échantillons d'eau, de sols et de sédiments sont décrits dans les paragraphes suivants et sont séparés en deux groupes distincts : les échantillons liquides et les échantillons solides (sédiments de la rivière et sols).

⁴ Le fond géochimique correspond à « sa concentration naturelle d'un élément majeur ou trace dans un matériau géologique, résultant uniquement de son histoire géologique : sédimentation et diagenèse, pétrogenèse et minéralisation post-formation » (Baize, 2004).

2.4. Traitements et analyses des échantillons d'eau

2.4.1. Analyse du titane et d'autres éléments majeurs dans les échantillons d'eau par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES)

Les eaux sont évaporées puis subissent une digestion acide afin de mettre en solution le titane qui est sous forme particulaire et peu soluble. Sa concentration ainsi que les concentrations en calcium, magnésium, sodium et potassium dans les échantillons sont ensuite mesurées par ICP-AES.

L'aliquote acidifiée est évaporée à sec à 110°C et le dépôt solide est dissout grâce à 30 mL d'eau régale (2/3 de HCL pur et 1/3 de HNO₃ pur) et 1 mL d'HF (40 %). Les contenants fermés sont placés sur une plaque chauffante (70°C – 12 h) puis ouverts pour permettre l'évaporation des acides. Le solide est à nouveau solubilisé avec de l'eau régale et les contenants fermés sont placés dans un bain à ultrasons (10 min). La solution est transvasée dans des contenants en PFA de 15 mL auxquels on ajoute 1 mL de H₃BO₃ (50 g/L) afin d'éliminer la présence de fluorure grâce à la formation d'un composé gazeux, le trifluorure de bore (BF₃). Les contenants fermés sont placés sur une plaque chauffante (100°C – 12h) puis ouverts pour évaporation. Le volume de l'échantillon est alors ajusté à 10 mL avec HNO₃ (1 N). Les échantillons d'eau traités sont ensuite analysés par ICP-AES (ICAP 6000 Series, ThermoScientific).

Durant l'analyse, les échantillons sont injectés sous forme liquide et nébulisés (Débit gaz nébulisation : 0,6 L/min) en fines gouttelettes de taille inférieure à 10 µm (les gouttelettes de taille plus importante étant filtrées par la chambre de nébulisation). L'échantillon arrive dans un plasma d'argon (Puissance source : 1200 W – Débit gaz plasmagène : 12 L/min) à une température située entre 6000 et 8000 K afin de faire passer tous les éléments présents dans le plasma à l'état d'atomes libres. Ce dispositif permet de produire des atomes excités-ionisés : chaque élément va émettre un rayonnement à des longueurs d'ondes caractéristiques lors de son retour à l'état fondamental (Frayret *et al.* 2012). L'ensemble de ces rayonnements est ensuite dirigé vers un photomultiplicateur. Les longueurs d'ondes caractéristiques pour le titane sont de 334,94 et 336,12 nm.

Cette technique permet une analyse multi-élémentaire et a démontré son utilité pour l'analyse des métaux dans diverses matrices comme l'eau, les végétaux, ou encore les roches. Elle comporte de nombreux avantages notamment sur le nombre important d'éléments possibles à analyser, sa grande stabilité, sa bonne reproductibilité, un bruit de fond relativement faible et

une limite de détection de l'ordre du $\mu\text{g/L}$. Cependant, elle présente quelques inconvénients notamment la forte présence d'effet de matrices et l'impossibilité d'analyser les éléments volatils comme le mercure (Boss *et al.* 2004). Pour cette étude, l'ICP-AES a été préférée à l'ICP-MS, méthode d'analyse qui présente des interférences dans l'analyse du titane notamment si les échantillons sont riches en calcium (May *et al.* 1998).

2.4.2. Caractérisation des échantillons d'eau par microscopie électronique en transmission (MET)

La seconde aliquote est filtrée sur un filtre en polycarbonate ($0,22 \mu\text{m}$, Millipore) afin de caractériser à l'aide d'un microscope électronique en transmission les particules qui sont présentes dans les eaux échantillonnées. Le filtre est ensuite déposé dans une boîte de pétri gardée légèrement ouverte afin de le sécher à l'air libre. Quelques minutes avant l'analyse en MET, les filtres sont découpés à l'aide de ciseaux préalablement décontaminés à l'éthanol absolu. Quelques morceaux de filtres sont disposés dans un microtube contenant $500 \mu\text{L}$ d'éthanol absolu et celui-ci est mis au bain à ultrasons pendant 15 min. Suivant la turbidité des échantillons, une à trois gouttes sont prélevées à l'aide d'une micropipette et disposées sur la grille de cuivre, qui est ensuite insérée dans le microscope.

Le principe de la microscopie électronique en transmission repose sur la génération d'un faisceau d'électrons qui va traverser un échantillon très mince et permettre d'en obtenir une image (Roblin, 1998). Le microscope utilisé pour les analyses est un JEM-2100F (JEOL) et se compose de divers éléments :

Le canon à électrons : ce dispositif permet la production des électrons nécessaires à l'analyse. Dans le JEM-2100F le mécanisme de production utilisé est l'émission thermoïonique. Le principe repose sur l'utilisation d'une cathode métallique en tungstène chauffée à une température de 2700 K dans un vide de 10^{-8} Pa produit grâce à une pompe à ions. La tension maximale d'accélération de l'appareil est de 200 kV. Une fois émis, les électrons sont projetés sur une anode grâce à un cylindre de Welhnet, électrode qui va permettre de focaliser le faisceau d'électrons (Lecompte, 2002).

Le condenseur : il est constitué de lentilles magnétiques (6 pour le JEM-2100F) formées d'un bobinage de fils de cuivre, parcouru par un courant générant ainsi un champ magnétique qui va permettre de refocaliser le faisceau d'électrons (JEOL, 2003).

L'objectif : cette lentille magnétique assure l'interaction du faisceau d'électrons avec l'échantillon et forme ainsi une première image agrandie de l'objet. Elle est également une des pièces les plus importantes puisqu'elle détermine la résolution de l'appareil (Masseboeuf, 2008 ; Rodenburg, 2004).

Le projecteur : une fois l'image obtenue, cette partie du microscope permet d'agrandir l'image, dont le facteur d'agrandissement se situe entre 50 à 10^8 . Dans le cas du JEM-2100F, celle-ci est projetée sur une caméra CCD. Si l'échantillon n'est pas trop épais (quelques dizaines de nanomètres), l'image en noir et blanc affiche les atomes lourds en couleur sombre et les légers en couleur plus clair (JEOL, 2003).

Le JEM-2100F est un appareil qui permet également de travailler dans d'autres modes que la microscopie conventionnelle :

Diffraction des électrons : ce mode permet d'effectuer une diffraction des électrons sur les minéraux présents sous le faisceau. Les électrons en rencontrant un cristal vont être diffractés en fonction de l'agencement et de la nature des atomes du cristal, permettant sa caractérisation cristallographique.

EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) : ce mode permet d'effectuer une microanalyse élémentaire d'un échantillon par dispersion d'énergie des photons émis par celui-ci, sous l'effet de l'impact des électrons incidents. Les pourcentages de chaque élément présent sous le faisceau peuvent être déterminés permettant d'effectuer une analyse quantitative.

2.5. Traitements et analyses des échantillons de sols et de sédiments

2.5.1. Analyse du titane dans les échantillons de sols et de sédiments secs par ICP-AES

Les sols et les sédiments sont tamisés, quartés et broyés puis mis en solution à l'aide d'une fusion alcaline. Les échantillons sont ensuite analysés par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES) dans le but de déterminer la concentration en titane.

Les échantillons secs de sols et de sédiments sont émiettés à l'aide d'un mortier et d'un pilon en agate puis tamisés à 2 mm. Chaque échantillon est quarté afin d'obtenir des triplicats de masse comprise entre 6 à 8 g. Chaque triplicat est broyé (700 tr/min – 5 min), tamisé à 100 μ m puis une masse de 3 g est déposée dans un creuset en alumine, mise à l'étuve (110°C – 12 h) et enfin pesée pour déterminer le pourcentage d'humidité. Les échantillons sont ensuite calcinés dans un four à moufle (375°C – 16 h), puis pesés afin de calculer le pourcentage de matière

organique présent. Les échantillons subissent ensuite deux calcinations à 1000°C (3 h puis 1 h), afin d'éliminer les carbonates et le carbone inorganique. Chaque triplicat est ensuite réduit en poudre à l'aide d'un mortier et d'un pilon en agate avant l'étape de fusion alcaline.

Roy *et al.* 2007 ont montré que la fusion alcaline permettait d'obtenir des meilleurs taux de recouvrement pour des matériaux réfractaires (contenant du zircon ou du titane) que la digestion acide. De plus, une norme ISO préconise l'utilisation de la fusion alcaline plutôt qu'une digestion acide par micro-onde pour des oxydes tels que SiO₂ ou TiO₂, ces derniers pouvant rester sous forme particulaire et ne pas passer totalement en solution (ISO 14869-2, 2002).

La mise en solution par fusion alcaline s'effectue dans un creuset en graphite en plaçant 100 mg d'échantillon préalablement calciné avec 750 mg de Li₂B₄O₇. Les creusets sont ensuite placés dans un four à moufle sous circulation d'argon (1000°C, 20 min). La perle formée est solubilisée dans une solution acide de glycérol (15 mL d'eau ultra pure, 4 mL de glycérol à 85 % et 1 mL d'HNO₃ pur) et les creusets placés dans un bain à ultrasons jusqu'à dissolution totale. Le digérât est filtré (papier filtre) et placé dans une fiole de 25 mL complétée au trait de jauge avec de l'eau ultra pure. Une dilution au 1/10^{ème} est ensuite effectuée avec HNO₃ (0,5 M) avant analyse par ICP-AES.

2.5.2. Fractionnement des échantillons de sols frais et de sédiments et analyse par ICP-AES

Les échantillons de sols et de sédiments (Canal et Confluence uniquement) de la campagne 2017 sont tamisés par voie humide puis centrifugés afin de séparer les différentes fractions granulométriques (sableuse, limoneuse et argileuse) à 2 mm, 200, 50, 20, 2 et inférieur à 2 µm. Les teneurs en titane y sont ensuite analysées dans le but d'observer si une accumulation préférentielle du titane dans certaines fractions peut être mise en évidence.

Une masse de 500 g de sol ou de sédiment frais est pesée puis tamisée à 2 mm à l'aide d'eau ultra pure. La fraction grossière (> 2 mm) restée sur le tamis est séchée à sec à l'étuve (40°C) et la fraction passée au travers du tamis est mise à l'étuve (60°C) afin de faire évaporer l'eau de tamisage jusqu'à obtenir un volume final d'environ 2 L. Cette fraction < 2 mm est ensuite mise sous agitation pendant 16 h avec 0,5 % (m/m) d'hexamétaphosphate de sodium afin de désagréger les particules, puis le tout est tamisé à 200 µm à l'aide d'eau ultra pure. La fraction supérieure (2 mm - 200 µm) restée sur le tamis est séchée à sec à l'étuve (40°C) et la fraction

(< 200 µm) passée au travers du tamis est évaporée à l'étuve (60°C) jusqu'à obtention d'un volume final d'environ 6 L. Le tamisage sous eau décrit précédemment est aussi réalisé avec un tamis de 50 µm afin d'obtenir la fraction 200 - 50 µm. Les fractions inférieures à 50 µm sont récupérées puis séparées par centrifugation en utilisant la formule développée par Jackson, 1956 qui permet de déterminer un temps et une vitesse de centrifugation en fonction de la séparation granulométrique voulue (Eq. 1) :

$$t = \frac{6.3 \times 10^7 \mu \log(R/S)}{N^2 D^2 \Delta_d} \quad (\text{Eq. 1})$$

t : temps de centrifugation (min)

µ : viscosité dynamique du fluide (poises)

R : rayon de rotation jusqu'au culot de centrifugation (cm)

S : rayon de rotation jusqu'à la surface du liquide (cm)

N : vitesse de centrifugation (tr/min)

D : diamètre des particules (µm)

Δd : différence de densité entre particules et fluide (env. 1,65)

La fraction < 50 µm est centrifugée à une vitesse de 300 tr/min pendant 23 sec puis le surnageant est aspiré à l'aide d'une pompe péristaltique et le culot remis en solution à l'aide d'eau ultra pure afin de le centrifuger à nouveau. Lorsque le surnageant est clair, le culot est récupéré puis séché à sec à l'étuve à 40°C afin d'obtenir la fraction 50 µm - 20 µm. Puis, le surnageant est mis à centrifuger à 900 tr/min pendant 2 min et 57 sec (comme pour l'étape précédente, plusieurs centrifugations successives jusqu'à obtention d'un surnageant clair) afin de récupérer les fractions 20 µm - 2 µm (culot) et < 2 µm (surnageant). Un schéma illustrant tout le procédé est présenté à la figure 12. Les fractions sont mises en solution par fusion alcaline, puis analysées en ICP-AES.

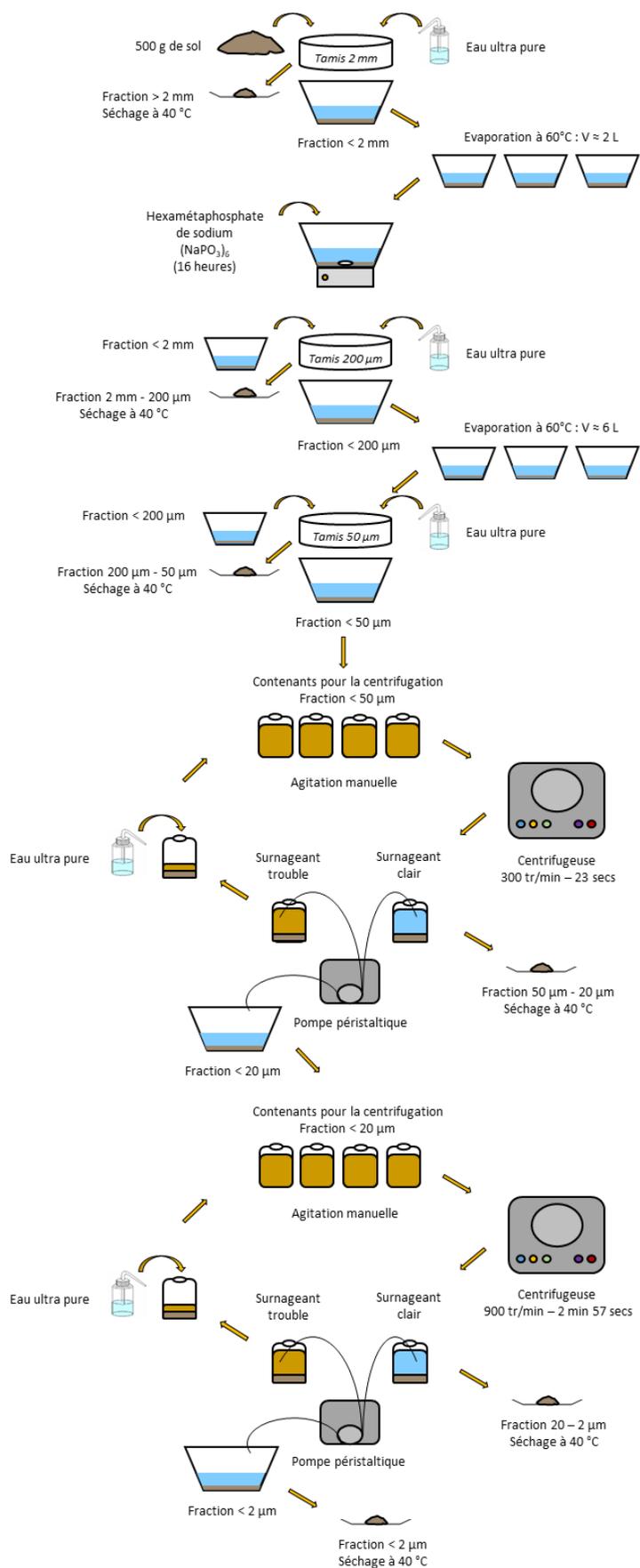


Figure 12 : Fractionnement des sols et des sédiments

2.5.3. Analyse des fractions fines des sols et sédiments par diffraction des rayons X (DRX)

Les fractions limoneuses et argileuses (< 50 µm) des sols et sédiments sont analysées par DRX dans le but d'identifier les différents minéraux présents.

Les différentes fractions sèches sont broyées dans un mortier en agate puis déposées dans un porte-échantillon rainuré de manière à obtenir une préparation désorientée et plane, afin de sonder tous les plans cristallographiques des minéraux de l'échantillon. Les échantillons sont ensuite analysés par diffraction des rayons X.

2.5.3.1. Principe de la diffraction des rayons X

Cette méthode utilise des rayons X de longueur d'onde proche de l'Angström (et donc des liaisons atomiques) qui sont capables d'interagir avec la matière. Si celle-ci est ordonnée à la manière d'un cristal (atomes séparés par des intervalles réguliers), le rayonnement X incident pourra être diffracté dans certaines directions. Il est alors possible de caractériser ce modèle de diffraction par la loi de Bragg (Eq. 2) :

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Eq. 2})$$

n : ordre de la diffraction

λ : longueur d'onde du rayonnement diffracté (nm)

d : distance inter-réticulaire de deux plans parallèles de diffraction (nm)

θ : angle entre faisceau incident et plan de diffraction (°)

Chaque phase cristalline correspond à plusieurs pics de diffraction qui lui sont propres, dont l'ensemble se nomme diffractogramme. Celui-ci représente l'intensité du rayonnement diffracté en fonction des angles de diffraction ou des distances inter-réticulaires. Sa comparaison avec des diffractogrammes de référence permet d'identifier les composés cristallisés au sein d'un échantillon.

L'appareil utilisé est un Bruker D8 Advance Eco. Il est composé d'une source de rayons X (anticathode en cuivre) à 40 kV et 25 mA, d'un goniomètre, au centre duquel est placé l'échantillon à analyser, d'un système de fentes (dont une variable à la sortie du tube à rayons X) et d'un détecteur. La source de rayons X, l'échantillon et le détecteur sont placés sur un cercle de focalisation afin de satisfaire la loi de Bragg. Le système est équipé d'un couteau d'anti-

diffusion qui permet de s'affranchir de la diffusion des rayons X dans l'air (surtout aux petits angles).

Le montage utilisé est en géométrie Bragg-Brentano θ/θ . Dans cette configuration, l'échantillon placé est fixe, c'est le tube à rayons X qui bouge d'un angle θ grâce à un moteur pas à pas alors que le détecteur bouge aussi d'un angle θ mais dans le sens contraire. A chaque position angulaire, on compte les impacts du rayonnement diffracté sur une durée constante.

2.5.3.2. Mode opératoire et paramètres utilisés

Les fractions $> 2 \mu\text{m}$ ont été analysées avec un balayage angulaire de 3 à $65^\circ/2\theta$ avec un pas de $0,014^\circ$ sur une durée de $0,8$ sec. Lors de l'analyse, la rotation de l'échantillon était enclenchée afin de limiter les effets d'orientation préférentielle et la fente variable a été réglée de sorte que l'illumination de l'échantillon soit fixe tout au long de la mesure (Aubert, 2018).

Les fractions argileuses des échantillons sont également analysées par DRX mais il est nécessaire d'effectuer un dépôt orienté dans un plan horizontal dans le but de renforcer leurs réflexions principales sur la famille des plans cristallographiques (001).

Pour cela, les fractions $< 2 \mu\text{m}$ sont mises sous agitation magnétique avec quelques mL d'eau ultra pure dans un bécher en verre. Cette suspension est ensuite déposée sur des lames de verre (3 par échantillon) afin d'obtenir un dépôt orienté et ces lames sont ensuite séchées à l'air libre. Plusieurs traitements d'échantillons sont effectués car le diffractogramme seul de la préparation séchée à l'air libre ne suffit pas à mettre en évidence tous les types d'argiles présents dans les échantillons.

Une analyse est d'abord effectuée sur plaque de verre séchée à l'air libre. Cette lame est ensuite placée dans un dessiccateur en présence d'éthylène glycol dans le but d'introduire cette molécule entre les feuillets des smectites (argiles gonflantes). Une seconde lame est placée dans un dessiccateur en présence d'hydrazine monohydrate : la kaolinite pourra ainsi être distinguée de la chlorite si les deux argiles sont présentes dans les échantillons. Enfin, un dernier traitement est appliqué sur la dernière lame en la chauffant 4 heures à 490°C pour détruire la kaolinite et déshydrater les vermiculites et les smectites (Aubert, 2018). L'interprétation des quatre diffractogrammes permet d'identifier les minéraux présents dans l'échantillon (*Tab. 6*).

Tableau 6 : Distances inter-réticulaires de certains minéraux argileux en fonction du traitement subi par l'échantillon

Argiles	Traitement des échantillons			
	Sans traitement (air)	Ethylèneglycol	Chauffage 490°C / 4 h	Hydrazine
Chlorite	$d_{(001)} : 14,1 \text{ \AA} - d_{(002)} : 7,07 \text{ \AA} - d_{(003)} : 4,72 \text{ \AA} - d_{(004)} : 3,52 \text{ \AA}$			
Illite-mica	$d_{(001)} : 10,0 \text{ \AA} - d_{(002)} : 5,00 \text{ \AA} - d_{(003)} : 3,33 \text{ \AA}$			
Talc	$d_{(001)} : 9,35 \text{ \AA} - d_{(002)} : 4,68 \text{ \AA}$			
Kaolinite	$d_{(001)} : 7,15 \text{ \AA}$ $d_{(002)} : 3,57 \text{ \AA}$	$d_{(001)} : 7,15 \text{ \AA}$ $d_{(002)} : 3,57 \text{ \AA}$	Disparition des pics	$d_{(001)} : 10,4 \text{ \AA}$ (ordonnée) $d_{(001)} : 7,15 \text{ \AA}$ (désordonnée)
Interstratifiés chlorite/vermiculite	$d_{(001/001)} : 14 \text{ \AA}$	$d_{(001/001)} : 14 \text{ \AA}$	$d_{(001/001)} : 12 \text{ \AA}$	$d_{(001/001)} : 14 \text{ \AA}$
Smectite (selon état hydratation de départ et nature des cations interfoliaires)	$d_{(001)} : \approx 15 \text{ \AA}$ $d_{(003)} : \approx 5 \text{ \AA}$	$d_{(001)} : \approx 17 \text{ \AA}$ $d_{(002)} : \approx 8,5 \text{ \AA}$ $d_{(003)} : \approx 5,7 \text{ \AA}$	$d_{(001)} : \approx 10 \text{ \AA}$	$d_{(001)} : \approx 15 \text{ \AA}$ $d_{(003)} : \approx 5 \text{ \AA}$

Les analyses des fractions $< 2 \mu\text{m}$ sont effectuées en mode θ/θ avec un balayage de 3° à $15^\circ/2\theta$ ou 3° à $30^\circ/2\theta$, par pas de $0,02^\circ$ d'une durée de 0,8 sec avec un tube à rayons X muni d'une anticathode en cuivre, fonctionnant avec une tension de 40 kV et une intensité de 25 mA. Lors de l'analyse, la fente variable a été réglée de sorte que l'illumination de l'échantillon soit fixe tout au long de la mesure (cercle de diamètre 10 mm). Le couteau d'anti-diffusion était quant à lui réglé en mode automatique.

Une deuxième analyse est effectuée pour toutes les lames sur une plage angulaire plus grande afin de vérifier la présence d'autres minéraux (3 à $65^\circ/2\theta$, pas de $0,014^\circ$ sur une durée de 0,8 sec à 40 kV et 25 mA).

2.5.4. Analyse des fractions fines des sols et sédiments par microscopie électronique en transmission (MET)

Les fractions inférieures à 50 μm des sols et des sédiments sont analysées en MET afin de mettre en évidence sous quelle forme se trouve le titane présent dans les échantillons. Une masse d'environ 25 mg est prélevée à l'aide d'une spatule et mise dans un microtube contenant 2 mL d'éthanol absolu. Les échantillons sont placés dans un bain à ultrasons pendant 24 h. Le jour de l'analyse, ils sont à nouveau mis dans un bain à ultrasons pendant 15 min. Suivant la turbidité des échantillons, une à deux gouttes sont prélevées à l'aide d'une micropipette et disposées sur la grille de cuivre, qui est ensuite insérée dans le microscope JEM-2100F (JEOL).

Ce qu'il faut retenir

- Un site de production de NPs TiO_2 est localisé à Thann (68)
- Deux voies de transfert des nanoparticules dans l'environnement sont suspectées : une voie d'émission vers l'air puis un dépôt au sol et un rejet dans les eaux naturelles de la rivière de la Thur.

Des échantillons d'eau, de sédiments et de sols ont été collectés autour et sur le site de production, dans le but de détecter la présence de NPs TiO_2 dans l'environnement

- De nombreuses techniques analytiques ont été utilisées (ICP-AES, MET, DRX).

Bibliographie

- Aubert, A. Note technique interne au laboratoire : analyses minéralogiques par diffraction des rayons X. 1-5 (2018).
- Baize, D. *Petit lexique de pédologie*. (INRA, 2004).
- Boss, C. B. & Fredeen, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. 1–120 (2004).
- Frayret, J., Mermet, J.-M. & Paucot, H. ICP-OES : couplage plasma induit par haute fréquence – spectrométrie optique. 1–27 (2012).
- Herber, E. & Leclerc, N. Caractérisation de l'exposition des habitants de la zone de Thann au mercure dans l'air ambiant. Résultats des campagnes de mesures hiver 2009-2010/été 2010. 1–54 (ASPA, 2011). http://www.atmo-grandest.eu/sites/prod/files/2018-11/Caracterisation_de_lexp.pdf [Consulté le 09/07/2019]
- Herber, E. & Leclerc, N. Evaluation des niveaux de mercure dans l'air ambiant. Résultats du suivi du mercure en continu sur la commune de Vieux-Thann, mars 2011- août 2012. 1–52 (ASPA, 2012). http://www.atmo-grandest.eu/sites/prod/files/2018-01/12110803_mesure_Hg_continu_2011-2012_Vieux-Thann.pdf [Consulté le 09/07/2019]
- Hissler, C. & Probst, J.-L. Impact of mercury atmospheric deposition on soils and streams in a mountainous catchment (Vosges, France) polluted by chlor-alkali industrial activity: The important trapping role of the organic matter. *Science of The Total Environment* **361**, 163–178 (2006).

Hissler, C. Dynamique et bilan des flux de mercure dissous et particulaire dans un hydrosystème anthropisé : Cas du bassin versant de la Thur (Sud du massif Vosgien). (Université de Strasbourg, 2003)

HYDRO. <http://www.hydro.eaufrance.fr> [Consulté le 09/07/2019]

ISO 14869-2:2002. Qualité du sol - Mise en solution pour la détermination des teneurs élémentaires totales - Partie 2 : Mise en solution par fusion alcaline (2002).

Jackson, M. L. Soil chemical analysis - advanced course. (Published by the author, 1956).

Jean-Sébastien, L. Introduction à la microscopie électronique à transmission. 1–65 (2002).

JEOL. *JEM-2100F FIELD EMISSION ELECTRON MICROSCOPE*. 1–129 (2003).

Masseboeuf, A. Microscopie Électronique en Transmission pour l'étude de phénomènes magnétiques à l'échelle du nanomètre. (Université Joseph Fourier - Grenoble 1, 2008).

May, T. W. & Wiedmeyer, R. H. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* **19**, 150–155 (1998).

Météo France. <http://www.meteofrance.com/climat/meteo-date-passee> [Consulté le 09/07/2019]

Ministre de la transition écologique et solidaire. *Arrêté du 24 août 2017 modifiant dans une série d'arrêtés ministériels les dispositions relatives aux rejets de substances dangereuses dans l'eau en provenance des installations classées pour la protection de l'environnement*. 1–182 (2017).

- Rivière, E. Note relative aux niveaux de concentrations en mercure à Vieux-Thann. 1–14 (ASPA, 2013). http://www.atmo-grandest.eu/sites/prod/files/2018-10/Note_relative_aux_nivea.pdf [Consulté le 09/07/2019]
- Rivière, E. Note relative aux niveaux de concentrations en mercure à Vieux-Thann. 1–8 (ASPA, 2014). http://www.atmo-grandest.eu/sites/prod/files/2018-10/Note_relative_aux_nivea1.pdf [Consulté le 09/07/2019]
- Roblin, G. Microscopie. *Techniques de l'ingénieur* 1–18 (1998).
- Rodenburg, J. M. Understanding Transmission Electron Microscope Alignment: A Tutorial. *Microscopy and analysis* **18**, 9–11 (2004).
- Roy, P., Balaram, V., Bhattacharaya, A., Nasipuri, P. & Satyanarayanan, M. Estimation of Ti, Zr, Nb, Hf, Ta, Th and U in beach placers and ferrodiorites by inductively coupled plasma-mass spectroscopy using lithium metaborate fusion digestion technique. *CURRENT SCIENCE* **93**, 6 (2007).

Chapitre 3 : mise en
évidence de NPs TiO_2
anthropiques dans les
différents
compartiments
environnementaux du
site d'étude

Chapitre 3 : mise en évidence de NPs TiO₂ anthropiques dans les différents compartiments environnementaux du site d'étude

1. Etude sur les eaux et sédiments

1.1. Conductivité, pH, température et concentrations en calcium, magnésium, sodium et potassium des échantillons d'eau

Les valeurs de pH sont relativement constantes durant les trois campagnes à l'exception du point Aval en 2017 et 2018 dont le pH est supérieur à 8 (*Tab. 7*). Ce point d'échantillonnage est situé en aval de différents rejets dans la rivière (localisés entre les points Confluence et Aval) provenant notamment d'une station d'épuration ainsi que de sites industriels situés dans la zone d'activités du Pays de Thann.

Tableau 7 : Valeurs du pH des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018

Echantillons	pH		
	2016	2017	2018
<i>Amont</i>	6,62	6,61	7,37
<i>Vignes</i>	/	7,21	7,19
<i>Point T</i>	7,54	7,34	7,3
<i>Canal</i>	6,62	7,12	7,57
<i>Confluence (côté canal)</i>	6,18	7,14	7,92
<i>Confluence (côté Thur)</i>	7,07	7,35	7,75
<i>Aval</i>	6,78	8,03	8,38

Les valeurs de températures sont variables d'une campagne à une autre puisqu'elles ont eu lieu durant des saisons différentes (*Tab. 8*). Le point en amont présente pour chaque campagne la température la plus basse. A partir du site de production, une température plus importante est observée pour toutes les campagnes. Celle-ci est due au cumul des rejets industriels, d'abord

dans le canal, puis dans la rivière de la Thur jusqu'au point Aval. Par ailleurs, le point T présente une température fluctuant assez peu entre l'hiver (14 °C) et l'été (19 °C).

Tableau 8 : Valeurs de la température des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018

Echantillons	Température (°C)		
	2016	2017	2018
<i>Amont</i>	10,6	10	4
<i>Vignes</i>	/	15	7,5
<i>Point T</i>	18	19	14
<i>Canal</i>	14	14	9
<i>Confluence (côté canal)</i>	16,2	18	5
<i>Confluence (côté Thur)</i>	16,3	17	6
<i>Aval</i>	12,4	14	11,2

Pour chaque campagne, la conductivité est assez stable dans les eaux en amont du site de production y compris jusqu'au canal (60 à 100 µS/cm). Elle est ensuite très variable pour les points situés à la confluence et en aval (Tab. 9).

Tableau 9 : Valeurs de conductivité des eaux des campagnes de 2016, 2017 et 2018

Echantillons	Conductivité (µS/cm)		
	2016	2017	2018
<i>Amont</i>	111	78,3	64,5
<i>Vignes</i>	/	83,3	112,2
<i>Point T</i>	122,5	95,9	166
<i>Canal</i>	131,1	94,3	91,7
<i>Confluence (côté canal)</i>	1420	1220	69,5
<i>Confluence (côté Thur)</i>	1106	1120	71,6
<i>Aval</i>	1084	386,1	1887

En 2016, la conductivité en confluence et en aval est environ 10 fois supérieure à la conductivité en amont (Tab. 9). Cette différence peut être en partie expliquée par l'augmentation des concentrations en Na (facteur \approx 18) et en K (facteur 18 à 56) entre l'amont et les points Confluence et Aval (Fig. 13).

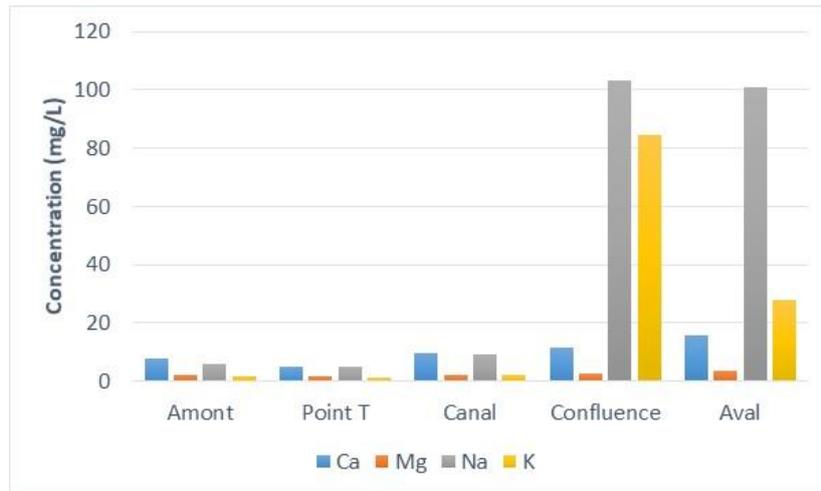


Figure 13 : Concentrations en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2016 (Valeurs en Annexe 1)

Cependant, d'autres ions (non analysés dans cette étude) ont pu aussi être apportés par les différents rejets le long de la rivière de la Thur et participer à cette conductivité plus importante.

Pour l'année 2017, les conductivités en confluence et en aval sont de respectivement 15 et 5 fois supérieures à celles en amont (Tab. 9). Ceci peut être corrélé à l'augmentation des quatre éléments analysés d'un facteur 13 à 21 en confluence par rapport à l'amont (Fig. 14). De même, en aval les éléments Ca, Na et K voient leur concentration augmenter d'un facteur 3 à 85 par rapport à l'amont (Fig. 14). Comme pour la campagne 2016, d'autres ions provenant des rejets industriels peuvent contribuer à ces conductivités de l'ordre du 1 mS/cm.

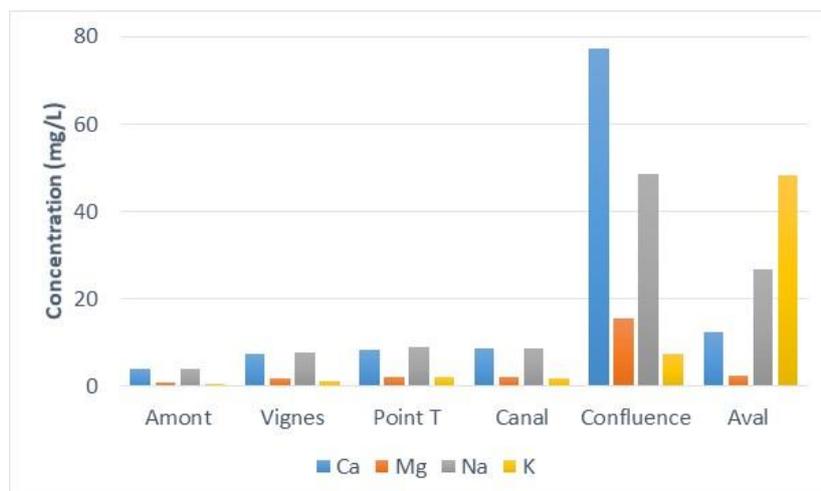


Figure 14 : Concentration en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2017 (Valeurs en Annexe 1)

Le profil des conductivités mesurées en 2018 se démarque des deux premières campagnes. En effet, la conductivité est stable de l'amont jusqu'à la confluence. En aval, elle augmente brutalement pour atteindre une valeur de 1,9 mS/cm (Tab. 9). Pour cette campagne, l'analyse des éléments Ca, Mg, Na et K (Fig. 15) ne nous permet pas d'expliquer l'évolution des valeurs de conductivité. Une analyse des anions et cations présents dans les eaux aurait été nécessaire.

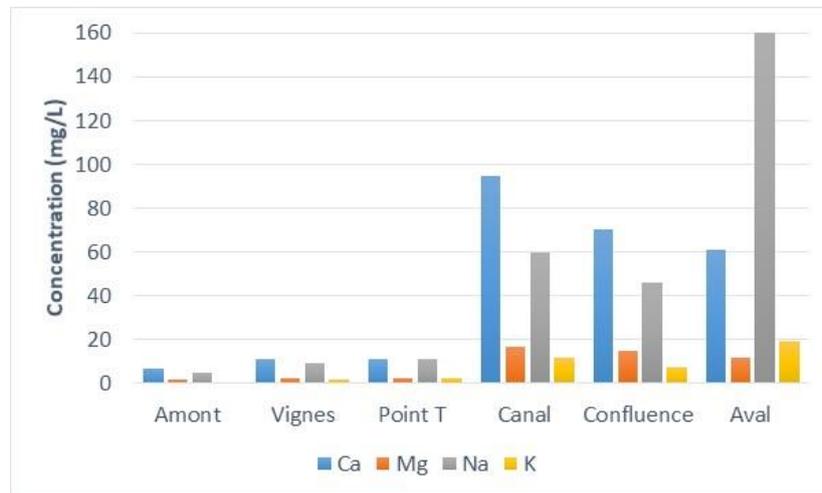


Figure 15 : Concentration en Ca, Mg, Na et K dans les eaux (mg/L) pour la campagne 2018 (Valeurs en Annexe 1)

1.2. Concentrations en titane dans les échantillons d'eau, de sédiments totaux et des fractions granulométriques des sédiments

La figure 16 présente les concentrations en titane total dans les sédiments sous forme d'histogrammes bleus et les concentrations dans les eaux sont indiquées dans les encadrés bleus. Pour le point de référence situé à 3,5 km en amont du site de production, les concentrations en titane dans le sédiment sont très stables, à la fois pour les 3 triplicats d'une même campagne, mais aussi d'une année à une autre, avec une moyenne autour de 2 300 mg/kg. Toujours en amont, la teneur en Ti de l'eau de rivière est constante pour les différentes campagnes ($\approx 5 \mu\text{g/L}$). Les concentrations au point Vignes sont similaires à celles obtenues au point Amont aussi bien pour l'eau de la Thur que pour les sédiments. Ceci est en accord avec la localisation de ce point Vignes, situé à 250 mètres en amont du point de rejet (point T) du site de production.

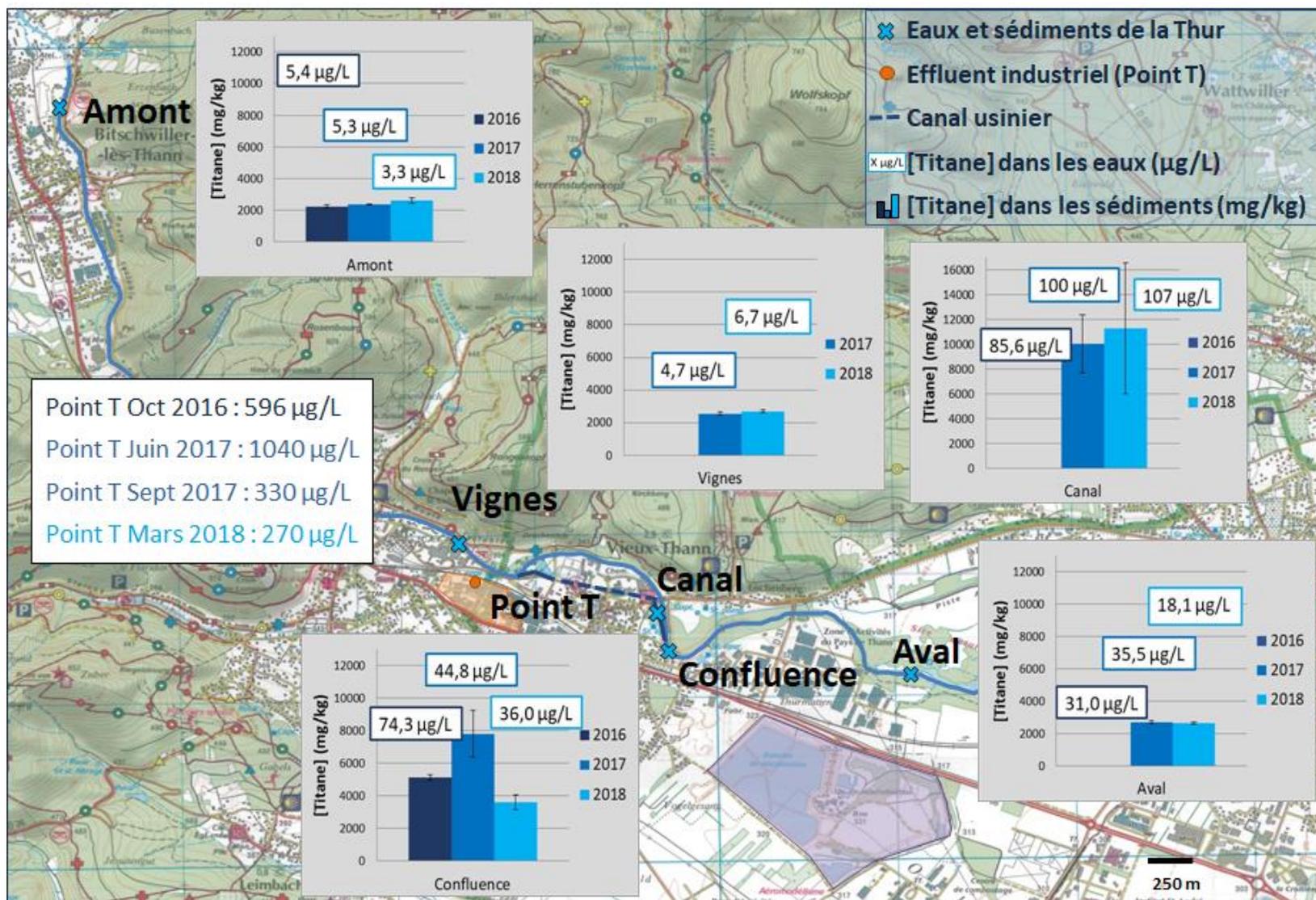


Figure 16 : Concentrations en titane dans les eaux et les sédiments (Valeurs en Annexe 2)

Dans l'effluent industriel (Point T), les concentrations en titane total varient de 300 à 1 000 µg/L et la valeur la plus élevée (1040 µg/L) a été obtenue un jour de fortes précipitations en juin 2017. Ceci s'explique par la nature des eaux rejetées au point T : en cas d'évènement pluvieux, le titane particulaire déposé sur les toits et les voies d'accès est lessivé et ces eaux de ruissellement rejoignent les eaux de process pour être rejetées dans le canal.

Les concentrations en titane dans l'eau du canal usinier sont 20 fois supérieures à celles obtenues en amont (moyenne pour les 3 campagnes de 100 µg/L). Cependant, elles sont inférieures d'un facteur de 3 à 10 par rapport à celles du point T, ceci étant dû à un effet de dilution. Les sédiments du canal usinier sont 5 fois plus concentrés en titane que les sédiments en amont ($\approx 10,5$ g/kg) avec une hétérogénéité importante entre les triplicats.

Au point Confluence, les concentrations en titane dans l'eau sont 10 fois supérieures à celles obtenues en amont, mais également 2 à 3 fois inférieures à celles du canal usinier. Un second effet de dilution est observé à la confluence du canal avec la Thur. Les sédiments quant à eux présentent des concentrations de 2 à 4 fois supérieures à celles en amont et une hétérogénéité entre les échantillons est constatée, que ce soit entre les triplicats mais également en comparant les concentrations en titane d'une campagne à l'autre.

Dans le paragraphe 1.3.3.3., des analyses en microscopie (MET) sur les sédiments canal et confluence tenteront d'identifier la nature du titane présent et d'apporter une explication à ces répartitions hétérogènes.

Enfin, les concentrations en titane dans l'eau au point Aval sont toujours 5 fois supérieures à celles obtenues en amont. Malgré une forte décantation du titane dans les sédiments du canal puis de la Thur, une partie reste en suspension dans la colonne d'eau et, est transportée jusqu'au point Aval à 2,5 km du site de production. De plus, les sédiments en aval présentent des concentrations similaires à celles en amont ce qui indique, soit que le titane est stable en suspension dans l'eau, soit que la part qui sédimente est négligeable au regard des quantités naturellement présentes dans le sédiment.

Ces résultats permettent de conclure que du titane est rejeté dans le canal *via* l'effluent industriel au point T et contribue à augmenter significativement la concentration en titane de la Thur. Cependant, l'analyse par ICP-AES ne permet pas de faire de distinction entre du titane micrométrique ou nanométrique ni entre du titane naturel ou anthropique.

La suite de cette étude a consisté à caractériser sous quelle forme ce titane est présent dans les eaux et les sédiments. Les particules contenues dans les échantillons d'eau ont été étudiées en microscopie électronique en transmission (MET). Les sédiments les plus chargés en titane ont été fractionnés afin de déterminer si le titane s'immobilise préférentiellement dans une fraction, à l'aide d'outils comme la diffraction des rayons X (DRX) et le MET.

1.3. Caractérisation du titane dans les eaux et les sédiments

1.3.1. Caractérisation des nanoparticules du site de production par DRX et MET

Le site de production fabrique deux types de NPs TiO_2 : des Haute Surface Spécifique (HSS) et des Basse Surface Spécifique (BSS) avec des tailles de particules de 5 nm pour les HSS et 20 nm pour les BSS. Leur point isoélectrique est de 6,4 (Adam *et al.* 2016). Ces deux types de nanoparticules ont été analysés par DRX et MET.

D'après l'analyse en DRX, les deux types de NPs TiO_2 cristallisent en anatase (*Annexe 3*). Leur étude en MET montre que, même si un effort particulier est consacré à leur dispersion (application d'ultrasons, présence d'ions dans la suspension), elles ont une forte tendance à l'homoagrégation et forment des agrégats entre 100 et 400 nm (Adam *et al.* 2016). La microanalyse élémentaire EDS confirme que ces nanoparticules sont constituées de titane avec quelques traces d'autres éléments (silicium et zinc) également visibles (*Fig. 17*).

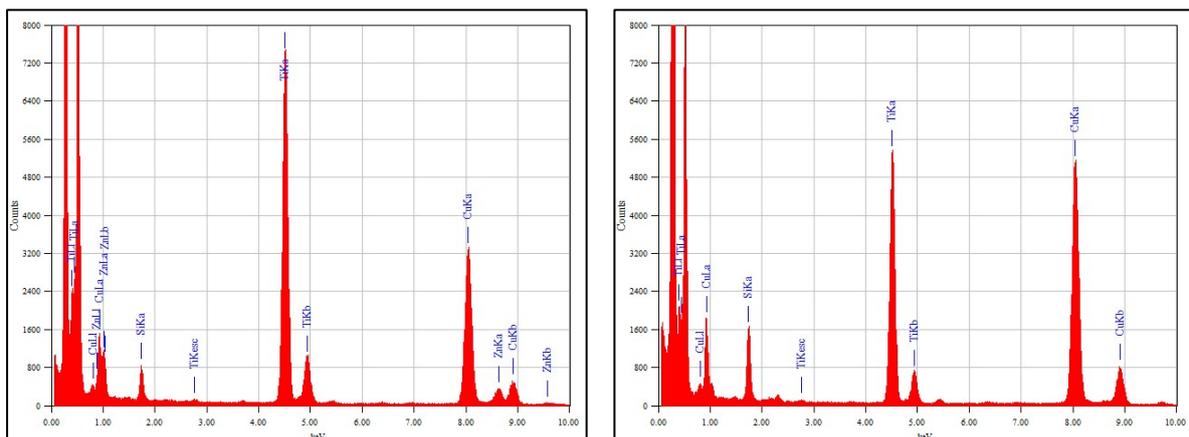


Figure 17 : Microanalyses élémentaires des NPs TiO_2 BSS (gauche) et HSS (droite) – (Adam, 2015)

Les particules BSS sont de forme ronde ou ovale avec des tailles comprises entre 10 et 40 nm (*Fig. 18*). Les NPs TiO_2 HSS sont exclusivement constituées de particules rondes d'environ 5 nm (*Fig. 19*).

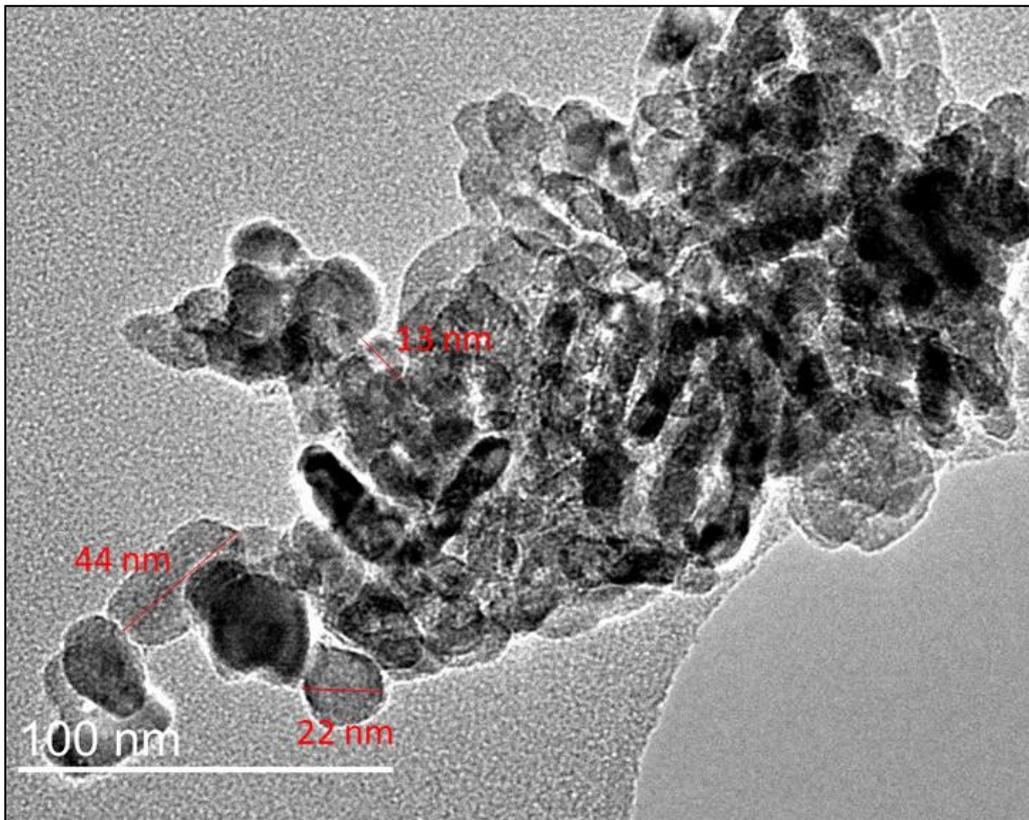
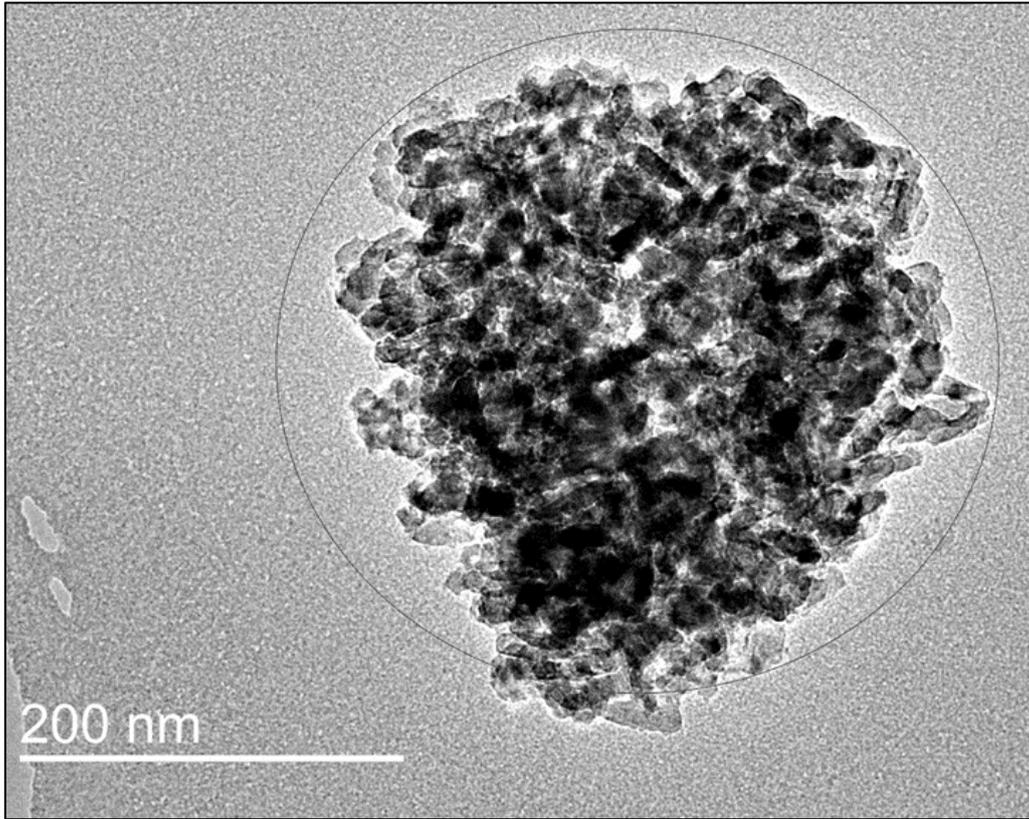


Figure 18 : Micrographies (MET) de nanoparticules de TiO_2 BSS (Adam, 2015)

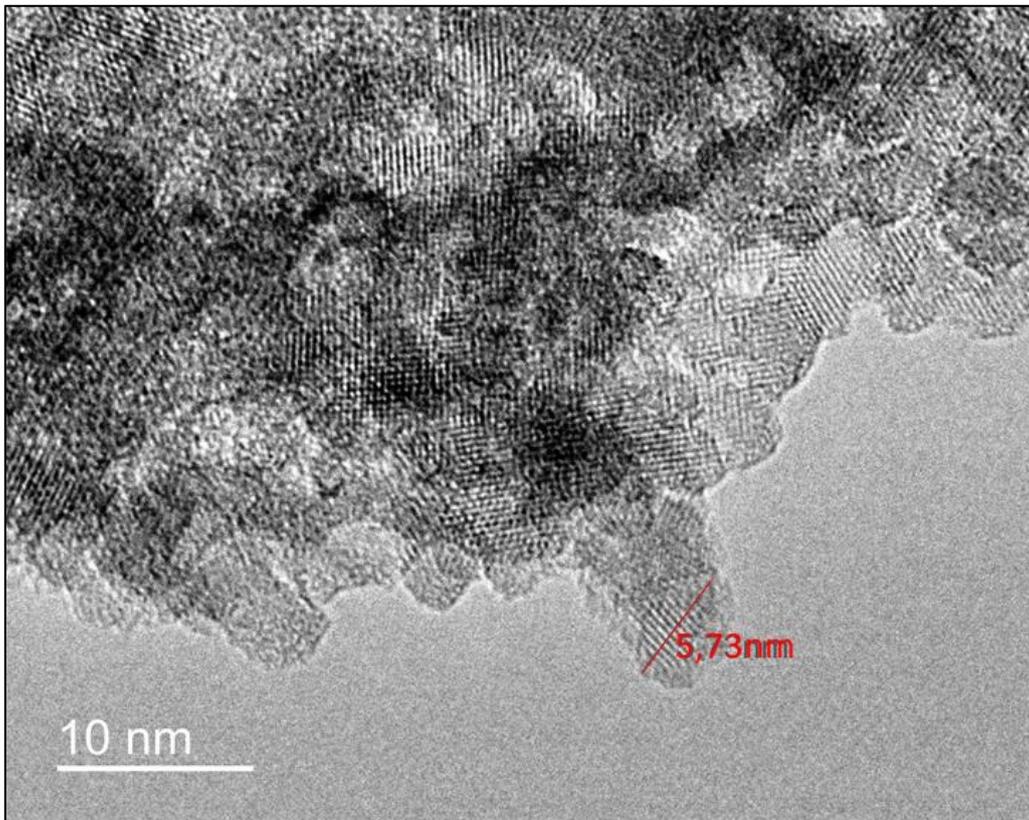
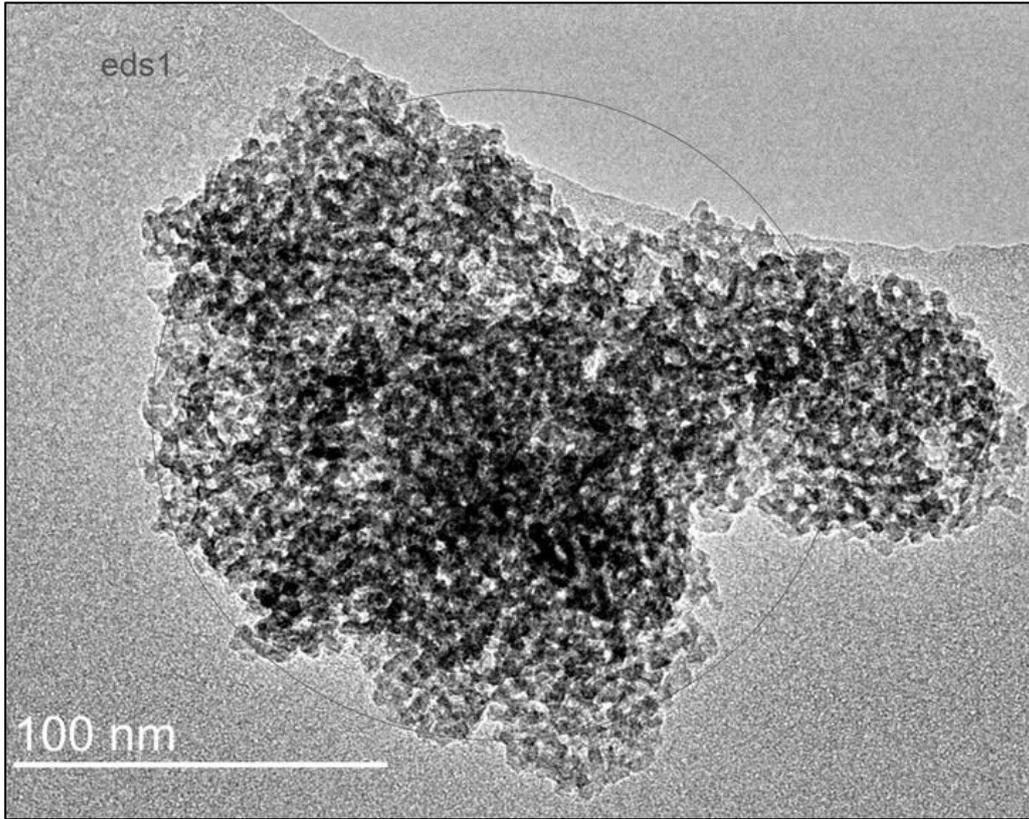


Figure 19 : Micrographies (MET) de nanoparticules de TiO_2 HSS (Adam, 2015)

1.3.2. Analyses des eaux par microscopie électronique en transmission (MET)

Les eaux de la rivière de la Thur, du canal et du point T ont été filtrées (0,22 μm) afin de caractériser les particules en suspension dans ces échantillons. Les résultats obtenus en microscopie électronique sur les particules retenues sur ces filtres sont décrits pour chaque point d'échantillonnage toute campagne confondue.

1.3.2.1. Analyses du point Amont

Plusieurs types de particules ont été détectés dans les eaux en amont. Elles ont des tailles variables de quelques nanomètres à quelques micromètres et sont constituées de différents éléments comme du silicium, du magnésium, du potassium, du sodium, du fer et plus rarement du titane. De la matière organique est également très présente dans les échantillons. La figure 20 représente une particule naturelle de TiO_2 d'environ 200 nm engluée dans une matrice de matière organique.

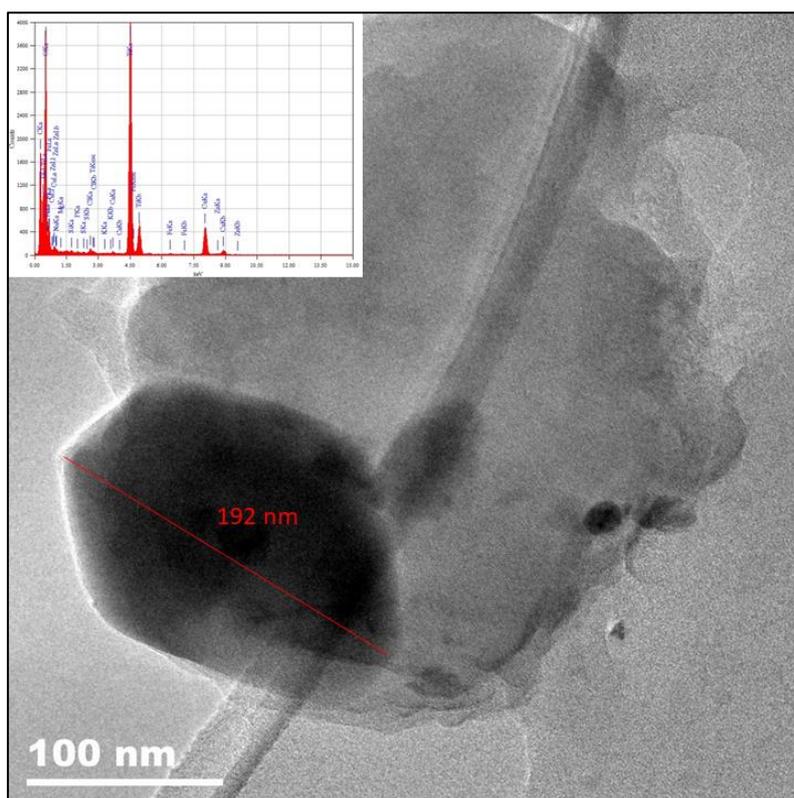


Figure 20 : Micrographie et analyse EDS d'une particule de titane contenue dans l'eau de la Thur au point Amont

Dans les eaux des trois campagnes en amont, aucune nanoparticule de TiO_2 n'a été détectée. Le titane quantifié en ICP-AES dans l'eau en amont ($\approx 5 \mu\text{g/L}$) est du titane micrométrique naturel qui provient de l'érosion des roches comme celle présentée en figure 20. D'après Gaillardet *et al.* 2003, les valeurs moyennes de titane naturel dans les rivières varient de 0,1 à quelques $\mu\text{g/L}$, ce qui correspond aux valeurs mesurées dans les échantillons en amont. Van Baalen, 1993 précise cependant que cet ordre de magnitude est valable pour un pH proche de 7 (ce qui est notre cas), mais que la concentration en titane peut atteindre le mg/L si le pH prend des valeurs extrêmes (acide ou basique).

1.3.2.2. Analyses du point T

Plusieurs types de particules ont été détectés dans l'effluent industriel récupéré au point T, dont les tailles varient de quelques nanomètres à seulement quelques micromètres. Les analyses EDS ont montré la présence de plusieurs éléments dans ces particules dont principalement du calcium, du fer, du titane et plus rarement du silicium et de l'aluminium. Le calcium est particulièrement présent dans les échantillons, ce qui peut être expliqué par l'utilisation d'un flocculant dans les premières étapes du processus de fabrication du TiO_2 , souvent riches en sels de calcium (Stratford, 1989 ; Shainberg *et al.* 2005). Des particules contenant du fer ont été également détectées de manière abondante et peuvent provenir du procédé d'extraction du titane à partir du minerai d'ilménite (FeTiO_3). Enfin, des agrégats de particules nanométriques contenant du titane ont été mises en évidence dans les échantillons du point T pour toutes les campagnes (Fig. 21).

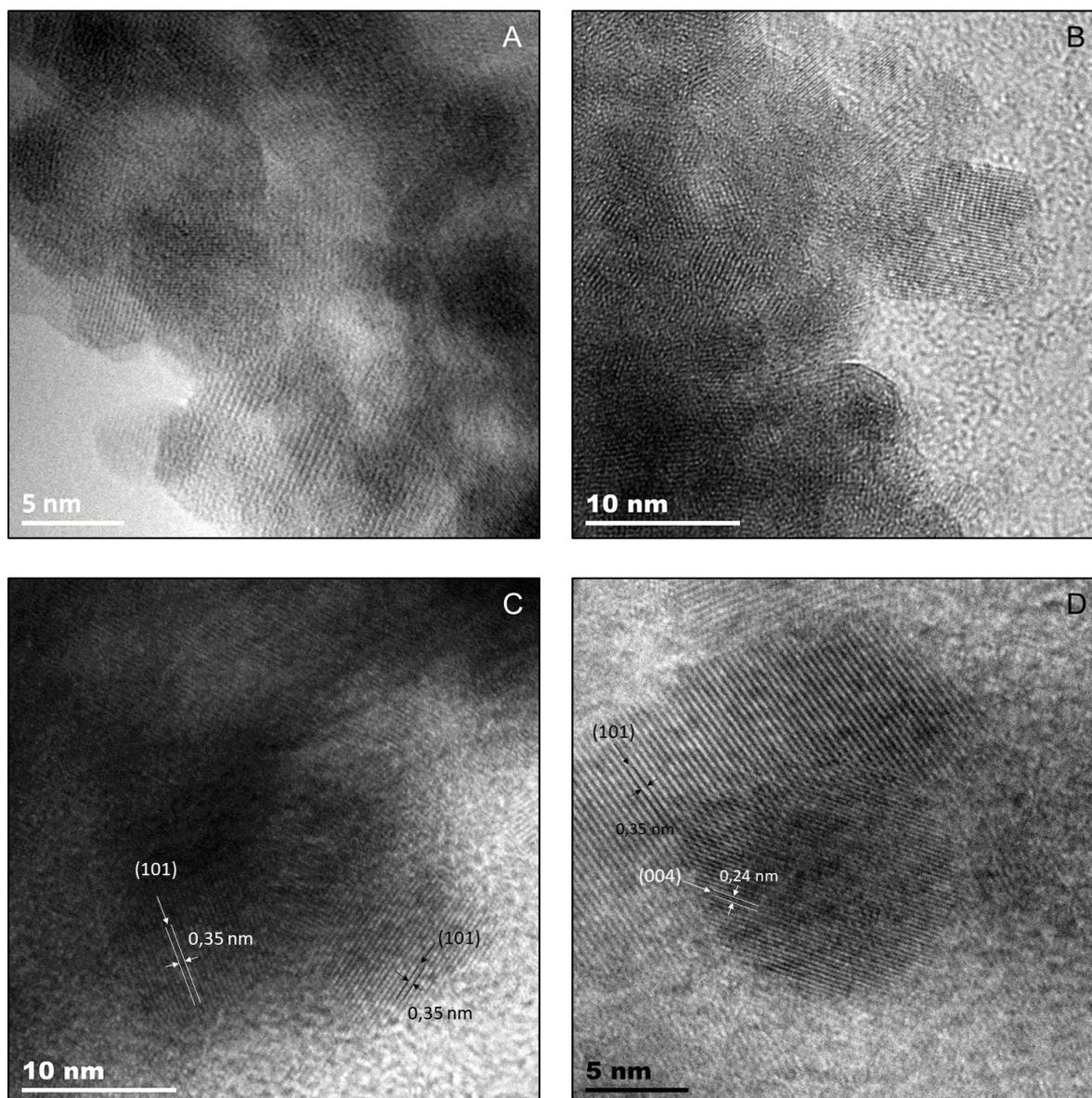


Figure 21 : Micrographies de NPs TiO_2 trouvées dans l'effluent industriel au point T en 2016 (A), 2017 (B et C) et 2018 (D)

Ces agrégats, sont constitués de nanoparticules de forme ronde ou ovale, de tailles comprises entre 5 et 20 nm correspondant aux tailles et formes des NPs TiO_2 BSS et HSS produites par le site. De plus, les micrographies en haute résolution permettent de mesurer la distance entre les plans atomiques de ces NPs TiO_2 . Sur la figure 21 C, c'est le plan réticulaire (101) de l'anatase qui est mis en évidence avec une distance inter-réticulaire de 0,35 nm (ICDD 21-1272). La figure 21 D permet de visualiser deux nanoparticules d'anatase orientées différemment puisque l'une présente sa face 101 ($d_{101} = 0,35$ nm) et l'autre située en dessous de la première, est orientée selon son plan réticulaire 004 ($d_{004} = 0,24$ nm).

1.3.2.3. Analyses des eaux du canal et de la rivière de la Thur

De nombreux agrégats de nanoparticules ont été trouvés dans les eaux du canal dont la taille varie de 200 à 800 nm (Fig. 22).

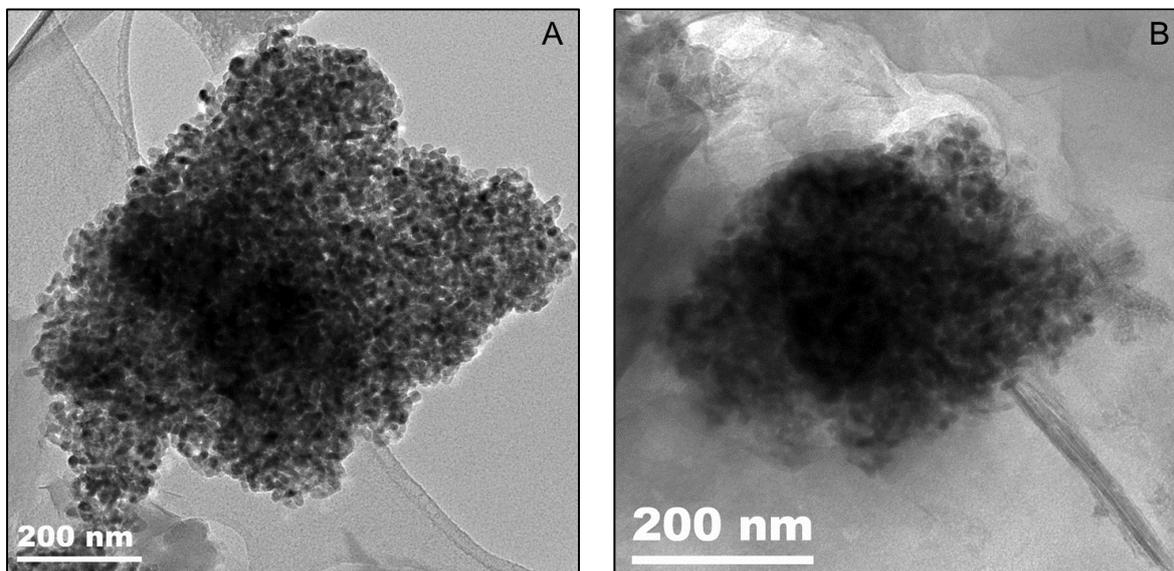


Figure 22 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les eaux du canal en 2017 (A) et 2018 (B)

L'analyse EDS de ces nanoparticules affirme qu'elles sont composées de titane ; les formes (ronde ou ovale) et les tailles (5 ou 20 nm) sont à nouveau comparables à celles fabriquées par le site de production (Fig. 22 et Fig. 23 : B). La visualisation en haute résolution au MET a été parfois difficile due à la présence de matière organique abondante dans les eaux du canal lors de la campagne 2018 (Fig. 23 : C et D).

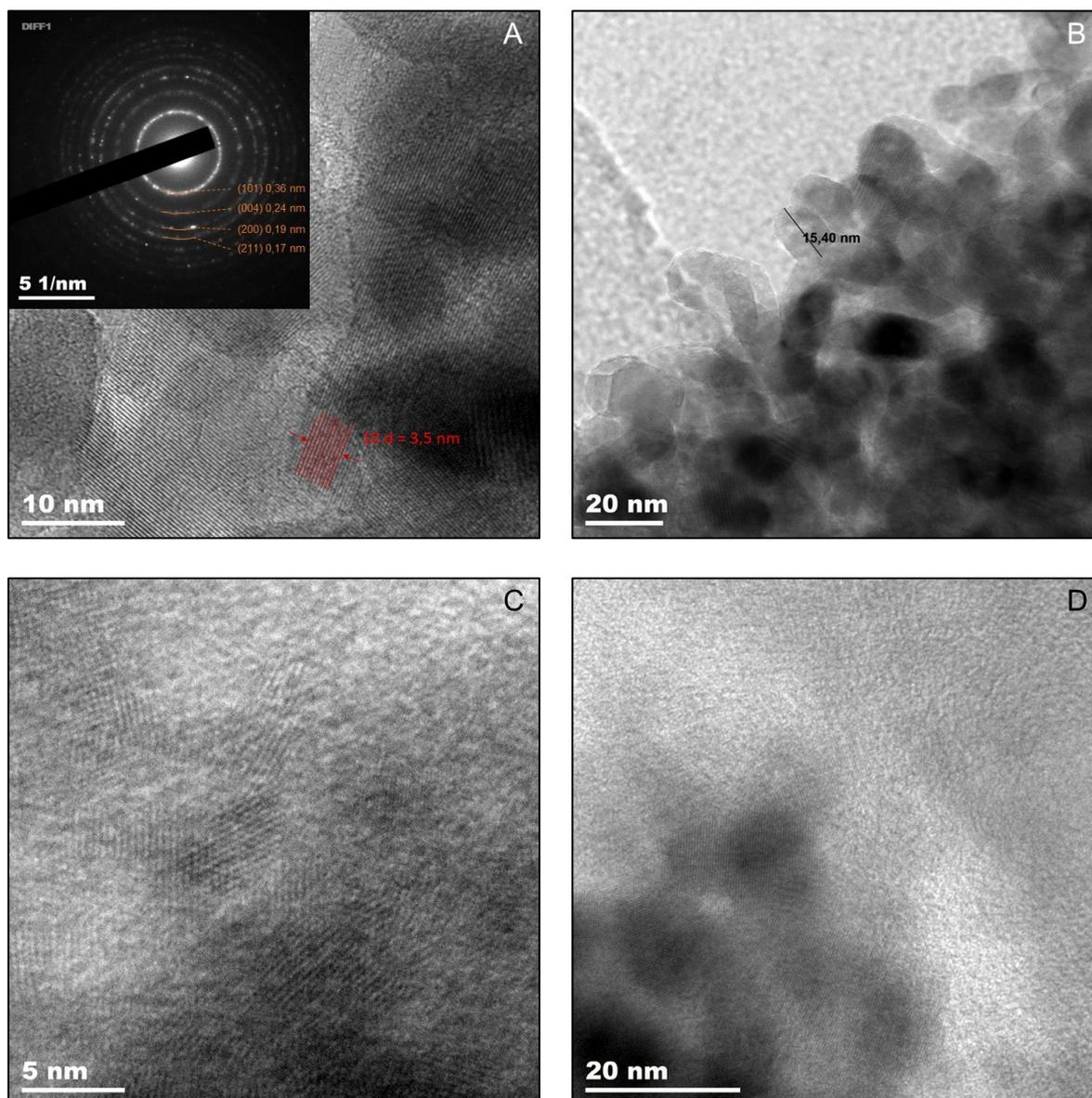


Figure 23 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées dans les eaux du canal en 2017 (A et B) et 2018 (C et D)

Néanmoins pour la campagne 2017, en zoomant sur l'agrégat présenté en figure 22 A, il est possible de mesurer la distance inter-réticulaire de 0,35 nm sur la figure 23 A et correspondant à la bande hkl la plus intense de l'anatase (101). Le cliché de diffraction des électrons d'une zone de cet agrégat permet de retrouver les principales bandes de l'anatase. Notons tout de même que la bande (101) est de 0,36 nm sur le cliché au lieu de 0,35 nm. Cela est certainement dû à la difficulté de réaliser une mesure précise quand l'anneau de diffraction est large.

Enfin, aux points d'échantillonnage de la confluence et en aval, différents types de particules ont été détectés dans la rivière de la Thur. Elles sont composées de plusieurs éléments comme du silicium, de l'aluminium ou encore du calcium. Le silicium et l'aluminium peuvent provenir de minéraux naturels qui se trouvent en suspension dans la colonne d'eau. Le calcium est un élément particulièrement présent en aval et peut provenir de rejets industriels de la zone d'activités du Pays de Thann entre la confluence et l'aval.

Des agrégats de nanoparticules de titane similaires à ceux trouvés dans le canal ont été détectés aussi bien à la confluence qu'en aval. La taille des agrégats varie de quelques centaines de nanomètres à 2,5 μm en aval (*Fig. 24*).

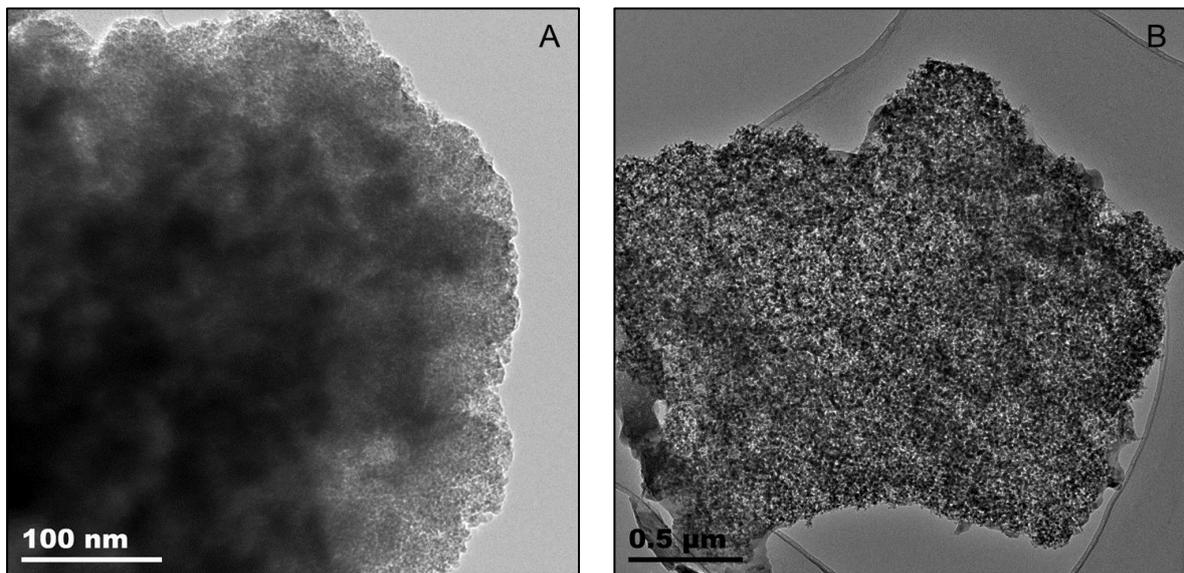


Figure 24 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les eaux à la confluence (A) et en aval en 2017(B)

En zoomant sur ces agrégats, on constate la présence de différentes nanoparticules de titane. Certaines sont rondes avec des tailles très petites de quelques nanomètres ; les distances interréticulaires de 0,35 nm confirment que ce sont des nanoparticules d'anatase (*Fig. 25*).

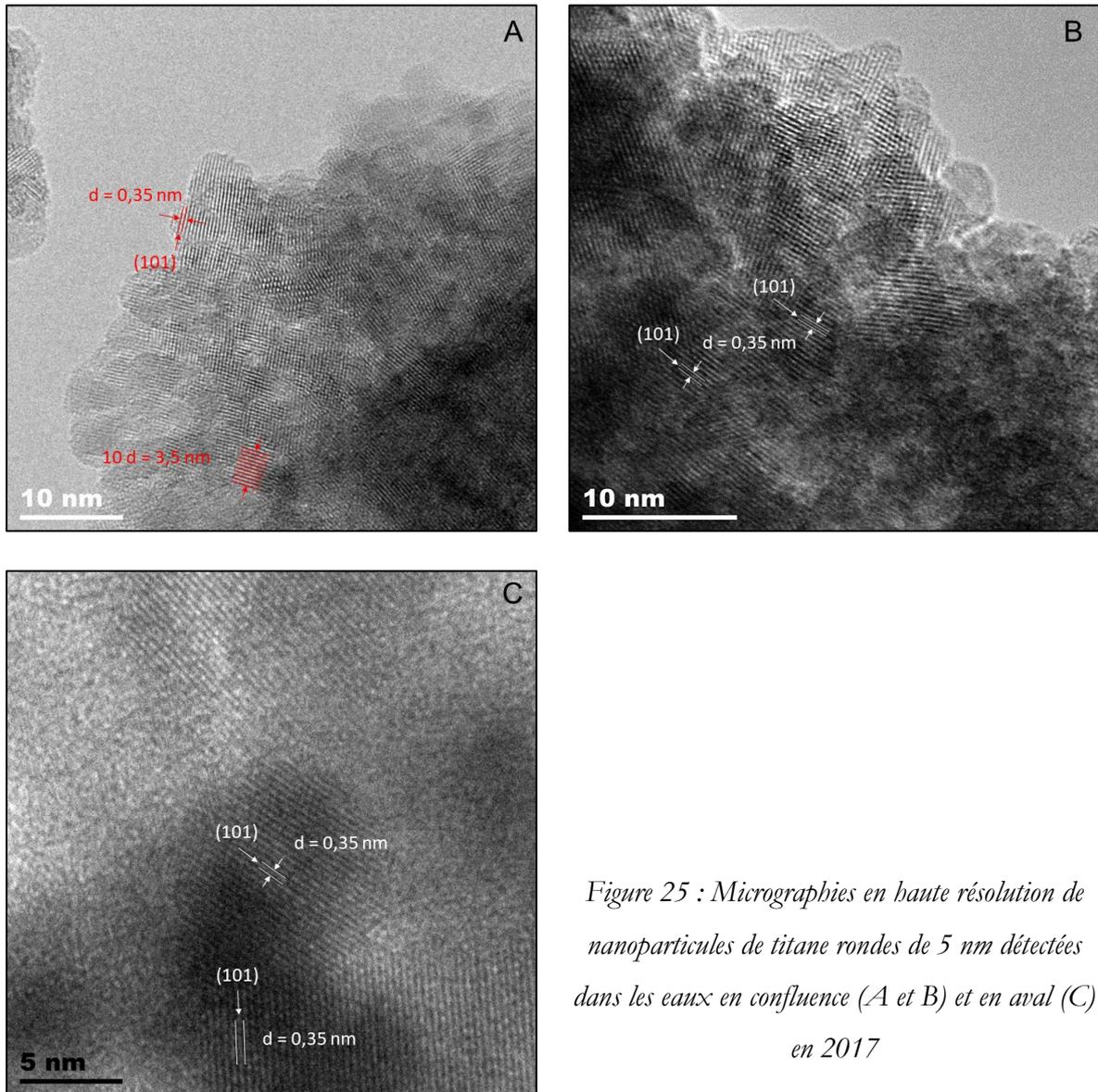


Figure 25 : Micrographies en haute résolution de nanoparticules de titane rondes de 5 nm détectées dans les eaux en confluence (A et B) et en aval (C) en 2017

Lors de la campagne 2018, des NPs TiO_2 ovales ont aussi été détectées avec des tailles comprises entre 20 et 40 nm à la confluence et en aval. Mais, là encore, la présence de matières organiques dans les eaux de la Thur (comme cela était le cas dans les eaux du canal), rend difficile leur visualisation en microscopie électronique (Fig. 26).

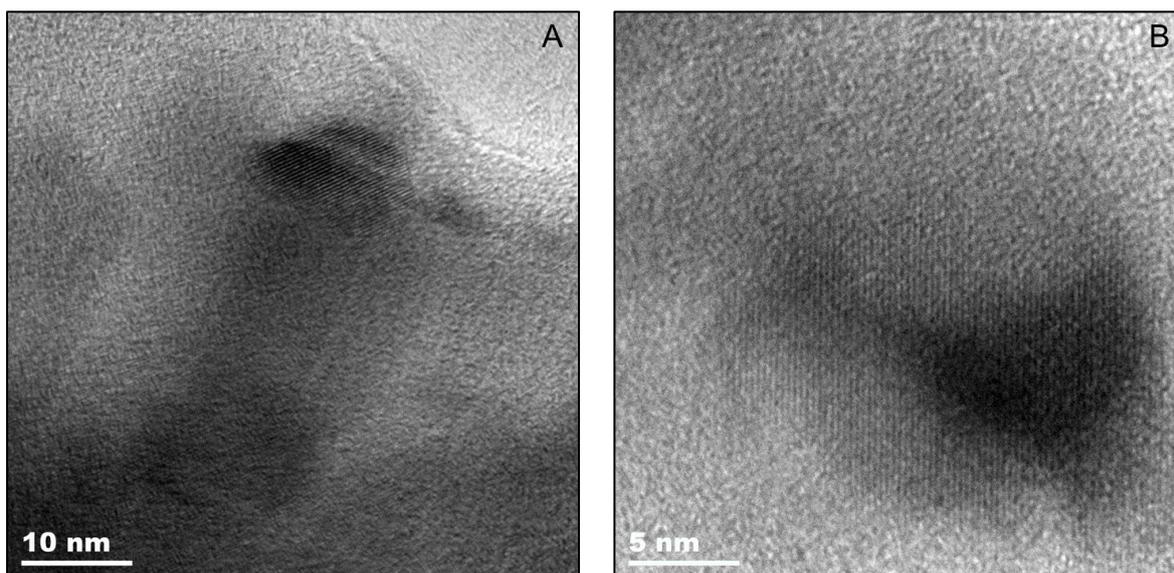


Figure 26 : Micrographies de nanoparticules de titane ovales de 10 à 20 nm détectées dans les eaux en confluence (A) et en aval (B) en 2018

Les résultats présentés ci-dessus montrent que les NPs TiO₂ HSS et BSS produites par le site industriel sont omniprésentes dans les eaux autour du site : elles ont été détectées dans l'effluent industriel mais également dans l'eau du canal usinier et dans les eaux naturelles de la Thur jusqu'à 2,5 km en aval du site.

1.3.3. Analyses des fractions des sédiments canal et confluence

Le fractionnement granulométrique des sédiments permet de calculer l'abondance relative de chaque fraction (Tab. 10). La fraction 2000 - 200 µm est la plus abondante dans les deux sédiments puisqu'elle constitue 75 à 90 % du sédiment total. Ceci est en accord avec la description sablo-caillouteuse des sédiments, faite sur le terrain lors des campagnes de prélèvement. Dans le canal, la fraction 200 - 50 µm contribue à hauteur de 10 % et les fractions suivantes constituent les 12 % restants du sédiment. A la confluence, les 4 dernières fractions sont réparties à peu près de façon égale et constituent 1 à 2 % de la masse totale du sédiment.

Tableau 10 : Pourcentage massique (%) des fractions granulométriques dans les sédiments canal et confluence

	2 mm - 200 µm	200 - 50 µm	50 - 20 µm	20 - 2 µm	< 2 µm
Canal	76,17	11,43	3,23	3,70	5,48
Confluence	93,47	2,63	0,77	0,98	2,15

La teneur en eau (*Annexe 4*) des différentes fractions est faible avec 1 à 2 % pour toutes les fractions à l'exception de la fraction argileuse ($< 2 \mu\text{m}$) du sédiment canal qui est de 6 %. La matière organique (*Annexe 4*) est peu abondante dans les fractions 2 mm - 200 μm et 200 μm - 50 μm ($\approx 1 \%$), mais est contenue préférentiellement dans les fractions inférieures à 20 μm ($\approx 10 - 20 \%$). Enfin, le carbone inorganique (*Annexe 4*) a des valeurs relativement similaires pour toutes les fractions (1 à 4 %).

1.3.3.1. Répartition du titane dans les différentes fractions de sédiments

Les concentrations en titane déterminées par ICP-AES sont très variables d'une fraction à une autre et d'un échantillon à l'autre (*Tab. 11 et Annexe 5*). La fraction 2 mm - 200 μm qui est largement majoritaire dans les deux sédiments contient peu de titane ($\approx 2600 \text{ mg/kg}$). En revanche, les fractions pauvrement représentées ont des concentrations élevées en titane allant jusqu'à 61,6 g/kg dans le canal (50 - 20 μm) et 11,3 g/kg pour la confluence (200 - 50 μm). Si on compare les fractions entre les deux sédiments, les fractions $< 200 \mu\text{m}$ sont toutes beaucoup plus riches en titane dans le canal, avec au minimum un facteur de 4 entre les concentrations pour la fraction 20 - 2 μm et au maximum un facteur de 20 pour la fraction $< 2 \mu\text{m}$.

Tableau 11 : Moyenne sur 3 triplicats des concentrations en titane (mg/kg) des fractions granulométriques dans les sédiments canal et confluence

Ti (mg/kg)	2 mm - 200 μm	200 - 50 μm	50 - 20 μm	20 - 2 μm	$< 2 \mu\text{m}$
Canal	2666	58028	61600	30022	11906
Confluence	2606	11356	6490	6744	540

La figure 27 présente la répartition du titane dans les différentes fractions granulométriques des sédiments en considérant la part en masse d'une fraction (*Tab. 10*) affectée de sa concentration en titane (*Tab. 11*). Les profils des deux sédiments sont très différents. A la confluence, la fraction 2 mm - 200 μm , avec une teneur de seulement 2600 mg/kg, concentre 85 % du titane du sédiment contre 16 % pour le sédiment du canal usinier. Par contre, pour ce dernier, c'est la fraction 200 - 50 μm qui contient 54 % du titane total. Pour les fractions $< 50 \mu\text{m}$, le titane n'y est présent qu'à hauteur de 4 % dans le sédiment confluence alors que ce taux atteint 30 % dans le sédiment canal.

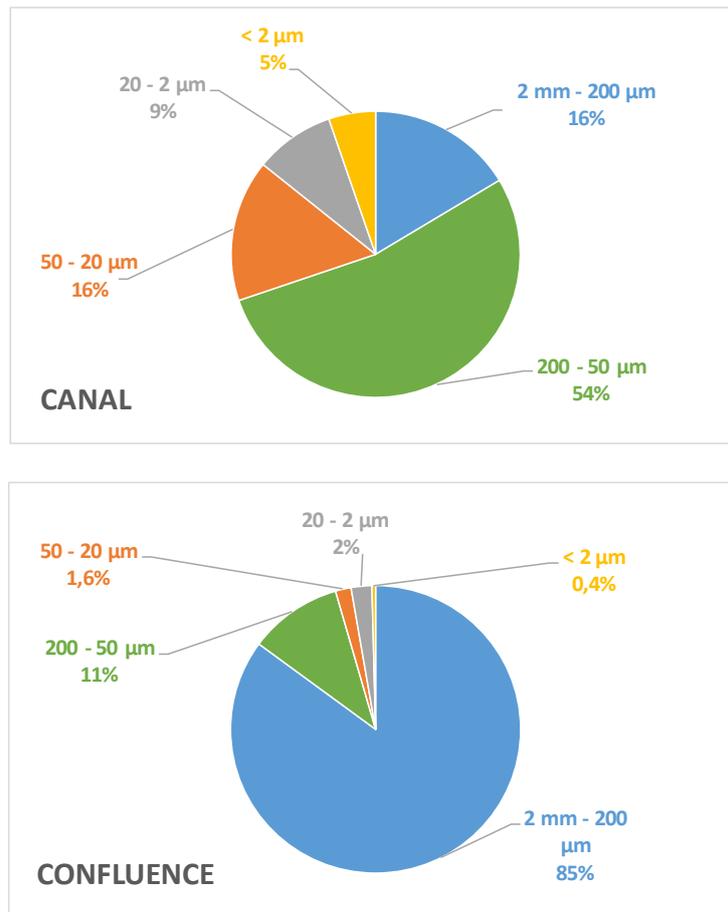


Figure 27 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions des sédiments canal et confluence

Une hypothèse serait qu'une partie des NPs TiO_2 rejetées par le site au point T aurait sédimentée dans les fractions $< 200 \mu\text{m}$ des sédiments du canal usinier. Ceci aurait pour conséquence cette divergence des profils de répartition du titane total (naturel et anthropique), avec une contribution moindre de la fraction $2 \text{ mm} - 200 \mu\text{m}$ pour le sédiment canal (Fig. 27).

1.3.3.2. Analyses par diffraction des rayons X des fractions granulométriques des sédiments

Les analyses en DRX de toutes les fractions granulométriques des sédiments canal et confluence sont disponibles en annexe 6. Dans les fractions comprises entre 2 mm et $2 \mu\text{m}$, les deux sédiments sont composés des mêmes minéraux notamment du quartz, plusieurs types de feldspaths (albite, microcline et sanidine) et d'amphiboles (arfvedsonite et trémolite). Les fractions $< 2 \mu\text{m}$ sont composées de smectite, chlorite, illite-mica, talc et kaolinite. Du dioxyde de titane de forme cristalline anatase et/ou rutile a été détecté dans plusieurs fractions des deux sédiments (Tab. 12).

Tableau 12 : Structure cristalline du TiO₂ dans les fractions des sédiments canal et confluence

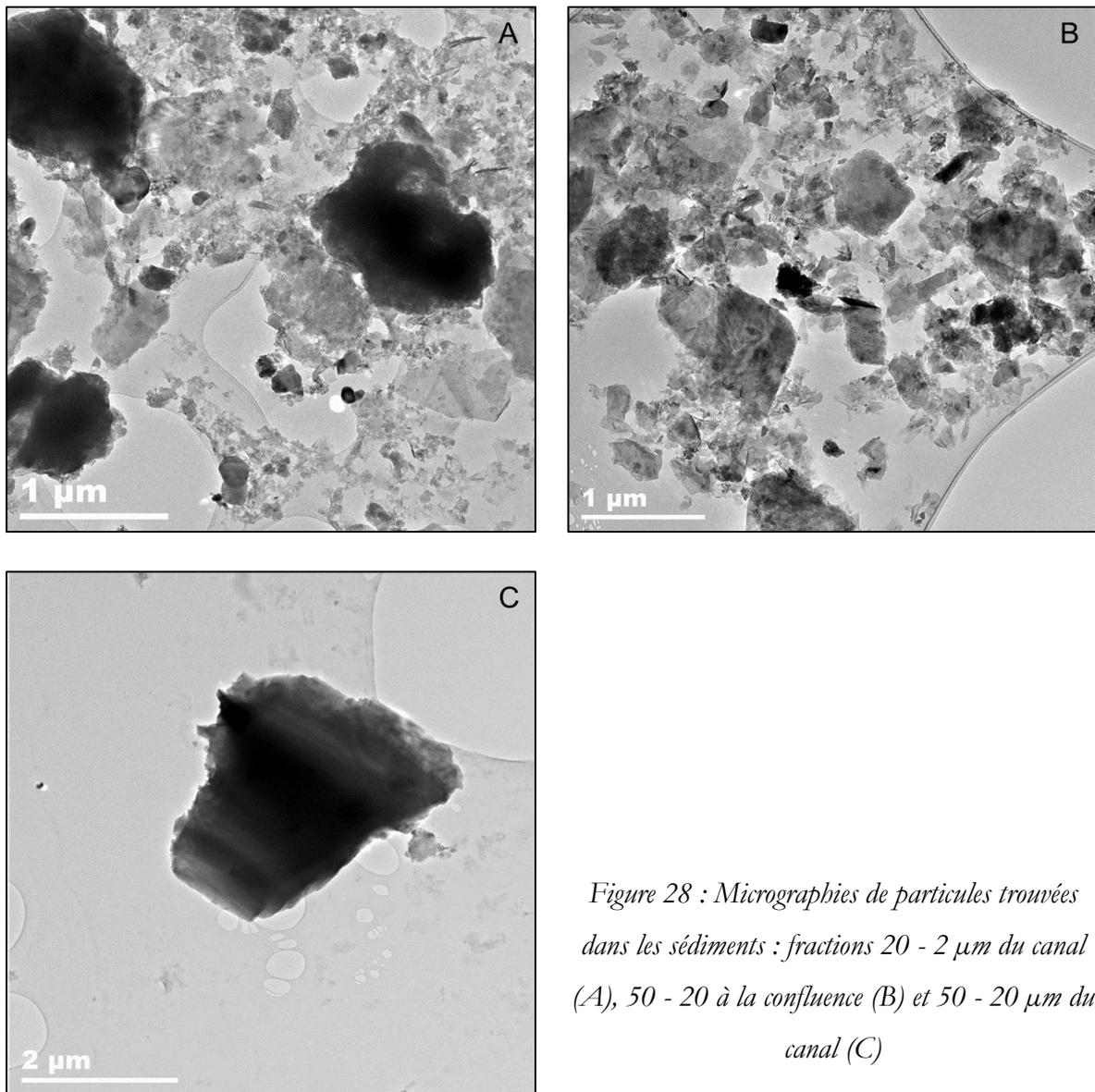
	2 mm - 200 µm	200 - 50 µm	50 - 20 µm	20 - 2 µm	< 2 µm
Canal	/	Rutile	Rutile et anatase	Anatase	Anatase
Confluence	/	/	Anatase	Anatase	/

Le site de production ne fabrique pas de rutile et son procédé de fabrication à l'acide sulfurique utilise uniquement l'ilménite (FeTiO₃) comme minéral de départ. Le rutile est la forme cristalline du dioxyde de titane la plus stable thermodynamiquement à toute température et pression (Pistorius, 1976) et fait partie des minéraux contenant du titane les plus abondants dans la croûte continentale avec l'ilménite et la titanite (Meinhold, 2010). Le rutile, peu abondant dans les sédiments du canal (Tab. 12 et annexe 6), doit donc avoir une origine naturelle et provenir de l'entraînement de minéraux du sol des berges du canal lors du ruissellement des eaux de pluie. Ceci est tout à fait envisageable puisque le canal est, dans cette zone, à ciel ouvert et très encaissé par rapport au niveau du sol. L'analyse par DRX n'a pas permis de détecter de TiO₂ rutile dans les sédiments à la confluence. Une hypothèse serait que, les sédiments de la Thur à la confluence étant des sédiments naturels, ils présenteraient un profil de prépondérance des minéraux différent du sédiment du canal et que, comme la DRX ne permet de mettre en évidence que les minéraux majoritaires, le rutile très minoritaire serait masqué par les autres minéraux plus largement présents.

Dans le cas de l'anatase, ce minéral peut aussi être présent à l'état naturel (Muscat *et al.* 2002 ; Smith *et al.* 2009) et se retrouver dans les fractions < 50 µm des sédiments du canal et de la Thur. Cependant, l'hypothèse la plus probable est que ce TiO₂ anatase provient directement du site de production. Les analyses en MET des échantillons d'eau du canal et à la confluence ont relevé la présence de NPs TiO₂ manufacturées fortement agrégées. Ces agrégats de nanoparticules ont pu ainsi sédimenter dans le canal et dans la Thur, et être détectés en diffraction des rayons X.

1.3.3.3. Analyses par microscopie électronique en transmission (MET) des fractions granulométriques des sédiments

Les fractions des sédiments canal et confluence inférieures à 50 μm ont donc été analysées par MET. Une grande variété de particules a été trouvée : elles diffèrent de par leur taille, leur forme et aussi leur composition (*Fig. 28 : A et B*).



Dans toutes les fractions analysées, les silicates d'aluminium et les particules de silice sont largement représentées (*Fig. 28 : C*). On y trouve également des particules riches en fer, soit individualisées entre 200 à 400 nm, soit beaucoup plus petites (quelques nanomètres) et formant des agrégats (*Fig. 29*).

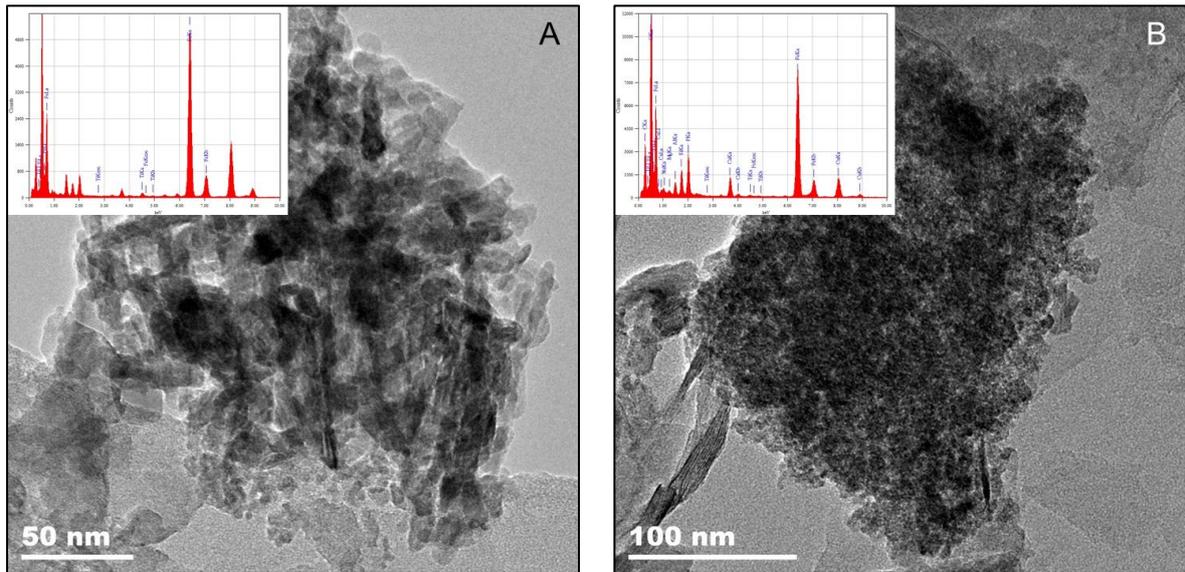


Figure 29 : Micrographies et analyses EDS d'agrégats de nanoparticules de fer trouvées dans les sédiments : fractions 20 - 2 μm du canal (A), 20 - 2 μm à la confluence (B)

Concernant le titane, on le retrouve dans des particules naturelles de TiO_2 que ce soit dans le canal ou à la confluence (Fig. 30).

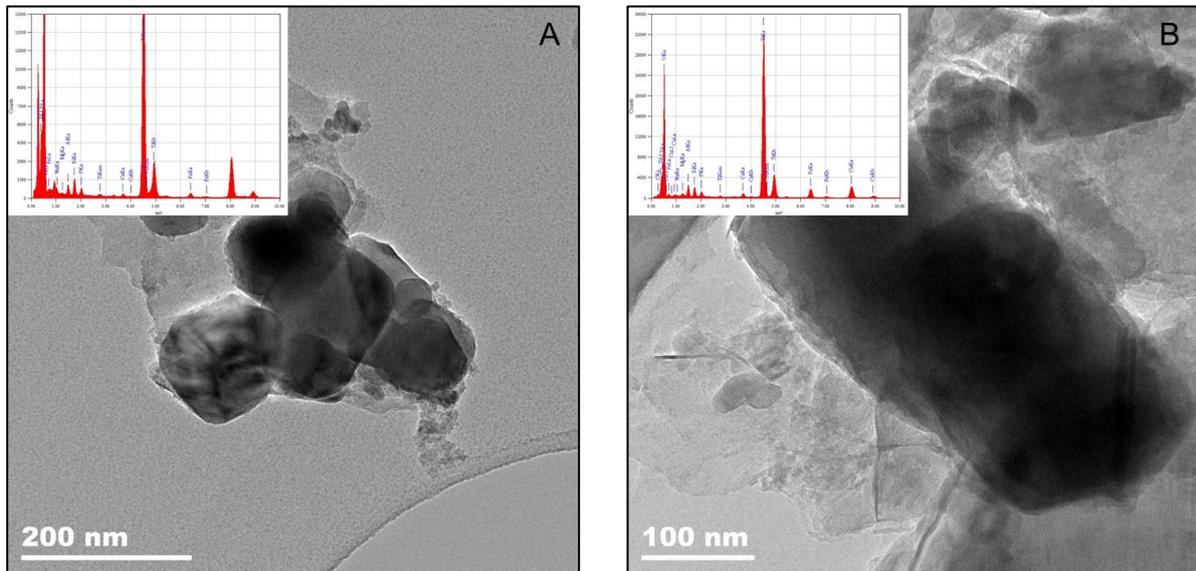


Figure 30 : Micrographies et analyses EDS de particules de titane naturel trouvées dans les sédiments : fractions 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm à la confluence (B)

Cependant, des agrégats de nanoparticules sont également observés dans toutes les fractions du canal et uniquement dans la fraction 20 - 2 μm de la confluence. Ces agrégats ont des tailles qui varient de quelques centaines de nanomètres jusqu'à atteindre plus d'un micron (*Fig. 31*).

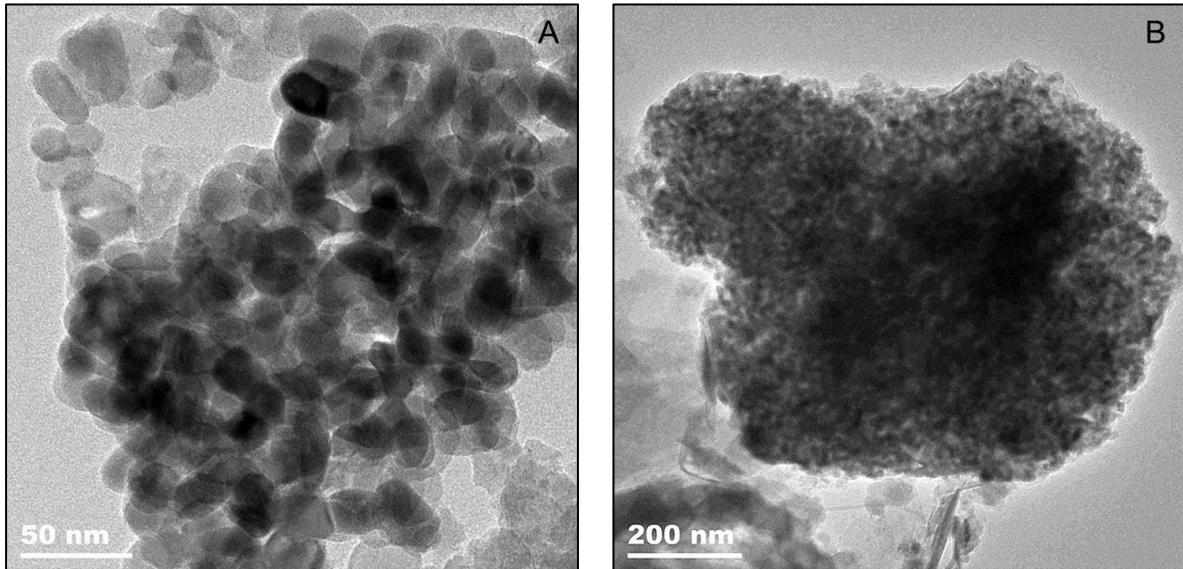


Figure 31 : Micrographies d'agrégats de nanoparticules de titane détectés dans les sédiments : fraction 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm à la confluence (B)

La figure 32 permet de visualiser les nanoparticules de titane qui composent ces agrégats. Elles sont ovales et ont des tailles comprises entre 10 et 30 nm (mesures réalisées sur 19 particules).

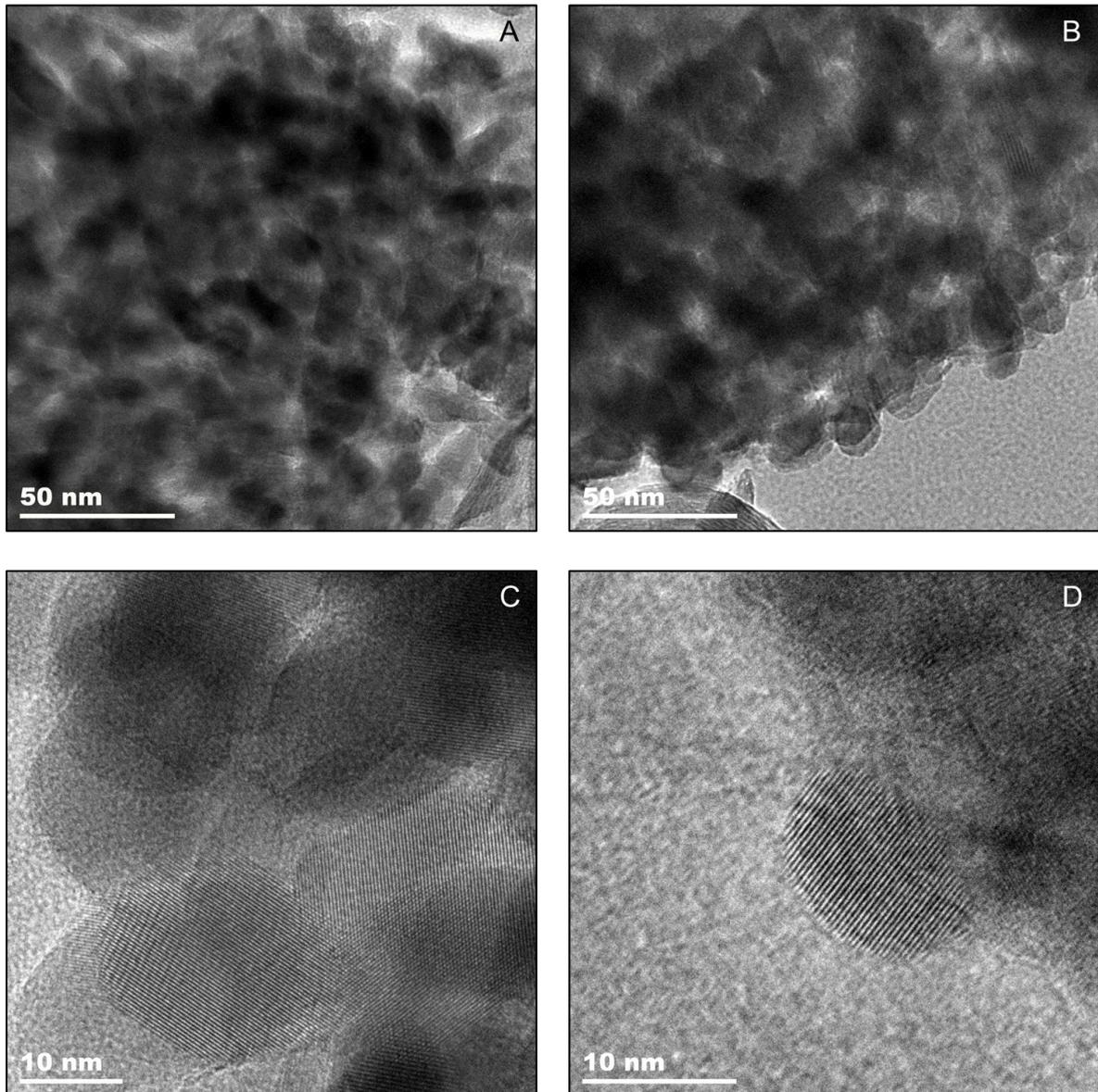


Figure 32 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées dans les fractions de sédiments 50 - 20 μm du canal (A et C) et 20 - 2 μm en confluence (B et D)

Les micrographies prises en haute résolution permettent de visualiser les plans interatomiques du réseau cristallographique des nanoparticules (Fig. 32 C et D) et de calculer les distances inter-réticulaires. L'étude de 9 nanoparticules différentes en haute résolution montre que la moyenne de cette distance inter-réticulaire est de 3,54 Å, pour une valeur théorique de 3,52 Å pour l'anatase (ICDD 21-1272).

L'analyse des clichés de diffraction des électrons (*Fig. 33*) obtenus sur les particules de la figure 32 A et B permet de confirmer que ce sont des particules d'anatase, avec l'obtention des raies hkl aux mêmes positions que celles présentées dans la littérature (ICDD 21-1272) et celles des deux spectres de diffraction des rayons X des NPs TiO₂ produites par le site (*Annexe 3*).

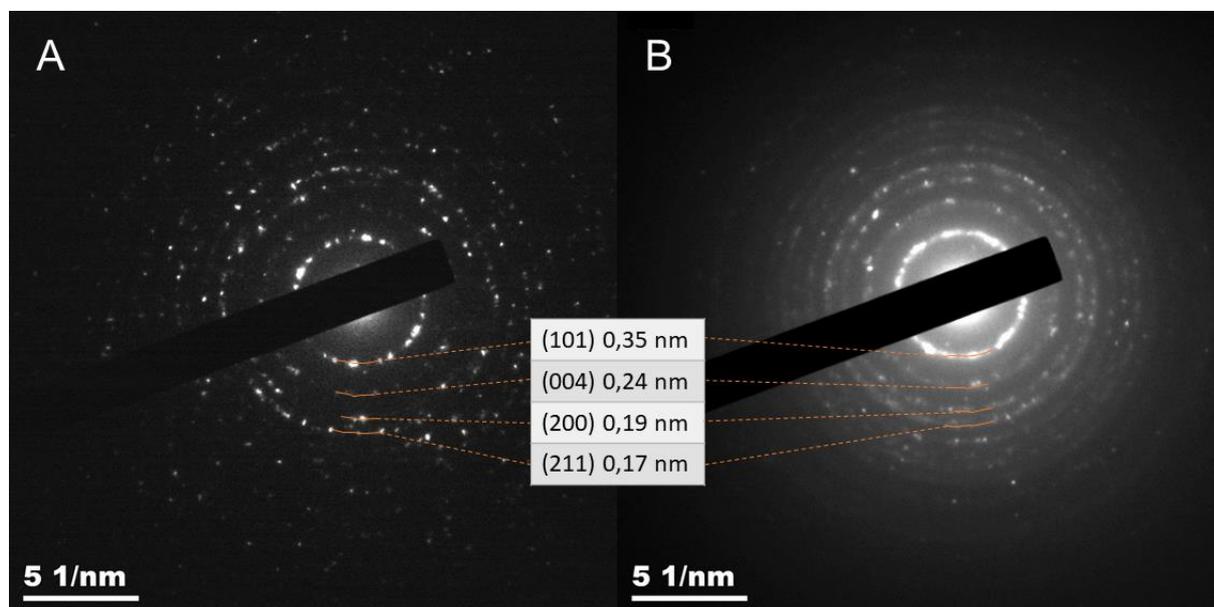


Figure 33 : Clichés de diffraction des électrons de nanoparticules de titane détectées dans les fractions de sédiments 50 - 20 μm du canal (A) et 20 - 2 μm en confluence (B)

Dans certains échantillons, la matière organique qui englobe les nanoparticules est abondante, ce qui a rendu difficile la prise de clichés en haute résolution (*Fig. 34*). En effet, sous le faisceau d'électrons, la matière organique « brûle » ce qui fait bouger les objets et rend les images floues. Les fractions 20 - 2 μm et < 2 μm du canal sont particulièrement concernées puisqu'elles contiennent respectivement 19 et 16 % de matière organique (*Annexe 4*).

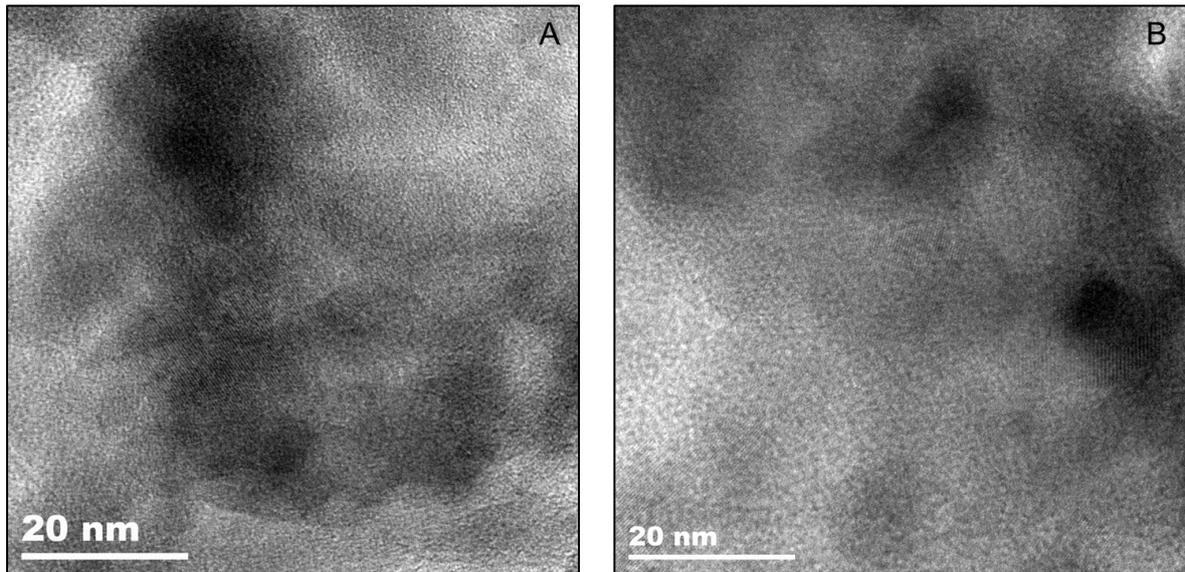


Figure 34 : Micrographies de nanoparticules de titane engluées dans de la matière organique pour les fractions 20 - 2 μm (A) et < 2 μm (B) des sédiments du canal

Ces résultats indiquent que des NPs TiO_2 BSS en provenance du site de production ont été retrouvées dans les fractions des sédiments canal et confluence. Si on compare les résultats obtenus en DRX et en MET, il est à noter que des NPs TiO_2 ont été détectées au MET pour chaque fraction où la DRX a mis en évidence de l'anatase, sauf dans la fraction 50 - 20 μm de la confluence. Cette exception peut s'expliquer par le fait que les NPs TiO_2 sont agrégées et ne sont donc pas réparties de manière homogène dans les sédiments. Il est possible que les quelques milligrammes d'échantillon prélevés et analysés au MET n'en contenaient pas même si l'échantillon global en contenait.

1.4. Comportement des NPs TiO₂ manufacturées dans l'eau et les sédiments

Les NPs TiO₂ BSS et HSS du site de production sont retrouvées dans l'effluent industriel au point T sous forme exclusivement homoagrégées avec des agrégats d'environ 200 nm. Cette forte homoagrégation peut s'expliquer par le pH de l'effluent compris entre 7,30 et 7,54. En effet, Loosli *et al.* 2014 ont observé des phénomènes d'homoagrégation importants lorsque le pH est compris entre 5 et 7,7 pour des NPs TiO₂ avec un PZC de 6,2. Lorsque le PZC des nanoparticules passe à 6,4 (cas des NPs BSS et HSS étudiées dans ce travail), les phénomènes d'agrégation seront prépondérants jusqu'à un pH de 8 environ. De plus, la présence de cations monovalents ou divalents dans le milieu comme le calcium, le magnésium ou encore le sodium, contribue également à l'homoagrégation des NPs TiO₂ (Adam *et al.* 2016 ; Bundschuh *et al.* 2018).

Ces NPs TiO₂ sont ensuite rejetées dans le canal usinier et restent sous forme homoagrégées où la taille des agrégats peut atteindre 800 nm. Certains de ces agrégats vont se déposer dans les sédiments du canal en s'associant aux fractions < 50 µm. Une autre partie de ces nanoparticules reste en suspension dans l'eau et va être transportée jusque dans les eaux de la rivière de la Thur. A la confluence et en aval, les forces ioniques élevées renforcent les processus d'agrégation (French *et al.* 2009 ; Zhu *et al.* 2014 ; Ottofuelling *et al.* 2011 ; Liu *et al.* 2013) et engendrent ainsi des agrégats qui peuvent atteindre des tailles de plusieurs µm.

Le canal usinier est à la fois une zone d'accumulation des NPs TiO₂ dans ses sédiments, mais aussi une voie de transfert de ces nanoparticules vers les eaux de la Thur. Cependant, le piégeage des NPs TiO₂ dans les sédiments n'est pas définitif, puisqu'en cas de débit important dans le canal, elles peuvent être remises en suspension dans la colonne d'eau.

2. Etude sur les sols

2.1. Concentrations en titane dans les échantillons de sols totaux de surface et en profondeur

Les concentrations en titane total obtenues par ICP-AES des sols de surface (0 - 20 cm) sur les trois campagnes présentent des résultats variables suivant les points d'échantillonnage (*Fig. 35*).

En amont, la concentration en titane total dans le sol atteint une moyenne de 3 000 mg/kg (*Annexe 7*). Cette valeur est en adéquation avec la concentration massique en titane dans la croûte continentale de surface qui est de 0,30 % (Taylor *et al.* 1995).

Le point Vignes présente une concentration en titane similaire à celle obtenue en amont, contrairement au point Rivière dont la concentration est 2 à 3 fois plus importante.

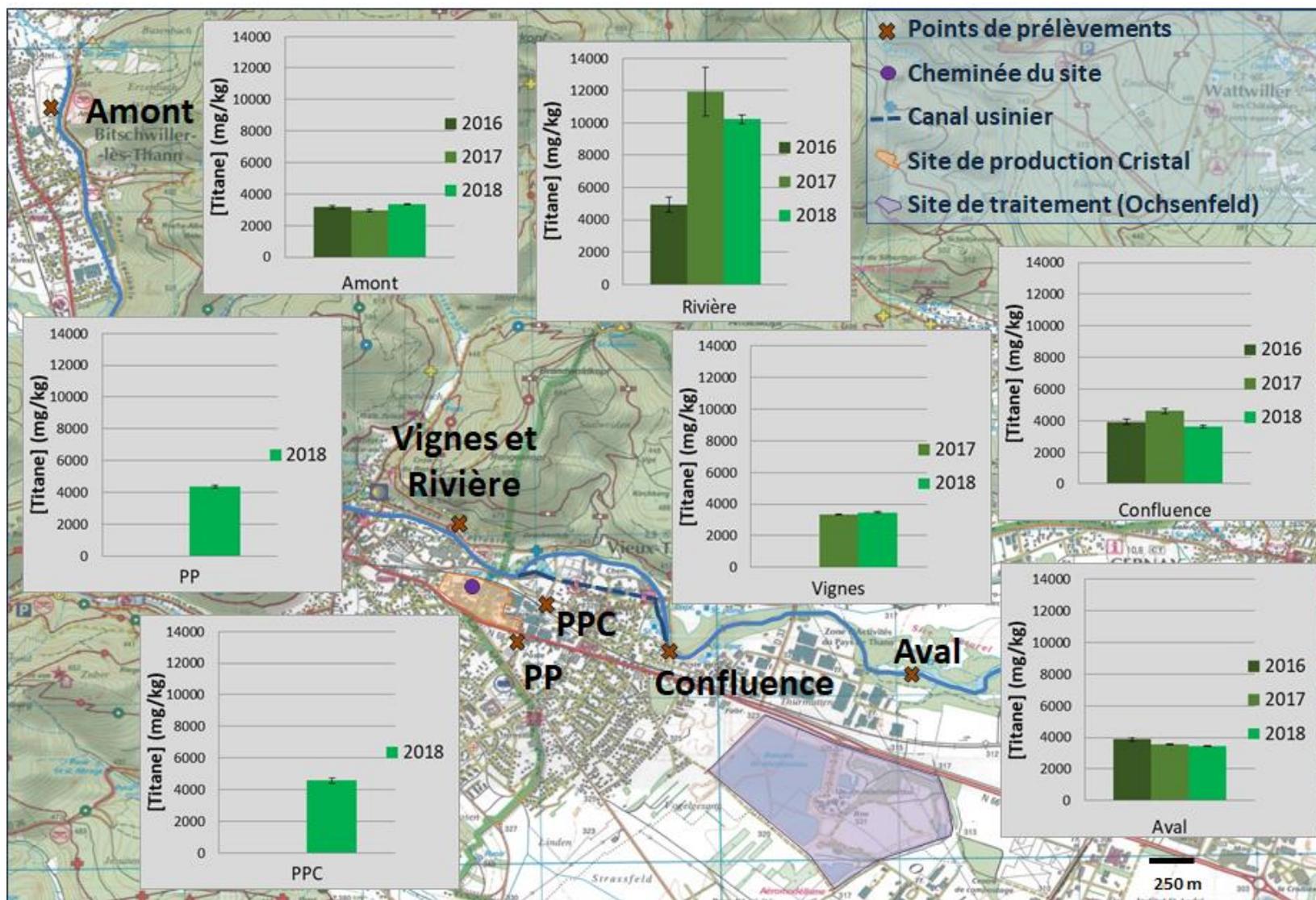


Figure 35 : Concentrations en titane dans les sols

Les deux points de prélèvements étant séparés de seulement quelques mètres l'un de l'autre (*Fig. 36*), il est possible de conclure que le titane au point Rivière ne provient pas des émissions atmosphériques rejetées par la cheminée de l'usine mais du sol lui-même.

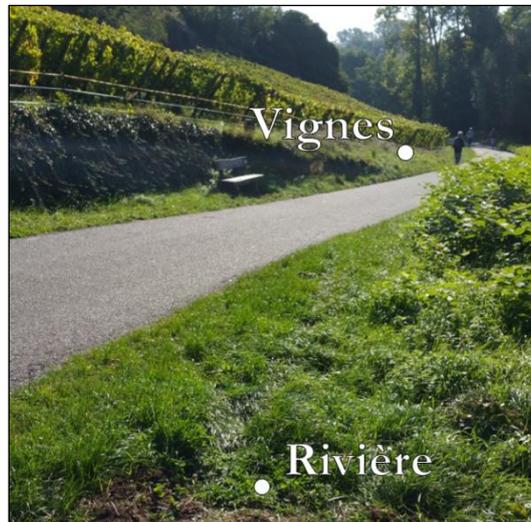


Figure 36 : Localisation des points de prélèvements Vignes et Rivière

En effet, ce sol a sûrement été remanié durant la construction du chemin viticole. Lors du prélèvement de ce sol, situé entre le chemin viticole et la rivière, nous avons constaté la présence de matériaux de construction (morceaux de brique, débris de gravats) qui contiennent potentiellement de fortes teneurs en titane.

Les points PP, PPC et Confluence présentent une concentration en titane total d'environ 1,5 fois supérieure à celle obtenue en amont. Il est possible que les vents majoritaires transportent des NPs TiO_2 émises par la cheminée et que ces particules retombent au sol par dépôt sec ou humide (précipitations).

Enfin, le point Aval a une concentration en titane supérieure d'un facteur 1,2 par rapport à celle de l'amont. La différence entre l'aval et l'amont peut provenir d'un apport de titane par les émissions de l'usine apportées par les vents majoritaires, de manière similaire aux trois points de prélèvements précédents. Une autre hypothèse est envisageable ; ces deux points étant distants de 6 km, leur teneur en titane naturel n'est pas tout à fait similaire.

Les horizons pédologiques des sols en amont, en aval et au point PPC ont également été analysés par ICP-AES (*Annexe 8*). L'objectif était, dans un premier temps, d'étudier comment le titane se répartissait de la surface jusqu'en profondeur dans le sol Amont et, dans un second

temps, de comparer cette référence aux autres points de prélèvements dont la surface est plus concentrée en titane (PPC et Aval).

En amont, les concentrations en titane jusqu'à 40 cm de profondeur sont d'environ 3200 mg/kg (Fig. 37). Une augmentation est observée pour les deux horizons 40-60 cm et 60-75 cm avec des concentrations, respectivement, d'environ 3600 et 3500 mg/kg.

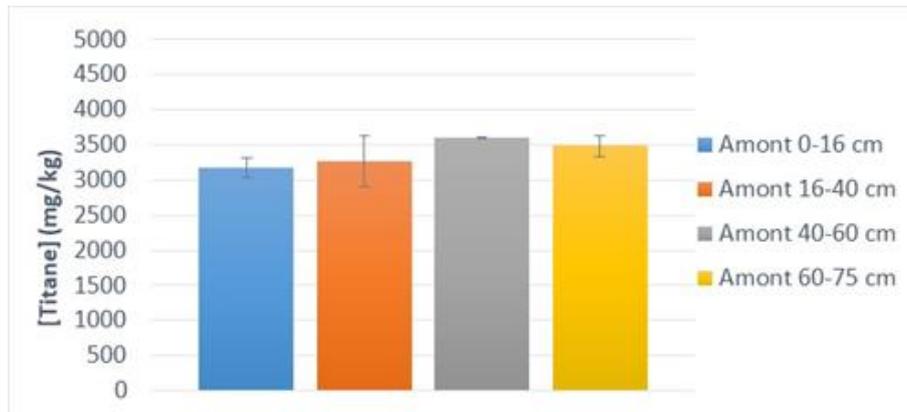


Figure 37 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point Amont

Pour le point PPC, la dureté du sol ainsi que la présence de nombreux éléments grossiers n'ont pas permis de prélever au-delà de 30 cm. L'horizon de surface (0-7 cm) présente la concentration la plus élevée en titane avec une valeur à 5052 mg/kg (Fig. 38). Les horizons de 7 à 30 cm ont toutes des teneurs en titane inférieures (5 à 14 %), dont la valeur la plus faible est observée pour l'horizon 22-30 cm (4334 mg/kg). Le titane semble rester dans les 20 premiers centimètres du sol.

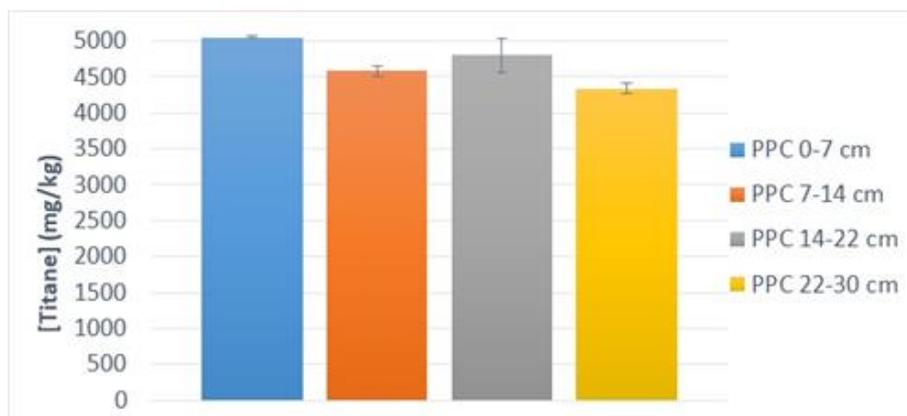


Figure 38 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point PPC

Au point Aval, la concentration en titane la plus élevée est observée pour l'horizon de surface (0-28 cm) avec une valeur d'environ 3900 mg/kg (Fig. 39). Les horizons plus profonds présentent tous une teneur en Ti inférieure au sol de surface (3 à 13 %), dont les valeurs les plus faibles sont attribuées aux horizons 40-60 cm (3392 mg/kg) et 60-80 cm (3416 mg/kg). Le titane semble à nouveau s'accumuler à la surface du sol et ne pas migrer en profondeur.

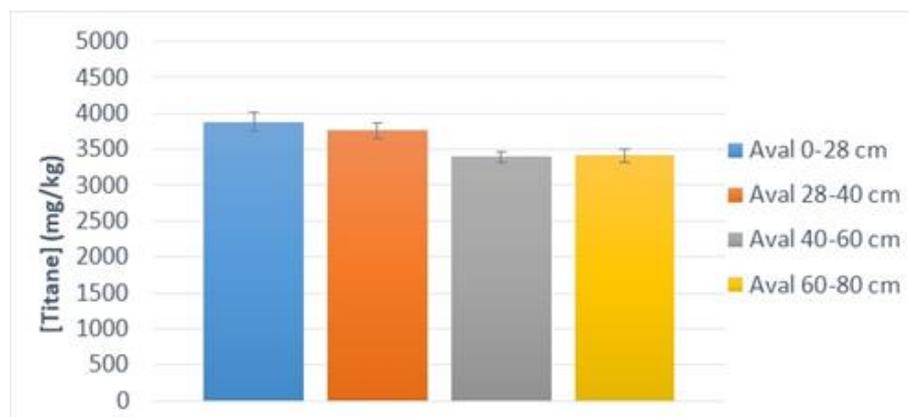


Figure 39 : Concentrations en titane dans les horizons de sols au point Aval

Les résultats obtenus précédemment (analyse des sols de surface et des horizons pédologiques) ne nous permettant pas d'affirmer ou d'infirmer la présence de NPs TiO_2 manufacturées dans le sol, des études plus approfondies ont donc été menées. Un fractionnement d'échantillons de sol de surface de 2017 a donc été effectué et les fractions ont été analysées par ICP-AES, DRX et MET. L'objectif est de voir si des NPs TiO_2 peuvent être mises en évidence par MET dans des fractions de sol riches en titane total. Si tel est le cas, il s'agit d'identifier dans quelle(s) fraction(s) granulométrique(s) elles se concentrent et avec quelle(s) phase(s) minéralogique(s) elles s'associent.

2.2. Analyses des fractions des sols

La séparation de chaque fraction a permis de déterminer leur pourcentage en masse dans le sol total (Tab. 13).

Tableau 13 : Pourcentage massique (%) des fractions granulométriques dans les sols totaux

	2 mm - 200 μm	200 - 50 μm	50 - 20 μm	20 - 2 μm	< 2 μm
Amont	63,1	19,9	5,7	7,0	4,3
Vignes	40,8	16,8	13,4	19,5	9,5
Rivière	35,5	18,2	14,9	15,1	16,3
Confluence	38,6	15,2	9,7	14,9	21,6
Aval	14,4	3,1	37,4	32,6	12,5

La fraction sableuse 2 mm - 200 μm est la plus abondante dans tous les sols, à l'exception du sol Aval, avec des teneurs comprises entre 35,5 et 63,1 %. Pour ce dernier, c'est la fraction fine 50 - 20 μm qui est majoritaire avec une concentration massique de 37,4 %.

2.2.1. Texture, teneurs en eau, en matière organique et en carbone inorganique des fractions de sol

La texture des sols de la zone d'étude peut être déterminée en calculant le pourcentage de sables (fractions de 2 mm à 50 μm), de limons (fractions de 50 μm à 2 μm) et d'argiles (fraction < à 2 μm) et en utilisant le diagramme triangulaire de la texture des sols - (Tab. 14 et Fig. 40).

Tableau 14 : Pourcentage massique (%) des sables, limons et argiles dans les sols totaux et détermination de leur texture

Echantillons	Sables (%)	Limons (%)	Argiles (%)	Texture
Amont	83,0	12,8	4,3	Sablo-limoneux
Vignes	57,5	32,9	9,5	Limono-sableux
Rivière	53,7	30,0	16,3	Limono-sableux
Confluence	53,8	24,6	21,6	Limono argilo-sableux
Aval	17,5	70,0	12,5	Limoneux fin

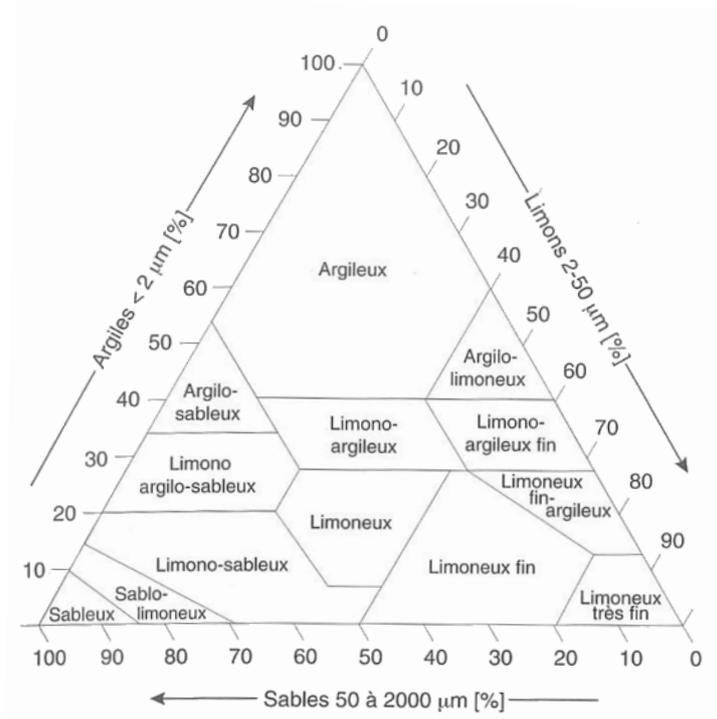


Figure 40 : Diagramme triangulaire des textures du sol (Gobat et al. 2010)

Les sols ont des textures variables. L'amont présente un sol sablo-limoneux avec plus de 80 % de sables. Les sols Vignes et Rivière sont des limono-sableux, avec un pourcentage de sable d'environ 54 % et une forte teneur en limon d'environ 30 %. La texture du sol Confluence est également proche des sols Vignes et Rivière mais présente une composition en argile plus importante, qui est supérieure à 20 %. Enfin, le sol en aval a une texture significativement différente et se constitue majoritairement de limons à une teneur de 70 %.

Dans les fractions 2 mm à 2 µm des sols Amont, Vignes et Confluence, la teneur en eau est d'environ 0 à 2 % (Annexe 9). La fraction argileuse de ces échantillons est cependant plus humide avec une valeur de 6 à 8 %. Dans le sol Rivière, les fractions 2 mm à 20 µm contiennent moins d'un pourcent d'eau, alors que les deux fractions plus fines sont plus humides avec une teneur en eau de 10 à 15 %. Enfin en aval, toutes les fractions ont une teneur en eau similaire qui varie peu (0 à 2 %).

La matière organique dans le sol Amont est abondante dans les trois fractions les plus fines avec des concentrations comprises entre 20 et 24 % (Annexe 9). Aux points Vignes, Rivière et Confluence, ce sont les deux fractions les plus fines qui sont les plus riches en matière organique avec des concentrations qui varient de 14 à 27 %. En aval, la matière organique se concentre dans les fractions 200 - 50 µm (9 %) et < 2 µm (21 %).

Enfin, toutes les fractions présentent une teneur en carbone inorganique similaire comprise entre 1 et 5 %, à l'exception de la fraction argileuse du sol Rivière qui atteint une valeur d'environ 15 % (*Annexe 9*).

2.2.2. Répartition du titane dans les différentes fractions de sols

Les concentrations en titane déterminées par ICP-AES sont très variables d'une fraction à une autre et d'un échantillon à l'autre (*Tab. 15* et *Annexe 10*).

Tableau 15 : Moyennes sur 3 triplicats des concentrations en titane (mg/kg) des fractions granulométriques dans les sols

Ti (mg/kg)	2 mm - 200 μm	200 - 50 μm	50 - 20 μm	20 - 2 μm	< 2 μm
Amont	2108	3030	4335	4628	804
Vignes	2340	2520	4454	4832	2370
Rivière	6072	35972	7940	254	1128
Confluence	3038	5986	5580	6330	3135
Aval	1962	1694	2458	4664	3327

En amont, les fractions sableuses contiennent de 2100 à 3000 mg/kg de titane, alors que les fractions limoneuses sont plus concentrées avec des valeurs entre 4300 et 4600 mg/kg. La fraction argileuse a une concentration de 2,5 à 6 fois moins importante que les autres fractions, avec une valeur d'environ 800 mg/kg.

Au point Vignes, toutes les fractions ont des concentrations en titane similaires à celles du point Amont, à l'exception de la fraction argileuse < 2 μ m qui contient une teneur trois fois supérieure (2370 mg/kg). Ceci peut suggérer un apport de NPs TiO₂ portées par les vents minoritaires qui se seraient préférentiellement accumulées dans cette fraction fine.

Le sol Rivière a des concentrations en titane très variables d'une fraction à une autre, avec au minimum une concentration de 254 mg/kg pour la fraction limoneuse 20 - 2 μ m, jusqu'à un maximum d'environ 36 000 mg/kg de titane dans la fraction sableuse 200 - 50 μ m. Ce sol présente un profil très particulier, différent du sol Amont de référence. Ces résultats permettent de confirmer que ce sol anthropique a été remanié lors de la mise en place du chemin viticole.

En confluence, les fractions les plus pauvres en titane sont les fractions 2 mm - 200 μm et < 2 μm avec une concentration d'environ 3000 mg/kg. Les trois fractions de 200 à 2 μm sont deux fois plus concentrées avec des valeurs comprises entre 5580 et 6330 mg/kg. Toutes les fractions contiennent systématiquement plus de titane que celles en amont : un apport en NPs TiO_2 par les vents majoritaires est envisageable avec cette fois-ci des nanoparticules qui se seraient distribuées sur plusieurs fractions.

Enfin en aval, les concentrations en titane des différentes fractions varient de 1700 mg/kg pour la fraction 200 - 50 μm , à 4700 mg/kg pour la fraction 20 - 2 μm . Si on compare les concentrations fraction par fraction par rapport à celles obtenues en amont, il est possible de constater que seule la fraction < 2 μm est plus concentrée (3327 mg/kg contre 804 mg/kg), ce qui peut traduire un apport direct de NPs TiO_2 depuis la cheminée de l'usine par les vents majoritaires. Cependant, compte tenu de son éloignement du site de production et de sa texture différente de celle du sol en amont, ce sol peut aussi présenter une teneur en titane naturelle différente dans la fraction fine par rapport au sol de référence.

Afin d'interpréter au mieux ces résultats, la répartition du titane dans les fractions granulométriques des sols est représentée en considérant la part en masse d'une fraction (*Tab. 13*) affectée de sa concentration en titane (*Tab. 15*).

Au point Amont, 76 % du titane se situe dans les fractions sableuses, contre 23 % dans les limons et seulement 1 % dans les argiles (*Fig. 41*).

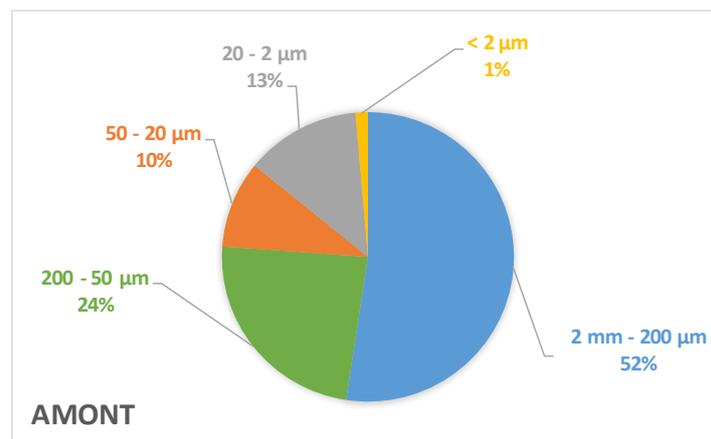


Figure 41 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol en amont

Cela signifie que le titane naturel du fond géochimique se concentre principalement dans les fractions grossières et plus particulièrement dans la fraction 2 mm - 200 μm (52 %).

Au point Vignes, le titane semble mieux se répartir entre toutes les fractions (Fig. 42).

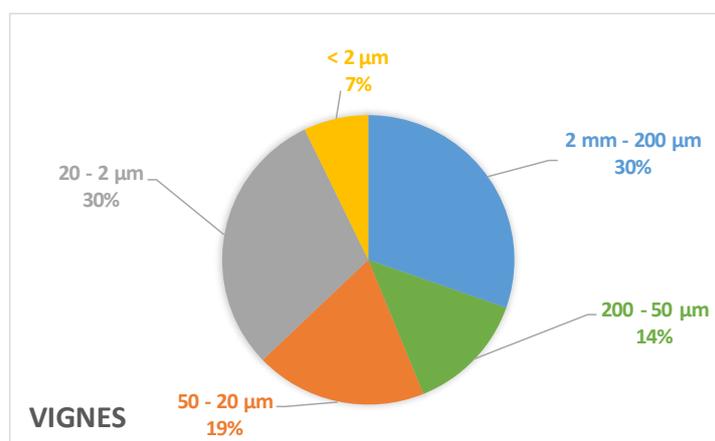


Figure 42 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol au point Vignes

Une abondance plus importante est observée dans les fractions fines < 50 µm (56 %) comparé au point Amont (24 %), ce qui contribue à diminuer la part de titane des fractions sableuses qui est de 44 %. La teneur en titane dans la fraction argileuse < 2 µm reste cependant faible avec une valeur de seulement 7 %, qui toutefois est 7 fois supérieure à celle obtenue en amont : ceci renforce l'hypothèse d'un apport de nanoparticules en provenance du site de production.

Bien que les sols Vignes et Rivière aient une texture identique (limono-sableuse) et se situent à quelques mètres l'un de l'autre, leur profil de répartition du titane est très différent (Fig. 43).

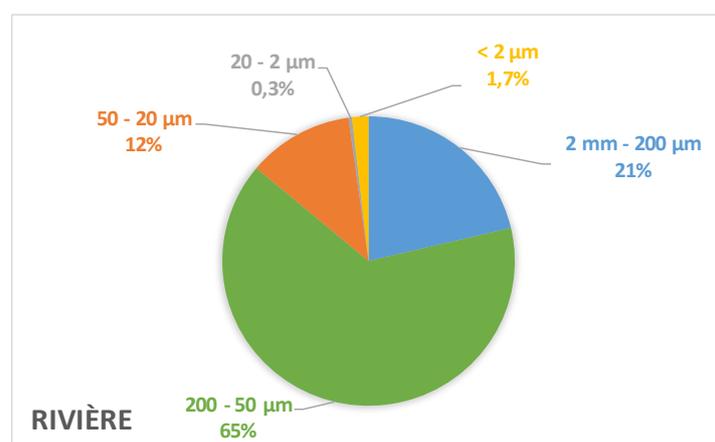


Figure 43 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol au point Rivière

En effet, le titane est présent à 86 % dans les fractions sableuses du sol près de la rivière et la fraction 200 - 50 µm concentre à elle seule 65 % du titane de l'échantillon. Compte tenu de la nature anthropique du sol Rivière, il est difficile de déterminer d'après ces résultats si un apport en nanoparticules a eu lieu en provenance de l'usine.

Le sol à la confluence présente un profil de répartition du titane différent du fond géochimique (Fig. 44).

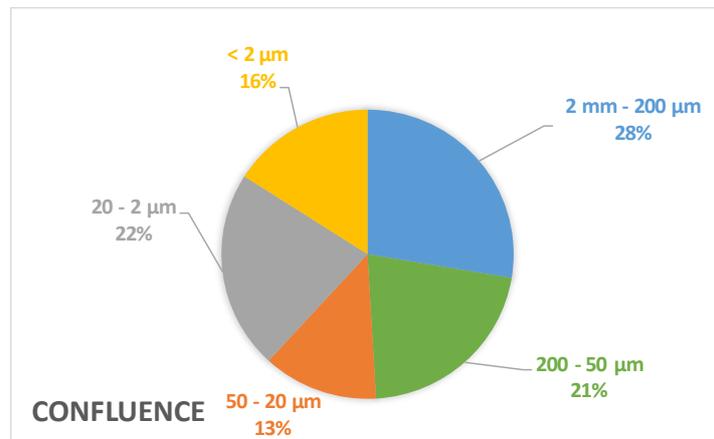


Figure 44 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol à la confluence

Celui-ci se répartit presque équitablement entre toutes les fractions (13 à 28 %). La part du titane dans les fractions < 50 µm passe de 24 % dans le sol Amont, à 51 % dans le sol Confluence. L'abondance du Ti dans ces fractions < 50 µm pourrait traduire un apport en nanoparticules par les vents, qui s'accumuleraient préférentiellement dans ces fractions fines du sol.

Le sol en aval montre un profil de répartition du titane encore différent de tous les autres points d'échantillonnage (Fig. 45).

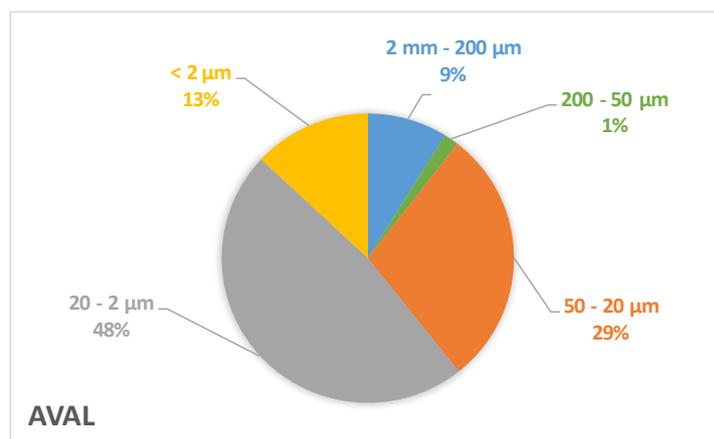


Figure 45 : Répartition du titane total (%) dans les différentes fractions du sol en aval

Le titane est peu abondant dans les fractions sableuses (10 %) alors que les fractions fines concentrent 90 % de cet élément. Cette répartition du Ti est différente du point Amont : cet élément se trouve en majorité dans la fraction 2 mm - 200 µm (52 %) alors qu'en aval c'est la

fraction 20 - 2 μm qui en contient le plus (48 %). Ces résultats peuvent s'expliquer par une texture différente des deux sols (*Tab. 14*) : le point Amont est un sablo-limoneux avec une teneur en sable à 83 % alors que le point Aval est un limoneux fin, composé de 70 % de limons. Une autre explication possible serait que des NPs TiO_2 manufacturées se soient accumulées dans toutes les fractions fines du sol Aval.

2.2.3. Analyses par diffraction des rayons X des fractions granulométriques des sols

La présence de titane nanoparticulaire est suspectée dans différentes fractions de sol ; une analyse en diffraction des rayons X a donc été réalisée dans le but d'identifier les minéraux contenus dans ces échantillons (*Annexe 11*). Les analyses sur le sol Rivière n'ont pas été poursuivies compte tenu de sa nature anthropique.

Dans les fractions comprises entre 2 mm et 2 μm , tous les sols sont composés de plusieurs minéraux notamment du quartz, plusieurs types de feldspaths : albite, microcline et orthoclase et d'amphiboles : arfvedsonite et trémolite. Les fractions argileuses (< 2 μm) sont composées de chlorite, d'illite, de mica, de talc et de kaolinite. Contrairement à l'analyse des fractions des sédiments Canal et Confluence, aucune forme cristalline du dioxyde de titane (anatase et/ou rutile) n'a été détectée. Il est possible que ces fractions n'en contiennent effectivement pas ou que leurs présences soient trop minoritaires pour que l'appareil puisse les détecter.

Les analyses ont ensuite été poursuivies en microscopie électronique en transmission (MET), en prenant en compte les fractions fines (< 50 μm) de l'amont, de la confluence et de l'aval. Dans le cas du point Vignes, seule la fraction argileuse (< 2 μm) a été considérée puisque les concentrations en titane des fractions 2 mm à 2 μm sont identiques à celles du point Amont (*Tab. 15*). L'objectif est de savoir si des NPs TiO_2 manufacturées sont présentes dans les fractions des échantillons de sols et, si c'est le cas, de mettre en évidence au sein de quelles fractions elles s'immobilisent préférentiellement. Les résultats obtenus sont décrits pour chaque point d'échantillonnage.

2.2.4. Analyses par microscopie électronique en transmission des fractions granulométriques des sols

2.2.4.1. Analyses du point Amont

Les micrographies réalisées sur les trois fractions du sol en amont ont permis de mettre en évidence de nombreuses particules de toutes formes, dont les tailles varient de quelques nanomètres à plusieurs micromètres (*Fig. 46*). Les microanalyses élémentaires EDS permettent

d'identifier de nombreux éléments dont les plus abondants sont le silicium et l'aluminium, suivi du fer, du phosphore, du calcium, du magnésium et enfin plus rarement du potassium et du titane.

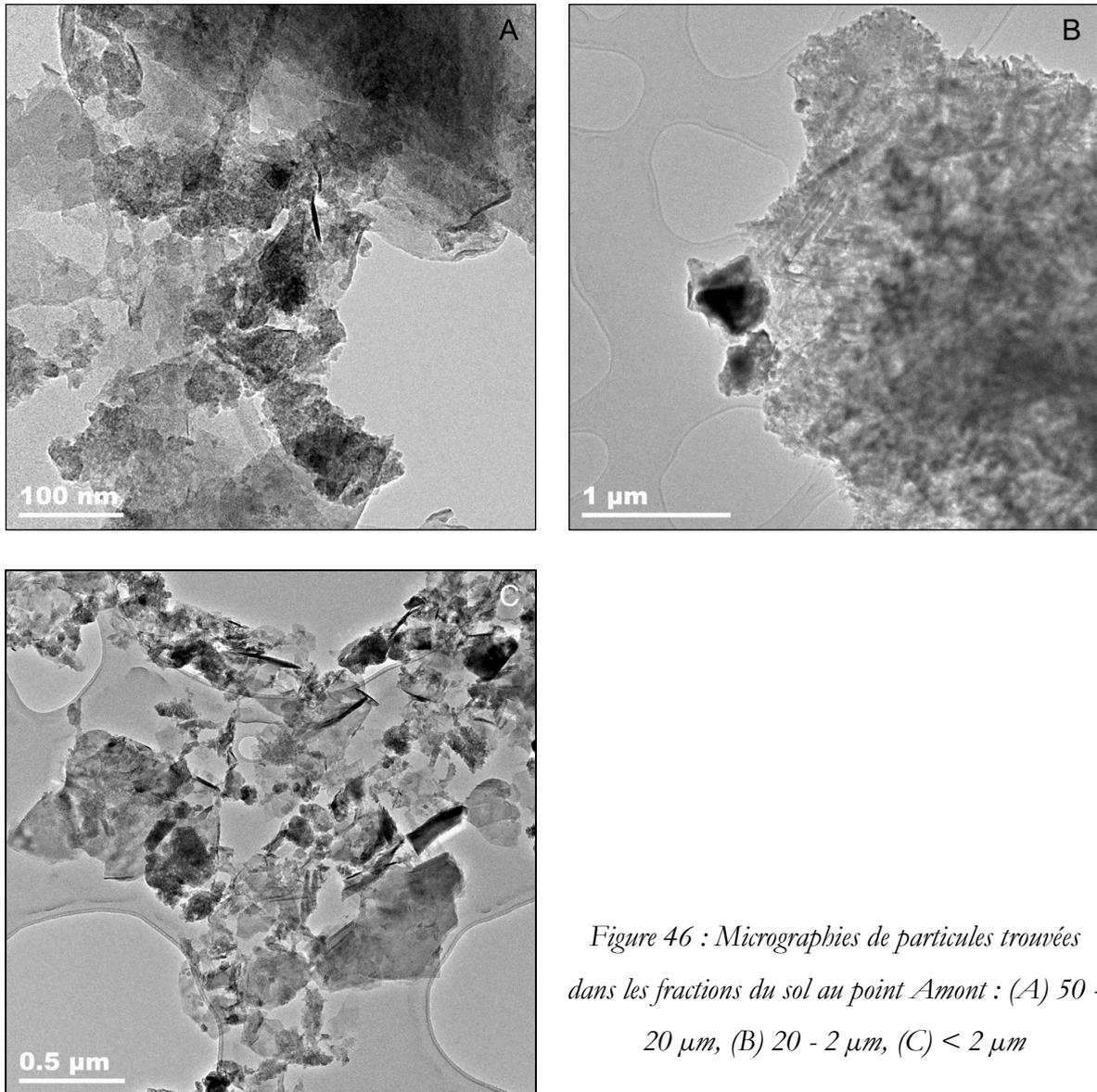


Figure 46 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol au point Amont : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm , (C) < 2 μm

Concernant le titane, une faible quantité est contenue dans les échantillons et se répartie de manière homogène dans les minéraux (Fig. 46 : B). Il peut être notamment présent en substitution du silicium ou de l'aluminium dans le quartz (Leeman *et al.* 2012), les amphiboles (Marks *et al.* 2004) et les argiles comme la chlorite (Wilkinson *et al.* 2015). Quelques minéraux constitués majoritairement de titane ont été détectés dans les fractions 20 - 2 μm et < 2 μm (Fig. 47).

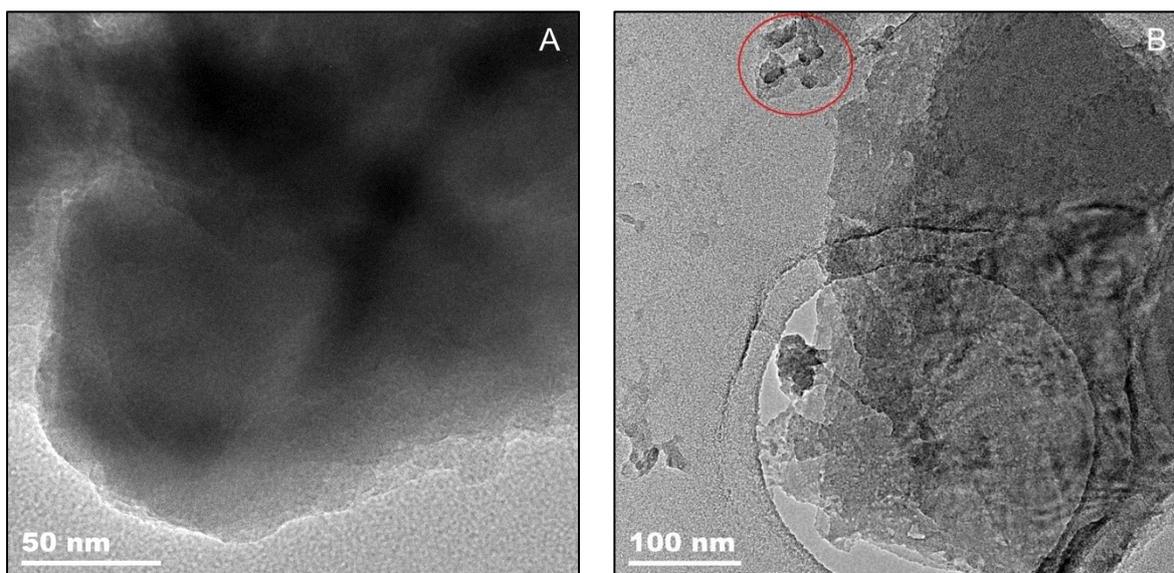


Figure 47 : Micrographies de particules de titane contenues dans des fractions du sol Aumont : (A) 20 - 2 μm et (B) < 2 μm

La fraction 20 - 2 μm contient des particules de TiO_2 (Fig. 47 : A). La fraction argileuse est également composée de titane, mais il n'est pas possible de déterminer avec certitude quelles espèces minérales de Ti sont présentes. La zone entourée en rouge contient d'autres éléments chimiques comme du silicium, du fer ou encore du calcium, susceptibles de s'associer au titane dans la structure de certains minéraux. (Fig. 47 : B). Aucune nanoparticule de dioxyde de titane n'a été identifiée dans les trois fractions.

2.2.4.2. Analyses du point Vignes

De nombreux éléments ont été détectés dans les particules contenues dans la fraction < 2 μm du point Vignes. Le silicium et l'aluminium sont présents de manière abondante dans l'échantillon (Fig. 48 : A), suivi du fer (Fig. 48 : B) et du magnésium. Le potassium et le calcium sont également détectés ainsi que le manganèse qui est présent en faible quantité par rapport aux autres éléments.

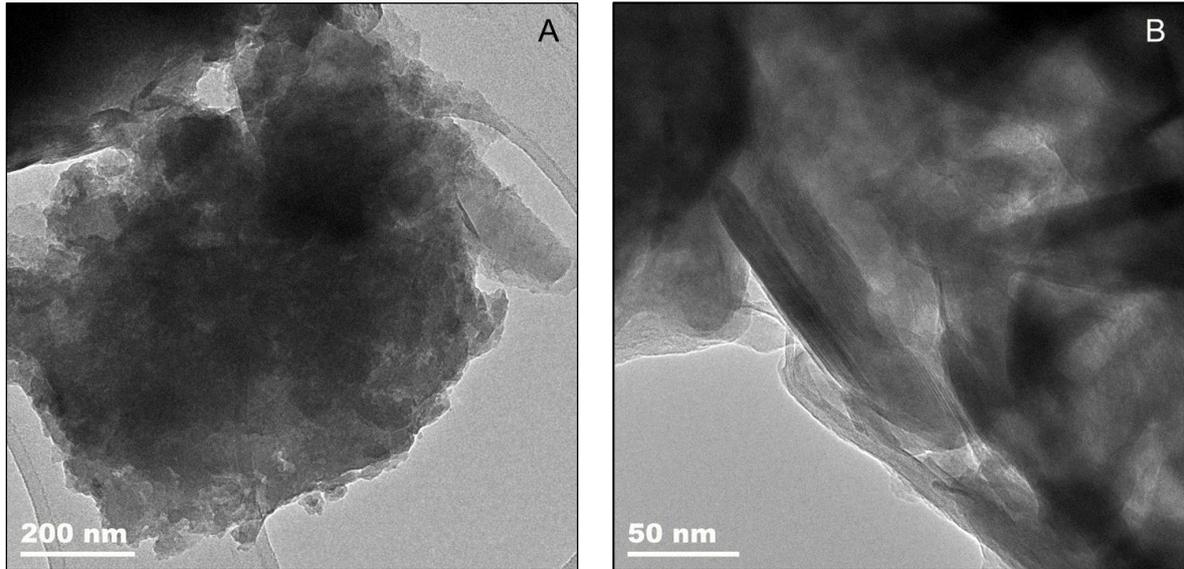


Figure 48 : Micrographies d'un agrégat complet de particules (A) et d'un autre agrégat zoomé (B), trouvé dans la fraction $< 2 \mu\text{m}$ du sol Vignes

Des agrégats de nanoparticules de titane rondes et ovales, de taille comprise entre 5 et 15 nm ont été identifiés (mesures réalisées sur 22 particules). Les micrographies en haute résolution permettent d'observer les plans interatomiques et de calculer les distances inter-réticulaires (Fig. 49).

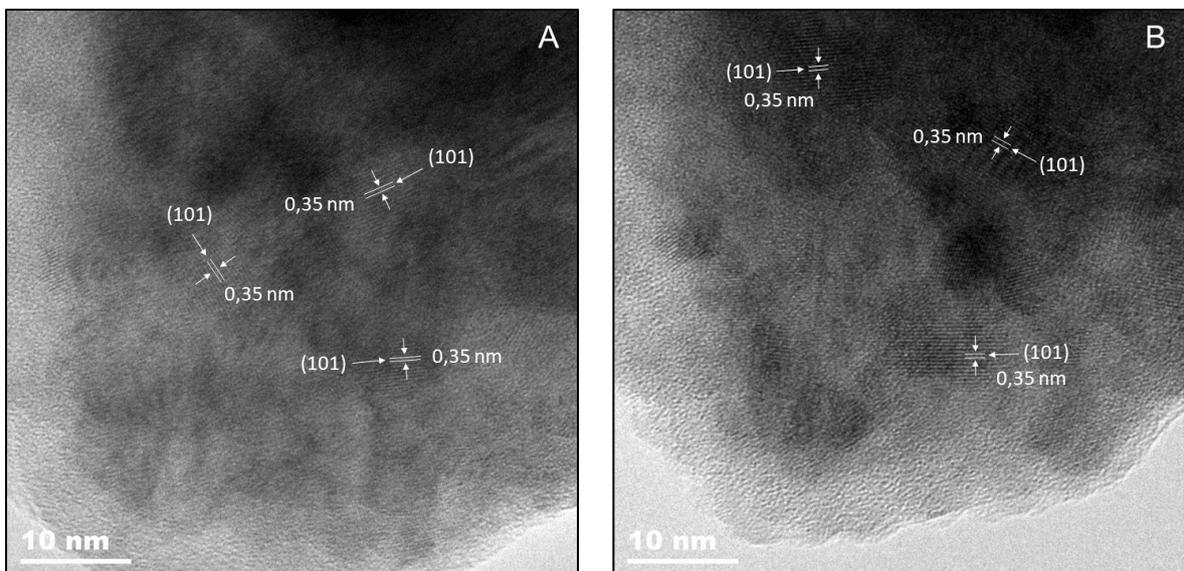


Figure 49 : Micrographies de nanoparticules de titane détectées sur une même zone (A et B) dans la fraction $< 2 \mu\text{m}$ du sol Vignes

Une distance moyenne de 3,5 Å a été calculée sur 6 nanoparticules différentes, pour une valeur théorique de 3,52 Å pour l'anatase (ICDD 21-1272).

Ces nanoparticules sont majoritairement associées à de la matière organique qui est abondante (16 %) dans la fraction < 2 µm du point Vignes (*Annexe 9*), ce qui rend difficile leur visualisation en haute résolution (*Fig. 50*).

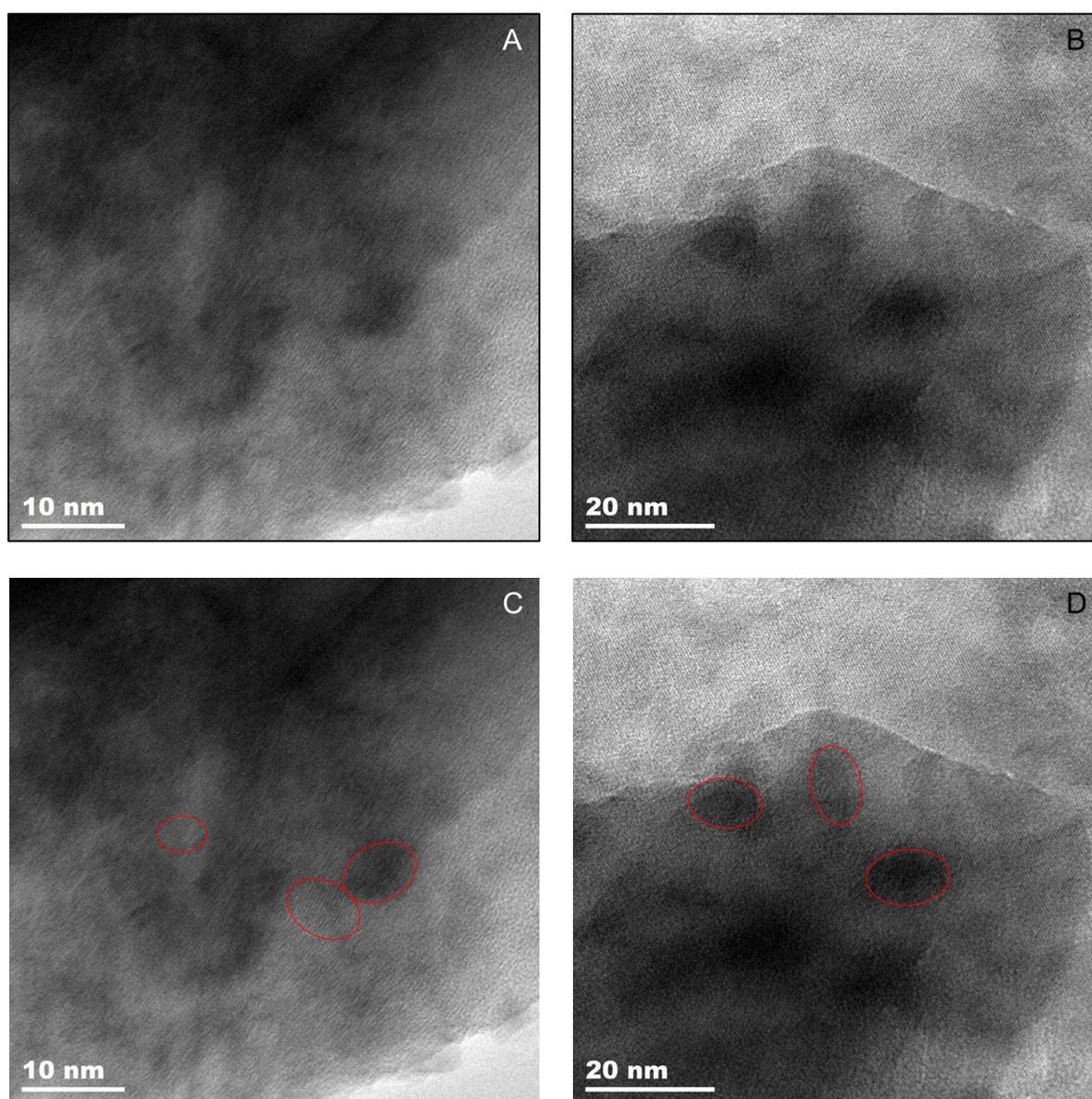


Figure 50 : Micrographies de NPs TiO₂ HSS (A et C) et BSS (B et D) engluées dans la matière organique de la fraction < 2 µm du sol Vignes

Les résultats présentés ci-dessus montrent que des NPs TiO₂ manufacturées HSS et BSS sont présentes dans la fraction argileuse du sol au point Vignes.

2.2.4.3. Analyses du point Confluence

Les trois fractions fines ($50 \mu\text{m}$ à $< 2 \mu\text{m}$) du sol Confluence sont constituées de nombreuses particules qui présentent des formes et des tailles très variables. Elles sont majoritairement composées de silicium, d'aluminium, de fer et de magnésium (Fig. 51 : A) mais contiennent également d'autres éléments comme du potassium, du calcium ou encore du manganèse (Fig. 51 : B et C).

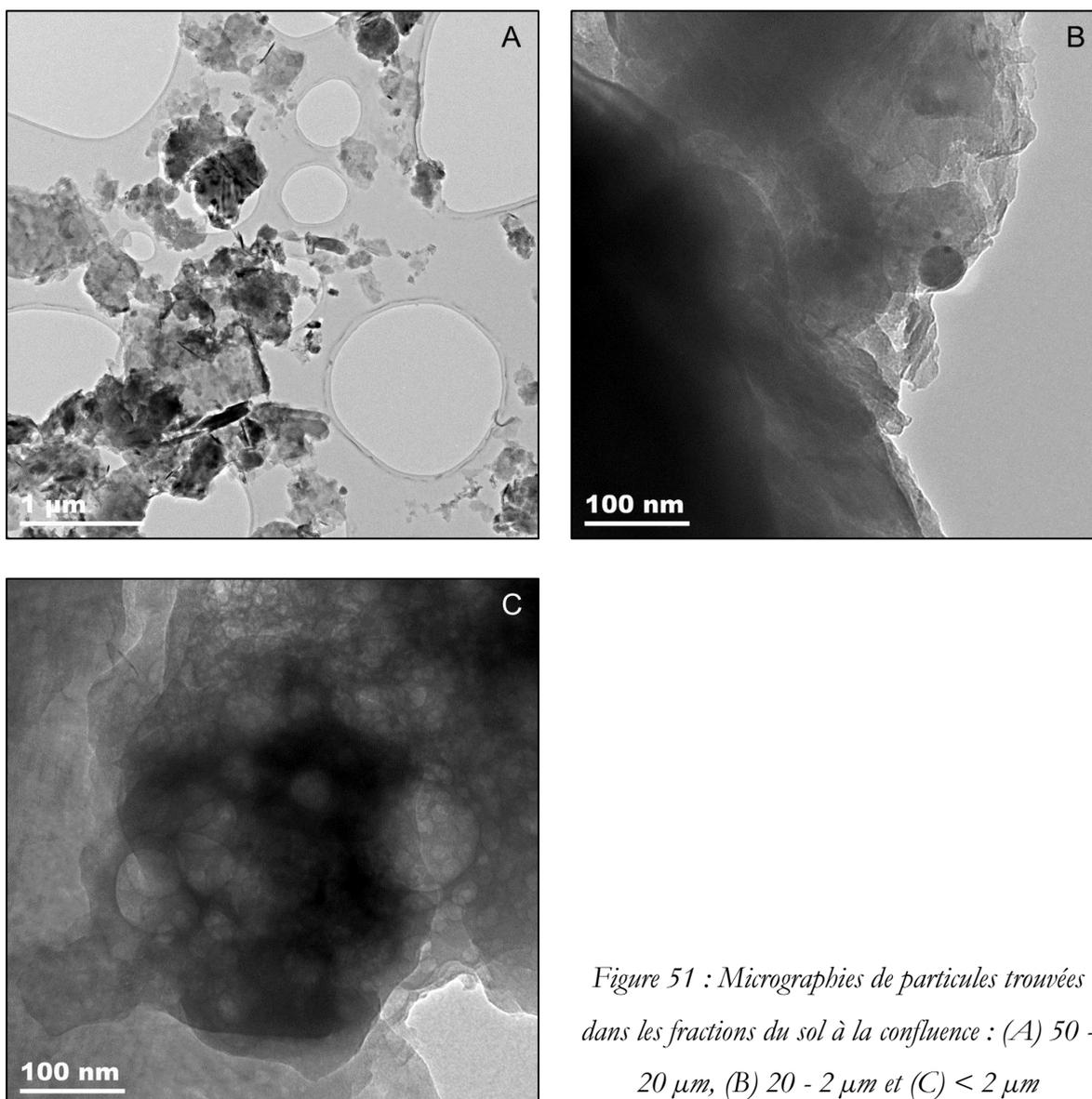


Figure 51 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol à la confluence : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm et (C) $< 2 \mu\text{m}$

Concernant le titane, celui-ci est naturellement présent dans les minéraux des fractions du sol à la confluence (Fig. 52). Une micrographie en haute résolution sur la particule du bas de la figure 52 B a permis de mettre en évidence le plan réticulaire (101) de l'anatase mesuré à exactement $3,52 \text{ \AA}$ (Fig. 52 : C).

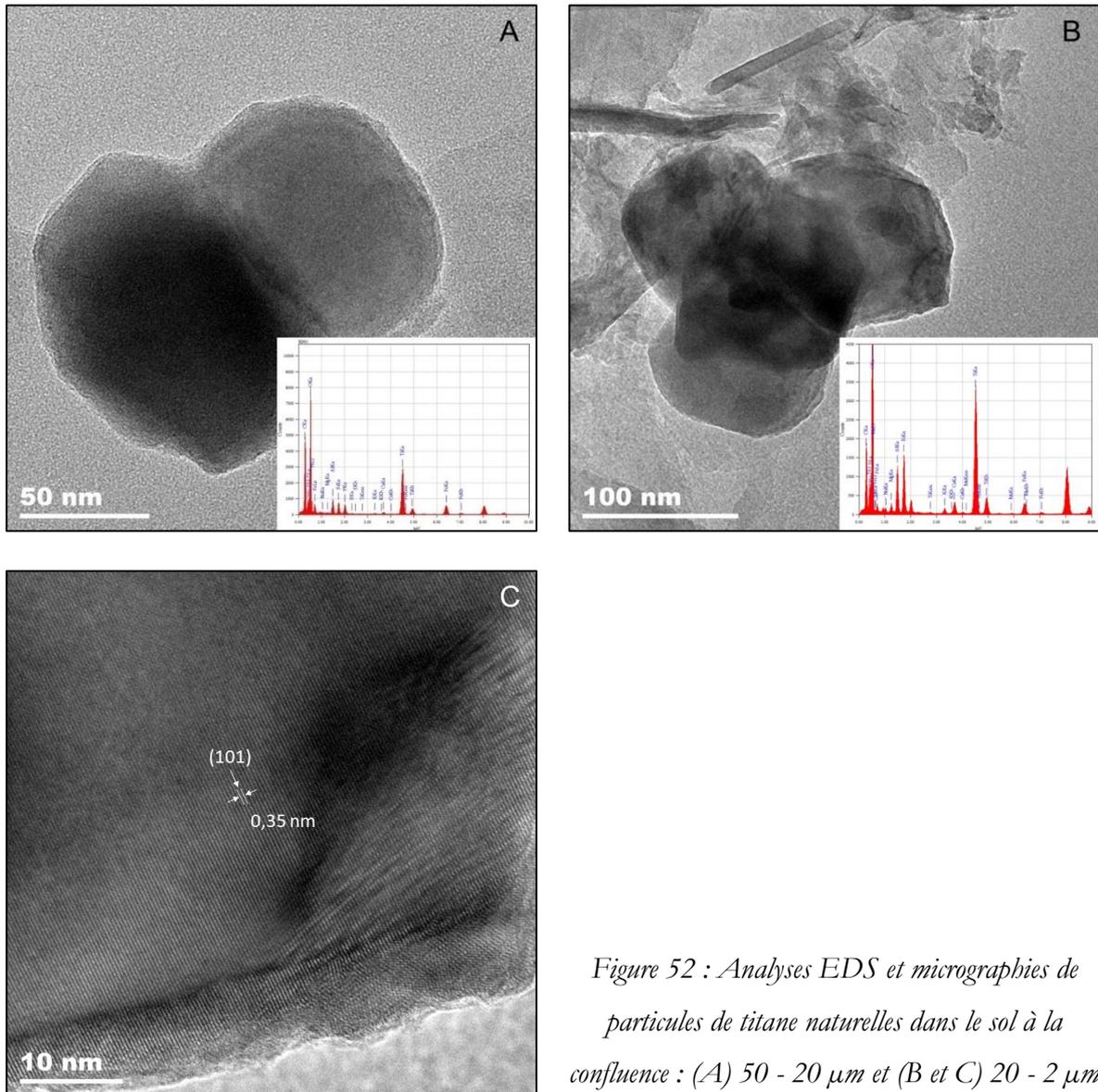


Figure 52 : Analyses EDS et micrographies de particules de titane naturelles dans le sol à la confluence : (A) 50 - 20 μm et (B et C) 20 - 2 μm

Des agrégats de nanoparticules de titane ont également été détectés dans toutes les fractions du sol à la confluence. La figure 53 permet de les visualiser dans la fraction 50 - 20 μm . Ces nanoparticules de titane sont ovales et ont des tailles comprises entre 25 et 40 nm (mesures réalisées sur 14 particules). Des micrographies prises en haute résolution sur l'agrégat de la figure 53 A ont été effectuées dans le but d'observer les plans atomiques (Fig. 53 : B). Une distance inter-réticulaire moyenne de 0,35 nm correspondant à la bande hkl la plus intense de l'anatase a été calculée sur 5 particules.

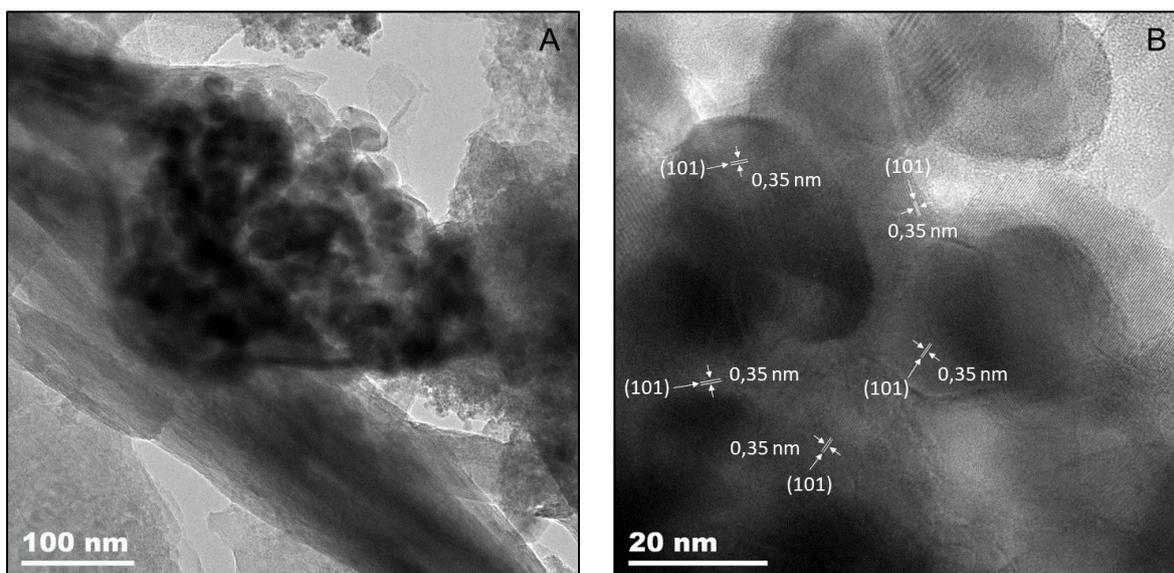


Figure 53 : Micrographies de nanoparticules de titane agrégées (A) et en haute résolution (B) contenues dans la fraction $50\ \mu\text{m} - 20\ \mu\text{m}$ du sol à la confluence

Des agrégats de nanoparticules de titane ont également été détectés (zone entourée en rouge) dans la fraction $20 - 2\ \mu\text{m}$ du sol à la confluence (Fig. 54 : A).

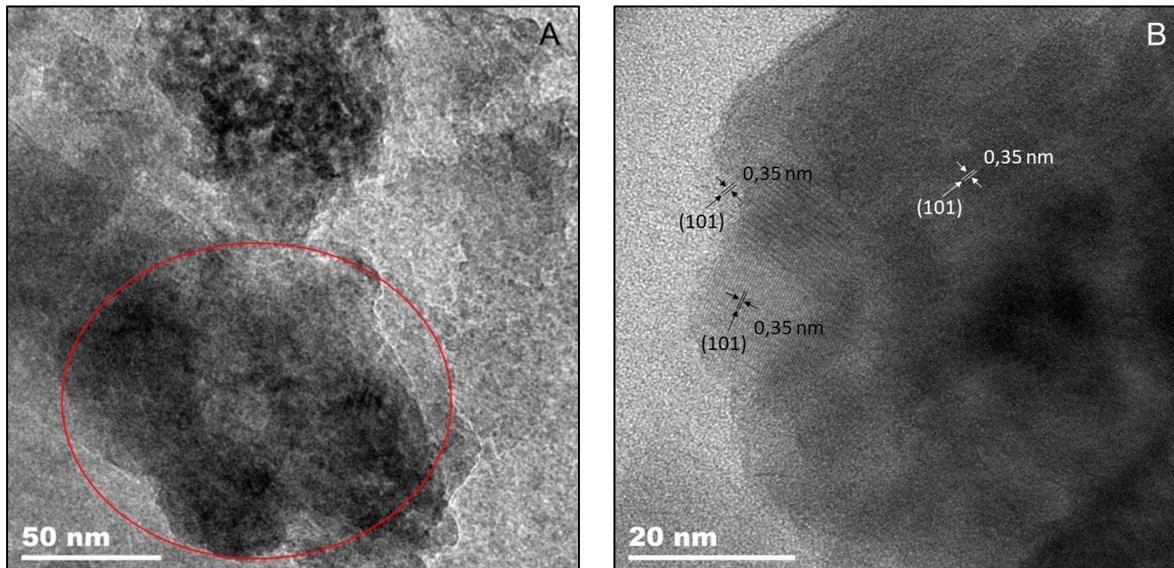


Figure 54 : Micrographies de nanoparticules de titane agrégées (A) et en haute résolution (B) contenues dans la fraction $20\ \mu\text{m} - 2\ \mu\text{m}$ du sol à la confluence

Sur la micrographie en haute résolution, il est possible de voir que ces nanoparticules sont ovales avec une taille variant de 10 à 20 nm (mesures faites sur 6 particules). Malgré la forte

teneur en matière organique dans cet échantillon (17,5 % - *Annexe 9*), l'analyse en haute résolution a permis de mettre en évidence quelques plans réticulaires. Une distance interatomique moyenne de 3,51 Å a été calculée sur 3 particules et permet de confirmer leur structure anatase.

Enfin, des nanoparticules de titane ont été retrouvées dans la fraction argileuse (< 2 µm) du sol à la confluence (*Fig. 55*).

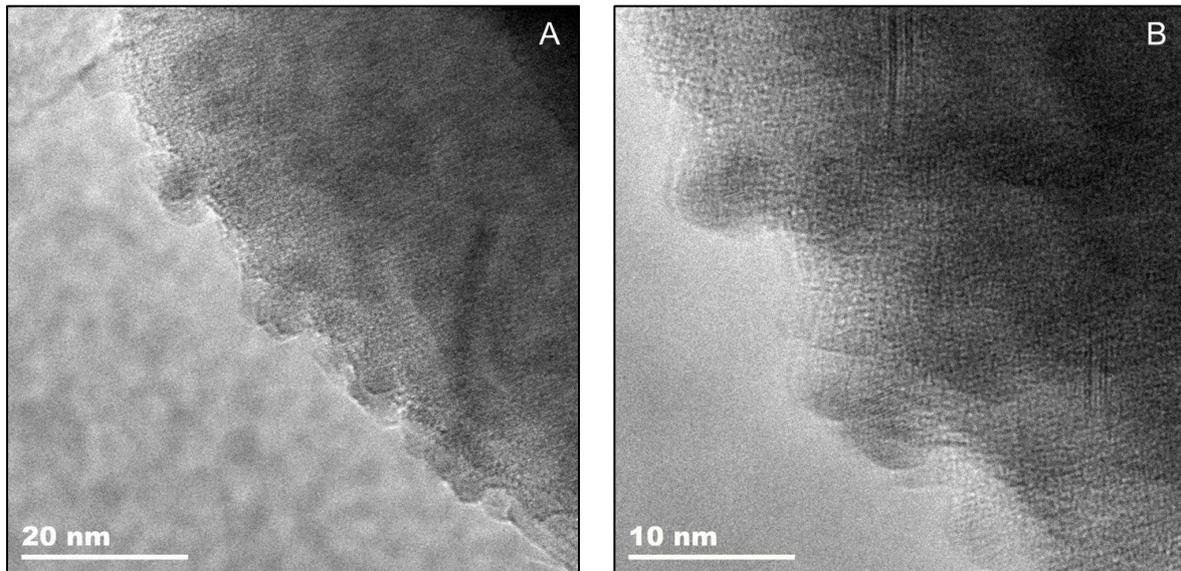


Figure 55 : Micrographies de nanoparticules de titane (A et B) contenues dans la fraction < 2 µm du sol à la confluence

Elles sont exclusivement de forme ronde et leur taille, peu variable, est d'environ 5 nm (mesures effectuées sur 8 particules). La forte présence de matière organique (20,8 % - *Annexe 9*) n'a pas permis d'observer les plans réticulaires en haute résolution.

Des NPs TiO₂ manufacturées HSS et BSS ont ainsi été identifiées dans les trois fractions fines < à 50 µm du sol à la confluence, sol situé à 2,5 km en aval de la cheminée du site de production.

2.2.4.4. Analyses du point Aval

De nombreuses particules ont été trouvées dans les fractions du sol Aval. Elles sont variées de par leur taille, leur forme et leur composition. Le silicium et l'aluminium sont des éléments omniprésents dans les particules observées (*Fig. 56 : B*), suivi du magnésium, du fer (*Fig. 56 : A*) et du potassium. Le calcium et le manganèse sont retrouvés plus rarement dans les fractions du sol en aval (*Fig. 56 : C*).

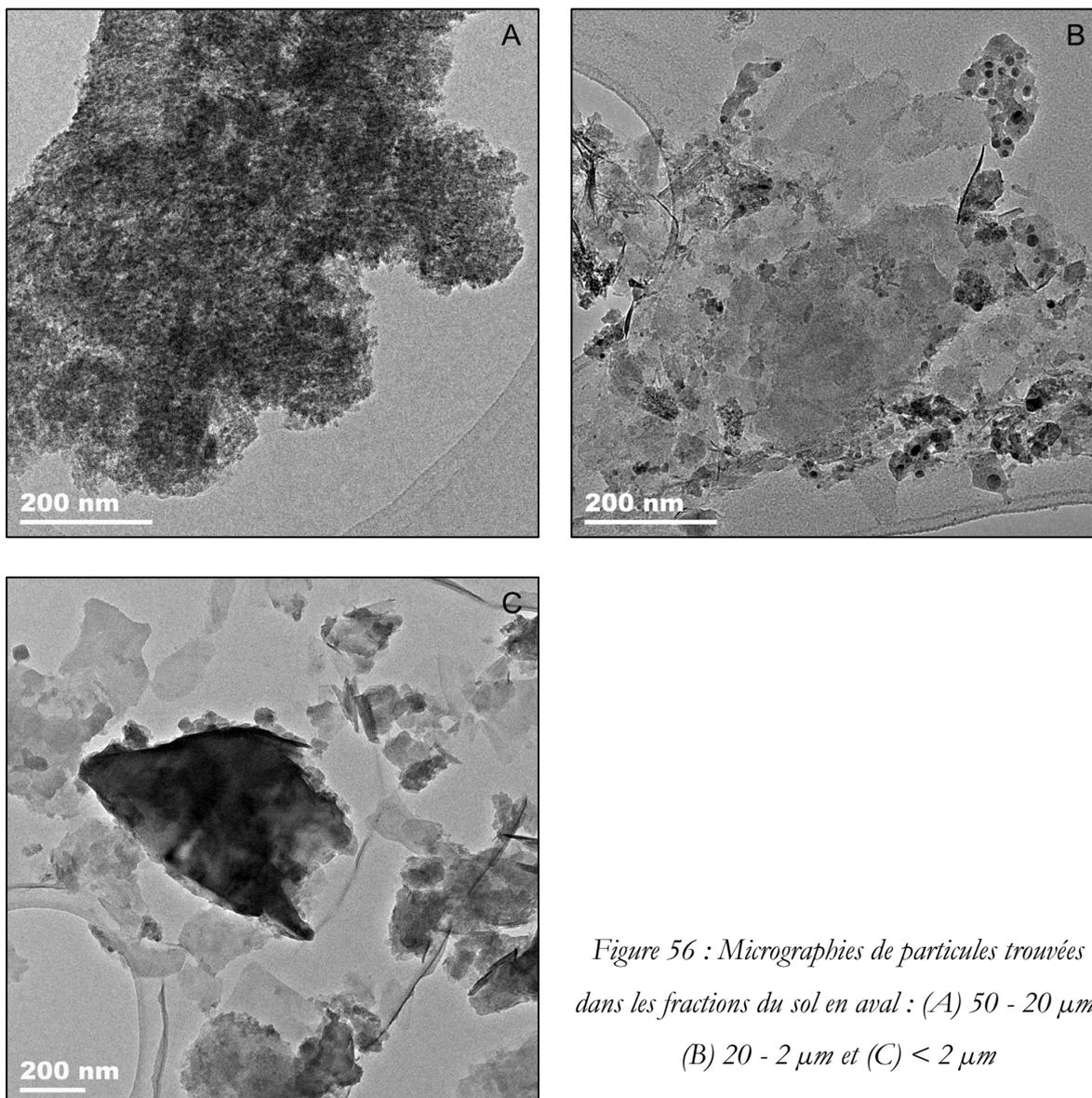


Figure 56 : Micrographies de particules trouvées dans les fractions du sol en aval : (A) 50 - 20 μm , (B) 20 - 2 μm et (C) < 2 μm

Quelques particules naturelles de titane ont été détectées mais uniquement dans la fraction argileuse < 2 μm (Fig. 57). Une analyse en haute résolution de la particule du bas, de la figure 57 A, permet de voir ses plans atomiques (Fig. 57 : B). La distance inter-réticulaire calculée est de 3,50 Å ce qui correspond à la valeur théorique de la bande hkl la plus intense de l'anatase qui est de 3,52 Å (ICDD 21-1272).

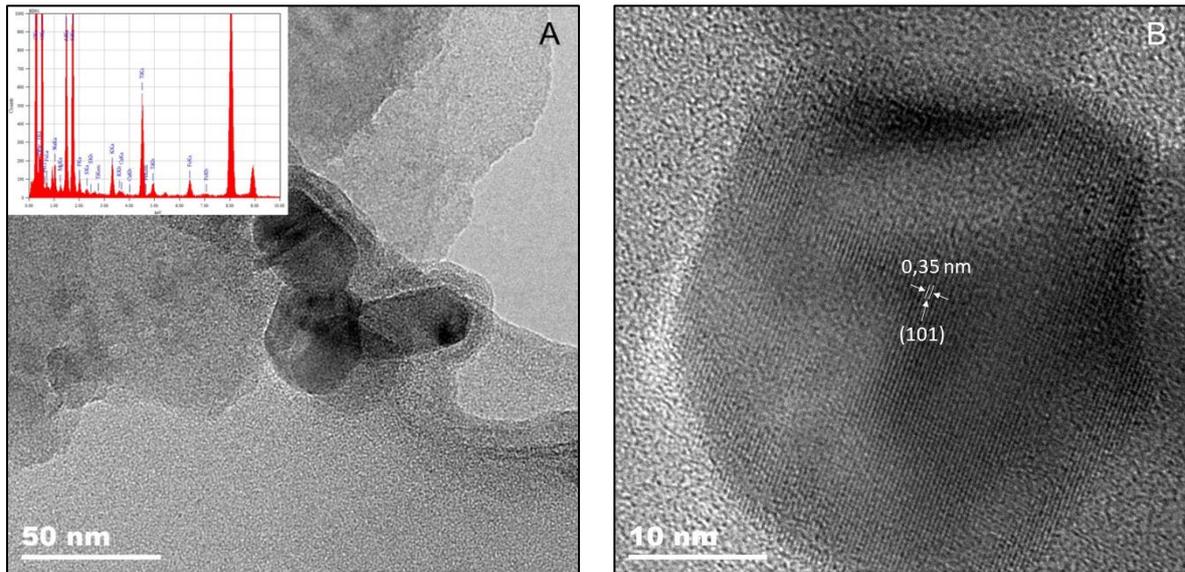


Figure 57 : Analyses EDS et micrographies de particules de titane naturelles (A) et en haute résolution (B) dans la fraction $< 2 \mu\text{m}$ du sol en aval

Des agrégats de particules de titane ont été identifiés dans seulement deux fractions : 50 - 20 μm et $< 2 \mu\text{m}$. La fraction 50 - 20 μm contient des nanoparticules de titane rondes et ovales de taille environ 5 nm (mesures faites sur 4 particules), mais leur visualisation est difficile, ces particules étant engluées dans une matrice amorphe de fer (Fig. 58).

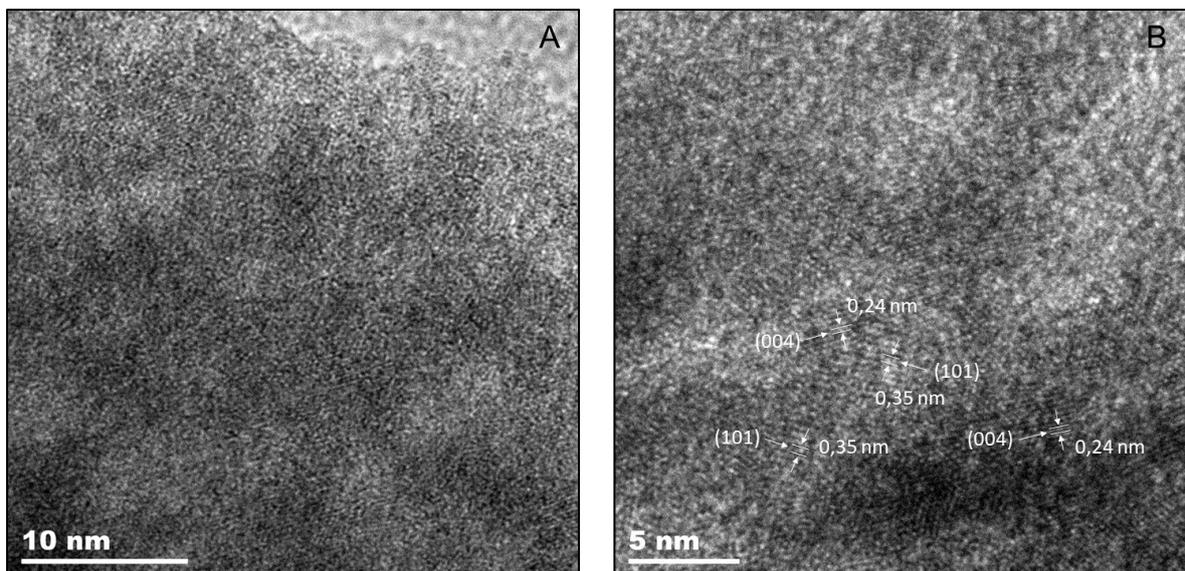


Figure 58 : Micrographies de nanoparticules de titane engluées dans une matrice de fer prises sur deux zones différentes (A et B) contenues dans la fraction 50 - 20 μm du sol en aval

Les micrographies prises en haute résolution permettent de visualiser les plans atomiques et ainsi de calculer les distances inter-réticulaires. Sur la figure 58 B, deux distances moyennes différentes ont été identifiées : 3,5 et 2,4 Å. La première correspond comme pour les échantillons précédents, à la face 101 du minéral d'anatase. La seconde correspond à la face 004 de ce même minéral, qui a pour valeur théorique 2,38 Å (ICDD 21-1272).

La figure 59 montre des nanoparticules de titane contenues dans la fraction argileuse (< 2 µm) du sol en aval. Elles sont rondes (Fig. 59 : A) et ovales (Fig. 59 : B) et ont des tailles qui varient de 5 à 10 nm (mesures effectuées sur 9 particules).

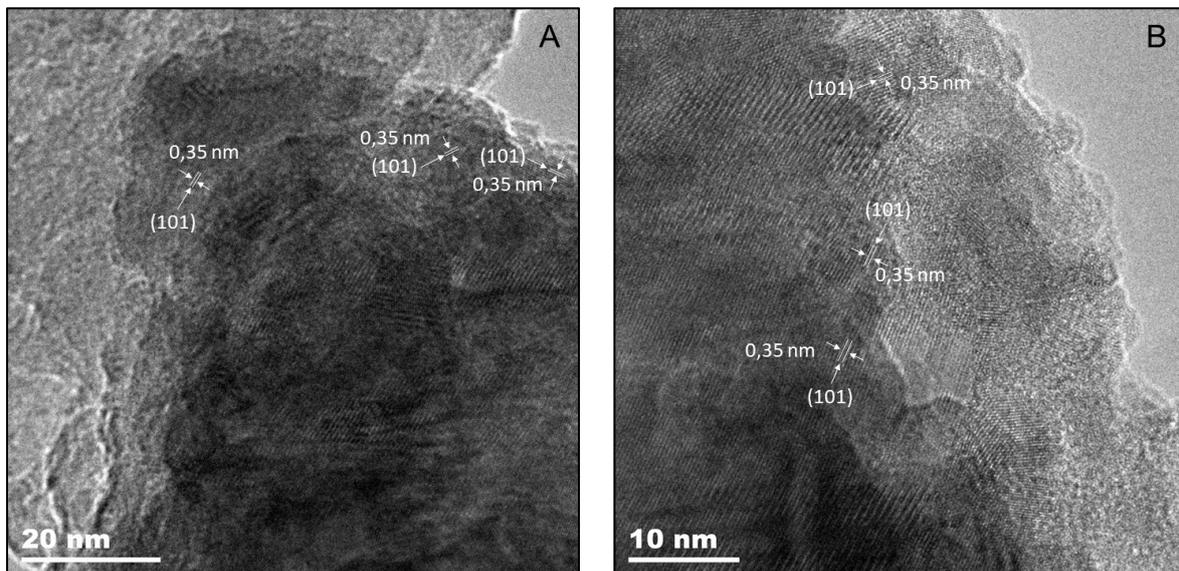


Figure 59 : Micrographies de nanoparticules de titane rondes (A) et ovales (B) prises en haute résolution contenues dans la fraction < 2 µm du sol en aval

La mesure des distances interatomiques de 6 nanoparticules ($d_{\text{moyenne}} = 3,49 \text{ \AA}$) permet de retrouver une valeur proche de la bande hkl 101 de l'anatase.

Des NPs TiO₂ manufacturées HSS et BSS ont été ainsi identifiées jusqu'en aval. Les nanoparticules semblent se concentrer uniquement dans les fractions 50 - 20 µm et < 2 µm car aucune n'a été détectée dans la 20 - 2 µm. Deux hypothèses sont possibles ; soit les quelques milligrammes prélevés pour l'analyse en microscopie n'en contenaient pas car les NPs TiO₂ sont agrégées et donc réparties de manière hétérogène dans l'échantillon, soit elles ne se sont pas immobilisées dans cette fraction.

2.3. Comportement des NPs TiO₂ manufacturées dans les sols

Des NPs TiO₂ BSS et HSS ont été mises en évidence dans les sols situés à proximité du site de production. Elles sont émises dans l'air par la cheminée sulfacide, dont le panache est transporté par les vents minoritaires (Sud-Sud-Est) et majoritaires (Ouest-Nord-Ouest) de la zone d'étude, et ce jusqu'à 2,5 km en aval du site. Le comportement de ces nanoparticules dans l'air n'est pas connu, mais compte tenu de leur réactivité, elles sont susceptibles d'être homoagrégées, mais également de former des hétéroagrégats avec des particules contenues dans le panache ou dans l'air (Buseck *et al.* 2008). Ces NPs TiO₂ se déposent ensuite au sol par voie sèche et/ou par les précipitations et vont s'accumuler à sa surface, sans migrer dans les horizons plus profonds. D'après Chen *et al.* 2010, une fois retenues à la surface du sol, il devient difficile de remobiliser les NPs TiO₂ et ce, même en utilisant des conditions adéquates (pH élevé) qui favorisent en temps normal leur mobilité dans un milieu poreux. Les expérimentations menées par Toloni, 2015 confirment ces résultats et démontrent également que les NPs TiO₂ sont retenues dès les premiers centimètres du milieu insaturé et que cette rétention peut être due à la présence d'air dans les pores du milieu. Cependant, Nickel *et al.* 2015 ont démontré que le type de nanoparticules avait une importance dans leur transport dans des milieux poreux. Une forte rétention a été observée à la surface du sol pour des NPs TiO₂ non enrobées de structure cristalline 100 % anatase ou 86 % anatase et 14 % rutile, mais un transport était possible lorsque ces nanoparticules étaient enrobées (Al₂O₃ et polydiméthylsiloxane). Une fois au sol, les NPs TiO₂ s'immobilisent préférentiellement dans les fractions fines < 50 µm et sont susceptibles de former des hétéroagrégats avec les différents constituants du sol. Les NPs TiO₂ du site de production ont été détectées dans toutes les fractions < 2 µm des échantillons Vignes, Confluence et Aval, indiquant qu'elles s'associent préférentiellement avec les argiles. Cette constatation est en accord avec la littérature puisque l'affinité des NPs TiO₂ pour la kaolinite (Cai *et al.* 2014), la smectite (Labille *et al.* 2015) ou l'illite (Adam *et al.* 2016) a déjà été démontrée. La forte teneur en matière organique des fractions < 2 µm (16 à 21 %) a pu également jouer un rôle dans l'accumulation préférentielle des NPs TiO₂ dans cette fraction, celles-ci étant capables de former des hétéroagrégats avec des particules de matière organique (Zhang *et al.* 2015). Cette agrégation est cependant dépendante du type de matière organique (acides fulviques ou humiques) mais également des paramètres du milieu comme le pH ou la force ionique (Erhayem *et al.* 2014).

Ce qu'il faut retenir

- La présence de NPs TiO_2 manufacturées a été mise en évidence dans l'eau, les sédiments et le sol sur le site d'étude.
- Ces nanoparticules se trouvent homoagrégées ou hétéroagrégées avec les éléments constitutifs du milieu (matière organique, argiles...).

Dans l'eau, elles se déposent dans les sédiments du canal usinier et de la rivière de la Thur.

Dans le sol, elles se déposent à sa surface et ne se transportent pas dans les horizons plus profonds.

Bibliographie

- Adam, V. Ecotoxicological impact and risk assessment of engineered TiO₂ nanomaterials on water, sediments and soil by building a combined RALCA (Risk Assessment – Life Cycle Assessment) model. (Université de Strasbourg, 2015).
- Adam, V. *et al.* Aggregation behaviour of TiO₂ nanoparticles in natural river water. *J Nanopart Res* **18**, 1–13 (2016).
- Bundschuh, M. *et al.* Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? *Environ Sci Eur* **30**, 6 (2018).
- Buseck, P. R. & Adachi, K. Nanoparticles in the Atmosphere. *Elements* **4**, 389–394 (2008).
- Cai, L., Tong, M., Wang, X. & Kim, H. Influence of Clay Particles on the Transport and Retention of Titanium Dioxide Nanoparticles in Quartz Sand. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 7323–7332 (2014).
- Chen, L., Sabatini, D. A. & Kibbey, T. C. G. Retention and release of TiO₂ nanoparticles in unsaturated porous media during dynamic saturation change. *Journal of Contaminant Hydrology* **118**, 199–207 (2010).
- Erhayem, M. & Sohn, M. Stability studies for titanium dioxide nanoparticles upon adsorption of Suwannee River humic and fulvic acids and natural organic matter. *Science of The Total Environment* **468–469**, 249–257 (2014).
- French, R. A. *et al.* Influence of Ionic Strength, pH, and Cation Valence on Aggregation Kinetics of Titanium Dioxide Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 1354–1359 (2009).

- Gaillardet, J., Viers, J. & Dupre, B. Trace Elements in River Waters. in *Natural Abundances of Trace Elements in River Water* 1–48 (Elsevier, 2003).
- Labille, J., Harns, C., Bottero, J.-Y. & Brant, J. Heteroaggregation of Titanium Dioxide Nanoparticles with Natural Clay Colloids. *Environ. Sci. Technol.* **49**, 6608–6616 (2015).
- Leeman, W. P. *et al.* A Study of Cathodoluminescence and Trace Element Compositional Zoning in Natural Quartz from Volcanic Rocks: Mapping Titanium Content in Quartz. *Microsc Microanal* **18**, 1322–1341 (2012).
- Liu, W., Sun, W., Borthwick, A. G. L. & Ni, J. Comparison on aggregation and sedimentation of titanium dioxide, titanate nanotubes and titanate nanotubes-TiO₂: Influence of pH, ionic strength and natural organic matter. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **434**, 319–328 (2013).
- Loosli, F., Le Coustumer, P. & Stoll, S. Effect of natural organic matter on the disagglomeration of manufactured TiO₂ nanoparticles. *Environ. Sci.: Nano* **1**, 154 (2014).
- Marks, M., Halama, R., Wenzel, T. & Markl, G. Trace element variations in clinopyroxene and amphibole from alkaline to peralkaline syenites and granites: implications for mineral–melt trace-element partitioning. *Chemical Geology* **211**, 185–215 (2004).
- Meinhold, G. Rutile and its applications in earth sciences. *Earth-Science Reviews* **102**, 1–28 (2010).
- Muscat, J., Swamy, V. & Harrison, N. M. First-principles calculations of the phase stability of TiO₂. *Phys. Rev. B* **65**, 224112 (2002).

- Nickel, C. *et al.* Mobility of coated and uncoated TiO₂ nanomaterials in soil columns – Applicability of the tests methods of OECD TG 312 and 106 for nanomaterials. *Journal of Environmental Management* **157**, 230–237 (2015).
- Ottofuelling, S., Von Der Kammer, F. & Hofmann, T. Commercial Titanium Dioxide Nanoparticles in Both Natural and Synthetic Water: Comprehensive Multidimensional Testing and Prediction of Aggregation Behavior. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 10045–10052 (2011).
- Pistorius, C. W. F. T. Phase relations and structures of solids at high pressures. *Progress in Solid State Chemistry* **11**, 1–151 (1976).
- Shainberg, I. & Levy, G. J. Flocculation and Dispersion. in *Encyclopedia of Soils in the Environment* 27–34 (Elsevier, 2005).
- Smith, S. J. *et al.* Heat capacities and thermodynamic functions of TiO₂ anatase and rutile: Analysis of phase stability. *American Mineralogist* **94**, 236–243 (2009).
- Stratford, M. Yeast flocculation: Calcium specificity. *Yeast* **5**, 487–496 (1989).
- Taylor, S. R. & McLennan, S. M. The geochemical evolution of the continental crust. *Rev. Geophys.* **33**, 241–265 (1995).
- Toloni, I. Transport de nanoparticules de TiO₂ en milieux poreux saturés et non saturés : expériences et modélisation. (Université de Strasbourg, 2015).
- Van Baalen, M. R. Titanium mobility in metamorphic systems: a review. *Chemical Geology* **110**, 233–249 (1993).

Wilkinson, J. J. *et al.* The chlorite proximator: A new tool for detecting porphyry ore deposits.

Journal of Geochemical Exploration **152**, 10–26 (2015).

Zhang, R. *et al.* Facilitated transport of titanium dioxide nanoparticles by humic substances in

saturated porous media under acidic conditions. *Journal of Nanoparticle Research* **17**, (2015).

Zhu, M., Wang, H., Keller, A. A., Wang, T. & Li, F. The effect of humic acid on the aggregation

of titanium dioxide nanoparticles under different pH and ionic strengths. *Science of The*

Total Environment **487**, 375–380 (2014).

Chapitre 4 :
détermination d'un
facteur de
caractérisation des NPs
TiO₂ pour l'évaluation
de l'écotoxicité terrestre

Chapitre 4 : détermination d'un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'évaluation de l'écotoxicité terrestre

1. Positionnement de la problématique

1.1. Historique de l'Analyse du Cycle de Vie

L'Analyse du Cycle de Vie (ACV) est « un outil normalisé d'évaluation des impacts sur l'environnement d'un système, incluant l'ensemble des activités liées à un produit ou à un service, depuis l'extraction des matières premières jusqu'au dépôt et traitement des déchets » (ISO 14040, 2006 ; ISO 14044, 2006). L'ACV trouve ses origines au 19^{ème} siècle avec les bilans matières et énergies élaborés par les chimistes. A la fin des années 60, les premières études ne tenaient compte que des matériaux bruts et de la consommation d'énergie utilisés dans la fabrication d'un produit (McManus *et al.* 2015). Suite au choc pétrolier de 1973, l'intérêt se porte sur les bilans énergétiques laissant de côté les problématiques environnementales (Burgess *et al.* 2001). Durant cette période, les études d'ACV étaient menées sans utiliser de méthodes communes par manque de discussions et d'échanges entre les chercheurs au niveau international. Ce manque d'harmonisation a conduit à l'obtention de résultats différents entre des études ayant pourtant des objectifs identiques (Guinée *et al.* 2011). Il faudra attendre le début des années 90 pour que l'ACV se développe et suscite un réel intérêt auprès des industriels et des gouvernements. La SETAC (Society for Environmental Toxicology And Chemistry) est une organisation qui a permis une avancée considérable en ce sens, grâce à la mise en place de nombreux ateliers de travail à l'échelle internationale entre 1990 et 1993 (Vigon *et al.* 1993). Cette collaboration a permis la publication d'un livre « Guidelines for Life Cycle Assessment : a Code of Practice », fournissant les lignes directrices sur la réalisation d'une ACV (Consoli, 1993). Celui-ci a d'ailleurs servi à l'élaboration des normes ISO 14040 à 14044 qui définissent de nos jours le cadre de la méthodologie de l'ACV (Klöpffer *et al.* 1997).

1.2. Méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie

L'ACV s'articule autour de 4 étapes distinctes mais interdépendantes : la définition des objectifs et du champ de l'étude, l'analyse de l'inventaire, l'évaluation des impacts et l'interprétation des résultats (Fig. 60).

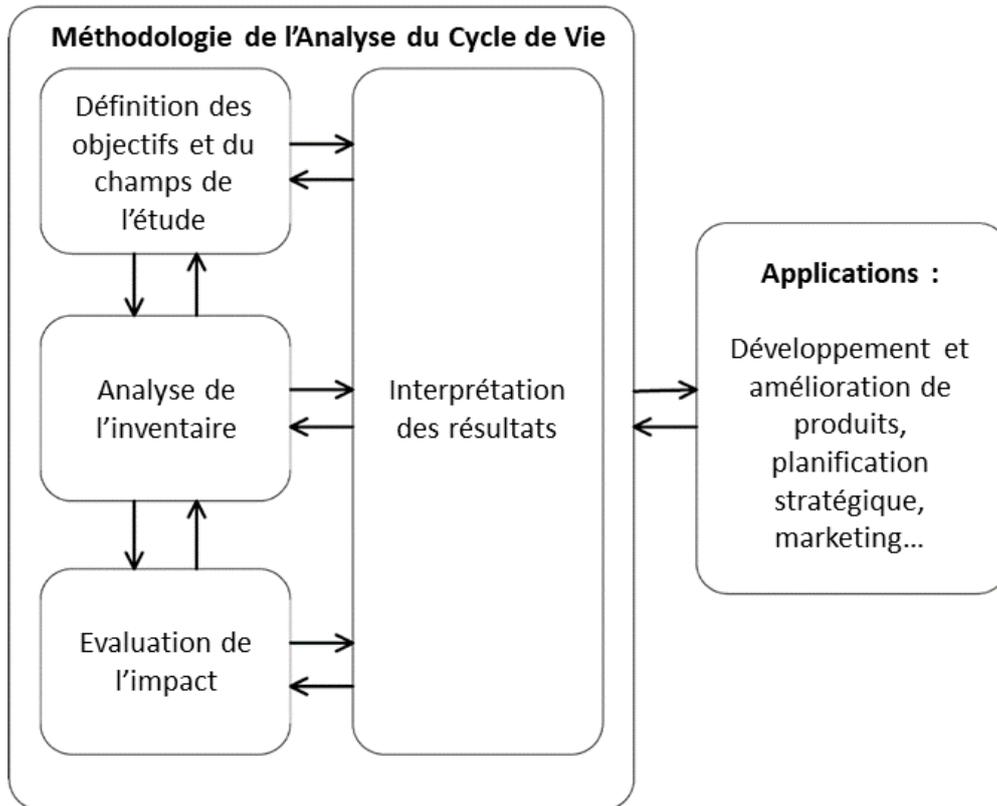


Figure 60 : Méthodologie de l'Analyse du Cycle de Vie (ISO 14040, 2006 ; 14044, 2006)

1) La définition des objectifs et du champ de l'étude consiste à établir précisément les raisons de la mise en place d'une ACV en fonction de l'application qui en sera faite : écoconception (Azapagic, 1999), comparaison (Hawkins *et al.* 2013) ou déclaration environnementale de produits. La définition des objectifs conditionne le champ de l'étude. Ce dernier comprend principalement l'unité fonctionnelle, les frontières du système, les exigences sur les données de l'inventaire et ses limites.

L'unité fonctionnelle (UF) est un élément clé de l'ACV qui doit être clairement défini. L'unité fonctionnelle est une mesure de la fonction du système étudié et fournit une référence à laquelle les entrées et les sorties peuvent être associées (Matheys *et al.* 2007). L'unité fonctionnelle doit être précise et mesurable. Définir les limites du système consiste à dégager les flux entrants (ressources naturelles) et les flux sortants (rejets dans l'environnement) du système.

2) L'analyse de l'inventaire du cycle de vie (AICV) est la quantification des flux élémentaires pertinents qui traversent les frontières du système. Les flux élémentaires constituent la matière ou l'énergie entrant dans le système étudié. Elle a été puisée dans l'environnement sans transformation humaine préalable ou sortant du système étudié, qui est rejetée dans l'environnement sans transformation humaine ultérieure. Les ACV nécessitent souvent une grande quantité de données qui doivent être fiables. Cette fiabilité repose sur la précision des données, leur origine, leur date, leur méthode d'acquisition, leur plus ou moins grande exhaustivité, leur représentativité, leur cohérence et la vérification qu'on en a faite (Benetto, 2005). Si des données sont manquantes, il est primordial de le spécifier.

3) L'évaluation de l'impact traduit les flux entrants et sortants du système quantifiés dans l'inventaire, en une série d'impacts potentiels sur l'environnement. Les normes ISO 14040 et 14044 présentent trois étapes obligatoires dans la phase de l'évaluation de l'impact : la classification des catégories d'impact (écotoxicité terrestre, eutrophisation, effets cancérigènes, etc...), la caractérisation des impacts (élaboration des méthodes de calculs des catégories d'impact et des modèles associés) et l'interprétation des résultats. Les méthodes de modélisation peuvent être classées en trois groupes distincts suivant leur position dans la chaîne reliant les causes à l'effet : les méthodes intermédiaires « *midpoint* » (CML 2001 : Guinée *et al.* 2002, USEtox : Rosenbaum *et al.* 2008 ou IPCC : IPCC, 2006), les méthodes de dommages « *endpoint* » (Eco-indicator 99 : Goedkoop *et al.* 1999) et les méthodes hybrides offrant les deux niveaux d'évaluation (Impact 2002+ : Jolliet *et al.* 2003 - *Fig. 61*).

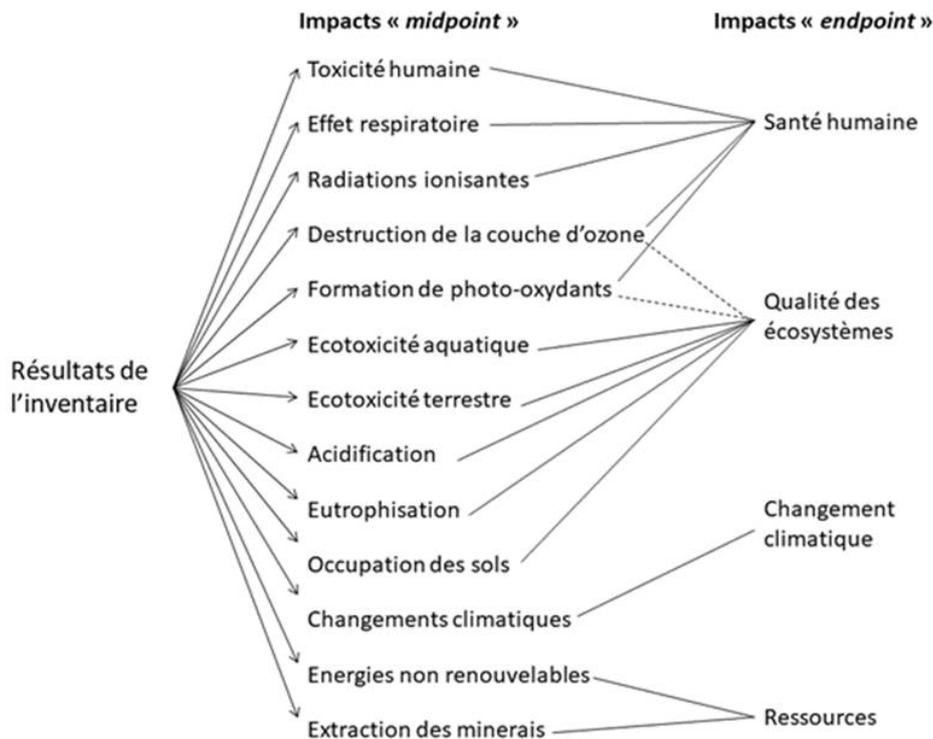


Figure 61 : Catégories d'impacts « midpoint » et « endpoint » de la méthode « Impact 2002+ » (Jolliet et al. 2003)

Dans les méthodes utilisant les impacts intermédiaires, les entrants et sortants ont une conséquence directe sur l'environnement comme la destruction de la couche d'ozone qui s'exprime en kg de chlorofluorocarbure (CFC) ou encore l'écotoxicité aquatique en kg d'oxyde d'azote (NO_x). Les méthodes « endpoint » modélisent les dommages tels l'atteinte à la santé humaine, la qualité des écosystèmes, le changement climatique ou l'utilisation des ressources.

De manière générale, le modèle de caractérisation consiste à calculer un facteur de caractérisation ($CF_{i,j}$) du flux d'inventaire j , contribuant à l'impact i afin de quantifier l'indicateur d'impact de la catégorie i (CI_i) - Eq. 3 :

$$CI_i = CF_{i,j} \times \sum M_j \text{ (Eq. 3)}$$

CI_i : Indicateur d'impact de la catégorie i

$CF_{i,j}$: Facteur de caractérisation associé au flux d'inventaire j pour la catégorie i

M_j : Résultats de l'inventaire du cycle de vie pour le flux d'inventaire j

Le facteur de caractérisation permet de rapporter toutes les substances contribuant à un même impact à une équivalence établie sur une seule substance. Si on prend la catégorie d'impact « écotoxicité terrestre » de la méthode Impact 2002+, toutes les substances toxiques pour les espèces du sol sont rapportées à une molécule, le triéthylène glycol.

La détermination du facteur de caractérisation (CF) repose sur deux termes : le facteur de devenir (Fate Factor) associé au flux d'inventaire j (FF_j) et le facteur d'effet (Effect Factor) des substances associées au flux d'inventaire j (EF_j) - Eq. 4 :

$$CF_{j,i} = FF_j \times EF_j \quad (Eq. 4)$$

4) L'interprétation des résultats constitue la dernière étape de la méthodologie de l'ACV. Elle consiste à vérifier la cohérence de l'analyse de l'inventaire et de l'évaluation des impacts, avec les objectifs définis et le champ de l'étude. Elle permet également de fournir des recommandations en donnant, par exemple, des informations sur les étapes où il faut intervenir en priorité pour réduire les impacts sur l'environnement. Enfin, les limites et les incertitudes liées à l'étude et aux résultats y sont également analysées et interprétées.

1.3. La méthode USEtox

USEtox résulte d'une collaboration internationale entre les développeurs de 7 méthodes d'évaluation des impacts : CalTOX, Impact 2002+, USES-LCA, BETR, EDIP, WATSON et EcoSense (Rosenbaum *et al.* 2008). A ce jour, c'est une méthode consensuelle et reconnue internationalement car elle est issue des meilleurs modèles scientifiques du moment. Elle répertorie des facteurs de caractérisations (CF) de 3077 composés organiques et 27 composés inorganiques pour deux catégories d'impacts : l'écotoxicité aquatique et la toxicité humaine. En plus de tenir compte du devenir (FF) et de l'effet (EF) d'une substance, USEtox utilise un autre terme pour calculer ses facteurs de caractérisation, qui est le facteur d'exposition (XF). L'équation 5 présente le calcul général d'un CF pour la catégorie d'impact de l'écotoxicité aquatique :

$$CF_i = FF_i \times EF_i \times XF_i \quad (Eq. 5)$$

CF_i : Facteur de caractérisation de la substance i considérée ($PAF \cdot m^3 \cdot jour \cdot kg^{-1}$)

FF_i : Facteur de devenir de la substance i dans le compartiment aquatique (jours)

EF_i : Facteur d'effet de la substance i exprimant son impact écotoxicologique sur les espèces de l'écosystème aquatique ($PAF.m^3.kg^{-1}$)

XF_i : Facteur d'exposition de la substance i représentant la fraction dissoute et donc biodisponible pour les espèces (-)

1.3.1. Le facteur de devenir

Dans la méthode USEtox, le facteur de devenir constitue un bilan de masse d'un polluant effectué pour chaque compartiment environnemental (eau, air, sol...). Il s'exprime à l'aide d'une matrice où les lignes représentent les compartiments environnementaux récepteurs des substances chimiques et les colonnes les compartiments d'où sont émises les substances (USEtox 2.0 documentation, 2017). La taille de la matrice est dépendante du nombre de compartiments considérés dans l'étude. Si on prend le cas de NPs TiO_2 émises dans l'air et retombant au sol, la matrice serait composée de deux compartiments environnementaux, l'air et le sol. Les éléments dans la matrice sont des facteurs de devenir exprimés en jour : ceux en rouge représentent le temps de résidence d'un polluant dans un compartiment environnemental et ceux en bleu représentent le transport d'un polluant entre deux compartiments environnementaux (Fig. 62).

$$\overline{FF} = \begin{bmatrix} FF_{air,air} & FF_{air,sol} \\ FF_{sol,air} & FF_{sol,sol} \end{bmatrix}$$

Figure 62 : Matrice du facteur de devenir exprimée avec deux compartiments environnementaux : l'air et le sol

En résumé, ce facteur décrit le comportement d'un polluant rejeté dans l'environnement en tenant compte des processus que la molécule est susceptible de subir, par exemple les processus de dégradation, d'enfouissement dans les sédiments ou encore les processus de transports intermédiaires. Ces données peuvent être obtenues par expérimentation mais elles sont plus souvent estimées à l'aide de modèles.

Dans la méthode USEtox, de nombreux compartiments sont considérés à plusieurs échelles (Fig. 63) : une échelle continentale ($9,01.10^6 \text{ km}^2$) et une globale ($1,41.10^8 \text{ km}^2$). A titre comparatif, l'échelle continentale est environ équivalente à la superficie de la Chine et l'échelle globale à environ 8 fois la superficie de la Russie.

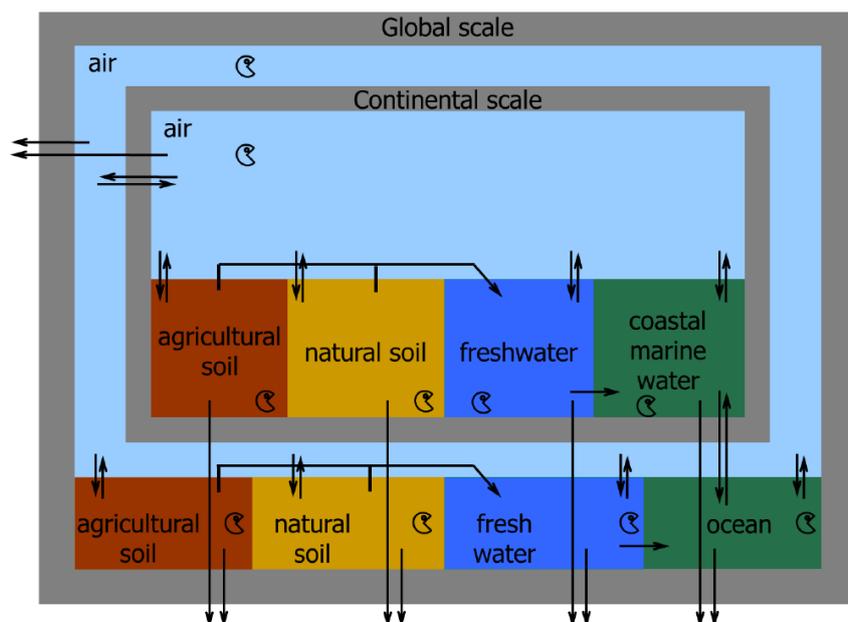


Figure 63 : Compartiments environnementaux et échelles utilisés dans USEtox (USEtox 2.0 documentation, 2017)

1.3.2. Le facteur d'effet

Le facteur d'effet se qualifie comme étant un moyen de calculer la sensibilité des espèces vis à vis de polluants (Henderson *et al.* 2011). Il existe plusieurs méthodes de détermination du facteur d'effet pour le calcul de l'écotoxicité, qui nécessitent l'utilisation de données provenant de tests toxicologiques effectués sur des espèces de différents écosystèmes. Ces données sont notamment des concentrations, appelées valeurs de référence, qui sont la NOEC (No Observed Effect Concentration), la LOEC (Low Observed Effect Concentration), l'EC₅₀ (Effective Concentration) et la LC₅₀ (Lethal Concentration). La NOEC constitue la concentration la plus élevée à laquelle aucun effet n'est observé et la LOEC est la concentration la plus faible à laquelle on observe un effet. L'EC₅₀ est la concentration à laquelle on observe un effet de 50 % par rapport au contrôle et la LC₅₀ est une EC₅₀ particulière qui concerne la concentration à laquelle on observe une perte de 50 % des individus (Fig. 64).

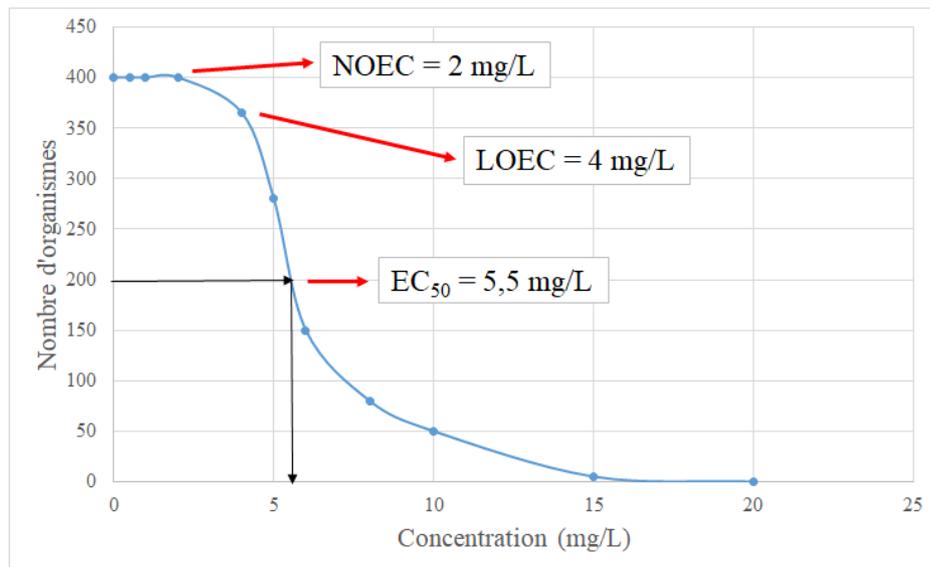


Figure 64 : Nombre d'organismes en fonction de la concentration d'un polluant

Ces concentrations découlent d'expérimentations : une espèce animale ou végétale est mise en contact avec une substance potentiellement toxique à différentes concentrations dans des conditions variables. La LOEC et la NOEC s'obtiennent directement suite aux expérimentations, en prenant les concentrations testées sans les modifier. Cependant, l'EC₅₀ nécessite l'utilisation d'une courbe dose/réponse afin d'être calculée.

Deux types de toxicité peuvent être testés : aiguë et chronique. La première s'observe pendant des périodes de temps relativement courtes (quelques heures/jours) mais nécessite souvent des concentrations élevées en polluant afin d'observer un effet. La seconde exprime une exposition des espèces à de faibles concentrations en polluant pendant des temps longs (quelques mois/années) et ont pour objet de relier les conditions environnementales "réelles". Les tests qui étudient les effets à long terme sont donc majoritairement favorisés dans la méthode USEtox et plus particulièrement l'utilisation des EC₅₀ chroniques. Ils permettent de calculer une HC₅₀ qui représente la moyenne géométrique des EC₅₀ chroniques de toutes les espèces des différents niveaux trophiques (pour l'écosystème d'eau douce : algues, crustacés et poissons). Elle se calcule par l'équation suivante - Eq. 6 (USEtox 2.0 documentation, 2017) :

$$HC_{50} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n EC_{50,i}} = 10^{\left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log_{10}\left(\frac{EC_{50,i}}{1000}\right)\right]} \quad (Eq. 6)$$

HC₅₀ : Moyenne géométrique des EC₅₀ chroniques (kg/m³)

EC_{50,i} : Concentration à laquelle 50 % des organismes *i* sont affectés par un effet (mg/L)

1000 : Facteur de conversion de mg/L en g/L

Le facteur d'effet d'une substance pour l'écotoxicité aquatique peut ainsi se calculer en utilisant la fraction des espèces potentiellement affectées (PAF) fixée à 0,5 (représentant les 50 % d'espèces affectées) sur la moyenne géométrique HC₅₀ des EC₅₀. Il s'exprime en PAF.m³.kg⁻¹ (Eq. 7) :

$$EF = \frac{0,5}{HC50_{EC50}} \quad (Eq. 7)$$

1.3.3. Le facteur d'exposition

Ce terme propre à USEtox dans le calcul du facteur de caractérisation correspond à la fraction biodisponible du polluant pour les espèces de l'écosystème aquatique, c'est-à-dire, la fraction du polluant qui est dissoute dans le milieu (Diamond *et al.* 2010). Si le facteur d'exposition prend une valeur de 1, cela signifie que le polluant dans le milieu est 100 % sous forme dissoute. Le facteur d'exposition (XF) d'un polluant dans l'eau douce se calcule à l'aide de l'équation 8 (USEtox 2.0 documentation, 2017) :

$$XF = \frac{1}{1 + K_{susp} \times \frac{C_{susp}}{1000} + K_{doc} \times \frac{C_{doc}}{1000} + BAF_{fish} \times \frac{C_{biota}}{1000}} \quad (Eq. 8)$$

K_{susp} : Coefficient de partage (solide/eau) du polluant (kg⁻¹)

C_{susp} : Concentration de la matière en suspension dans l'eau douce (kg.m⁻³)

K_{doc} : Coefficient de partage (carbone organique dissous/eau) du polluant (kg⁻¹)

C_{doc} : Concentration du carbone organique dissous dans l'eau douce (kg.m⁻³)

BAF_{fish} : Facteur de bioaccumulation du polluant dans le poisson (kg⁻¹)

C_{biota} : Concentration du biote⁵ dans l'eau douce (kg.m⁻³)

⁵ Le biote correspond à l'ensemble des organismes vivants d'un lieu ou d'une région précise.

1.3.4. Les limites de la méthode USEtox

La méthode USEtox n'est actuellement pas adaptée au développement d'un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre et encore moins à l'échelle locale qui nous intéresse : celle de la vallée de la Thur. De plus, elle caractérise des polluants organiques et inorganiques « classiques » et ne comprend aucune nanoparticule. Le titane (Ti) n'est également pas présent dans la base de données de USEtox. Enfin, cette méthode quantifie l'impact sur l'écosystème aquatique d'eau douce et sur la santé humaine et n'évalue pas l'écotoxicité terrestre. Malgré ces limites, USEtox a été choisie dans cette étude puisqu'elle reste à ce jour une méthode reconnue internationalement et acceptée par les scientifiques de ce domaine. Les facteurs de devenir et d'effet ont ainsi été développés pour le cas d'étude de la zone de Thann. Dans le cas du facteur d'exposition, le manque de données concernant la part biodisponible des NPs TiO₂ dans le sol ne permet pas un développement approprié pour ce cas d'étude. C'est pourquoi, il a été considéré égal à 1 ce qui correspond au cas le plus dommageable pour les organismes (les NPs TiO₂ sont considérées comme étant 100 % biodisponible).

2. Détermination d'un facteur de devenir pour les NPs TiO₂ dans le sol à une échelle de site spécifique

2.1. Présentation des modèles de devenir

La détermination d'un facteur de devenir requiert actuellement l'utilisation de modèles multimédias complexes qui permettent de caractériser la répartition d'un polluant au sein des différents compartiments environnementaux (Mackay *et al.* 2002).

SimpleBox est un modèle multimédia permettant d'évaluer le devenir d'une molécule dans l'environnement (Brandes *et al.* 1996 ; Den Hollander *et al.* 2004). Il a été développé en 1982 au Pays-Bas afin de répondre au besoin de l'Institut national néerlandais pour la santé publique et l'environnement (RIVM) d'évaluer les risques de certains composés chimiques (Van de Meent *et al.* 1993). Ce modèle est adapté et utilisé dans différentes méthodes d'évaluation du cycle de vie comme USES-LCA ou encore USEtox.

Il comprend actuellement trois échelles spatiales différentes (Schoorl *et al.* 2015) :

- régionale ($2,3 \cdot 10^5 \text{ km}^2$) et continentale ($7,2 \cdot 10^6 \text{ km}^2$), pour lesquelles neuf compartiments environnementaux sont pris en compte : eau de mer, eau douce et leurs sédiments, l'eau des lacs, les sols naturels, agricoles et autres et enfin l'air.
- globale ($1,28 \cdot 10^8 \text{ km}^2$), pour laquelle cinq compartiments environnementaux sont pris en compte : eau de mer de surface, eau de mer profonde et ses sédiments, le sol et l'air. Le terme « global » inclut trois zones différentes : arctique, modérée et tropicale.

Les premiers modèles de devenir incluant des nanoparticules se basent sur l'estimation de leur concentration supposée dans l'environnement (PEC). Deux modèles ont ainsi été développés permettant de déterminer le devenir des nanoparticules de TiO₂, ZnO, Ag et des fullerènes (Mueller *et al.* 2008 ; Gottschalk *et al.* 2009 ; Gottschalk *et al.* 2010). Les étapes du cycle de vie des nanoparticules sont répertoriées, c'est-à-dire depuis leur production jusqu'à leur traitement final. Des flux de matières sont ensuite établis afin d'estimer la concentration en nanoparticules de chaque étape de cycle de vie qui va se transférer dans les différents compartiments environnementaux. Ces modèles n'utilisent donc pas les processus de transformations chimiques et physiques des nanoparticules comme les phénomènes d'homoagrégation et d'hétéroagrégation, la dissolution ou encore la possible dégradation de leur enrobage. Johnson *et al.* 2011 ont également développé un modèle propre aux NPs TiO₂ contenues dans les crèmes

solaires, mais en ajoutant uniquement le processus de transport par advection au sein du fleuve de la Tamise, sans tenir compte des phénomènes d'agrégation et des transformations possibles de l'enrobage des nanoparticules.

Praetorius *et al.* 2012 ont adapté le principe du modèle de devenir multimédia des composés organiques afin de développer un modèle propre aux nanoparticules dans le but de déterminer des PEC dans deux compartiments environnementaux (eau douce et sédiments). Les processus de transport et de transformation des nanoparticules dans le compartiment aquatique ont été inclus dans le modèle et sont présentés dans la figure 65 (à droite), en opposition aux processus propres aux composés organiques (à gauche) :

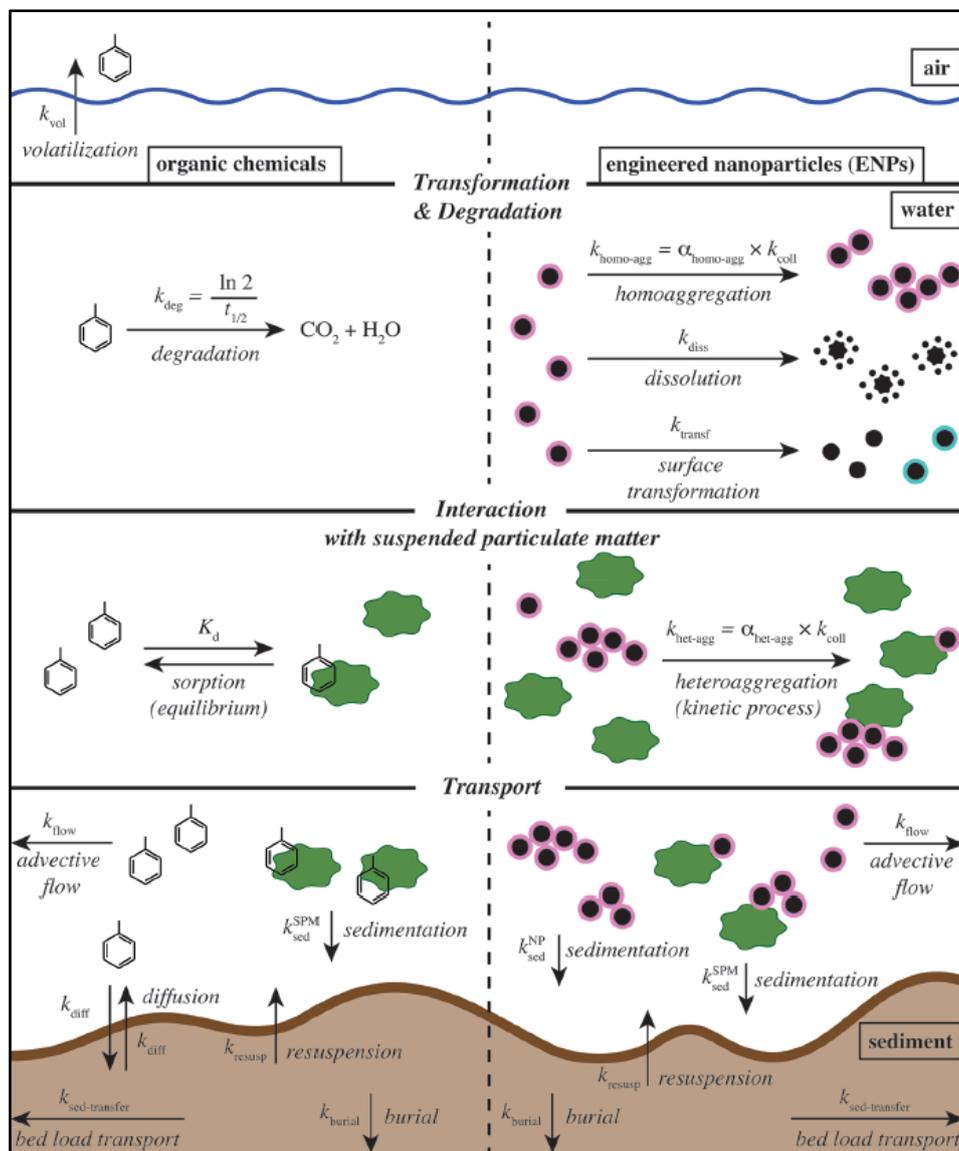


Figure 65 : Processus affectant des composés organiques (gauche) et des nanoparticules enrobées (droite) dans le compartiment aquatique (Praetorius *et al.* 2012)

Le modèle de Praetorius *et al.* 2012 est ainsi le premier à avoir pris en compte les différents processus susceptibles d'affecter les NPs TiO₂ lors de leur émission dans l'environnement. Cependant, il se concentre exclusivement sur les compartiments eaux et sédiments, et ne permet pas d'avoir une idée globale sur la répartition des NPs au sein de tous les compartiments environnementaux. Pour pallier ce manque, des modèles multimédias ont été développés en incluant cette fois-ci d'autres compartiments comme l'air et le sol. L'un de ces modèles, SimpleBox4Nano (SB4N), a été mis en place par Meesters *et al.* 2014 et n'est autre qu'une adaptation de SimpleBox.

SimpleBox4Nano comporte cependant des incertitudes, notamment sur les taux d'émissions des nanoparticules dans l'environnement, leurs propriétés physicochimiques (répartition de leur taille, pureté...) mais également sur les différents processus d'interaction (dissolution et agrégation) entre les nanoparticules et l'environnement (Meesters *et al.* 2014).

Les nombreuses incertitudes des modèles multimédias ne permettent pas d'obtenir des résultats précis sur la répartition d'un polluant au sein des différents compartiments environnementaux. De plus, ces derniers utilisent en majeure partie des échelles globales, continentales ou régionales qui ne sont clairement pas adaptées à une échelle de site spécifique. Une alternative est proposée dans cette étude et consiste à développer un facteur de devenir des NPs TiO₂ dans le sol propre au site d'étude localisé à Thann, en utilisant des données expérimentales mesurées directement sur le terrain. Ce facteur de devenir sera ainsi utilisé dans le calcul du facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre.

2.2. Méthode de calcul du facteur de devenir

2.2.1. Présentation de la formule du facteur de devenir

Une première étude effectuée par Owsianiak *et al.* 2013 a permis d'élaborer des facteurs de caractérisation de deux métaux (cuivre et nickel) pour l'écotoxicité terrestre. Ces calculs ont été développés en utilisant une formule contenant des facteurs de devenir (FF), d'effet (EF) et d'exposition (XF), mais où ce dernier est exprimé par la multiplication de deux autres termes : les facteurs d'accessibilité (ACF) et de biodisponibilité (BF) - Eq. 9 :

$$CTP_{i,s} = FF_{i,s} \times EF_s \times ACF_s \times BF_s \quad (Eq. 9)$$

CTP_{i,s} : Potentiel de toxicité comparative (ou facteur de caractérisation) du métal s émis dans le compartiment i (m³/kg.jour)

$FF_{i,s}$: Facteur de devenir du métal s dans le sol (jour)

ACF_s : Facteur d'accessibilité défini comme étant la fraction réactive du métal s dans le sol ($kg_{réactif}/kg_{total}$)

BF_s : Facteur de biodisponibilité défini comme étant la fraction d'ions libre du métal réactif dans le sol ($kg_{libre}/kg_{réactif}$)

EF_s : Facteur d'effet de l'écotoxicité terrestre définit comme étant la fraction d'espèce potentiellement affectée (PAF) par le métal présent sous forme d'ions libres (m^3/kg_{libre})

Le facteur de devenir a été calculé par Owsianiak *et al.* 2013 selon la méthode USEtox pour des composés inorganiques dans un sol naturel, en considérant une émission dans l'air à une échelle continentale (Eq. 10).

$$FF = \frac{\Delta C \cdot V \cdot \rho_{sol}}{\Delta M} \quad (Eq. 10)$$

FF : Facteur de devenir des métaux dans le sol (jours)

ΔC : Variation de concentration des métaux dans le sol (mg/kg)

V : Volume du compartiment sol (m^3)

ρ_{sol} : Masse volumique de sol (kg/m^3)

ΔM : variation d'émissions des métaux de l'air au sol (mg /jour)

Les paramètres par défaut de la méthode USEtox ont été conservés à l'exception de ceux propres aux sols et aux deux métaux considérés. Des facteurs de devenir ont été ainsi calculés pour 760 sols répartis sur tout le globe et provenant de la base de données ISRIC (International Soil Reference and Information Centre). Les concentrations naturelles en Cu et Ni de ces sols n'étant pas connues, des valeurs de 14 et 16 mg/kg respectivement ont été choisies. Ces valeurs de concentrations naturelles moyennes en Cu et Ni dans les sols européens ont été préférées aux valeurs moyennes mesurées en Amérique du Nord car davantage de données concernant les sols européens ont été collectées dans l'étude Owsianiak *et al.* 2013.

Cette dernière démontre la possibilité d'utiliser la méthode USEtox pour calculer des facteurs de caractérisation propres à l'écotoxicité terrestre mais offre aussi des perspectives quant à l'adaptation de l'étude d'Owsianiak *et al.* 2013 aux nanoparticules de dioxyde de titane.

Partant des émissions à l'atmosphère des NPs TiO_2 lors de leur phase de production, il est possible selon la formule de l'équation 10 de calculer le facteur de devenir des NPs TiO_2 dans le sol.

Les différents termes de la formule sont issus des expérimentations effectuées sur le site d'étude de Thann durant la campagne 2018 (*cf. Chapitre 3*) et représentant les quatre points d'échantillonnages de sol : Vignes, Confluence, PP et PPC.

2.2.2. Détermination des paramètres nécessaires au calcul du facteur de devenir des NPs TiO_2 dans le sol

Le point Amont représente le fond géochimique naturel, c'est pourquoi ΔC correspond à la variation de concentration en TiO_2 dans le sol du point Amont au point considéré. Aucun autre apport en TiO_2 dans l'air n'est possible à l'exception du site de production, nous en déduisons que la différence entre les concentrations moyennes en TiO_2 des points d'échantillonnages considérés et la concentration moyenne en TiO_2 du point Amont représente les teneurs en NPs TiO_2 dans les sols du site d'étude (*Tab. 16*).

Tableau 16: Concentrations moyennes en TiO_2 et en NPs TiO_2 (mg/kg) dans les sols pour la campagne 2018

Echantillons de sol	Concentration moyenne en TiO_2 (mg/kg) en 2018	ΔC : Concentration estimée en NPs TiO_2 (mg/kg) en 2018
Amont	5578	0
Vignes	5772	193
Confluence	6012	433
PP	7300	1722
PPC	7622	2043

Conformément au plan d'échantillonnage établi, le volume du compartiment sol (V) est déterminé d'après un pixel de 10 m x 10 m et une profondeur de prélèvement de 0,2 m soit 20 m^3 .

La masse volumique du sol (ρ_{sol}) a été directement mesurée sur les échantillons de sol secs de la campagne 2018 (Tab. 17) :

Tableau 17 : Densité du sol sec (kg/m^3) des différents échantillons de sol pour la campagne 2018

Echantillons de sol	ρ_{sol} : Masse volumique du sol sec (kg/m^3) en 2018
Amont	2320
Vignes	2530
Confluence	2150
PP	2320
PPC	2400

Le paramètre ΔM représente la variation d'émission des NPs TiO_2 de l'air au sol. L'INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques) a effectué des analyses de dépôts atmosphériques à différents points d'échantillonnage dans le cadre du projet ADEME-CORTEA « NANOIDENT » de 2016 à 2018. Des jauges de retombées ont été placées à différents points de prélèvement et ont permis de quantifier la concentration en dioxyde de titane dans les dépôts atmosphériques. Chaque jauge de retombées est associée à un point d'échantillonnage de sol en fonction de leur proximité. Les jauges situées sur les points PP et PPC se situent au même emplacement que les points de prélèvements des échantillons de sol. La valeur du dépôt du Bassin 1000 a été attribuée au point Vignes et le Bassin 4000 au point Confluence (Fig. 66).

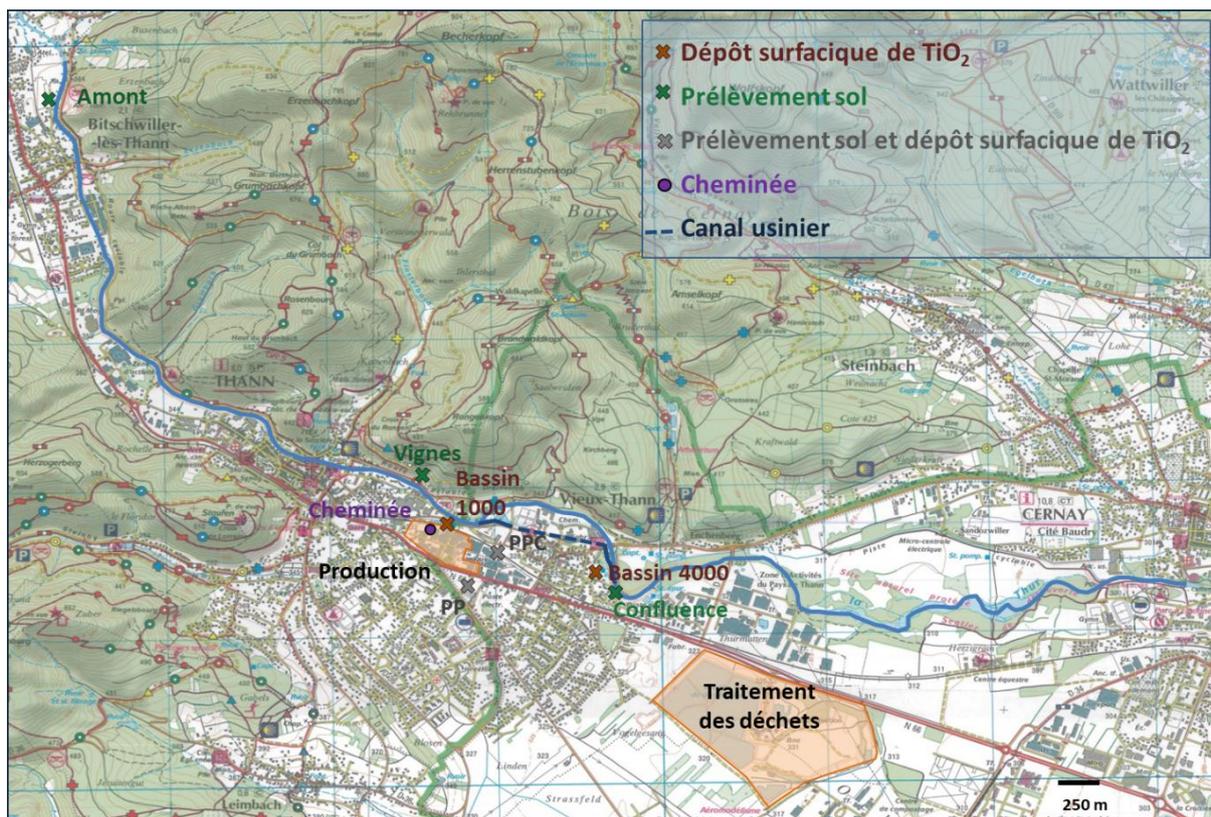


Figure 66 : Emplacements des prélèvements de sol et des dépôts surfaciques de TiO_2 des jauges de retombées

Le diamètre de l'ouverture de la jauge étant connu, il est possible de déterminer un dépôt surfacique du dioxyde de titane total par unité de temps et de surface ($\mu g/m^2/jour$) pour chaque point de prélèvement de la campagne 2018 (Tab. 18).

Tableau 18: Dépôts surfaciques de TiO_2 des jauges de retombées pour la campagne 2018 ($\mu g/m^2/jour$)

Emplacement des jauges de retombées	Dépôts surfaciques de NPs TiO_2 ($\mu g/m^2/jour$) en 2018
Bassin 1000	282
Bassin 4000	90
PP	225
PPC	152

L'analyse par ICP-AES des dépôts ne permet pas de déterminer la nature exacte du titane dans les dépôts surfaciques, c'est-à-dire si ce titane est anthropique/naturel ou s'il est

micrométrique/nanométrique. Dans cette étude, ces dépôts sont considérés comme étant composés à 100 % de NPs TiO₂ afin d'éviter de sous-estimer leur concentration et de considérer le cas le plus dommageable pour l'environnement.

Ces valeurs des dépôts surfaciques de NPs TiO₂ sont rapportées à la surface du sol considérée qui est de 100 m², afin d'obtenir une émission de nanoparticules de l'air au sol (*Tab. 19*).

Tableau 19 : Variation de masse des NPs TiO₂ au sol en 2018 (mg/jour)

Emplacement des jauges de retombées	ΔM : Variation de masse des NPs TiO₂ (mg/jour) en 2018
Bassin 1000	28,2
Bassin 4000	9,0
PP	22,5
PPC	15,2

2.3. Résultats

Les facteurs de devenir des points d'échantillonnages Vignes, Confluence, PP et PPC ont été déterminés (*Tab. 20 et Fig. 67*). La moyenne des quatre valeurs obtenues a été calculée et se définit comme étant le facteur de devenir des NPs TiO₂ dans le sol spécifique au site d'étude de Thann.

Tableau 20 : Facteurs de devenir (années) des NPs TiO₂ des différents points d'échantillonnages de sol

Echantillons de sol	Facteurs de devenir (années)
Vignes	950
Confluence	5668
PP	9721
PPC	17666
FF NPs TiO₂ (moyenne)	8501

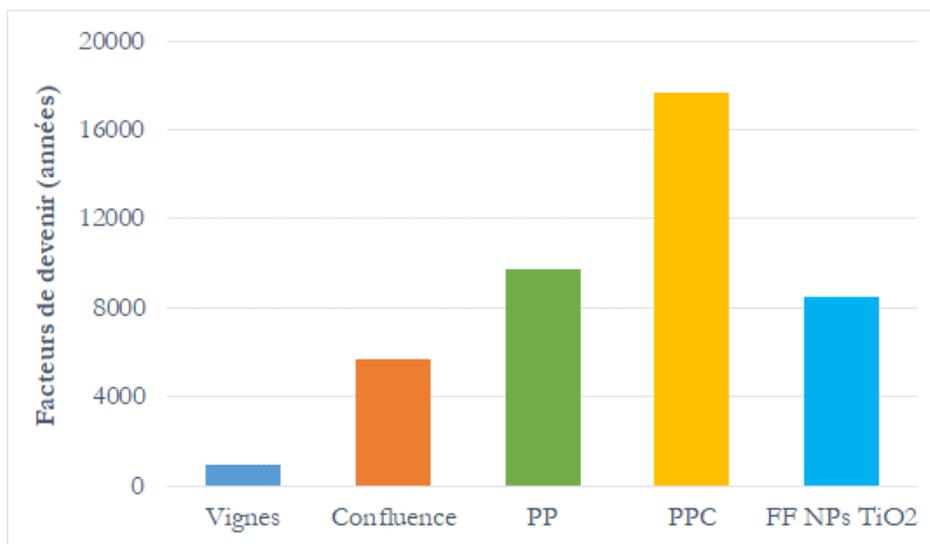


Figure 67 : Facteurs de devenir des NPs TiO₂ (années) à chaque point d'échantillonnage et spécifique au site d'étude de Thann

La valeur du facteur de devenir spécifique (FFs) des NPs TiO₂ pour l'impact sur l'écosystème terrestre du site d'étude de Thann est de 8501 années.

2.4. Interprétation et conclusions

Les facteurs de devenir diffèrent suivant les points d'échantillonnages et varient de 950 ans pour le point Vignes et 17666 ans pour le point PPC.

La densité des sols comprise entre 2150 et 2530 kg/m³ varie très peu d'un point à l'autre, c'est pourquoi la différence observée entre tous les facteurs de devenir s'explique principalement par la variation des deux paramètres ΔC et ΔM .

En effet, si on compare la concentration en NPs TiO₂ calculée (ΔC), elle n'est que de 193 mg/kg aux Vignes contre 2043 mg/kg au point PPC et contribue ainsi à augmenter de manière significative le facteur de devenir du point PPC.

La différence entre les valeurs des dépôts surfaciques entre les points Vignes et PPC (ΔM) est également à prendre à compte dans l'explication des résultats. Une valeur plus élevée est obtenue pour le point Vignes - Bassin 1000 (282 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{jour}$) comparé au point PPC (152

$\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{jour}$). Nous pouvons émettre l'hypothèse que le dépôt surfacique au point Vignes est surestimé par rapport à ce qui se dépose réellement au sol du fait du positionnement de la jauge (Bassin 1000) au pied de la cheminée du site de production. Une valeur plus faible en dépôt surfacique au point Vignes contribuerait ainsi à augmenter le facteur de devenir actuel calculé à 950 ans.

Ce facteur de devenir spécifique (FFs) revêt plusieurs types d'incertitudes : la concentration dans le sol en NPs TiO_2 n'est qu'une estimation effectuée par rapport à un point de référence (Amont) considéré comme le fond géochimique dans cette étude. Bien que le chapitre 3 ait permis de mettre en évidence la présence de NPs TiO_2 manufacturées dans le sol aux points Vignes et Confluence, leur concentration exacte n'est pas encore connue. Ceci est dû à la difficulté de faire la distinction entre le TiO_2 naturel, le TiO_2 anthropique et le TiO_2 anthropique nanoparticulaire. Cette étude ayant émis l'hypothèse que la différence entre le fond géochimique et les autres points d'échantillonnages correspond à 100 % de NPs TiO_2 , il est possible que les concentrations estimées soient en réalité inférieures à celles déterminées, ce qui contribuerait à diminuer la valeur du FFs. Les concentrations des dépôts surfaciques des jauges de retombées ne sont certainement pas constituées à 100 % de NPs TiO_2 , car elles peuvent contenir du TiO_2 micrométrique en provenance de l'usine. S'il était possible de déterminer la part exacte de nanoparticules de TiO_2 contenue dans les jauges, la concentration serait diminuée et induirait une augmentation du FFs. Enfin, la répartition des dépôts de TiO_2 émis par la cheminée à la surface du sol (100 m^2) constitue la dernière incertitude. En effet, l'hypothèse a été faite d'une répartition uniforme des dépôts de nanoparticules au sol à partir des données de la jauge, sans tenir compte du comportement d'agrégation des NPs TiO_2 .

Une autre étude s'est intéressée au calcul du facteur de devenir des NPs TiO_2 dans les sols (Salieri *et al.* 2018). La méthode USEtox et SimpleBox4Nano ont été combinées afin de déterminer par modélisation des facteurs de devenir pour les NPs TiO_2 dans les différents compartiments environnementaux à une échelle continentale. Le facteur de devenir (FFg) concernant une émission de NPs TiO_2 dans l'air pour un dépôt au sol est de 49 719 jours soit environ 136 ans. Les émissions prises en compte dans l'étude de Salieri *et al.* 2018 proviennent de plusieurs sources et ne considèrent pas uniquement une émission provenant d'un site de production de nanoparticules. De plus, la concentration de NPs TiO_2 à l'émission a été fixée à $1000 \text{ g}/\text{jour}$, alors que la moyenne des ΔM utilisés dans cette étude est de $187,25 \text{ mg}/\text{jour}$.

La différence observée (facteur 60) entre le facteur de devenir des NPs TiO_2 à l'échelle de site spécifique (FFs) et celui à l'échelle continentale (FFg) pose la question de la pertinence des méthodes de calculs et des modèles utilisés dans le cas de polluants émergents.

Cette différence ferait-elle apparaître une possible sous-estimation du FFg déterminé par Salieri *et al.* 2018, mettant en évidence les faiblesses des méthodes de détermination du facteur de devenir par modélisation à une échelle globale ?

A l'échelle de site spécifique, les valeurs du facteur de devenir montrent une hétérogénéité entre des points d'échantillonnages situés à quelques centaines de mètres l'un de l'autre. Cette constatation ne permet-elle pas une remise en cause des échelles utilisées dans les méthodes de modélisation globales ? Les études ne devraient-elles pas préférentiellement se situer à des échelles de site spécifique, afin de pouvoir réellement mettre en évidence un impact sur une zone définie suite à une émission de nanoparticules ?

3. Détermination d'un facteur d'effet des NPs TiO₂ pour les espèces de l'écosystème terrestre

3.1. Introduction

Dans l'évaluation d'impact du cycle de vie (EICV), le facteur d'effet se détermine par différentes méthodes :

1) la PNEC (Predicted No-Effect Concentration), qui se décrit comme étant la concentration la plus élevée d'une substance sans risque pour l'environnement. Il est possible de l'estimer en se basant sur les espèces les plus sensibles de l'écosystème : elle est développée dans Environmental Development of Industrial Products (EDIP) (Stranddorf *et al.* 2003 ; Stranddorf *et al.* 2005) qui est une méthode de calcul des facteurs de caractérisation dans les analyses du cycle de vie (ACV), mise au point par l'Institut de développement des produits (IPU) de l'Université Technique du Danemark.

2) La PNEC peut également être estimée en calculant une HC_{5NOEC} qui représente la concentration en polluant pour laquelle 5 % des organismes sont affectés. Elle est développée dans Uniform System for the Evaluation of substances - Life Cycle Assessment (USES-LCA), méthode développée pour l'évaluation des impacts en ACV en provenance des Pays-Bas, fournissant des facteurs de caractérisations pour 181 pesticides (Huijbregts *et al.* 2000 ; Van Zelm *et al.* 2009).

3) D'autres méthodes de calcul du facteur d'effet utilisent une approche basée sur le PAF, (Potential Affected Species) qui constitue la fraction d'espèce dans un écosystème qui sera affectée par un effet suite à une exposition à un polluant. Elles se basent sur l'utilisation d'une méthode SSD (Species Sensitivity Distribution) qui consiste à extrapoler statistiquement des données toxicologiques en admettant qu'elles suivent une loi de distribution⁶ connue (loi triangulaire, loi normale, loi logistique...). Il existe plusieurs types de méthodes d'ACV utilisant le PAF, dont la plupart se basent sur la détermination d'une HC₅₀ qui représente cette fois-ci la concentration en polluant pour laquelle 50 % des organismes sont affectés. C'est le cas

⁶ En probabilité, une loi de distribution permet de décrire le caractère aléatoire d'une expérience. Chaque loi possède ses propres paramètres à déterminer (par exemple, pour la loi normale les deux paramètres sont la moyenne (μ) et la variance (σ)).

d'Assessment for the Mean Impact (A.M.I) (Payet, 2004), méthode d'évaluation des impacts des substances toxiques sur les écosystèmes aquatiques ou encore la méthode USEtox (Rosenbaum *et al.* 2008).

3.1.1. Approche du facteur d'effet par la détermination de la PNEC sur les espèces les plus sensibles

La PNEC est calculée grâce à des tests toxicologiques effectués sur plusieurs espèces à des niveaux trophiques différents. De manière générale, elle traduit l'effet qui sera observé aux concentrations en polluant les plus faibles sur les espèces les plus sensibles de l'écosystème. En cas d'absence de données, il est possible de déterminer la PNEC par l'utilisation d'une EC₅₀ ou de la NOEC la plus faible à laquelle on applique un facteur de sécurité (Tab. 21). Il est compris généralement entre 10 et 1000, suivant la disponibilité des données et leur degré d'incertitude (Commission Européenne, 2003).

Tableau 21 : Facteurs de sécurité pour la dérivation de la PNEC (Commission Européenne, 2003)

Informations minimum nécessaires	Facteurs de sécurité
Une LC ₅₀ _{aiguë} ou EC ₅₀ _{aiguë} de chaque niveau trophique différent	1000
Une NOEC _{chronique} pour un seul niveau trophique	100
Deux NOEC _{chronique} pour deux niveaux trophiques différents	50
Trois NOEC _{chronique} pour trois niveaux trophiques différents	10

Les données concernant l'écosystème terrestre et les sédiments sont beaucoup plus rares, c'est pourquoi en leur absence, une estimation est effectuée par rapport à la PNEC aquatique (Hauschild *et al.* 2002). Elle est déterminée en utilisant le coefficient d'adsorption K_{sol-eau} ou K_{séd-eau} ainsi que la densité du sol ou du sédiment (Eq. 11) :

$$PNEC_{sol} = \frac{K_{sol-eau}}{Densité_{sol}} * PNEC_{eau} \quad (Eq. 11)$$

Le facteur d'effet se détermine ensuite par l'utilisation de la PNEC et du paramètre « 1 » qui représente les 100 % d'espèces (Eq. 12) :

$$EF = \frac{1}{PNEC} \quad (Eq. 12)$$

Le calcul du facteur d'effet par l'utilisation de la PNEC sur les espèces les plus sensibles reste cependant discutable car les tests en laboratoire ne reflètent pas toujours la réalité d'un milieu environnemental donné. En effet, différents paramètres peuvent affecter la sensibilité des espèces vis à vis d'un polluant tels que les paramètres physico-chimiques du milieu, la présence ou l'absence d'autres espèces vivantes, le degré de pollution...

De plus, il a été démontré que cette méthode de détermination de la PNEC était extrêmement dépendante du nombre de données disponibles (Chapman *et al.* 2015) mais également des espèces testées, et qu'il était possible de faire varier cette concentration d'un ou deux ordres de grandeur (Henderson *et al.* 2011).

3.1.2. Approche du facteur d'effet par la détermination d'une HC₅NOEC

Dans le cas où davantage de données sont disponibles, il est possible de calculer une HC₅NOEC en utilisant la méthode SSD. Elle suppose que pour chaque polluant, les valeurs des EC₅₀ ou de NOEC pour une espèce sont décrites comme étant des variables aléatoires, caractérisées par un modèle de probabilité dont les paramètres sont à déterminer (De Zwart, 2002). Cette méthode nécessite des données écotoxicologiques pour au minimum 4 groupes taxonomiques différents - Fig. 68 (Haye *et al.* 2007).

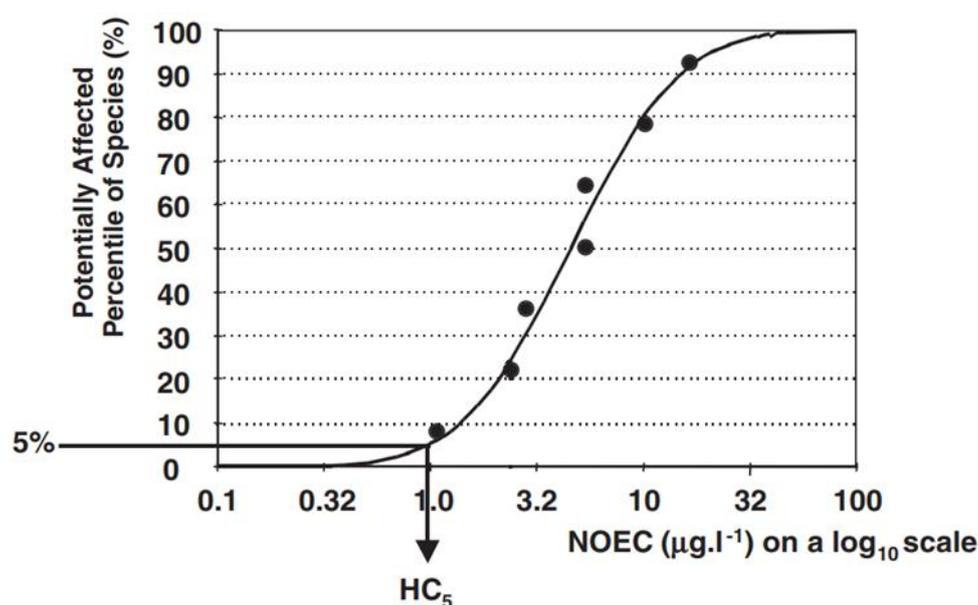


Figure 68 : Calcul d'une HC₅ par la méthode SSD (De Zwart, 2002)

Suite à la détermination du HC₅, il est alors possible de calculer un facteur d'effet en utilisant la fraction des espèces potentiellement affectée, fixée à 5 % (Eq. 13) :

$$EF = \frac{0,05}{HC5_{NOEC}} \quad (Eq. 13)$$

Ce HC_{5NOEC} étant considéré comme une PNEC (Larsen *et al.* 2007), le facteur d'effet peut également s'écrire par (Eq. 14) :

$$EF = \frac{0,05}{PNEC} \quad (Eq. 14)$$

Les incertitudes sur le facteur d'effet par la détermination du HC_{5NOEC} restent cependant relativement importantes, surtout lorsque peu de données sont utilisées (Payet, 2004).

3.1.3. Approche du facteur d'effet par la méthode HC₅₀

Cette méthode utilise également la détermination par SSD mais prend en compte les EC₅₀ comme valeurs écotoxicologiques de référence. Elles sont relativement stables, plus représentatives des conditions environnementales réelles (Pennington *et al.* 2004) et sont également mieux représentées dans les études de toxicité comparées aux LOEC et NOEC. De plus, une exposition chronique est également favorisée dans la méthode HC₅₀, celle-ci étant plus représentative de ce qui se passe réellement dans l'environnement. Elle nécessite cependant des données établies sur au minimum 3 niveaux trophiques différents (par exemple : poissons – crustacés – algues). C'est pourquoi, des règles de base ont été établies dans la méthode A.M.I et reprises dans la méthode USEtox, afin de déterminer à partir de quel temps d'exposition un test de toxicité est considéré comme étant aigu ou chronique. Elles sont visibles dans le tableau 22 :

Tableau 22 : Type de toxicité en fonction des espèces animales et végétales (Payet, 2004)

	Toxicité aiguë	Toxicité sub-chronique	Toxicité chronique
Vertébrés	< 7 jours	≥ 7 jours, < 32 jours	≥ 32 jours
Invertébrés	< 7 jours	≥ 7 jours, < 21 jours	≥ 21 jours
Plantes	< 7 jours	-	≥ 7 jours
Algues	< 3 jours	-	≥ 3 jours

Cependant, les valeurs d'EC₅₀ nécessaires au calcul de la HC₅₀ ne sont pas toujours disponibles, c'est pourquoi dans la méthode A.M.I, des coefficients d'extrapolation de NOEC et LOEC en EC₅₀ ont été créés. Ils ont été évalués à l'aide de trois comparaisons statistiques entre le logarithme des différentes concentrations des valeurs de références. Ces trois comparaisons statistiques sont : 1) les EC₅₀_{aigüe} avec les NOEC_{aigüe} (Fig. 69), 2) les EC₅₀_{chronique} avec les NOEC_{chronique}, et 3) les EC₅₀ avec les LOEC, quel que soit le temps d'exposition.

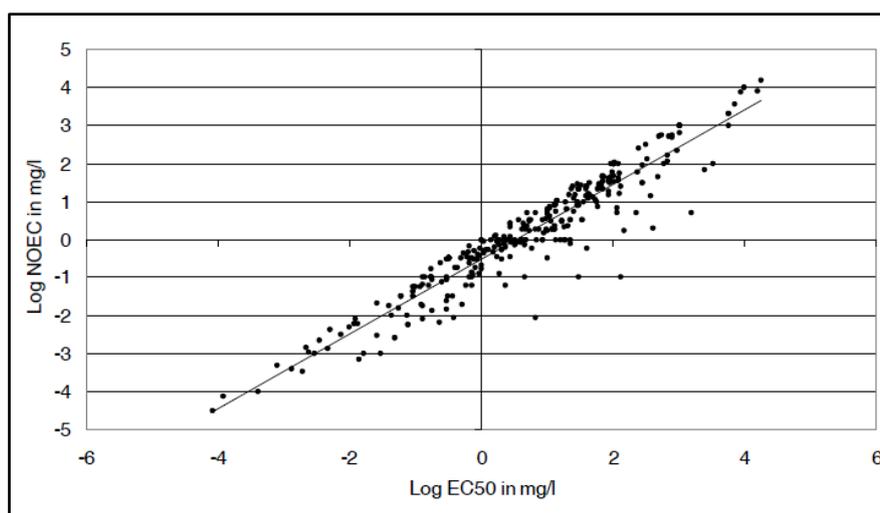


Figure 69 : Comparaison entre les EC₅₀_{aigüe} et les NOEC_{aigüe} (Payet, 2004)

Les données utilisées par Payet, 2004 ont été prélevées dans trois bases de données différentes (ECETOC 1993 ; EU-Commission 2000 ; US-EPA 2001) et concernent des tests de toxicité de 92 substances inorganiques et organiques sur de nombreuses espèces animales et végétales. Des corrélations ont été observées dans les trois différents cas, permettant la détermination de ratios afin de convertir des valeurs de LOEC et NOEC en EC₅₀ (Tab. 23).

Tableau 23 : Facteurs de conversion des NOEC et LOEC en EC₅₀ (Payet, 2004)

Extrapolation	Ratios
<i>EC₅₀/LOEC</i>	2,1
<i>EC₅₀_{aigüe}/NOEC_{aigüe}</i>	3,3
<i>EC₅₀_{chronique}/NOEC_{chronique}</i>	4,8

La méthode de détermination de l'EF par le calcul de la HC₅₀ nécessite également des données issues de tests toxicologiques chroniques, qui sont parfois peu nombreuses. Pour remédier à ce manque, des ratios « aigu-chronique » (ACR) ont été développés afin de pouvoir déduire des EC₅₀ chroniques par rapport aux EC₅₀ aiguës (Tab. 24). Ils diffèrent en fonction du polluant étudié. Initialement, les ACR pour les composés organiques, inorganiques et les pesticides ont été déterminés dans la méthode A.M.I (Payet, 2004) en utilisant également une régression linéaire entre les logarithmes des EC₅₀ aiguës et les EC₅₀ chroniques.

Tableau 24 : ACR estimés pour l'extrapolation de données de toxicité aiguë en chronique (Payet, 2004)

Composés	ACR
<i>Organiques</i>	1,9
<i>Inorganiques</i>	2,8
<i>Pesticides</i>	2,2

D'autres ratios ont été déterminés de manière similaire à l'étude de Payet, 2004 pour 14 composés inorganiques en faisant une distinction entre les études de toxicité menées sur les crustacés et celles sur les poissons (Tab. 25) :

Tableau 25 : Calcul des ACR de 14 métaux pour les crustacés et les poissons (Dong et al. 2014)

Métaux	ACR Crustacés	ACR Poissons
Al	5.10	30.85
Ba	11.31	26.15
Be	18.88	0.25
Cd	7.36	20.72
Co	22.54	28.36
Cr	24.50	X
Cs	32.76	X
Cu	0.60	3.66
Fe(II)	4.34	X
Fe(III)	1.06	X
Mn	2.75	17.64
Ni	7.19	14.58
Pb	7.99	36.90
Sr	2.32	X
Zn	3.38	6.16
ACR trophique	10.14	18.53

X : ACR non disponible dû au manque de données

La méthode USEtox a fixé ses ACR suivant la méthode A.M.I et les travaux de Dong *et al.* 2014 et utilise un ACR de 2 (issu des travaux de Payet, 2004) pour tous les composés organiques et à tous les niveaux trophiques. Pour les métaux, USEtox utilise des ACR de 20, 10 et 15 pour les poissons, les crustacés et les autres espèces respectivement (Eq. 15, 16 et 17) :

$$EC50_{\text{chronique}} (\text{poissons}) = EC50_{\text{aigüe}}/20 \text{ (Eq. 15)}$$

$$EC50_{\text{chronique}} (\text{crustacés}) = EC50_{\text{aigüe}}/10 \text{ (Eq. 16)}$$

$$EC50_{\text{chronique}} (\text{autre niveau trophique}) = EC50_{\text{aigüe}}/15 \text{ (Eq. 17)}$$

Après la détermination des EC_{50} chroniques, il est nécessaire de calculer une HC_{50} qui représente la moyenne géométrique des EC_{50} chroniques de toutes les espèces des différents niveaux trophiques. Elle se calcule par l'équation suivante (USEtox 2.0 documentation, 2017) (Eq. 18) :

$$HC_{50} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n EC_{50,i}} = 10^{\left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log_{10} \left(\frac{EC_{50,i}}{1000} \right)\right]} \quad (Eq. 18)$$

HC₅₀ : moyenne géométrique des EC₅₀ chroniques (kg.m⁻³)

EC_{50,i} : concentration à laquelle 50 % des organismes i sont affectés par un effet (mg.L⁻¹)

1000 : facteur de conversion de mg/L en g/L (mg.g⁻¹)

Le facteur d'effet d'une substance pour l'écotoxicité aquatique se calcule de manière similaire à celui utilisé dans la méthode USEtox en utilisant la fraction des espèces potentiellement affectées (PAF) fixée à 0,5 sur la moyenne géométrique HC₅₀ des EC₅₀ (Eq. 19).

$$EF = \frac{0,5}{HC_{50} EC_{50}} \quad (Eq. 19)$$

Les effets pouvant être pris en compte dans le calcul du facteur d'effet sont la mortalité, la réduction de la taille et la mobilité des organismes, les modifications génétiques, comportementales ou la reproduction (Hauschild, 2015).

L'approche par la HC₅₀ n'est établie que pour l'écotoxicité aquatique dans les méthodes A.M.I et USEtox. De plus, les méthodes utilisant cette approche évaluent l'écotoxicité terrestre en estimant le facteur d'effet par extrapolation soit, de la PNEC_{eau} en PNEC_{sol} (Eq. 11), soit des HC₅₀_{aquatique} en HC₅₀_{terrestre} (cf. la méthode Impact 2002+ de Jolliet *et al.* 2003). Cette dernière estime la HC₅₀_{terrestre} en utilisant le coefficient d'absorption K de la substance (m³/kg), la densité du sol ρ (kg/m³) ainsi que la fraction f de l'eau interstitielle par rapport au sol (Eq. 20).

$$HC_{50,sol} = HC_{50,eau} (K \times \rho + f) \quad (Eq. 20)$$

Cependant, ces extrapolations sont plus qu'incertaines et ont même été décrites comme n'étant pas appropriées pour estimer un facteur d'effet sur l'écotoxicité terrestre (Van Beelen *et al.* 2003).

Une autre étude a permis de mettre au point des facteurs d'effets sur l'écosystème terrestre pour différents métaux en se basant sur la méthode du calcul de la HC₅₀ (Haye *et al.* 2007), et en démontrant que la détermination de la HC₅₀ semble être le moyen le plus approprié afin de déterminer des facteurs d'effet pour l'écotoxicité terrestre.

Actuellement, aucun facteur d'effet des NPs TiO_2 pour l'écotoxicité terrestre n'a été développé. Ce travail a pour objectif de le déterminer en utilisant l'approche par le calcul de la HC_{50} mais également en s'inspirant des méthodes USEtox et A.M.I pour les extrapolations concernant les valeurs de références (LOEC/NOEC en EC_{50} et toxicité aigüe en toxique).

Pour ce faire, cette étude nécessite en premier lieu des recherches bibliographiques concernant les tests de toxicité sur des espèces vivant dans le sol. Elles ont été menées à l'aide de divers mots clés : « soil » et « toxicity » et « nanoparticles » et « TiO_2 » ou « terrestrial ecosystem » et « toxicity » et « TiO_2 » et « nanoparticles ». Cette recherche a permis de mettre en évidence des centaines d'articles scientifiques, dont seulement 39 d'entre eux concernaient réellement la toxicité des NPs TiO_2 sur les espèces animales de l'écosystème terrestre.

Parmi ces espèces, il existe actuellement des études de toxicité effectuées sur le cloporte rugueux (*Porcellio scaber*), plusieurs espèces de vers de terre (*Lumbricina*), le nématode (*Caenorhabditis elegans*) ainsi que sur les communautés bactériennes du sol.

L'objectif de cette étape est à la fois de pouvoir mettre en évidence les effets des NPs TiO_2 sur les organismes de l'écosystème terrestre mais également les paramètres qui vont influencer leur toxicité. Il s'agit également de pouvoir sélectionner les différentes espèces qui seront incluses dans la chaîne trophique nécessaire au calcul du facteur d'effet.

3.2. Etude bibliographique de la toxicité des NPs TiO_2 sur les espèces de l'écosystème terrestre

3.2.1. Le cloporte rugueux (*Porcellio scaber*)

Le cloporte rugueux est un isopode terrestre possédant un corps ovale en général gris atteignant jusqu'à 2 cm de long (Fig. 70). Cet organisme préfère un environnement froid et humide afin de limiter au maximum la dessiccation, c'est pourquoi on le trouve principalement sous les pierres, les écorces d'arbres morts mais également dans la litière des feuilles (Vandel, 1962). Cette espèce est également lucifuge, son activité se fait donc principalement la nuit où elle va se nourrir de matières végétales en décomposition (et ainsi participer à la biodégradation de la matière organique) mais également des bactéries et des champignons du sol (Abd El-Wakeil, 2015). Cet animal compte un certain nombre de prédateurs, notamment certaines espèces d'araignées, les musaraignes, certaines espèces d'oiseaux, le mille-pattes et enfin les coléoptères terrestres (Vandel, 1960). Enfin, bien que cette espèce soit originaire d'Europe elle est ubiquitaire : elle peuple la majeure partie des régions à travers le monde (Webb, 1906).



Source : <https://natureemvilleacergyontoise.wordpress.com/2019/01/22/dans-mon-compost-le-cloporte-rugueux/>

Figure 70 : *Porcellio scaber*

De nombreux tests de toxicité sont réalisés sur le cloporte rugueux, les isopodes terrestres étant recommandés dans l'évaluation des effets écotoxicologiques de nombreux polluants, (notamment les métaux) car ils ont la capacité d'en accumuler d'importantes quantités dans leur glande digestive appelée « hépatopancréas » (Hopkin *et al.* 1986). Il a donc été proposé comme indicateur biologique de la pollution par les métaux dans les sols contaminés (Farkas *et al.* 1996).

A notre connaissance, il existe actuellement six publications concernant la toxicité des NPs TiO₂ sur *Porcellio scaber* (Annexe 12). Pour des concentrations en NPs TiO₂ allant jusqu'à 5000 µg/g de feuilles et 1000 µg/g de sol et des durées d'expositions allant jusqu'à 28 jours (Jemec *et al.* 2008 ; Drobne *et al.* 2009 ; Valant *et al.* 2012 ; Novak *et al.* 2012 ; Srpčič *et al.* 2015 ; Jemec *et al.* 2016), les résultats n'ont démontré aucun effet sur la variation de masse des organismes, sur le choix préférentiel entre une nourriture contaminée ou non, ni sur la mortalité.

D'autres effets ont également été étudiés mais qui ne dépendent pas de la concentration en NPs TiO₂. Il s'agit de l'activité des enzymes Catalase (CAT) et Glutathion S-transférase (GST) des organismes qui a été modifiée pour des temps d'exposition de 3 à 14 jours, à des concentrations de 0 à 3000 µg/g de feuilles. (Jemec *et al.* 2008 ; Drobne *et al.* 2009).

Contrairement à la toxicité des composés chimiques « classiques » qui s'exprime par des relations dose/effet, celle des nanoparticules de TiO₂ dépend essentiellement de leurs conditions d'agrégation. Drobne *et al.* 2009 ont relevé les conditions suivantes agissant sur l'agrégation des nanoparticules : la méthode d'application des NPs sur les feuilles et leur absorption dans l'estomac de l'animal contenant différentes molécules et un pH acide.

Cependant, les résultats concernant l'activité enzymatique restent encore inexpliqués à l'heure actuelle : un effet à de faibles concentrations de NPs TiO₂ (0,5 µg/g) a été observé alors que des concentrations de 2 à 2000 fois plus importantes ne présentaient aucun effet significatif par rapport au contrôle (Jemec *et al.* 2008).

Des dommages sur les cellules de la glande digestive ont également été répertoriés dans certaines publications, à des concentrations en NPs TiO₂ de 1000 µg/g et 2000 µg/g et pour des temps d'exposition de 3 à 14 jours (Valant *et al.* 2012 ; Novak *et al.* 2012 ; Srpčič *et al.* 2015). Cependant, des dommages plus importants ont été observés dans l'expérience utilisant une concentration de 1000 µg/g comparé à celle à 2000 µg/g (Novak *et al.* 2012) et une étude a noté une absence totale d'effet pour des temps d'exposition de 28 jours (Srpčič *et al.* 2015). Il n'y a par conséquent aucune relation de dose à effet et les effets observés ne semblent pas liés au temps d'exposition. Une autre interprétation possible serait que les cellules de la glande digestive du cloporte possèdent un mécanisme de réparation et peuvent ainsi retrouver une activité normale après avoir subi des dommages suite à une exposition à des composés toxiques (Novak *et al.* 2012). Cependant, l'exposition des organismes aux NPs TiO₂ à des concentrations de 0 à 5000 µg/g pendant 28 jours provoque une réduction de l'épithélium de la glande digestive ainsi qu'une diminution des lipides intracellulaires qui présentent cette fois-ci toutes les deux une relation de dose à effet (Srpčič *et al.* 2015).

Enfin, le comportement alimentaire des cloportes exposés à des NPs TiO₂ a également été étudié au cours des expériences. Deux paramètres principaux ont été calculés : le taux d'alimentation, (masse de feuilles ingérée) ainsi que l'efficacité d'assimilation de la nourriture (masse de fèces) (Eq. 21) :

$$\frac{M(\text{feuille ingérée}) - M(\text{fèces})}{M(\text{feuille ingérée})} \quad (\text{Eq. 21})$$

Les résultats concernant ces deux éléments sont très variés. Une augmentation des deux paramètres a d'abord été observée avec des NPs TiO₂ de 10 nm de forme cristalline anatase. Il en a été de même pour un mélange de nanoparticules de 40 nm présent sous deux formes cristallines (anatase et rutile), pour des concentrations inférieures ou égales à 1000 µg/g et un temps d'exposition de 14 jours (Drobne *et al.* 2009). Celle-ci a permis de mettre en évidence une possible réponse hormétique des NPs TiO₂, c'est-à-dire que ce composé aurait un effet bénéfique pour l'organisme à de faibles concentrations. Or, d'autres tests à des concentrations de NPs TiO₂ allant jusqu'à 5000 µg/g et à des temps d'exposition allant jusqu'à 28 jours n'ont

jamais permis d'observer de changement significatif (Srpčić *et al.* 2015). De plus, dans d'autres études les cloportes rugueux ont été exposés dans des conditions similaires : une concentration de 2000 µg/g de NPs TiO₂ de 10 ou 15 nm, de forme cristalline anatase à un temps d'exposition de 3 jours. Les résultats obtenus sont différents : dans deux études aucun changement significatif des deux paramètres observés n'a été obtenu (Jemec *et al.* 2008 ; Valant *et al.* 2012) alors que dans une autre expérimentation, une diminution du taux alimentaire et de l'assimilation de la nourriture étaient soulignées (Novak *et al.* 2012). Enfin, au sein de cette même étude, il a été possible d'observer à la fois une diminution et une augmentation du comportement alimentaire du cloporte rugueux pour un même temps d'exposition (14 jours) mais des concentrations en NPs TiO₂ de respectivement 2000 et 1000 µg/g.

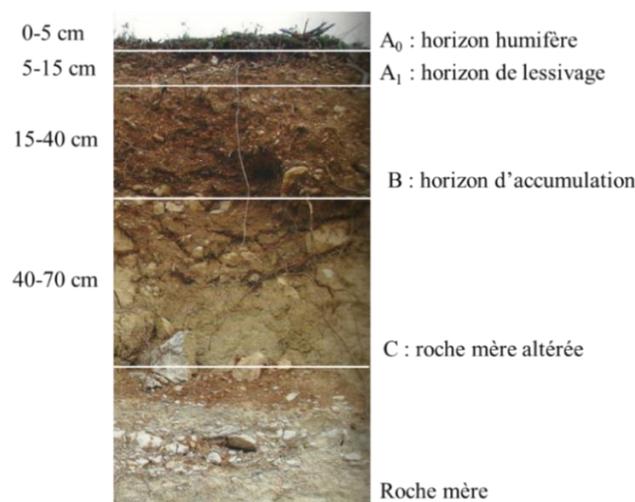
De manière générale, les effets variables sur le comportement alimentaire de *Porcellio scaber* exposé aux NPs TiO₂ sont difficiles à mettre en évidence. Tout d'abord, il est possible que le temps d'exposition et/ou la concentration en NPs TiO₂ soient trop faibles pour induire un effet durable ou que les NPs TiO₂ agissent de manière stochastique, c'est-à-dire qu'elles induisent un effet aléatoire qui ne dépend ni de la concentration ni du temps d'exposition sur les organismes.

D'autres facteurs influencent le comportement alimentaire de l'animal. Plusieurs tests ont été menés en exposant les organismes à des NPs TiO₂ enrobées (Al₂O₃ et ZrO) qui ont été ajoutées à leur nourriture et dans le sol, selon des conditions expérimentales ou réelles : soit dans une grange, soit en extérieur (Jemec *et al.* 2016). En laboratoire, aucun effet significatif n'a été observé sur le comportement alimentaire des organismes, alors qu'une diminution est constatée dans la grange (45 à 56 %) et en conditions extérieurs (38 à 40 %). Plusieurs interprétations sont possibles. Tout d'abord, certains facteurs environnementaux pourraient influencer la consommation de nourriture des organismes comme l'humidité, la température ou encore la population bactérienne. Les NPs TiO₂ pourraient également voir leur enrobage s'altérer et induire une toxicité chez ces organismes, cependant il n'est actuellement pas possible de savoir si elle proviendrait des nanoparticules elles-mêmes, de l'enrobage en Al₂O₃-ZrO ou des deux. Il est possible que dans des conditions hors laboratoire, une altération des colonies bactériennes des feuilles ait lieu, provoquant une modification du comportement alimentaire du cloporte. De plus, il peut également se nourrir directement *via* le sol. Les réserves énergétiques (protéines, lipides, glucides) de l'animal demeurant inchangées, cela ne permet pas de conclure que l'exposition des NPs TiO₂ a un effet négatif sur le comportement alimentaire de l'animal.

Bien que les NPs TiO₂ soient considérées comme toxiques pour l'animal dues aux dommages physiques de l'hépatopancréas ainsi que la modification des activités enzymatiques de la Catalase (CAT) et du Glutathion S-transférase (GST), elles n'ont aucun effet sur la mortalité des espèces. Les résultats quant au comportement alimentaire de l'animal diffèrent et ne permettent donc pas de déterminer des valeurs de référence écotoxicologiques. L'étude bibliographique de la toxicité des NPs TiO₂ sur *Porcellio scaber* ne permet donc pas de considérer cette espèce dans la chaîne trophique lors du calcul du facteur d'effet des NPs TiO₂.

3.2.2. Le ver de terre

Le ver de terre est un organisme hermaphrodite dont la taille peut varier de 2 à 45 cm et avec une durée de vie de 1 à 8 ans selon le type d'espèce. Les vers de terre sont répartis au sein de 3 groupes : les épigés, les endogés et les anéciques (Pfiffner, 2013). Les épigés se trouvent directement à la surface du sol dans la matière organique en décomposition. Certaines espèces de ce groupe sont utilisées en lombricompostage (Garg *et al.* 2006), technique qui consiste à les mettre au contact de déchets organiques solides dans le but d'accélérer leur décomposition. Les endogés sont des organismes qui vivent exclusivement dans le sol et creusent des galeries horizontales. Il en existe de nombreuses espèces dont certaines vont se trouver dans les premiers centimètres du sol, tandis que d'autres vont s'y loger plus profondément jusque dans les horizons B et C (Brown, 1995). Un profil d'un sol brun est présenté dans la figure 71 afin d'illustrer les différents horizons qui le composent.



Source de l'image non modifiée : <https://texansonlineofficialsbop.com/wp-content/uploads/2018/12/schema-de-la-coupe-du-sol-beautiful-of-schema-de-la-coupe-du-sol.jpg>

Figure 71 : Profil d'un sol brun

Enfin, les anéciques sont des organismes qui vivent la majeure partie du temps dans le sol mais reviennent parfois en surface pour se nourrir de litière. Ils creusent des galeries verticales profondes pouvant atteindre plusieurs mètres (Bouché, 1977). De manière générale, les vers de terre se nourrissent principalement de matière organique à la surface et dans le sol mais peuvent également consommer des micro-organismes comme des nématodes. (Dionísio *et al.* 2018). Ils contribuent donc à la biodégradation de la matière organique permettant de favoriser l'activité bactérienne et jouent un rôle majeur dans le cycle des nutriments du sol. De par leur mobilité, ils favorisent l'aération du sol, l'infiltration et l'écoulement de l'eau, empêchant ainsi les processus de ruissellement et d'érosion. Ils contribuent également à la croissance des plantes en permettant aux racines de s'étendre plus profondément dans le sol (Babu Ojha *et al.* 2014). Les vers de terre étant des acteurs majeurs du sol, il est important d'étudier les effets de polluants susceptibles d'impacter ces organismes (Fig. 72).



Sources : <https://www.thecanadianencyclopedia.ca/fr/article/ver-de-terre>

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eisenia_foetida_R.H._\(2\).JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eisenia_foetida_R.H._(2).JPG)

https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-795269261-minhocas-gigante-africana-eudrilus-eugeniae-_JM

Figure 72 : Différentes espèces de vers de terre (de gauche à droite : *Lumbricus terrestris*, *Eisenia fetida* et *Eudrilus eugeniae*)

A notre connaissance, douze publications ont évalué la toxicité des NPs TiO₂ sur plusieurs espèces de vers de terre (Annexe 13), dont certaines très communes comme *Lumbricus terrestris*, *Eisenia fetida*, *Eisenia hortensis* et *Eisenia andrei* qui sont des vers de terre épigés. Enfin, d'autres expérimentations ont utilisé des vers de terre plus exotiques comme *Pheretima hanayana* et *Eudrilus eugeniae* qui sont propres à certaines régions du globe (Nord et Ouest de l'Afrique) mais également *Enchytraeus crypticus*, une espèce dont l'existence à l'état naturel est controversée car elle a été découverte dans des cultures de vers de terre ainsi que dans des composts.

Deux études présentent un effet de mortalité lié aux nanoparticules de dioxyde de titane. En effet, au contact d'une suspension de NPs TiO₂ (9 nm, anatase, enrobées d'acétate) à 0,3 mg/L,

plus de 80 % des organismes ne survivent au-delà de 5 jours. Cependant, cette mortalité n'est pas directement causée par les nanoparticules mais par leur enrobage d'acétate ; un cas similaire a été observé en utilisant uniquement de l'acétate dans une expérience de contrôle (Gomes *et al.* 2015). Une mortalité évaluée sur 24 heures a également été observée sur des vers de terre avec des NPs TiO₂ (20 - 40 nm) dès 10 mg/kg de sol (13 % de perte des organismes). Une augmentation de celle-ci a également été constatée lorsque la concentration en nanoparticules devenait plus importante, jusqu'à atteindre une perte de 93 % des individus à 400 mg/kg (Khalil *et al.* 2015). Une LC₅₀ de 145,36 mg/kg a pu ainsi être déterminée.

Une autre publication a observé des modifications de l'activité enzymatique, de la bioaccumulation et des dommages sur l'ADN dès 1 g/kg, mais également des dommages sur les mitochondries à 5 g/kg après une exposition de 7 jours (Hu *et al.* 2010). Ces expérimentations ont permis de déterminer une NOEC à 500 mg/kg et une LOEC à 1 g/kg.

Une modification de l'activité enzymatique et une peroxydation des lipides ont également été observées dès 10 µg/kg à une exposition égale et supérieure à 3 jours (Khalil *et al.* 2015). Les NPs TiO₂ provoquent un stress oxydatif sur les organismes et ces derniers ont également besoin de davantage d'énergie sous l'effet du stress, compte tenu de la diminution des réserves énergétiques détectée à partir de 14 jours, dès 50 µg/kg. Enfin, Whitfield Åslund *et al.* 2012 ont également constaté une augmentation de 15 à 70 % des acides aminés protéinogènes de l'animal au contact d'un sol contaminé à 200 mg/kg en NPs TiO₂ (Anatase - 5 nm).

D'autres effets ont été observés après mise en contact de vers avec une suspension de NPs TiO₂ (bâtonnets de 10 X 50 nm enrobées de Al(OH)₃ et de PolyDiMéthylSiloxane - PDMS). A un temps d'exposition de 24 heures, des modifications sur l'activité enzymatique, de la bioaccumulation de NPs dans l'organisme ainsi qu'une augmentation de l'apoptose⁷ ont été détectées dès 10 mg/L. De plus, une baisse de la phagocytose⁸ dès 0,1 mg/L a également été relevée (Bigorgne *et al.* 2011). Des résultats similaires ont été obtenus avec le même type de

⁷ L'apoptose (ou mort cellulaire programmée) est un mécanisme par lequel des cellules vont se donner la mort suite à un signal.

⁸ La phagocytose est une réponse immunitaire de cellules nommées phagocytes, capable d'ingérer des éléments comme des micro-organismes ou des débris cellulaires et de les détruire.

nanoparticules mais pour une concentration à 100 mg/L et un temps d'exposition de 7 jours (Lapied *et al.* 2011).

Tous ces paramètres⁹ sont directement impactés par la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) induisant un stress oxydatif de l'organisme. De plus, ils peuvent être considérés comme des biomarqueurs sensibles aux effets des NPs TiO₂ car leurs modifications peuvent induire à long terme des perturbations sur d'autres facteurs physiologiques, comme la taille des organismes, leur comportement ou encore leur reproduction.

En effet, des études ont reporté des modifications concernant la reproduction. Au contact de NPs TiO₂ (21 nm, 73 % anatase/27 % rutile), une baisse d'éclosion des cocons (25 %) ainsi qu'une baisse de la production de juvénile (50 %) ont été observées (Heckmann *et al.* 2011). Une autre publication a également mis en évidence une baisse de la production des cocons au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration en NPs TiO₂ mais de manière non significative par rapport au contrôle (Cañas *et al.* 2011). D'importantes baisses de la prolifération des organismes (de 8 à 73 %) ont également été observées pour divers types de NPs TiO₂ dont les plus importantes (63 à 73 %) ont été enregistrées pour des NPs TiO₂ de 5 nm dopées au Cérium (Priyanka *et al.* 2018). De plus, les NPs TiO₂ (8 à 21 nm, anatase, rutile ou un mélange des deux) ont une influence sur le cycle circannuel des vers de terre (Schlich *et al.* 2012 ; Hund-Rinke *et al.* 2012). Son inhibition a été mis en évidence et résulte en une augmentation de la reproduction comparée à l'expérience de contrôle (de 5 à 57 % en fonction du type de NPs TiO₂ et du mode d'administration).

Enfin, à une concentration supérieure ou égale à 1000 mg/kg, les vers de terre ont tendance à éviter le sol contaminé en nanoparticules (McShane *et al.* 2012).

De manière générale, le stress oxydatif provoqué par la génération de ROS semble être le facteur majeur dans la toxicité des NPs TiO₂. Cette toxicité se manifeste par des effets directs sur les organismes comme la mortalité, des modifications sur la reproduction et un changement de comportement de l'animal capable de détecter un sol contaminé et de le fuir. D'autres effets plus subtils ont été détectés comme des modifications sur le métabolisme (activité enzymatique,

⁹ Les paramètres sont : la mortalité, l'activité enzymatique, la peroxydation des lipides, les acides aminés protéinogènes, les réserves énergétiques, la bioaccumulation, les dommages sur l'ADN et les mitochondries, l'apoptose et la phagocytose.

acides aminés et réserves énergétiques de l'animal), sur l'ADN et les mitochondries, sur une inhibition de leur cycle circannuel, ainsi que des effets concernant l'apoptose et la phagocytose.

Les mécanismes d'action détaillés ne sont pas encore bien mis en évidence, cependant il est déjà possible de lister les paramètres régissant la toxicité des NPs TiO₂ sur les vers de terre. En ce qui concerne les NPs TiO₂, la taille, la nature (enrobée ou non), la forme cristalline (anatase et/ou rutile) et la concentration semblent être des paramètres influents. D'autres paramètres comme le mode d'administration (eau/sol/nourriture), l'espèce de vers, le temps d'exposition ainsi que le milieu d'exposition (teneur en matière organique et en argiles, UV, pH) ont également une influence lors des expériences.

L'étude bibliographique des vers de terre présente des valeurs de référence (NOEC, EC₅₀ et LC₅₀) qui peuvent être utilisées dans le calcul du facteur d'effet. Les données disponibles sur le ver de terre étant jugées suffisantes, celui-ci a donc été choisi comme premier organisme de la chaîne trophique pour la détermination du facteur d'effet des NPs TiO₂.

3.2.3. *Caenorhabditis elegans*

Caenorhabditis elegans est un nématode libre et hermaphrodite d'environ 1 mm de long qui se nourrit de bactéries et se trouve dans l'eau interstitielle du sol, où il joue un rôle essentiel dans le cycle des nutriments. Il est également présent dans les milieux aquatiques et sédimentaires (Neher, 2001). Cet animal a été proposé comme modèle biologique afin d'étudier sa génétique et de déterminer la structure complète de son système nerveux (Brenner, 1974). Il possède un corps translucide qui permet de pouvoir observer son processus de développement et son comportement au microscope (Fig. 73). En 1998, cet organisme multicellulaire est le premier à avoir son génome intégralement séquencé (The C. elegans Sequencing Consortium, 1998). Ce dernier possède un niveau élevé de similitudes avec les vertébrés dont 60 à 80 % seraient similaires à l'Homme (Kaletta *et al.* 2006).



Source : <https://arstechnica.com/science/2017/05/worm-moms-pumps-eggs-full-of-toxin-demand-they-inherit-an-antidote/>

Figure 73 : *Caenorhabditis elegans*

Cet organisme est le modèle le plus étudié à ce jour. Ceci est dû à sa sensibilité aux produits xénobiotiques, son passage à l'âge adulte extrêmement rapide de 3,5 jours, sa durée de vie courte d'environ 2 à 3 semaines et à sa capacité à générer des centaines d'organismes par boîte de pétri. Il est donc abondamment utilisé dans les tests écotoxicologiques des polluants des sols (Leung *et al.* 2008).

Il existe à ce jour douze études de toxicité des NPs TiO₂ sur ce nématode (*Annexe 14*). Cet organisme vivant dans l'eau interstitielle du sol, les tests de toxicité sont effectués directement dans l'eau (ultra pure ou avec 0,032 M de KCl et 0,051 M de NaCl).

Tout d'abord, plusieurs articles répertorient une mortalité des espèces, donnant lieu à plusieurs LC₅₀ sur 24 heures : 80 mg/L pour des NPs TiO₂ d'anatase de 50 nm (Wang *et al.* 2009), 77 mg/L pour des NPs TiO₂ de 25 nm (Khare *et al.* 2011) et 172 mg/L pour des NPs TiO₂ de 11 nm (Sonane *et al.* 2017).

Une baisse de la reproduction a également été observée dans de nombreuses études. Tout d'abord, une diminution de 21 % des organismes a été constatée pour des NPs TiO₂ de 7 nm à 1 mg/L avec une exposition de 24 h sur des nématodes adultes (Roh *et al.* 2010). De plus, une baisse de 9 à 22 % des organismes a également été relevée après une exposition de 3,5 jours sur des nématodes au stade larvaire. Les résultats sont variables suivant les NPs TiO₂ considérées : pour des nanoparticules de faible taille (4 et 10 nm), un effet significatif a été observé dès 0,01 µg/L mais pour des nanoparticules de taille plus importante (60 et 90 nm), la concentration était de 1 µg/L (Li *et al.* 2012).

Dans certaines expérimentations concernant l'effet sur la reproduction, des NOEC et LOEC ont pu être déterminées et vont de 0,05 µg/L à 24 mg/L et de 0,5 µg/L et 47,9 mg/L respectivement (Wang *et al.* 2009 ; Wu *et al.* 2013 ; Angelstorf *et al.* 2014). Des EC₅₀ ont été également estimées et sont de 53 mg/L (Angelstorf *et al.* 2014) et inférieures à 38,5 mg/L

(Ratnasekhar *et al.* 2015). Ces résultats présentent une différence significative pouvant aller jusqu'à un facteur de 480 000 entre les différentes concentrations. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette différence. Tout d'abord, certains paramètres diffèrent entre les expérimentations, notamment le milieu utilisé (eau ultra pure ou eau avec des sels), la durée d'exposition (3,5 à 5 jours) ainsi que les nanoparticules (taille différente). De plus, l'expérimentation donnant lieu à des NOEC et LOEC élevées de 24 et 47,9 mg/L respectivement (Wang *et al.* 2009) présente déjà une diminution de la reproduction des organismes de 12 % entre l'expérience de contrôle et celle utilisant une concentration en NPs TiO₂ de 24 mg/L : elle est cependant non significative à cause d'une erreur importante sur le comptage des œufs.

La mobilité de *Caenorhabditis elegans* est également impactée par les NPs TiO₂. Les études ont permis de déterminer une NOEC à 5 ng/L et une LOEC à 50 ng/L (Wu *et al.* 2013), ainsi que des EC₅₀ allant de 0,1 à 10 µg/L (Wu *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2012).

La taille des organismes a également diminué et a permis de calculer des NOEC de 10 µg/L à 24 mg/L et des LOEC de 50 µg/L à 47,9 mg/L (Wang *et al.* 2009 ; Li *et al.* 2012 ; Wu *et al.* 2013). Ces valeurs présentent une différence importante (facteur 2400) et peut provenir des différences entre les expérimentations (nature du milieu, durée d'exposition et caractéristiques des nanoparticules).

Enfin, d'autres effets ont également été détectés, notamment une augmentation de l'autofluorescence des intestins, indiquant des dommages cellulaires dès 1 µg/L (Wu *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2012), une bioaccumulation visible dès 1 mg/L (Angelstorf *et al.* 2014), un changement dans l'expression des gènes dès 10 µg/L (Roh *et al.* 2010 ; Li *et al.* 2012 ; Rui *et al.* 2013 ; Rocheleau *et al.* 2015 ; Angelstorf *et al.* 2014) et des modifications sur les concentrations de différents métabolites dont 15 pourraient servir de biomarqueurs (Ratnasekhar *et al.* 2015). La production de ROS a également été détectée dès 1 ng/L et se trouve être significativement corrélée avec des effets sur la taille, la reproduction, la mobilité, l'autofluorescence des organismes et enfin sur la mortalité (Wu *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2012 ; Wu *et al.* 2013 ; Wu *et al.* 2014 ; Ratnasekhar *et al.* 2015).

Certaines études ont réalisé des tests comparatifs entre des nanoparticules de tailles différentes et ont démontré que les nanoparticules de plus petites tailles induisaient des effets plus toxiques que celles de tailles plus importantes. En effet, les nanoparticules de plus petites tailles

possèdent une surface spécifique élevée qui va générer un stress oxydatif plus important chez les organismes (Roh *et al.* 2010 ; Wu *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2012 ; Khare *et al.* 2011).

Cependant, si on compare cette fois-ci 3 expérimentations de publications différentes donnant des LC₅₀ qui sont de 80, 77 et 172 mg/L pour des NPs de 50, 25 et 11 nm respectivement (Wang *et al.* 2009 ; Khare *et al.* 2011 ; Sonane *et al.* 2017), on constate qu'une LC₅₀ plus élevée est obtenue pour les nanoparticules les plus petites (ce qui signifie que dans ce cas, les nanoparticules les plus petites sont moins toxiques). L'organisme étant le même dans les différentes études, cette différence pourrait s'expliquer par la nature cristallographique des nanoparticules utilisées dans les expérimentations. En effet, seule l'expérimentation avec une LC₅₀ = 80 mg/L et des NPs de 50 nm précise qu'elles sont constituées à 100 % d'anatase (Wang *et al.* 2009). Dans les deux autres publications (Khare *et al.* 2011 ; Sonane *et al.* 2017) aucune indication concernant la cristallinité n'est mentionnée. Il a cependant été prouvé que les NPs TiO₂ d'anatase sont généralement plus toxiques que celles de rutile (Johnston *et al.* 2009). Dans tous les articles sur *Caenorhabditis elegans*, seulement trois publications sur douze mentionnent la forme des NPs TiO₂, ce qui rend difficile la comparaison des résultats entre plusieurs études. Il est cependant possible de conclure que la taille et la forme des nanoparticules sont des critères majeurs à prendre en compte dans l'explication de leur toxicité.

L'agrégation est un phénomène qui a également un impact sur la toxicité des nanoparticules. En effet, une corrélation entre la dimension fractale des agrégats et l'activité photocatalytique des NPs TiO₂ a été mise en évidence, ce qui signifie que l'agrégation joue un rôle dans la production de ROS et donc sur la réactivité des nanoparticules (Hotze *et al.* 2010). Certains facteurs comme la préparation des NPs TiO₂ (concentration de la solution mère, temps de sonication...) et les paramètres physico-chimiques du milieu (pH, eau ultra pure ou avec des sels...) jouent un rôle crucial dans les phénomènes d'agrégations et sont donc capable de modifier également la toxicité des nanoparticules.

Cette étude bibliographique démontre la possibilité de prendre en compte l'espèce *Caenorhabditis elegans* dans le calcul de l'impact des NPs TiO₂ sur l'écosystème terrestre. De nombreuses valeurs de références ainsi que la constatation de nombreux effets sur les organismes sont disponibles dans les publications étudiées. *Caenorhabditis elegans* vivant exclusivement dans l'eau interstitielle du sol, cette espèce permet d'avoir un retour sur les effets des NPs TiO₂ de la solution du sol alors que les vers de terre illustrent l'effet des NPs TiO₂ en interactions avec la phase solide. Enfin, le ver transparent (*Caenorhabditis elegans*) fait partie

intégrante de la chaîne trophique du ver de terre, celui-ci se nourrissant de nématodes dans l'environnement naturel. Il constitue donc la deuxième espèce de la chaîne trophique qui sera considérée dans le calcul du facteur d'effet.

3.2.4. Les communautés bactériennes du sol

Les communautés bactériennes du sol sont définies comme étant des organismes de taille inférieure à 10 µm. Elles ont un rôle écologique fondamental dans le sol et sont caractérisées par une grande diversité et une biomasse importante, un gramme de sol pouvant contenir de 10³ à 10⁶ types différents de bactéries (Fierer *et al.* 2007). En effet, elles sont impliquées dans la régulation de la fertilité des sols et participent notamment aux cycles biogéochimiques de plusieurs éléments chimiques comme le carbone, l'azote, le phosphore ou encore l'oxygène (Falkowski *et al.* 2008). Par exemple dans le cas de l'azote, elles sont fortement impliquées dans la fixation de N₂ atmosphérique grâce à la présence de bactéries rhizosphériques qui produisent une enzyme (la nitrogénase), capable de réduire le diazote gazeux et de le transformer en ammoniac. Ce dernier peut ensuite être transformé en nitrites, puis nitrates, rendant possible son absorption par les plantes (Hayatsu *et al.* 2008). Les communautés bactériennes du sol sont également connues pour être un indicateur écologique sensible aux polluants et peuvent donc répondre à des perturbations de leur environnement (Schloter *et al.* 2003). Neuf publications ont étudié les effets des NPs TiO₂ sur les communautés bactériennes du sol (*Annexe 15*).

Tout d'abord, une diminution de l'abondance bactérienne a été démontrée lors de la mise en contact du sol avec un mélange de NPs TiO₂ (80 % anatase et 20 % rutil, 15 à 21 nm). Une première étude a observé une diminution de 40 % dès 15 jours d'exposition et jusqu'à 70 % après 60 jours à 2 g de NPs TiO₂ par kilogramme de sol (Ge *et al.* 2011). Une autre a constaté une diminution de 24 % de l'abondance bactérienne dès 1 mg de NPs TiO₂ par kilogramme de sol et jusqu'à 500 mg/kg à 90 jours d'exposition (Simonin *et al.* 2015). Ces résultats mettent en évidence le caractère non dose-dépendant des NPs TiO₂ sur l'ensemble de la communauté bactérienne. Ceci est également démontré sur un type particulier de bactéries, où l'exposition est faite à une même concentration finale (372 mg/kg) injectée en une fois ou en plusieurs fois consécutives. L'activité de nitrification ainsi que l'abondance des bactéries AOA (Ammonia-Oxidizing Archaea) et AOB (Ammonia-Oxidizing Bacteria) impliquées dans ce processus ont diminué respectivement de 9,4 ; 21,8 et 31,25 % uniquement pour le scénario à expositions successives (Simonin *et al.* 2016). Cela démontre que les bactéries impliquées dans la

nitrification ne deviennent pas plus résistantes avec le temps mais au contraire, sont plus sensibles du fait du stress engendré par les expositions répétées.

De plus, une étude a mis en évidence des différences concernant les effets des NPs TiO₂ sur certaines familles de bactéries. Il est également possible d'obtenir un effet plus important si la concentration en nanoparticules augmente. Sur un total de 145 taxons, 9 présentaient une augmentation de l'abondance, 25 une diminution et 135 aucune variation de l'abondance pour une concentration maximale de 2 g/kg et une exposition de 60 jours (Ge *et al.* 2012). Chai *et al.* 2015 ont constaté une diminution de 15 % de l'abondance d'*Azotobacter* suite à une exposition de 30 jours à 1 g/kg. Ce genre de bactéries aérobies présent en grande quantité au niveau de la rhizosphère est capable de fixer l'azote atmosphérique dans le cycle biogéochimique de ce même élément. Les NPs TiO₂, capables de jouer sur l'abondance de certains types de bactéries, peuvent avoir un impact sur certaines étapes des processus biogéochimiques.

Ge *et al.* 2013 ont étudié l'influence des NPs TiO₂ sur les paramètres du sol. Ils n'ont constaté aucun changement sur ses propriétés physico-chimiques pouvant conduire à un environnement moins favorable au développement des communautés bactériennes : celles-ci sont donc directement affectées par les nanoparticules en elles-mêmes.

Un effet sur la concentration de l'activité enzymatique du sol a également été constatée. Plusieurs études ont montré une variation de certaines enzymes par rapport à l'échantillon de contrôle telles l'uréase avec une variation de -7 à +40 %, la catalase (-40 %), la peroxydase (-70 %), la phosphatase (-58 %) et la déshydrogénase (-29 à -71 %). Ces variations sont indépendantes de la concentration en NPS TiO₂ (Xu *et al.* 2015 ; Du *et al.* 2011 ; Chai *et al.* 2015). Dans l'ensemble, les NPs TiO₂ inhibent l'activité enzymatique globale du sol. Ceci n'est pas confirmé dans le cas de l'uréase.

Ces effets sur l'abondance des communautés bactériennes et leurs activités enzymatiques peuvent majoritairement s'expliquer par la production de ROS en présence des NPs TiO₂ conduisant à un stress oxydatif des organismes et des dommages sur les membranes cellulaires (Du *et al.* 2011).

Les paramètres influençant la toxicité des NPs TiO₂ sur les communautés bactériennes sont variés et listés ci-après. Tout d'abord, la famille bactérienne considérée semble être un critère important (Ge *et al.* 2012 ; Chai *et al.* 2015 ; Simonin *et al.* 2016) et certaines études mettent en évidence l'importance de la concentration en NPs TiO₂ dans la relation dose/effet, surtout

lorsque les différents taxons des communautés bactériennes sont étudiés séparément. (Ge *et al.* 2012). Le temps d'exposition et le nombre d'épisodes de contact NPs TiO₂/bactérie sont également à prendre en compte dans l'analyse de la toxicité. Il a été observé que des expositions à des temps plus longs et répétées, génèrent des dommages plus importants sur les communautés bactériennes (Simonin *et al.* 2016 ; Ge *et al.* 2011). Enfin, des paramètres tels que le pH, la force ionique, la teneur en matière organique et en eau du sol, la quantité de CO₂ dans l'air ambiant et la préparation des nanoparticules influencent leur toxicité. La diminution des communautés bactériennes dans un sol sec a été plus importante que dans un sol humide, suggérant qu'elles sont d'autant plus sensibles aux NPs TiO₂ lorsqu'elles sont soumises à un stress hydrique (Ge *et al.* 2013).

Il a également été prouvé que le taux de CO₂ influence la toxicité des nanoparticules sur les communautés bactériennes (Du *et al.* 2017). En effet, deux expérimentations ont conduit à cette affirmation : dans l'une, les bactéries sont exposées aux NPs TiO₂ dans des conditions normales de CO₂ dans l'air ambiant ; dans l'autre, la teneur en CO₂ de l'air ambiant a été augmentée. Dans le second cas, on observe davantage de perturbation sur les communautés bactériennes du sol, permettant donc de conclure à une influence du dioxyde de carbone sur la toxicité des NPs TiO₂.

Enfin, une comparaison a été effectuée entre plusieurs textures de sols à différents pH et teneurs en matière organique. Seul le sol argilo-limoneux à forte teneur en matière organique avec un pH basique (7,7) a présenté une diminution de sa communauté bactérienne. Cela témoigne d'une influence majeure de la matière organique et du pH sur la toxicité des NPs TiO₂ et d'une influence mineure de la texture du sol sur celle-ci (Simonin *et al.* 2015).

L'influence du type de NPs TiO₂ utilisé n'a actuellement pas été étudiée sur les communautés bactériennes : en effet, toutes ces études présentent des nanoparticules qui ne sont pas significativement différentes (nanoparticules toutes inférieures à 30 nm, 100 % anatase ou un mélange 80 % anatase et 20 % rutile et sans enrobage). Par conséquent, il n'est pas possible de débattre de l'influence de la taille ou de la nature cristalline de ces NPs TiO₂ sur les effets des communautés bactériennes.

Cette étude bibliographique permet de déduire que les communautés bactériennes du sol peuvent être considérées comme le dernier élément de la chaîne trophique nécessaire au calcul du facteur d'effet. Cependant, seule une EC₅₀ (60 jours) à 1g/kg pourra être envisagée (Ge *et*

al. 2011). En effet, dans cette étude les micro-organismes ne seront pas considérés par familles mais plutôt de façon globale : l'impact est avéré s'il concerne l'ensemble de la communauté.

Ceci étant maintenant déterminé, il est possible de procéder au calcul du facteur d'effet en prenant en compte les NPs TiO_2 dont les caractéristiques se rapprochent le plus de celles fabriquées par le site de production localisé à Thann (68). Le facteur d'effet sera établi en s'inspirant de la méthode de calcul de la HC_{50} , similaire à celle utilisée dans A.M.I et USEtox. Cependant quelques adaptations de ces méthodes sont nécessaires : 1) la qualification du type de toxicité (aigüe ou chronique) en fonction de l'espèce et de la durée d'exposition ; 2) la détermination des effets des NPs TiO_2 sur les espèces pris en compte dans le calcul ; 3) la détermination des concentrations en NPs TiO_2 dans l'eau (mg/L) par rapport à celles du sol (mg/g) ; 4) la sélection des NPs TiO_2 prises en compte dans le calcul ; 5) l'application de facteurs de correction aux différentes valeurs de référence : NOEC et LOEC en EC_{50} et $\text{EC}_{50_{\text{aigüe}}}$ en $\text{EC}_{50_{\text{chronique}}}$.

3.3. Méthode de calcul du facteur d'effet

3.3.1. Qualification du type de toxicité de chaque espèce en fonction de la durée d'exposition

Il est important de définir la toxicité des nanoparticules en fonction de la durée d'exposition pour chaque espèce, afin de classer les valeurs de référence obtenues suite à l'étude bibliographique, dans la catégorie toxicité aigüe ou chronique.

Le ver de terre et *Caenorhabditis elegans* sont deux invertébrés ayant une durée de vie respective de plusieurs années et de trois semaines. Dans les méthodes précédentes (A.M.I et USEtox), les tests effectués sur les invertébrés des écosystèmes aquatiques doivent avoir une durée supérieure ou égale à 21 jours afin d'être considérés comme « chroniques » (Tab. 22). Le ver de terre peut entrer dans cette catégorie, c'est pourquoi cette durée de 21 jours sera conservée pour cette espèce. Cependant, le ver transparent a un cycle de vie de quelques semaines avec un développement au stade adulte en 3 jours environ : Un test sera donc qualifié de chronique pour une durée d'exposition supérieure ou égale à 3 jours. Enfin, dans le cas des communautés bactériennes du sol, aucune durée d'exposition chronique n'a été suggérée dans les méthodes précédentes puisqu'aucune d'entre elles ne les utilisent dans leur chaîne trophique. D'après les publications étudiées, la majeure partie des expérimentations sont effectuées au minimum pendant 15 jours (à l'exception d'une qui s'arrête dès 7 jours) et vont jusqu'à des durées

d'exposition de plusieurs mois. La limite entre test aigu et chronique a été placée à 60 jours : en effet, l'étude bibliographique a permis de relever une seule valeur exploitable pour le calcul du facteur d'effet qui est $EC50_{\text{chronique}} = 1000 \text{ mg/kg}$ (Ge *et al.* 2011), avec une expérimentation comportant un temps d'exposition aux NPs TiO_2 de deux mois.

3.3.2. Effets des NPs TiO_2 pris en compte dans le calcul du facteur d'effet

Grâce à l'étude bibliographique, il a été observé que de nombreux effets pouvaient survenir suite à l'exposition des espèces d'écosystèmes terrestres aux NPs TiO_2 . Il est de ce fait important de préciser quels effets sont considérés afin de sélectionner les valeurs de référence appropriées pour le calcul du facteur d'effet.

Les effets sur le taux de mortalité (ou l'évolution de l'abondance dans le cas des communautés bactériennes), la mobilité, la reproduction, la taille des organismes et les modifications génétiques qualifiés d'effets « directs » vont jouer un rôle majeur dans la réduction de la population des organismes et sont par conséquent pris en compte dans le calcul. D'autres effets ont été détectés et considérés comme « indirects » : ceux sur les réponses métaboliques et sur le comportement de l'animal (alimentation, évitement de l'environnement contaminé...) ou encore la bioaccumulation du polluant dans l'organisme. Bien qu'il soit possible qu'un ou plusieurs d'entre eux génèrent des conséquences importantes sur les espèces, en l'absence d'études plus précises à ce sujet, il a été décidé de considérer uniquement les effets directs dans le calcul du facteur d'effet.

3.3.3. Détermination des concentrations des NPs TiO_2 dans l'eau (mg/L) par rapport à celles dans le sol (mg/g)

De manière générale dans les méthodes A.M.I et USEtox, la question de l'unité des concentrations ne se pose pas pour l'écotoxicité aquatique puisque toutes les expérimentations sont effectuées dans l'eau. Cependant, le sol est un compartiment qui comporte plusieurs phases (solide, liquide, gazeuse) et toutes les espèces de l'écosystème terrestre ne vivent pas dans la partie solide. C'est le cas de *Caenorhabditis elegans*, animal qui vit exclusivement dans l'eau interstitielle du sol. De ce fait, et afin de reproduire au mieux ce qui se passe réellement dans l'environnement, les expérimentations le concernant sont effectuées dans l'eau donnant lieu à des concentrations en masse de NPs TiO_2 par volume d'eau. Cependant les études sur les vers de terre et les communautés bactériennes se font directement dans le sol et présentent donc des concentrations en masse de nanoparticules par masse de sol. Il est important que toutes les

concentrations soient exprimées dans la même unité, c'est pourquoi il est nécessaire de convertir les concentrations de NPs TiO₂ dans le sol (mg/g) en concentration dans l'eau (mg/L). Cette conversion nécessite la détermination d'une densité moyenne de sol mesurée sur les échantillons de sol secs collectés et analysés dans le chapitre 3 (Tab. 26) :

Tableau 26 : Densité du sol sec des différents échantillons de sol

Echantillons de sol	Densité du sol sec (kg/m ³)			
	2016	2017	2018	Moyenne
Amont	2260	2450	2320	2343,3
Vignes	/	2290	2530	2410,0
Confluence	2300	2200	2150	2216,7
PP	/	/	2320	2320,0
PPC	/	/	2400	2400,0
Aval	2340	2120	2220	2226,7
Densité moyenne (kg/m³)				2319,45

La densité moyenne calculée est de 2319,45 kg/m³ soit une valeur de 2,31945 g/cm³ arrondie à 2,32 g/cm³ par souci de simplification. Par conséquent, une concentration de 2000 mg NPs TiO₂/kg de sol correspond à une concentration à 4640 mg/L.

3.3.4. Sélection des NPs TiO₂ prises en compte pour le calcul du facteur d'effet

Le facteur d'effet est ici adapté à l'échelle de site spécifique : les données utilisées sont donc issues des expérimentations décrites dans les chapitres précédents. Le site industriel considéré fabrique des nanoparticules d'anatase et de tailles comprises entre 5 et 20 nm mais dont certaines peuvent atteindre des valeurs approchant les 50 nm. Pour ce calcul, seuls les tests de toxicité (étudiés durant la recherche bibliographique) comprenant des NPs TiO₂ de taille inférieure ou égale à 50 nm, non enrobées et constituées au minimum de 70 % d'anatase ont été sélectionnées. Ce pourcentage de 70 % a été retenu afin de respecter au mieux les conditions réalistes du site étudié. En effet, lorsque le pourcentage d'anatase diminue, celui du rutile augmente et cette forme cristalline de l'oxyde de titane induit une toxicité moins importante (Johnston *et al.* 2009). Toutes les études portant sur des nanoparticules répondant à ces critères

seront prises en compte dans le calcul ainsi que les concentrations les plus faibles auxquelles un effet est détecté.

3.3.5. Valeurs de référence et facteurs de correction

3.3.5.1. Facteurs de conversion appliqués aux NOEC et LOEC

Les facteurs de conversion utilisés et adaptés de Payet, 2004 se rapportent à l'écosystème aquatique. Etant donné l'absence d'études concernant l'écosystème terrestre, ces facteurs sont conservés (Tab. 27).

Tableau 27 : Facteurs de conversion des NOEC et LOEC en EC_{50}

Extrapolation	Ratios
$EC_{50}/LOEC$	2,1
$EC50_{aigüe}/NOEC_{aigüe}$	3,3
$EC50_{chronique}/NOEC_{chronique}$	4,8

3.3.5.2. Conversion des $EC50_{aigüe}$ en $EC50_{chronique}$

Dans les méthodes A.M.I et USEtox, des ACR (Acute to Chronic Ratio) sont utilisés afin de convertir des données issues de tests toxicologiques aigus en chroniques. Cependant, différents ACR ont été calculés pour divers métaux mais aucun pour le titane (Dong *et al.* 2014). Il a donc été décidé d'utiliser un ACR de 15 décrite dans la méthode USEtox (USEtox 2.0 documentation, 2017) pour des niveaux trophiques autres que les poissons et les crustacés (Eq. 22) :

$$EC50_{chronique} (\text{autre niveau trophique}) = EC50_{aigüe}/15 \text{ (Eq. 22)}$$

3.3.6. Détermination des valeurs de référence pour le calcul du facteur d'effet

Les étapes précédentes ont permis d'identifier des valeurs de référence entrant dans le calcul du facteur d'effet. Au total, 13 concentrations sont prises en compte, dont 2 pour le ver de terre, 10 pour *Caenorhabditis elegans* et 1 pour les communautés bactériennes du sol. Les valeurs de référence obtenues des expérimentations effectuées dans le sol (mg/kg) sont présentées dans le tableau 28 et celles effectuées dans l'eau (mg/L) dans le tableau 29 :

Tableau 28 : Valeurs de référence en NPs TiO₂ (mg/kg de sol sec) issues des tests toxicologiques sur les vers de terre et la communauté bactérienne du sol

Espèces	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/kg)	Type de valeur de référence	Références
Vers de terre	1000	EC50 _{chronique}	Heckmann <i>et al.</i> 2011
	145,36	LC50 _{aigüe}	Khalil <i>et al.</i> 2015
Bactéries du sol	1000	EC50 _{chronique}	Ge <i>et al.</i> 2011

Tableau 29 : Valeurs de référence en NPs TiO₂ (mg/L) issues des tests toxicologiques sur *Caenorhabditis elegans*

Espèce	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/L)	Type de valeur de référence	Références
<i>Caenorhabditis elegans</i>	80	LC50 _{aigüe}	Wang <i>et al.</i> 2009
	77	LC50 _{aigüe}	Khare <i>et al.</i> 2011
	0,001	EC50 _{chronique}	Wu <i>et al.</i> 2012
	0,0001	EC50 _{chronique}	Wu <i>et al.</i> 2012
	0,01	EC50 _{chronique}	Li <i>et al.</i> 2012
	0,01	EC50 _{chronique}	Li <i>et al.</i> 2012
	0,000005	NOEC _{chronique}	Wu <i>et al.</i> 2013
	53	EC50 _{chronique}	Angelstorf <i>et al.</i> 2014
	38,5	EC50 _{chronique}	Ratnasekhar <i>et al.</i> 2015
	54,16	LC50 _{chronique}	Sonnane <i>et al.</i> 2017

Avant le calcul du facteur d'effet, il est nécessaire de procéder à quelques modifications concernant certaines valeurs de référence.

Les valeurs de référence du tableau 28 sont ainsi multipliées par la densité moyenne du sol qui est de 2,32 g/cm³ afin d'obtenir des valeurs en masse de NPs TiO₂ par volume de sol (mg/L).

Les valeurs en rouge dans les tableaux 28 et 29 sont également soumises à modification. La valeur de NOEC_{chronique} à 5 ng/L est convertie en EC50_{chronique} en utilisant un facteur de

conversion de 4,8 (Tab. 23) permettant ainsi d'obtenir un résultat de 24 ng/L. Les trois autres valeurs de référence sont des LC50_{aigüe}, elles sont par conséquent divisées par un ACR de 15.

3.4. Résultats

Les concentrations finales utilisées dans le calcul d'effet ont ainsi été déterminées (Tab. 30) :

Tableau 30 : Valeurs de référence en NPs TiO₂ (mg/L) issues des tests toxicologiques sur les espèces de l'écosystème terrestre utilisées dans le calcul du facteur d'effet

Espèces	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/L)	Type de valeur de référence
<i>Vers de terre</i>	2320	EC50 _{chronique}
	22,48	LC50 _{chronique}
<i>Caenorhabditis elegans</i>	5,33	LC50 _{chronique}
	5,13	LC50 _{chronique}
	0,001	EC50 _{chronique}
	0,0001	EC50 _{chronique}
	0,01	EC50 _{chronique}
	0,01	EC50 _{chronique}
	0,000024	EC50 _{chronique}
	53	EC50 _{chronique}
	38,5	EC50 _{chronique}
	54,16	LC50 _{chronique}
<i>Bactéries du sol</i>	2320	EC50 _{chronique}

Trois HC₅₀ (mg/L) peuvent ainsi être obtenues en effectuant une moyenne géométrique des valeurs de référence propres à chaque espèce, puis une moyenne géométrique des trois HC₅₀ de chaque espèce (mg/L) est calculée puis convertie dans l'unité appropriée (g/L) (Tab. 31).

Tableau 31 : Calcul des HC50 nécessaires à la détermination du facteur d'effet

<i>HC50_{Ver de terre} (mg/L)</i>	228,4
<i>HC50_{Caenorhabditis elegans} (mg/L)</i>	0,122
<i>HC50_{Bactéries du sol} (mg/L)</i>	2320
<i>HC50_{Espèces} (mg/L)</i>	40,12
<i>HC50_{Espèces} (g/L) ou (kg.m³)</i>	0,0401

Le facteur d'effet est ensuite déterminé d'après la formule de l'équation 23 où le HC50_{EC50} est ici égal à 0,030 g/L :

$$EF = \frac{0,5}{HC50_{EC50}} \quad (Eq. 23)$$

La valeur du facteur d'effet spécifique (EFs) des NPs TiO₂ pour l'impact sur l'écosystème terrestre est de 12,46 PAF.m³.kg⁻¹.

Ce résultat peut difficilement être discuté ou comparé compte tenu du fait que c'est le seul facteur d'effet des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre connu à ce jour. Il a donc été décidé de calculer un facteur d'effet d'écotoxicité terrestre pour l'ensemble des NPs TiO₂, c'est-à-dire, de toute forme cristalline, de tout enrobage mais également comprenant des tailles jusqu'à 100 nm. Ceci conduit à l'ajout de 3 valeurs de référence pour le ver de terre et 2 pour *Caenorhabditis elegans*, nous permettant ainsi de calculer un facteur d'effet « global » des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre. Les valeurs de référence ajoutées sont les suivantes (Tab. 32 et 33) :

Tableau 32 : Valeurs de référence en NPs TiO₂ (mg/kg) supplémentaires issues des tests toxicologiques sur les vers de terre

Espèces	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/kg)	Type de valeur de référence	Références
<i>Vers de terre</i>	500	NOEC _{aigüe}	Hu <i>et al.</i> 2010
	0,3	LC50 _{aigüe}	Gomes <i>et al.</i> 2015
	50	LC50 _{chronique}	Priyanka <i>et al.</i> 2018

Tableau 33 : Valeurs de référence en NPs TiO₂ (mg/L) supplémentaires issues des tests toxicologiques sur *Caenorhabditis elegans*

Espèces	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/L)	Type de valeur de référence	Références
<i>Caenorhabditis elegans</i>	4	EC50 _{aigüe}	Rocheleau <i>et al.</i> 2015
	32	EC50 _{aigüe}	Rocheleau <i>et al.</i> 2015

Les concentrations propres au ver de terre sont ainsi modifiées (mg/kg en mg/L) en les multipliant par 2,32 (densité moyenne du sol). Puis les 4 autres valeurs de référence en rouge dans les tableaux 32 et 33 sont également converties suivant les facteurs de conversion appropriés. Les concentrations finales supplémentaires qui serviront à calculer un facteur d'effet « global » des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre sont les suivantes (Tab. 34) :

Tableau 34 : Valeurs de référence supplémentaires (mg/L) en NPs TiO₂ issues des tests toxicologiques sur les espèces de l'écosystème terrestre

Espèces	Concentration en NPs TiO ₂ (mg/L)	Type de valeur de référence
<i>Vers de terre</i>	255,2	EC50 _{chronique}
	0,020	LC50 _{chronique}
	116	LC50 _{chronique}
<i>Caenorhabditis elegans</i>	0,27	EC50 _{chronique}
	2,13	EC50 _{chronique}

Les différentes HC₅₀ sont ainsi calculées en prenant en compte les valeurs de référence des tableaux 30 et 34 (Tab. 35) :

Tableau 35 : Calcul des HC₅₀ supplémentaires nécessaires à la détermination du facteur d'effet global

<i>HC50_{Ver de terre} (mg/L)</i>	31,47
<i>HC50_{Caenorhabditis elegans} (mg/L)</i>	0,165
<i>HC50_{Microbiote du sol} (mg/L)</i>	2320
<i>HC50_{Espèces} (mg/L)</i>	22,93
<i>HC50_{Espèces} (g/L) ou (kg.m³)</i>	0,023

Le facteur d'effet est ainsi calculé comme précédemment en utilisant l'équation 23 ainsi qu'une valeur de 0,023 g/L pour la HC50_{EC50}.

La valeur du facteur d'effet global (EFg) des NPs TiO₂ pour l'impact sur l'écosystème terrestre est de 21,81 PAF.m³.kg⁻¹.

3.5. Interprétations et conclusions

Deux facteurs d'effet dans le cas de l'impact des NPs TiO₂ sur l'écosystème terrestre sont proposés : l'un incluant uniquement des nanoparticules similaires à celles fabriquées par le site de production de Thann (EFs), donnant un résultat de 12,46 PAF.m³.kg⁻¹ et un autre comportant toutes les NPs TiO₂ étudiées dans la littérature (EFg) avec un résultat de 21,81 PAF.m³.kg⁻¹.

Si on compare les HC₅₀ de chaque niveau trophique, on remarque qu'elles couvrent une large gamme de valeurs : la plus faible est observée dans le cas de *Caenorhabditis elegans* ($\approx 0,140$ mg/L) et la plus élevée dans le cas des communautés bactériennes (2320 mg/L). Cette variation correspond à une différence d'un facteur 14000 à 19000 suivant les HC₅₀ de *Caenorhabditis elegans*. Avec les données actuelles, il est donc possible de conclure que *Caenorhabditis elegans* est l'espèce la plus sensible de l'écosystème terrestre aux NPs TiO₂. Cependant, les communautés bactériennes ne comportent qu'une seule valeur de référence dans le calcul ; si on compare les EC₅₀ chroniques de *Caenorhabditis elegans*, on observe que les résultats peuvent prendre une large gamme de valeurs allant de l'ordre du ng/L jusqu'à une centaine de mg/L (facteur de 10⁸). Il est alors possible d'imaginer qu'avec un nombre de données plus important dans le cas des communautés bactériennes du sol, leur HC₅₀ aurait pu être différente d'un ou plusieurs ordres de grandeur, pouvant donc impacter considérablement le facteur d'effet puisque celui-ci ne comprenant que trois HC₅₀ dans son calcul. Ce cas est illustré dans notre étude si on compare EFs et EFg. En effet, des concentrations ont été ajoutées lors du calcul de EFg par rapport à celui pour EFs : 3 chez les vers de terre et 2 chez *Caenorhabditis elegans*. Or, dans le cas de ce dernier, il y a peu de différence entre les deux HC₅₀*Caenorhabditis elegans* (facteur 1,35). Ceci s'explique par la présence d'un grand nombre de valeurs de référence dans EFs : l'ajout de deux concentrations supplémentaires dans une moyenne logarithmique composée de 10 valeurs de base ne va que très peu changer le résultat. Cependant, on note dans le cas du ver de terre une différence d'un facteur 7 entre les deux HC₅₀*Ver de terre*. Ceci s'explique par la présence de seulement deux valeurs de référence dans EFs conduisant à un changement significatif du HC₅₀

lorsque des valeurs de référence supplémentaires sont ajoutées, d'autant plus si ces nouvelles valeurs sont significativement différentes des 2 premières. La variation entre les deux facteurs d'effet ($EF_s = 12,46 \text{ PAF}\cdot\text{m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$ et $EF_g = 21,81 \text{ PAF}\cdot\text{m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$) est donc principalement due à la variation du $HC50_{\text{Ver de terre}}$.

Les résultats obtenus montrent l'importance cruciale d'avoir à disposition un nombre suffisant de données lors des calculs d'impact des NPs TiO_2 sur l'écosystème terrestre. Il serait donc nécessaire de multiplier les études dans le cas du ver de terre ainsi que pour les communautés bactériennes du sol si on souhaite diminuer les incertitudes concernant le calcul du facteur d'effet. Celles-ci sont liées à l'absence de valeurs de référence pour certains niveaux trophiques. Elles sont également dues aux estimations effectuées des $EC50_{\text{chroniques}}$ à partir des NOEC ou des tests toxicologiques effectués à court terme. Il serait également intéressant de considérer les effets indirects discutés précédemment dans ce chapitre. Une des perspectives de recherche serait de montrer que les effets indirects génèrent sur le long terme des impacts sur le taux de mortalité ou la reproduction des espèces. Il serait alors possible d'inclure dans le calcul les valeurs de référence associées à ces effets. Enfin, des études de toxicité sur les communautés microbiennes globales permettraient d'avoir un meilleur retour sur les effets des NPs TiO_2 sur l'ensemble du microbiote du sol puisque les bactéries vivent en synergie avec les champignons du sol.

4. Détermination d'un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'évaluation de l'écotoxicité terrestre sur le site d'étude de Thann

Des facteurs de devenir et d'effet ont été précédemment calculés dans le but de fournir un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ contribuant à l'écotoxicité terrestre spécifique au site d'étude de Thann.

Le facteur de devenir a été déterminé en utilisant des données expérimentales issues du site d'étude. Elles concernent les densités réelles de sol, les concentrations en NPs TiO₂ estimées et les dépôts surfaciques de NPs TiO₂ mesurés par l'INERIS. Le facteur de devenir spécifique calculé est de 8501 années, ce qui signifie qu'à une échelle locale, le temps de résidence des NPs TiO₂ dans le sol est d'environ 8500 ans.

Le facteur d'effet spécifique (12,46 PAF.m³.kg⁻¹) a été calculé d'après des données écotoxicologiques provenant d'une synthèse bibliographique d'environ quarante publications scientifiques et d'après les caractéristiques des nanoparticules fabriquées par le producteur.

Tel qu'il est précisé dans les calculs d'impact du cycle de vie, le facteur de caractérisation consiste en une multiplication du facteur de devenir de la substance chimique considérée par son facteur d'effet.

Le facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre de la région de thann est de 1,06.10⁵ PAF.m³.an.kg⁻¹.

Ce facteur de caractérisation des NPs TiO₂ dans l'évaluation de l'écotoxicité terrestre constitue une nouveauté puisque jusqu'alors, aucune étude ne lui est consacrée dans les méthodes d'ACV. Ceci s'explique de plusieurs manières : 1) la difficulté de quantifier les NPs TiO₂ dans les sols, 2) l'existence d'une infinité de sols ; en fonction des caractéristiques physico-chimiques du milieu, le facteur de caractérisation ne pourra se calculer qu'à une échelle locale. Or, dans les modélisations d'ACV, seules les échelles globale, continentale et parfois régionale sont considérées jusqu'à présent, bien que de plus en plus de recherches commencent à s'orienter vers des échelles locales.

Ce travail de recherche a mis l'accent sur la nécessité et la pertinence d'évaluer l'impact des NPs TiO₂ à une échelle de site spécifique. En effet, contrairement aux modèles d'évaluation des

impacts évalués à l'échelle globale, notre étude met en exergue les mécanismes environnementaux entrant en jeu dans un écosystème terrestre à l'échelle locale. En ce sens, ce travail se veut novateur et prospectif. Ce facteur de caractérisation des NPs TiO_2 doit cependant à l'avenir être comparé à d'autres études réalisées dans des conditions physico-chimiques du milieu, similaires à celles des sols de Thann afin d'être validé ou amélioré.

Ce qu'il faut retenir

- La méthode USEtox a été adaptée pour l'écotoxicité terrestre à une échelle de site spécifique.
- Le temps de résidence (facteur de devenir) des NPs TiO₂ manufacturées dans le sol de la région de Thann a été calculé à environ 8500 ans.
- Le facteur d'effet spécifique à la zone d'étude de Thann a été déterminé à 12,46 PAF.m³.kg⁻¹)
- Les NPs TiO₂ sont toxiques pour les vers de terre, *Caenorhabditis elegans* et les bactéries du sol et cette toxicité va dépendre des paramètres des nanoparticules, du milieu et des espèces.
- Le facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre, spécifique à la région de Thann a été calculé à 1,06.10⁵ PAF.m³.an.kg⁻¹.

Bibliographie

- Abd El-Wakeil, K. F. Effects of terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea) on leaf litter decomposition processes. *The Journal of Basic & Applied Zoology* **69**, 10–16 (2015).
- Angelstorf, J. S., Ahlf, W., von der Kammer, F. & Heise, S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO₂ nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*: Light exposure increases nanoscale-TiO₂ toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* **33**, 2288–2296 (2014).
- Azapagic, A. Life cycle assessment and its application to process selection, design and optimisation. *Chemical Engineering Journal* **73**, 1–21 (1999).
- Babu Ojha, R. & Devkota, D. Earthworms: ‘Soil and Ecosystem Engineers’ – a Review. *World Journal of Agricultural Research* **2**, 257–260 (2014).
- Bare, J. C., Hofstetter, P., Pennington, D. W. & de Haes, H. A. U. Midpoints versus endpoints: The sacrifices and benefits. *Int. J. LCA* **5**, 319–326 (2000).
- Belem, G., Revéret, J.-P., Gendron, C., Université du Québec à Montréal & Chaire de responsabilité sociale et de développement durable. *L’analyse du cycle de vie comme outil de développement durable*. (2014).
- Benetto, E. Analyse du cycle de vie - Réalisation de l’inventaire. *Techniques de l’ingénieur* 1–22 (2005).
- Bigorgne, E. *et al.* Ecotoxicological assessment of TiO₂ byproducts on the earthworm *Eisenia fetida*. *Environmental Pollution* **159**, 2698–2705 (2011).

- Bijster, M. *et al.* USEtox 2.0 Documentation. In *USEtox 2.0 Documentation* (ed. Fantke, P.) 1–208 (2017).
- Bouché, M. B. Stratégies lombriciennes. *Ecological Bulletins* **25**, 122–132 (1977).
- Brandes, L. J., Den Hollander, H. & Van de Meent, D. *SimpleBox 2.0: a nested multimedia fate model for evaluating the environmental fate of chemicals*. 1–152 (National Institute of Public Health and environmental Protection, 1996).
- Brenner, S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**, 71–94 (1974).
- Brown, G. G. How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity? *Plant and Soil* **170**, 209–231 (1995).
- Burgess, A. A. & Brennan, D. J. Application of life cycle assessment to chemical processes. *Chemical Engineering Science* **56**, 2589–2604 (2001).
- Cañas, J. E. *et al.* Acute and reproductive toxicity of nano-sized metal oxides (ZnO and TiO₂) to earthworms (*Eisenia fetida*). *Journal of Environmental Monitoring* **13**, 3351 (2011).
- Chai, H. *et al.* The Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Functional Bacteria and Metabolic Profiles in Agricultural Soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **94**, 490–495 (2015).
- Chapman, P. M. Critical predicted no effect concentrations (PNECs) should not be based on a single toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 1088–1090 (2015).
- Commission Européenne. Technical Guidance on Risk Assessment: Part II. 1–328 (2003).
- Consoli, F. *Guidelines for Life-Cycle Assessment: A 'Code of Practice'*. (SETAC, 1993).

- De Zwart, D. Observed Regularities in Species Sensitivity Distributions for Aquatic Species. in *Species sensitivity distributions in ecotoxicology* (eds. Posthuma, L., Suter, G. W. & Traas, T. P.) 133–154 (Lewis Publishers, 2002).
- Den Hollander, H. A., Van Eijkeren, J. C. H. & Van de Meent, D. *SimpleBox 3.0: multimedia mass balance model for evaluating the fate of chemical in the environment*. 1–68 (National Institute of Public Health and environmental Protection, 2004).
- Diamond, M. L. *et al.* The clearwater consensus: the estimation of metal hazard in fresh water. *Int J Life Cycle Assess* **15**, 143–147 (2010).
- Dionísio, J. A., Demetrio, W. C. & Maceda, A. Earthworms and Nematodes: The Ecological and Functional Interactions. in *Earthworms - The Ecological Engineers of Soil* (ed. Ray, S.) (InTech, 2018).
- Dong, Y. Development of Comparative Toxicity Potentials of 14 cationic metals in freshwater. *Chemosphere* **112**, 26–33 (2014).
- Drobne, D., Jemec, A. & Pipan Tkalec, Ž. In vivo screening to determine hazards of nanoparticles: Nanosized TiO₂. *Environmental Pollution* **157**, 1157–1164 (2009).
- Du, W. *et al.* Elevated CO₂ levels modify TiO₂ nanoparticle effects on rice and soil microbial communities. *Science of The Total Environment* **578**, 408–416 (2017).
- Du, W. *et al.* TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *Journal of Environmental Monitoring* **13**, 822 (2011).
- Falkowski, P. G., Fenchel, T. & Delong, E. F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science* **320**, 1034–1039 (2008).

- Farkas, S., Hornung, E. & Fischer, E. Toxicity of Copper to *Porcellio scaber* Latr. (Isopoda) Under Different Nutritional Status. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **57**, 582–588 (1996).
- Fierer, N., Bradford, M. A. & Jackson, R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* **88**, 1354–1364 (2007).
- Finnveden, G. & Ekvall, T. Life-cycle assessment as a decision-support tool - the case of recycling versus incineration of paper. *Resources, Conservation and Recycling* **24**, 235–256 (1998).
- Forster, P. *et al.* *Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing*. 1–106 (2006).
- Garg, P., Gupta, A. & Satya, S. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Bioresource Technology* **97**, 391–395 (2006).
- Ge, Y., Priester, J. H., Van De Werfhorst, L. C., Schimel, J. P. & Holden, P. A. Potential Mechanisms and Environmental Controls of TiO₂ Nanoparticle Effects on Soil Bacterial Communities. *Environmental Science & Technology* **47**, 14411–14417 (2013).
- Ge, Y., Schimel, J. P. & Holden, P. A. Evidence for Negative Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles on Soil Bacterial Communities. *Environmental Science & Technology* **45**, 1659–1664 (2011).
- Ge, Y., Schimel, J. P. & Holden, P. A. Identification of Soil Bacteria Susceptible to TiO₂ and ZnO Nanoparticles. *Applied and Environmental Microbiology* **78**, 6749–6758 (2012).
- Goedkoop, M. & Spriensma, R. *The Eco-Indicator 99: A Damage Oriented Method for Life Cycle Impact Assessment*. (PRe Consultants, 1999).

- Gomes, S. I. L., Caputo, G., Pinna, N., Scott-Fordsmand, J. J. & Amorim, M. J. B. Effect of 10 different TiO₂ and ZrO₂ (nano)materials on the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 2409–2416 (2015).
- Gottschalk, F., Scholz, R. W. & Nowack, B. Probabilistic material flow modeling for assessing the environmental exposure to compounds: Methodology and an application to engineered nano-TiO₂ particles. *Environmental Modelling & Software* **25**, 320–332 (2010).
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W. & Nowack, B. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 9216–9222 (2009).
- Guinée, J. B. *et al.* Life Cycle Assessment: Past, Present, and Future †. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 90–96 (2011).
- Guinée, J. B. *Handbook on life cycle assessment: operational guide to the ISO standards*. (Kluwer Academic Publishers, 2002).
- Haitzer, M., Höss, S., Traunspurger, W. & Steinberg, C. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms - a review - *Chemosphere* **37**, 1335–1362 (1998).
- Hauschild, M. & Pennington, D. W. Indicators for Ecotoxicity in Life-Cycle Impact Assessment. in *Life Cycle Impact Assessment: Striving Towards Best Practice* 149–174 (SETAC Publications, 2002).
- Hauschild, M. Z. & Huijbregts, M. A. J. Introducing Life Cycle Impact Assessment. in *Life Cycle Impact Assessment* (eds. Hauschild, M. Z. & Huijbregts, M. A. J.) 1–16 (Springer Netherlands, 2015).

- Hawkins, T. R., Singh, B., Majeau-Bettez, G. & Strømman, A. H. Comparative Environmental Life Cycle Assessment of Conventional and Electric Vehicles. *Journal of Industrial Ecology* **17**, 53–64 (2013).
- Hayatsu, M., Tago, K. & Saito, M. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Science and Plant Nutrition* **54**, 33–45 (2008).
- Haye, S., Slaveykova, V. I. & Payet, J. Terrestrial ecotoxicity and effect factors of metals in life cycle assessment (LCA). *Chemosphere* **68**, 1489–1496 (2007).
- Heckmann, L.-H. *et al.* Limit-test toxicity screening of selected inorganic nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology* **20**, 226–233 (2011).
- Henderson, A. D. *et al.* USEtox fate and ecotoxicity factors for comparative assessment of toxic emissions in life cycle analysis: sensitivity to key chemical properties. *Int J Life Cycle Assess* **16**, 701–709 (2011).
- Hopkin, S. P., Hardisty, G. N. & Martin, M. H. The woodlouse *Porcellio scaber* as a 'biological indicator' of zinc, cadmium, lead and copper pollution. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical* **11**, 271–290 (1986).
- Hotze, E. M., Phenrat, T. & Lowry, G. V. Nanoparticle Aggregation: Challenges to Understanding Transport and Reactivity in the Environment. *Journal of Environment Quality* **39**, 1909 (2010).
- Hu, C. W. *et al.* Toxicological effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry* **42**, 586–591 (2010).

- Huijbregts, M. A. J. *et al.* Priority assessment of toxic substances in life cycle assessment. Part I: Calculation of toxicity potentials for 181 substances with the nested multi-media fate, exposure and effects model. *Chemosphere* **41**, 541–573 (2000).
- Hund-Rinke, K., Schlich, K. & Klawonn, T. Influence of application techniques on the ecotoxicological effects of nanomaterials in soil. *Environmental Sciences Europe* **24**, (2012).
- ISO 14040:2006. Management environnemental - Analyse du cycle de vie - Principes et cadre (2006).
- ISO 14041:1998. Management environnemental - Analyse du cycle de vie - Définition de l'objectif et du champ d'étude et analyse de l'inventaire (1998).
- ISO 14042:2000. Management environnemental - Analyse du cycle de vie - Évaluation de l'impact du cycle de vie (2000).
- ISO 14043:2000. Management environnemental - Analyse du cycle de vie - Interprétation du cycle de vie (2000).
- ISO 14044:2006. Management environnemental - Analyse du cycle de vie - Exigences et lignes directrices (2006).
- Jemec, A. *et al.* In field conditions, commercial pigment grade TiO₂ was not harmful to terrestrial isopods but reduced leaf litter fragmentation. *Science of The Total Environment* **571**, 1128–1135 (2016).
- Jemec, A., Drobne, D., Remškar, M., Sepčić, K. & Tišler, T. Effects of Ingested Nano-Sized Titanium Dioxide on Terrestrial Isopods (*Porcellio Scaber*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **27**, 1904 (2008).

- Johnson, A. C. *et al.* An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO₂ nanoparticles in UK field scenarios. *Science of The Total Environment* **409**, 2503–2510 (2011).
- Johnston, H. J. *et al.* Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO₂ particulates: the contribution of physicochemical characteristics. *Particle and Fibre Toxicology* **6**, 33 (2009).
- Jolliet, O. *et al.* IMPACT 2002+: A New Life Cycle Impact Assessment Methodology. *Int J Life Cycle Assess* **8**, 324–330 (2003).
- Kaletta, T. & Hengartner, M. O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nature Reviews Drug Discovery* **5**, 387–399 (2006).
- Khalil, A. M. Neurotoxicity and biochemical responses in the earthworm *Pheretima hawayana* exposed to TiO₂ NPs. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **122**, 455–461 (2015).
- Khare, P. *et al.* Adverse Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles in Soil Nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Biomedical Nanotechnology* **7**, 116–117 (2011).
- Klöpffer, W. Life cycle assessment: From the beginning to the current state. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* **4**, 223–228 (1997).
- Lapied, E. *et al.* Ecotoxicological effects of an aged TiO₂ nanocomposite measured as apoptosis in the anecic earthworm *Lumbricus terrestris* after exposure through water, food and soil. *Environment International* **37**, 1105–1110 (2011).
- Larsen, H. F. & Hauschild, M. Evaluation of Ecotoxicity Effect Indicators for Use in LCIA. *Int J Life Cycle Assess* **12**, 24–33 (2007).

- Leung, M. C. K. *et al.* *Caenorhabditis elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. *Toxicological Sciences* **106**, 5–28 (2008).
- Li, Y. *et al.* Molecular Control of TiO₂-NPs Toxicity Formation at Predicted Environmental Relevant Concentrations by Mn-SODs Proteins. *PLoS ONE* **7**, e44688 (2012).
- Mackay, D. & MacLeod, M. Multimedia Environmental Models. *Practice periodical of hazardous, toxic, and radioactive waste management* **6**, 63–69 (2002).
- Matheys, J. *et al.* Influence of functional unit on the life cycle assessment of traction batteries. *Int J Life Cycle Assess* **12**, 191–196 (2007).
- McManus, M. C. & Taylor, C. M. The changing nature of life cycle assessment. *Biomass and Bioenergy* **82**, 13–26 (2015).
- McShane, H., Sarrazin, M., Whalen, J. K., Hendershot, W. H. & Sunahara, G. I. Reproductive and behavioral responses of earthworms exposed to nano-sized titanium dioxide in soil: Effects of nano-TiO₂ on the earthworm. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31**, 184–193 (2012).
- Meadows, D. H., Meadows, D. L., Randers, J. & Behrens III, W. W. *The Limits to Growth*. (1972).
- Meesters, J. A. J., Koelmans, A. A., Quik, J. T. K., Hendriks, A. J. & van de Meent, D. Multimedia Modeling of Engineered Nanoparticles with SimpleBox4nano: Model Definition and Evaluation. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 5726–5736 (2014).
- Meesters, J. A. J., Quik, J. T. K., Koelmans, A. A., Hendriks, A. J. & van de Meent, D. Multimedia environmental fate and speciation of engineered nanoparticles: a probabilistic modeling approach. *Environ. Sci.: Nano* **3**, 715–727 (2016).

- Mueller, N. C. & Nowack, B. Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 4447–4453 (2008).
- Neher, D. A. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology* **33**, 161–168 (2001).
- Novak, S., Drobne, D. & Menard, A. Prolonged feeding of terrestrial isopod (*Porcellio scaber*, Isopoda, Crustacea) on TiO₂ nanoparticles. Absence of toxic effect. *ZooKeys* **176**, 261–273 (2012).
- Owsianiak, M., Rosenbaum, R. K., Huijbregts, M. A. J. & Hauschild, M. Z. Addressing Geographic Variability in the Comparative Toxicity Potential of Copper and Nickel in Soils. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 3241–3250 (2013).
- Payet, J. Assessing toxic impacts on aquatic ecosystems in life cycle assessment. (Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, 2004).
- Pennington, D. W., Payet, J. & Hauschild, M. Aquatic ecotoxicological indicators in life-cycle assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**, 1796–1807 (2004).
- Pfiffner, L. Vers de terre - Architectes des sols fertiles. 1–6 (2013).
- Praetorius, A., Scheringer, M. & Hungerbühler, K. Development of Environmental Fate Models for Engineered Nanoparticles - A Case Study of TiO₂ Nanoparticles in the Rhine River. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 6705–6713 (2012).
- Priyanka, K. P., Kurian, A., Balakrishna, K. M. & Varghese, T. Toxicological impact of TiO₂ nanoparticles on *Eudrilus eugeniae*. *IET Nanobiotechnology* **12**, 579–584 (2018).

- Ratnasekhar, C., Sonane, M., Satish, A. & Mudiam, M. K. R. Metabolomics reveals the perturbations in the metabolome of *Caenorhabditis elegans* exposed to titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology* **9**, 994–1004 (2015).
- Rocheleau, S., Arbour, M., Elias, M., Sunahara, G. I. & Masson, L. Toxicogenomic effects of nano- and bulk-TiO₂ particles in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*. *Nanotoxicology* **9**, 502–512 (2015).
- Roh, J.-Y., Park, Y.-K., Park, K. & Choi, J. Ecotoxicological investigation of CeO₂ and TiO₂ nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using gene expression, growth, fertility, and survival as endpoints. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **29**, 167–172 (2010).
- Rosenbaum, R. K. *et al.* USEtox - the UNEP-SETAC toxicity model: recommended characterisation factors for human toxicity and freshwater ecotoxicity in life cycle impact assessment. *The International Journal of Life Cycle Assessment* **13**, 532–546 (2008).
- Rui, Q., Zhao, Y., Wu, Q., Tang, M. & Wang, D. Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response. *Chemosphere* **93**, 2289–2296 (2013).
- Salieri, B., Hischer, R., Quik, J. T. K. & Jolliet, O. Fate modelling of nanoparticle releases in LCA: An integrative approach towards “USEtox4Nano”. *Journal of Cleaner Production* **206**, 701–712 (2018).
- Schlich, K., Terytze, K. & Hund-Rinke, K. Effect of TiO₂ nanoparticles in the earthworm reproduction test. *Environmental Sciences Europe* **24**, 5 (2012).

- Schloter, M., Dilly, O. & Munch, J. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **98**, 255–262 (2003).
- Schoorl, M., Hollander, A. & Van de Meent, D. *SimpleBox 4.0: a multimedia mass balance model for evaluating the fate of chemical substances*. 1–90 (National Institute of Public Health and environmental Protection, 2015).
- Simonin, M., Guyonnet, J. P., Martins, J. M. F., Ginot, M. & Richaume, A. Influence of soil properties on the toxicity of TiO₂ nanoparticles on carbon mineralization and bacterial abundance. *Journal of Hazardous Materials* **283**, 529–535 (2015).
- Simonin, M., Martins, J. M. F., Uzu, G., Vince, E. & Richaume, A. Combined Study of Titanium Dioxide Nanoparticle Transport and Toxicity on Microbial Nitrifying Communities under Single and Repeated Exposures in Soil Columns. *Environmental Science & Technology* **50**, 10693–10699 (2016).
- Sonane, M., Moin, N. & Satish, A. The role of antioxidants in attenuation of *Caenorhabditis elegans* lethality on exposure to TiO₂ and ZnO nanoparticles. *Chemosphere* **187**, 240–247 (2017).
- Srpčič, A. M., Drobne, D. & Novak, S. Altered physiological conditions of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* as a measure of subchronic TiO₂ effects. *Protoplasma* **252**, 415–422 (2015).
- Stranddorf, H. K., Hoffmann, L. & Schmidt, A. Impact categories, normalisation and weighting in LCA. *Environmental News* **78**, 1–90 (2005).

- Stranddorf, H. K., Hoffmann, L. & Schmidt, A. LCA Guideline: Update on impact categories, normalisation and weighting in LCA. Selected EDIP97- data. *Denmark-Teknik Energy & Environment* 1–75 (2003).
- The C. elegans Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* **282**, 2012–2018 (1998).
- Valant, J., Drobne, D. & Novak, S. Effect of ingested titanium dioxide nanoparticles on the digestive gland cell membrane of terrestrial isopods. *Chemosphere* **87**, 19–25 (2012).
- Van Beelen, P. & Verbruggen, E. M. J. The evaluation of the equilibrium partitioning method using sensitivity distributions of species in water and soil. *Chemosphere* **52**, 1153–1162 (2003).
- Van de Meent, D. *et al.* *SimpleBox: a generic multimedia fate evaluation model*. 1–107 (National Institute of Public Health and environmental Protection, 1993).
- Van Zelm, R., Huijbregts, M. A. J. & van de Meent, D. USES-LCA 2.0 - a global nested multimedia fate, exposure, and effects model. *The International Journal of Life Cycle Assessment* **14**, 282–284 (2009).
- Vandel, A. *Faune de France - Isopodes terrestres - 1ère partie*. (P. Lechevalier, 1960).
- Vandel, A. *Faune de France - Isopodes terrestres - 2ème partie*. (P. Lechevalier, 1962).
- Vigon, B. W., Tolle, D. A., Cornaby, B. W. & Latham, H. C. *Life-cycle Assessment: Inventory Guidelines and Principles*. 1–128 (1993).
- Wang, H., Wick, R. L. & Xing, B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Pollution* **157**, 1171–1177 (2009).

- Webb, W. M. *The British Woodlice Being a Monograph of the Terrestrial Isopod Crustacea Occurring in the British Islands*. (Duckworth & Co, 1906).
- Whitfield Åslund, M. L. *et al.* Earthworm Sublethal Responses to Titanium Dioxide Nanomaterial in Soil Detected by ¹H NMR Metabolomics. *Environmental Science & Technology* **46**, 1111–1118 (2012).
- Williams, R. J. *et al.* Models for assessing engineered nanomaterial fate and behaviour in the aquatic environment. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **36**, 105–115 (2019).
- Wu, Q. *et al.* Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere* **90**, 1123–1131 (2013).
- Wu, Q. *et al.* Small sizes of TiO₂-NPs exhibit adverse effects at predicted environmental relevant concentrations on nematodes in a modified chronic toxicity assay system. *Journal of Hazardous Materials* **243**, 161–168 (2012).
- Wu, Q., Zhao, Y., Li, Y. & Wang, D. Susceptible genes regulate the adverse effects of TiO₂-NPs at predicted environmental relevant concentrations on nematode *Caenorhabditis elegans*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **10**, 1263–1271 (2014).
- Xu, C. *et al.* Distinctive effects of TiO₂ and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil. *Soil Biology and Biochemistry* **86**, 24–33 (2015).

Conclusions

Ce travail de thèse a permis d'évaluer l'impact d'un site de production de NPs TiO_2 à une échelle de site spécifique. Cette évaluation a été effectuée à la fois, par la mise en évidence des nanoparticules manufacturées dans plusieurs compartiments environnementaux et par le calcul d'un facteur de caractérisation des NPs TiO_2 pour l'écotoxicité terrestre propre à la région de Thann.

Des NPs TiO_2 manufacturées ont été détectées dans l'eau de la Thur jusqu'à 2,5 km en aval du site de production et dans les sédiments jusqu'à la confluence entre le canal usinier et la rivière. Dans les sols, elles ont été détectées dans les vignes sous les vents minoritaires et jusqu'en aval sous les vents majoritaires. Dans tous les compartiments environnementaux, elles sont exclusivement sous forme homoagrégées ou hétéroagrégées avec les éléments constitutifs du milieu comme la matière organique ou les fractions fines $< 50 \mu\text{m}$ des sols et des sédiments.

Les nanoparticules BSS sont omniprésentes dans tous les échantillons alors que les HSS apparaissent moins fréquemment dans l'eau et n'ont pas été trouvées dans les sédiments. Au contraire, tous les échantillons de sol contenaient les deux types de NPs TiO_2 . Une hypothèse serait que le site de production les fabrique en quantités variables en fonction des saisons ou des années. Cependant cette variation ne serait pas perceptible dans le cas du sol, ce dernier étant un compartiment accumulateur.

Le facteur de devenir spécifique a été calculé à l'aide de données expérimentales et a permis d'établir un temps de résidence des nanoparticules d'environ 8500 ans sur le site d'étude. Des variations significatives ont été observées entre les facteurs de devenir des différents points de prélèvements de sol, mettant en évidence une incohérence de la part des modèles de calcul d'impact utilisant des échelles continentale et/ou globale. Des incertitudes de mesures ont cependant été relevées sur certains paramètres comme les concentrations réelles de nanoparticules émises dans l'air et celles présentes dans le sol ; ceci est directement lié à la difficulté de quantifier les NPs TiO_2 dans les compartiments environnementaux.

Le facteur d'effet spécifique ($12,46 \text{ PAF}\cdot\text{m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$) a été calculé d'après des données écotoxicologiques issues de la littérature, sur la toxicité des NPs TiO_2 pour les espèces de l'écosystème terrestre, mais également d'après les caractéristiques des nanoparticules fabriquées par le producteur. Cette synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence de nombreux

effets possibles qui sont dus principalement à la génération de radicaux libres (ROS) des nanoparticules, responsable d'un stress oxydatif chez les organismes. De nombreux paramètres sont également à prendre en compte dans l'explication de cette toxicité dont notamment les caractéristiques et les concentrations en nanoparticules, les conditions du milieu, le type d'espèces ou encore le temps d'exposition. Des incertitudes sur la valeur du facteur d'effet sont à souligner et concernent principalement le manque de données actuelles.

Les facteurs de devenir et d'effet ont permis d'élaborer un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ manufacturées, spécifique à la zone d'étude à Thann ($1,06 \cdot 10^5$ PAF.m³.an.kg⁻¹).

A notre connaissance, cette étude constitue l'une des premières capables de quantifier un facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre, lié à un site de production de nanoparticules ; elle est innovante puisqu'actuellement, aucune méthode d'ACV ne permet d'en calculer.

La détection des NPs TiO₂ dans l'environnement a été possible grâce à la mise en place de protocoles adaptés de traitement d'échantillons (filtration des eaux, fractionnement des sols et des sédiments), permettant de visualiser les nanoparticules, grâce à l'utilisation de la microscopie électronique en transmission.

Cependant dans le domaine des nanosciences et particulièrement à l'issue de cette thèse, de nombreuses questions restent en suspens. Une des perspectives de ce travail de recherche serait d'élargir les zones de prélèvements des échantillons, afin de déterminer jusqu'à quelle distance du site de production les nanoparticules se transportent. Cette étude demanderait également le développement de nouvelles techniques analytiques qui seraient en mesure de faire la distinction entre du titane naturel et du titane anthropique telle des techniques en géochimie isotopique. Il s'agirait de comparer la composition isotopique du titane d'un échantillon naturel de référence avec le titane contenu dans les nanoparticules afin de constater si oui ou non une différence est notable. Une quantification plus juste des concentrations réelles en NPs TiO₂ dans les différents compartiments environnementaux à une échelle de site spécifique pourrait également permettre de pallier aux incertitudes quant à leur temps de résidence dans le sol.

Une meilleure connaissance sur les effets des NPs TiO₂ sur les organismes de l'écosystème terrestre permettrait d'améliorer le résultat du facteur d'effet. Des études supplémentaires sur l'influence des paramètres liés aux nanoparticules ou au milieu sur la toxicité des NPs TiO₂ sont également nécessaires. De plus, la mise en place d'expérimentations à des temps

d'exposition longs permettrait d'obtenir davantage de données sur la toxicité chronique des nanoparticules.

Enfin, le facteur d'exposition mériterait également d'être étudié. Il est considéré comme étant la fraction biodisponible d'un polluant c'est-à-dire, la fraction qui est dissoute dans le milieu. Cette définition n'est pas applicable aux NPs TiO_2 qui ne sont pas solubles. Il serait donc nécessaire de réfléchir aux paramètres du facteur d'exposition dans les modélisations d'ACV, en particulier dans la méthode USEtox, afin de ne plus uniquement l'identifier comme étant la part du polluant dissous dans le milieu.

Liste des annexes

ANNEXE 1 : CONCENTRATIONS EN MAGNESIUM, CALCIUM, SODIUM ET POTASSIUM EN MG/L DANS LES EAUX.....	231
ANNEXE 2 : CONCENTRATIONS EN TITANE DANS LES SEDIMENTS TOTAUX (MG/KG)	232
ANNEXE 3 : ANALYSES DRX DES NPS TIO₂ BSS ET HSS	234
ANNEXE 4 : MOYENNES DES POURCENTAGES D'EAU, DE MATIERE ORGANIQUE ET DE CARBONE INORGANIQUE DANS LES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES DES SEDIMENTS CANAL ET CONFLUENCE..	235
ANNEXE 5 : CONCENTRATIONS EN TITANE DANS LES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES DES SEDIMENTS CANAL ET CONFLUENCE (MG/KG).....	236
ANNEXE 6 : ANALYSES DRX DES FRACTIONS DES SEDIMENTS CANAL ET CONFLUENCE	237
ANNEXE 7 : CONCENTRATIONS EN TITANE DANS LES SOLS TOTAUX (MG/KG).....	243
ANNEXE 8 : CONCENTRATIONS EN TITANE DANS LES HORIZONS DE SOLS AUX POINTS AMONT, PPC ET AVAL (MG/KG).....	245
ANNEXE 9 : MOYENNES DES POURCENTAGES D'EAU, DE MATIERE ORGANIQUE ET DE CARBONE INORGANIQUE DANS LES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES DES SOLS.....	246
ANNEXE 10 : CONCENTRATIONS EN TITANE DANS LES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES DES SOLS (MG/KG)	247
ANNEXE 11 : ANALYSES DRX DES FRACTIONS DE SOL	249
ANNEXE 12 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TOXICITE DES NPS TIO₂ POUR LE CLOPORTE RUGUEUX (PORCELLIO SCABER).....	259

ANNEXE 13 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TOXICITÉ DES NPS TiO₂ POUR LES VERS DE TERRE.....	260
ANNEXE 14 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TOXICITÉ DES NPS TiO₂ POUR CAENORHABDITIS ELEGANS	262
ANNEXE 15 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TOXICITÉ DES NPS TiO₂ POUR LES COMMUNAUTÉS BACTÉRIENNES DU SOL	264

Annexe 1 : Concentrations en magnésium, calcium, sodium et potassium en mg/L dans les eaux

Octobre 2016	Mg	Ca	Na	K
Amont	1,89	7,58	5,79	1,51
Vignes	/			
Point T	1,54	4,91	4,94	0,983
Canal	2,15	9,83	8,97	2,14
Confluence	2,55	11,7	103	84,5
Aval	3,57	15,6	101	27,8

Septembre 2017	Mg	Ca	Na	K
Amont	0,924	3,75	3,88	0,564
Vignes	1,78	7,41	7,64	1,14
Point T	1,90	8,43	8,96	2,18
Canal	1,95	8,58	8,73	1,62
Confluence	15,6	77,2	48,6	7,25
Aval	2,35	12,3	26,6	48,2

Mars 2018	Mg	Ca	Na	K
Amont	1,41	6,53	4,62	0,625
Vignes	2,38	10,6	8,83	1,75
Point T	2,29	10,9	11,0	1,94
Canal	16,8	94,4	59,5	11,7
Confluence	14,7	70,5	45,6	7,13
Aval	11,5	60,6	162	18,8

Annexe 2 : Concentrations en titane dans les sédiments totaux (mg/kg)

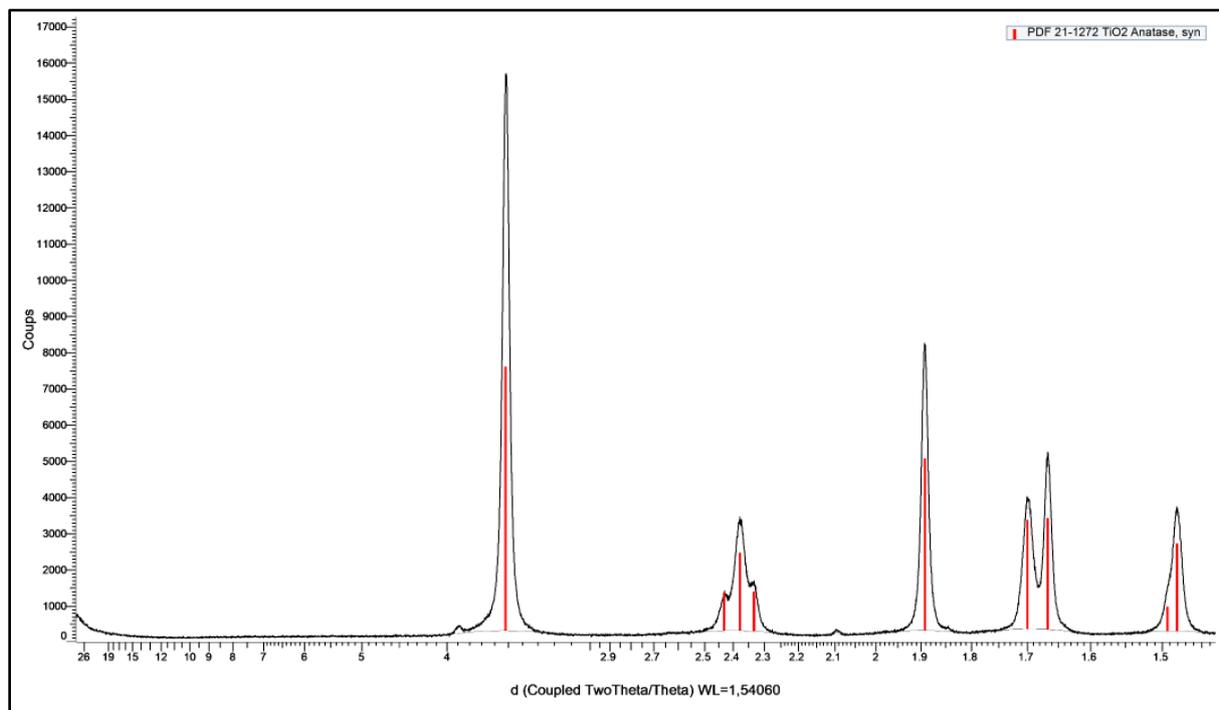
Octobre 2016	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	2130	2247	107,8	4,80
Amont'	2220			
Amont''	2390			
Confluence	4940	5130	173,8	3,39
Confluence'	5360			
Confluence''	5090			

Septembre 2017	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	2340	2367	37,71	1,59
Amont'	2340			
Amont''	2420			
Vignes	2600	2550	77,89	3,05
Vignes'	2440			
Vignes''	2610			
Canal	8870	10007	2335	23,33
Canal'	7890			
Canal''	13260			
Confluence	5950	7817	1445	18,49
Confluence'	9470			
Confluence''	8030			
Aval	2640	2707	101,4	3,75
Aval'	2850			
Aval''	2630			

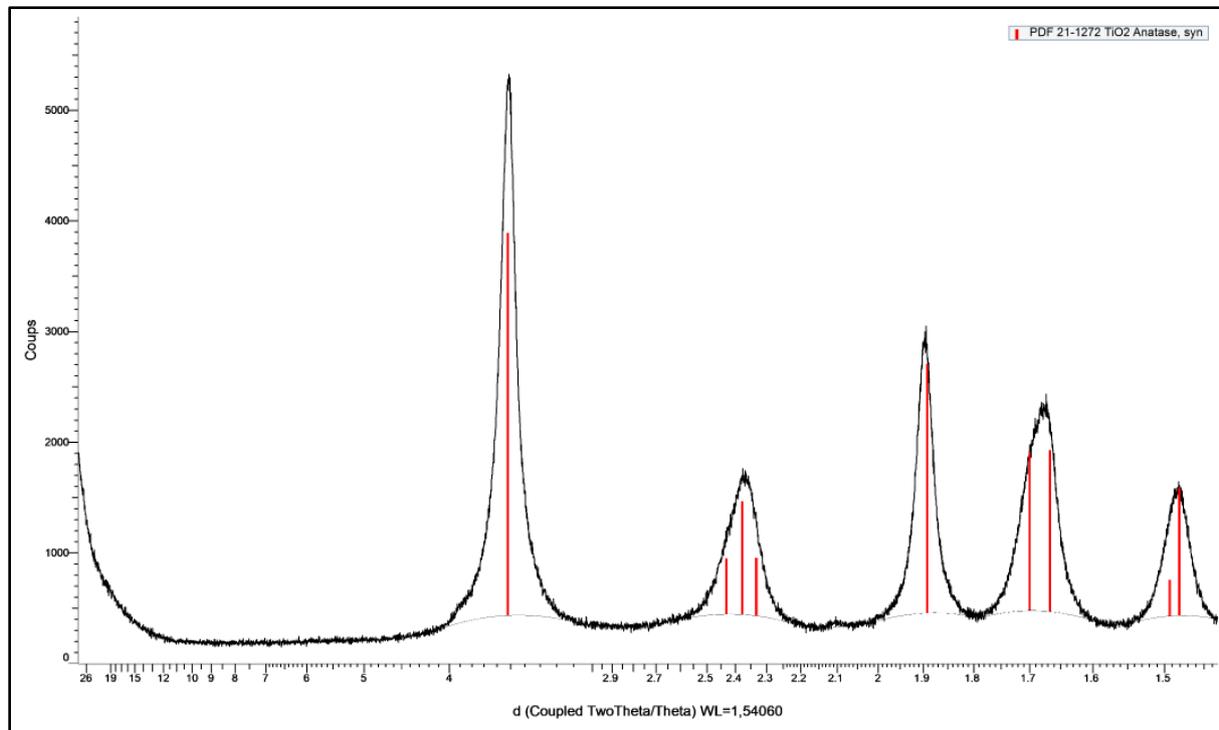
Mars 2018	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	2860	2610	180,6	6,92
Amont'	2530			
Amont''	2440			
Vignes	2790	2687	81,8	3,04
Vignes'	2680			
Vignes''	2590			
Canal	18680	11293	5279	46,75
Canal'	6660			
Canal''	8540			
Confluence	3470	3610	451,9	12,52
Confluence'	4220			
Confluence''	3140			
Aval	2580	2650	85,2	3,22
Aval'	2600			
Aval''	2770			

Annexe 3 : Analyses DRX des NPs TiO_2 BSS et HSS

BSS :



HSS :



Annexe 4 : Moyennes des pourcentages d'eau, de matière organique et de carbone inorganique dans les fractions granulométriques des sédiments canal et confluence

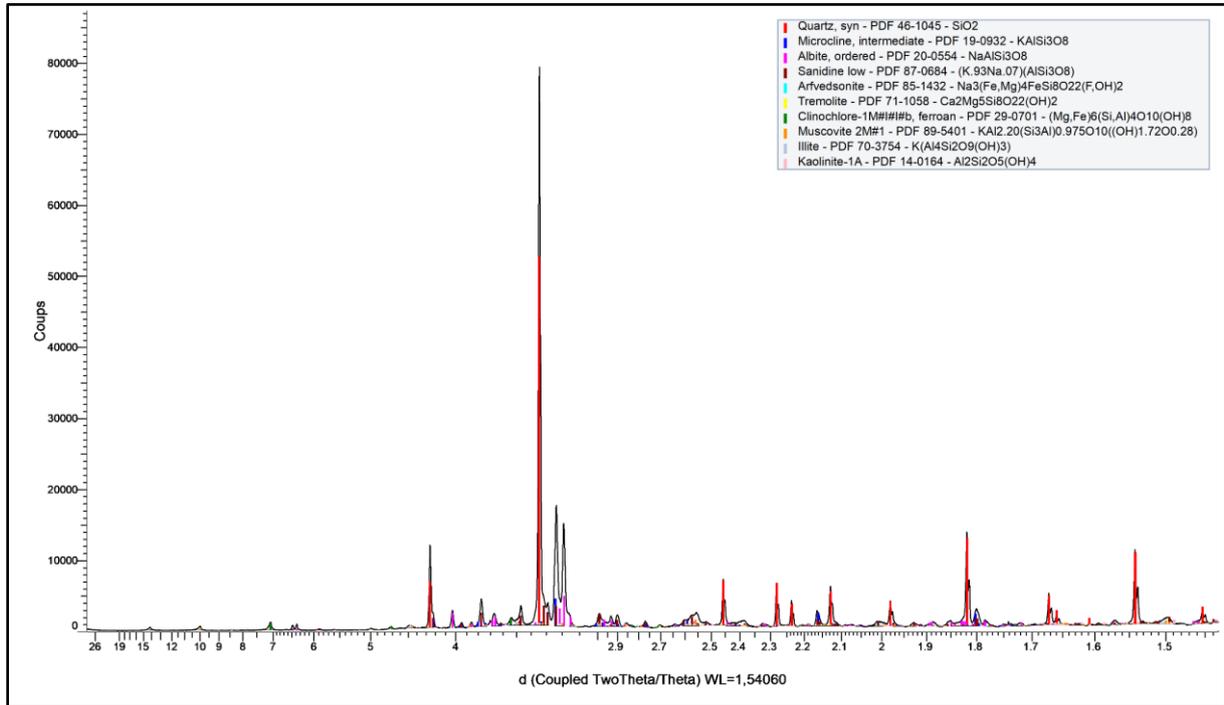
Echantillons	Fractions granulométriques	Eau (%)	Matière organique (%)	Carbone inorganique (%)
Sédiment canal	2 mm - 200 µm	0,45	1,28	1,91
	200 µm - 50 µm	1,06	3,03	1,83
	50 - 20 µm	1,70	7,37	2,56
	20 - 2 µm	2,82	18,78	3,98
	< 2 µm	6,23	15,61	3,51
Sédiment confluence	2 mm - 200 µm	0,74	1,27	1,91
	200 µm - 50 µm	0,36	1,45	1,54
	50 - 20 µm	1,21	7,71	2,67
	20 - 2 µm	1,51	10,89	3,89
	< 2 µm	2,52	9,46	1,05

Annexe 5 : Concentrations en titane dans les fractions granulométriques des sédiments canal et confluence (mg/kg)

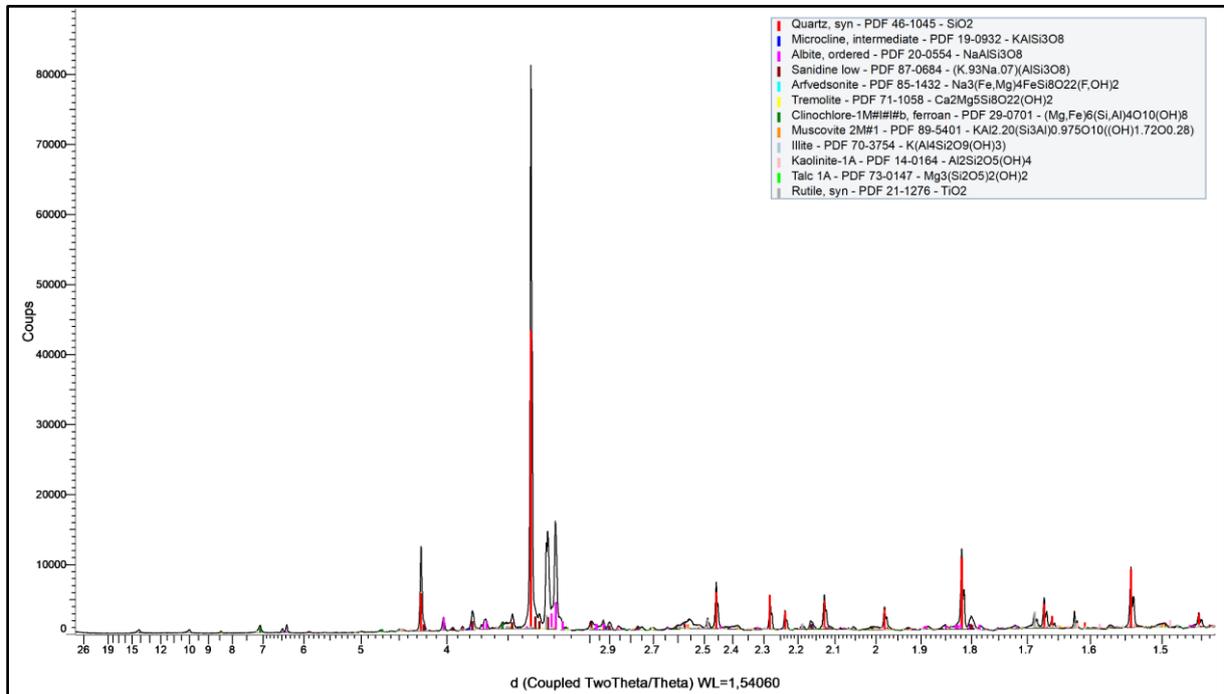
Echantillons	Fractions granulométriques	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-type	RSD (%)
Sédiment canal	2 mm - 200 µm	2826	2666	138,7	5,20
	2 mm - 200 µm'	2592			
	2 mm - 200 µm''	2580			
	200 µm - 50 µm	43794	58028	16558,0	28,53
	200 µm - 50 µm'	76200			
	200 µm - 50 µm''	54090			
	50 - 20 µm	61200	61600	692,8	1,12
	50 - 20 µm'	61200			
	50 - 20 µm''	62400			
	20 - 2 µm	29664	30022	333,5	1,11
	20 - 2 µm'	30324			
	20 - 2 µm''	30078			
	< 2 µm	12318	11906	979,3	8,23
	< 2 µm'	12612			
< 2 µm''	10788				
Sédiment confluence	2 mm - 200 µm	2700	2608	207,9	7,97
	2 mm - 200 µm'	2370			
	2 mm - 200 µm''	2754			
	200 µm - 50 µm	9114	11356	1956,0	17,22
	200 µm - 50 µm'	12240			
	200 µm - 50 µm''	12714			
	50 - 20 µm	6792	6490	442,6	6,82
	50 - 20 µm'	6696			
	50 - 20 µm''	5982			
	20 - 2 µm	6666	6744	69,2	1,03
	20 - 2 µm'	6768			
	20 - 2 µm''	6798			
	< 2 µm	564	540	36,5	6,76
	< 2 µm'	558			
< 2 µm''	498				

Annexe 6 : Analyses DRX des fractions des sédiments canal et confluence

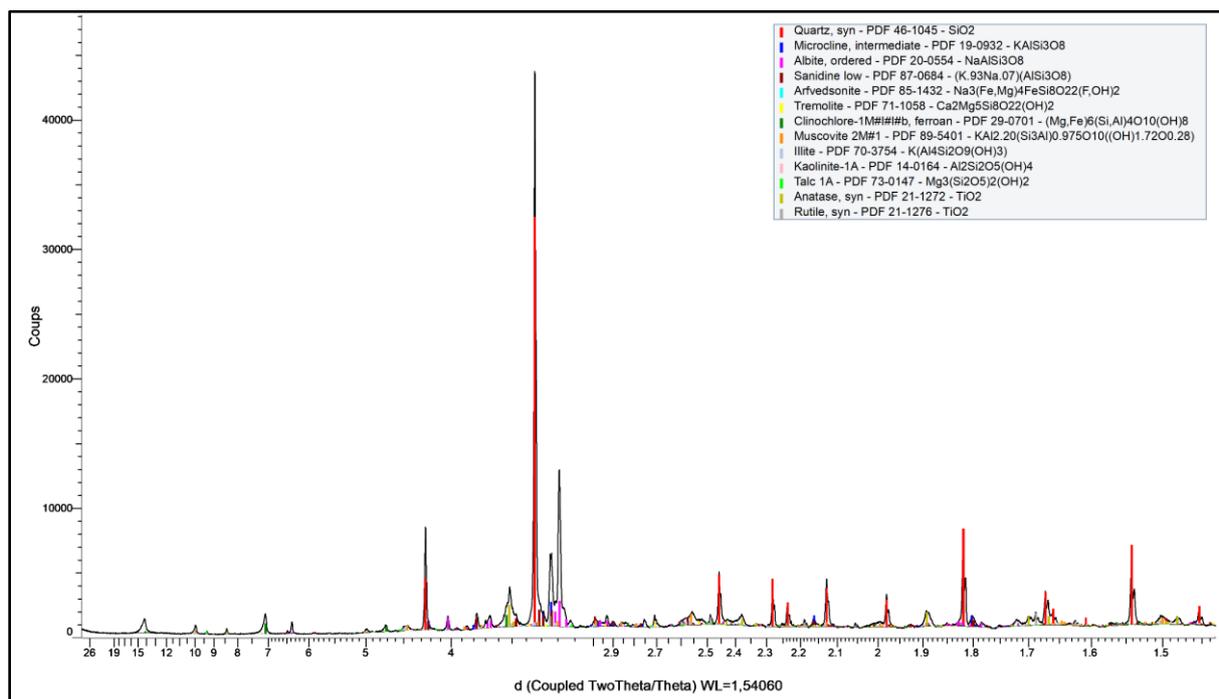
Fraction 2 mm - 200 µm du sédiment canal :



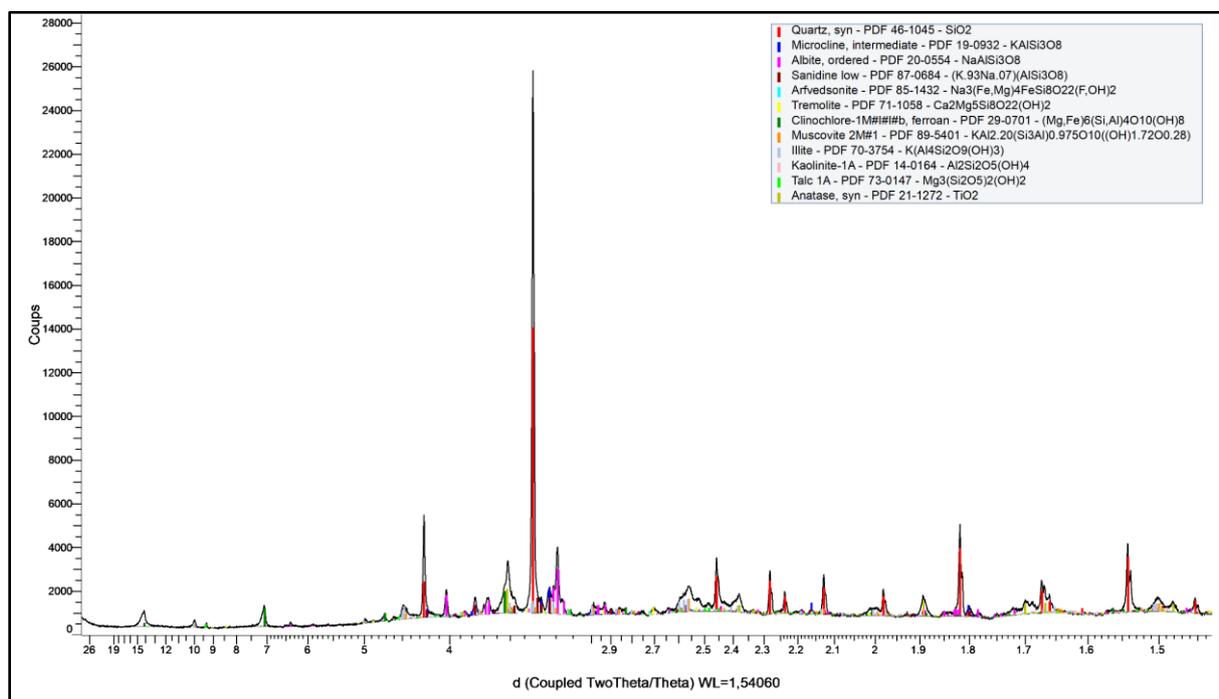
Fraction 200 µm - 50 µm du sédiment canal :



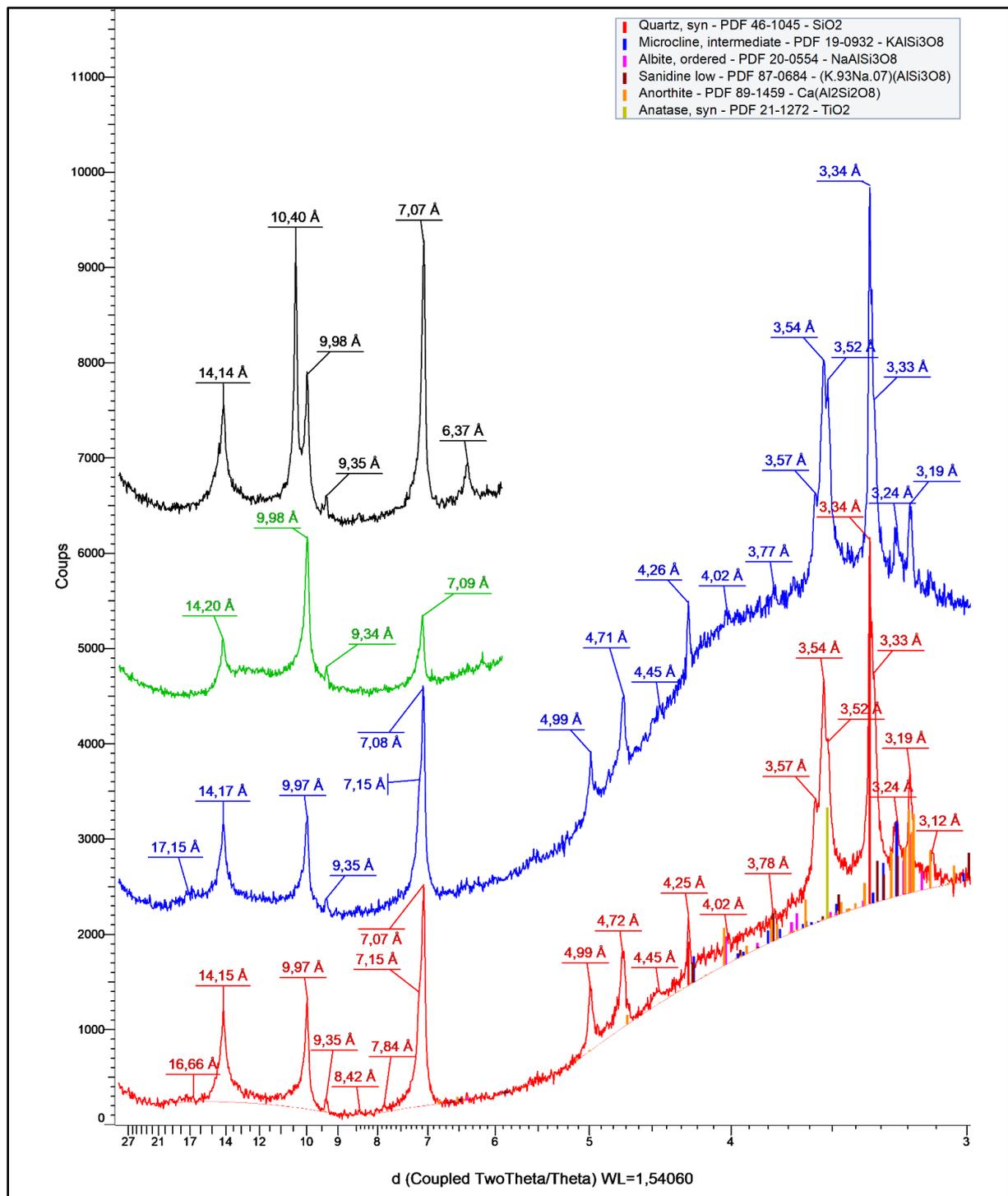
Fraction 50 µm - 20 µm du sédiment canal :



Fraction 20 µm - 2 µm du sédiment canal :

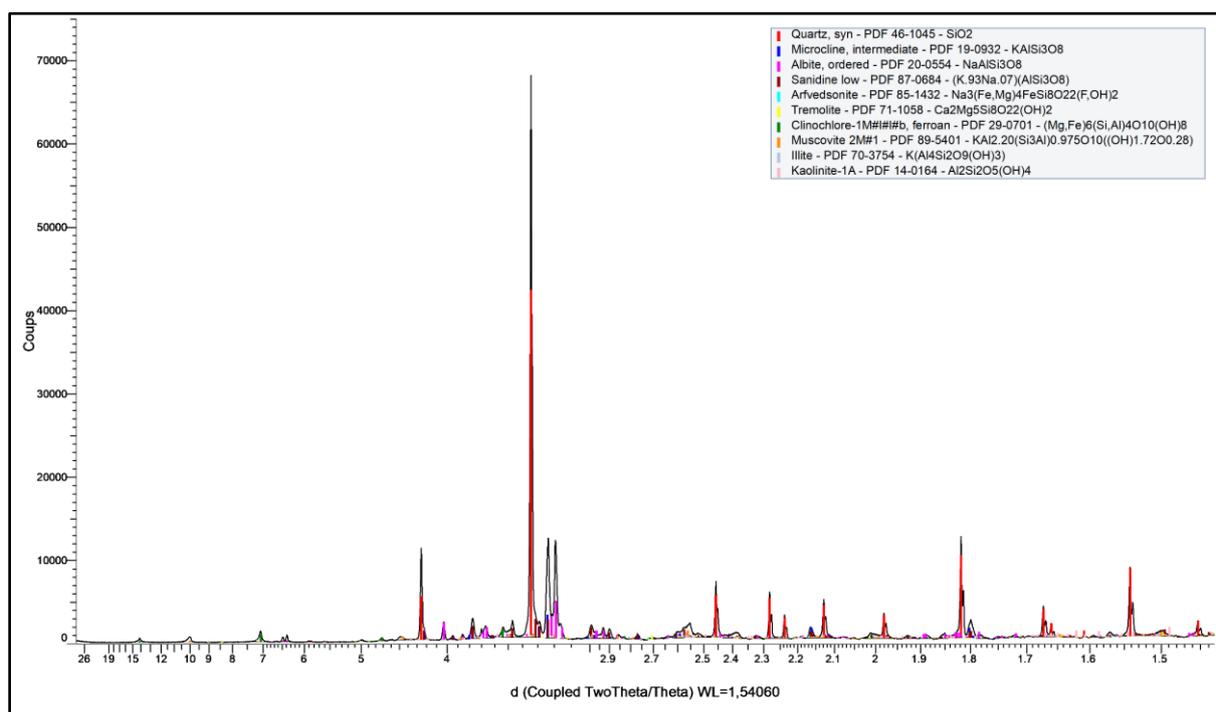


Fraction < 2 µm du sédiment canal :

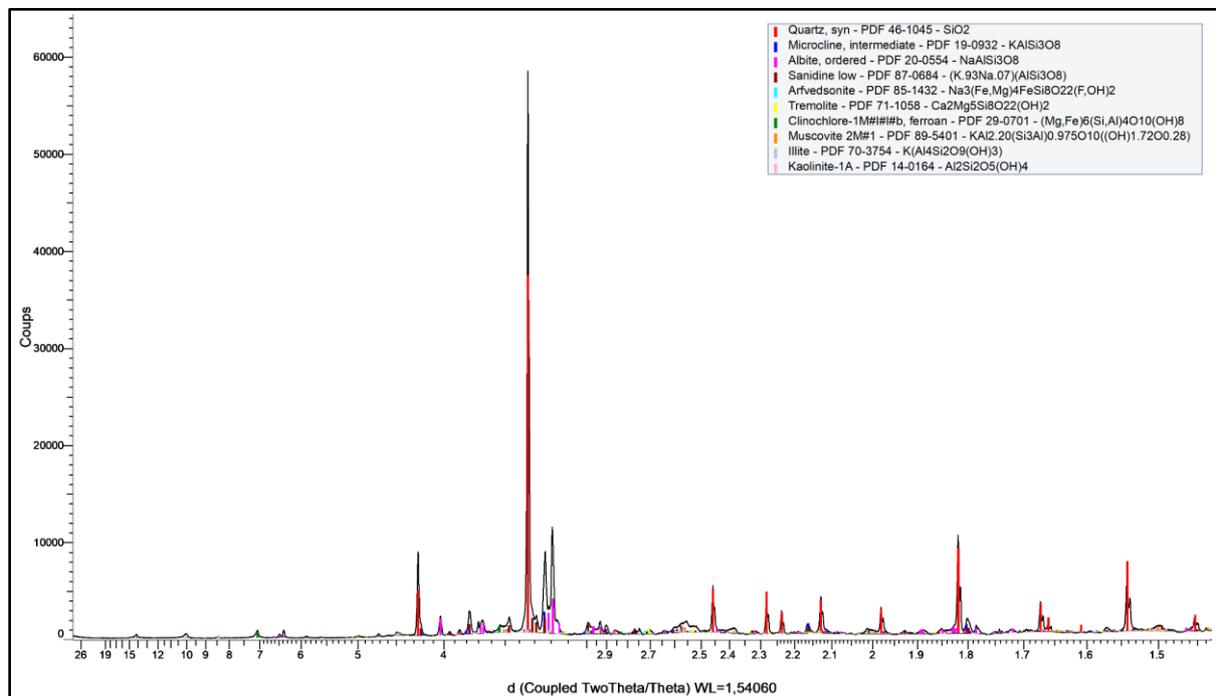


- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

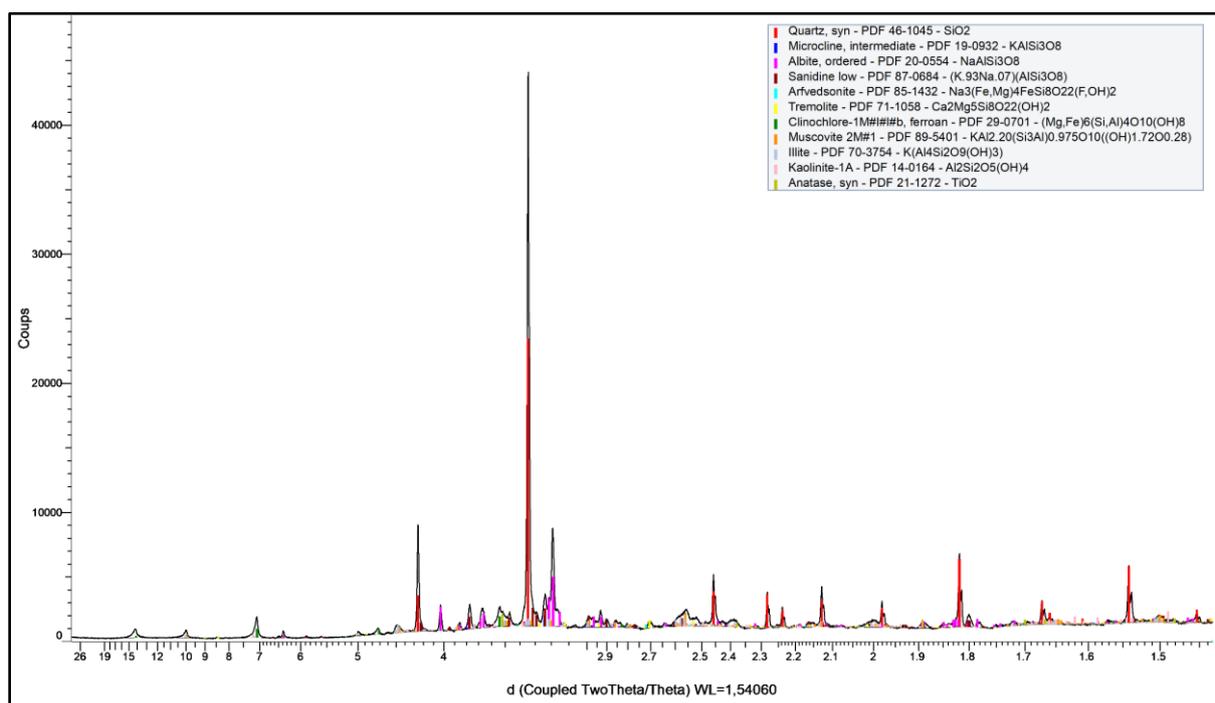
Fraction 2 mm - 200 µm du sédiment confluence :



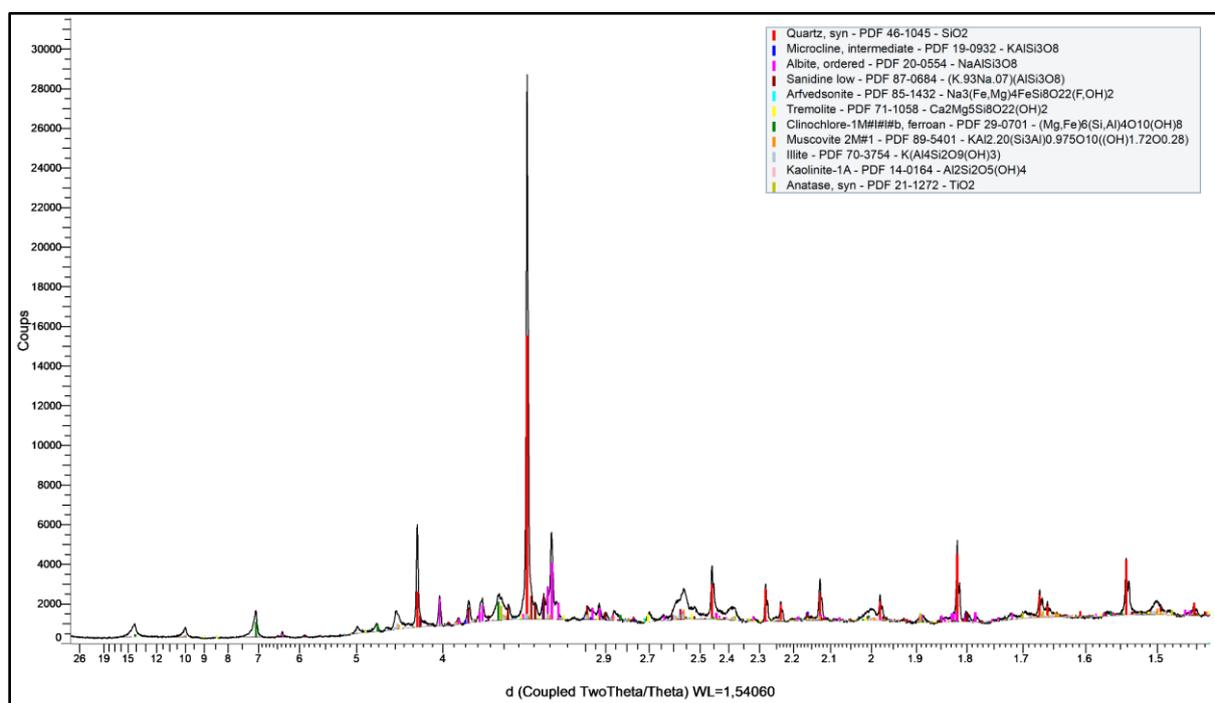
Fraction 200 µm - 50 µm du sédiment confluence :



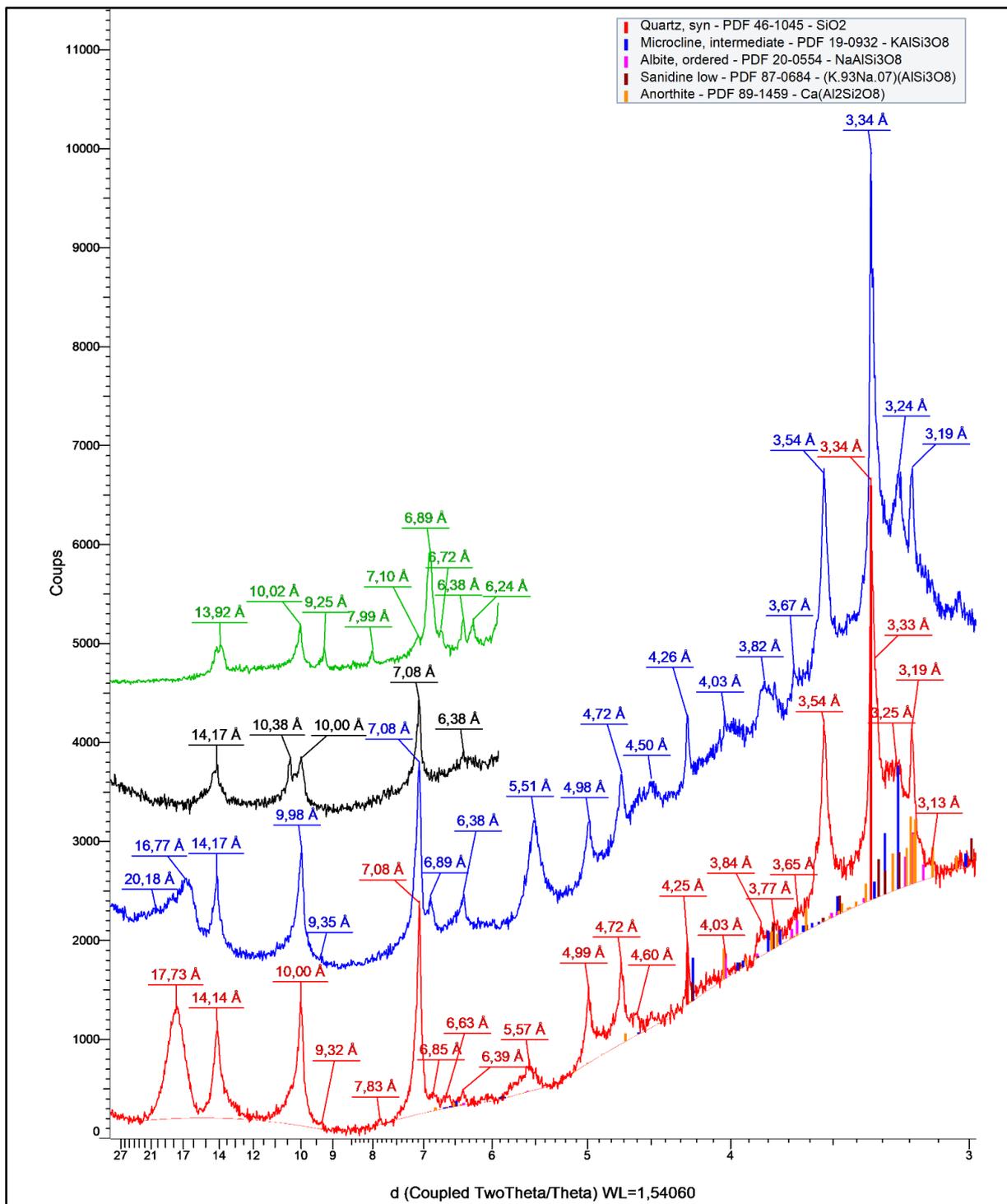
Fraction 50 µm - 20 µm du sédiment confluence :



Fraction 20 µm - 2 µm du sédiment confluence :



Fraction < 2 µm du sédiment confluence :



- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

Annexe 7 : Concentrations en titane dans les sols totaux (mg/kg)

Octobre 2016	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	3320	3167	113	3,58
Amont'	3130			
Amont''	3050			
Rivière	5490	4933	453	9,19
Rivière'	4930			
Rivière''	4380			
Confluence	3970	3907	165	4,23
Confluence'	4070			
Confluence''	3680			
Aval	3970	3877	105	2,71
Aval'	3930			
Aval''	3730			

Septembre 2017	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	3040	2963	61	2,07
Amont'	2960			
Amont''	2890			
Vignes	3300	3320	22	0,65
Vignes'	3310			
Vignes''	3350			
Rivière	11750	11940	1496	12,53
Rivière'	13860			
Rivière''	10210			
Confluence	4810	4603	146	3,18
Confluence'	4510			
Confluence''	4490			
Aval	3580	3543	39	1,09
Aval'	3490			
Aval''	3560			

Mars 2018	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont	3370	3347	17	0,51
Amont'	3330			
Amont''	3340			
Vignes	3500	3463	59	1,71
Vignes'	3380			
Vignes''	3510			
Rivière	10440	10220	270	2,64
Rivière'	9840			
Rivière''	10380			
PP	4460	4380	75	1,71
PP'	4400			
PP''	4280			
PPC	4350	4573	169	3,70
PPC'	4610			
PPC''	4760			
Confluence	3660	3607	75	2,09
Confluence'	3500			
Confluence''	3660			
Aval	3480	3437	37	1,07
Aval'	3390			
Aval''	3440			

Annexe 8 : Concentrations en titane dans les horizons de sols aux points Amont, PPC et Aval (mg/kg)

Echantillons	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-Type	RSD (%)
Amont 0-16 cm	3324	3168	140	4,41
Amont' 0-16 cm	3126			
Amont'' 0-16 cm	3054			
Amont 16-40 cm	3297	3265	365	11,18
Amont' 16-40 cm	3612			
Amont'' 16-40 cm	2884			
Amont 40-60 cm	3618	3602	18	0,51
Amont' 40-60 cm	3582			
Amont'' 40-60 cm	3606			
Amont 60-75 cm	3636	3489	149	4,27
Amont' 60-75 cm	3492			
Amont'' 60-75 cm	3338			
PPC 0-7 cm	5040	5052	21	0,41
PPC 0-7 cm'	5076			
PPC 0-7 cm''	5040			
PPC 7-14 cm	4644	4586	72	1,56
PPC 7-14 cm'	4506			
PPC 7-14 cm''	4608			
PPC 14-22 cm	4836	4804	236	4,90
PPC 14-22 cm'	5022			
PPC 14-22 cm''	4554			
PPC 22-30 cm	4416	4334	73	1,67
PPC 22-30 cm'	4278			
PPC 22-30 cm''	4308			
Aval 0-28 cm	3972	3880	125	3,22
Aval' 0-28 cm	3930			
Aval'' 0-28 cm	3738			
Aval 28-40 cm	3660	3760	105	2,80
Aval' 28-40 cm	3870			
Aval'' 28-40 cm	3750			
Aval 40-60 cm	3312	3392	78	2,30
Aval' 40-60 cm	3468			
Aval'' 40-60 cm	3396			
Aval 60-80 cm	3516	3416	92	2,68
Aval' 60-80 cm	3396			
Aval'' 60-80 cm	3336			

Annexe 9 : Moyennes des pourcentages d'eau, de matière organique et de carbone inorganique dans les fractions granulométriques des sols

Echantillons	Fractions granulométriques	Eau (%)	Matière organique (%)	Carbone inorganique (%)
Amont	2 mm - 200 µm	0,50	1,27	1,72
	200 - 50 µm	1,45	2,33	1,52
	50 - 20 µm	2,40	14,23	3,19
	20 - 2 µm	1,28	20,12	4,29
	< 2 µm	5,91	24,32	3,22
Vignes	2 mm - 200 µm	1,21	2,48	1,59
	200 - 50 µm	0,21	3,51	1,95
	50 - 20 µm	1,66	4,01	1,74
	20 - 2 µm	2,11	14,18	4,13
	< 2 µm	6,04	16,18	3,82
Rivière	2 mm - 200 µm	0,28	2,94	1,39
	200 - 50 µm	0,18	2,55	2,71
	50 - 20 µm	0,34	4,85	1,90
	20 - 2 µm	15,06	23,26	3,94
	< 2 µm	9,75	27,44	14,58
Confluence	2 mm - 200 µm	0,57	2,45	2,04
	200 - 50 µm	1,84	3,89	2,04
	50 - 20 µm	0,06	4,80	2,32
	20 - 2 µm	1,58	17,53	4,18
	< 2 µm	7,85	20,76	3,57
Aval	2 mm - 200 µm	0,64	3,51	1,60
	200 - 50 µm	0,34	9,22	2,13
	50 - 20 µm	0,59	3,09	1,96
	20 - 2 µm	1,45	3,48	1,98
	< 2 µm	1,58	21,20	4,90

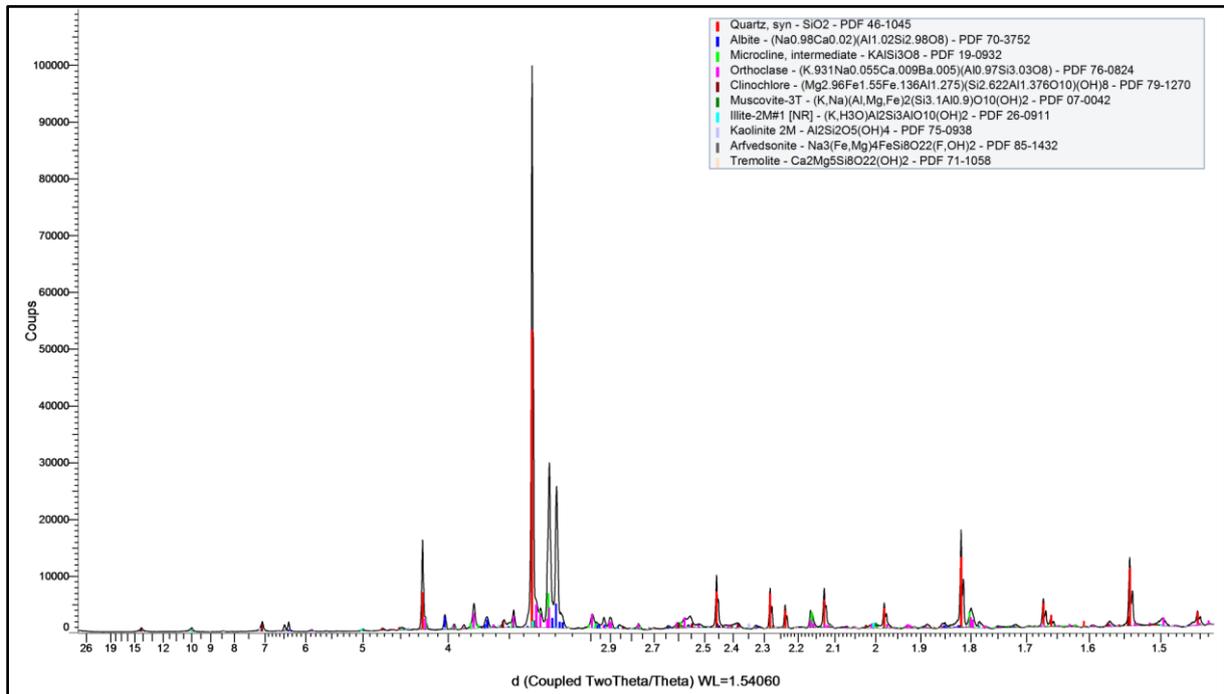
Annexe 10 : Concentrations en titane dans les fractions granulométriques des sols (mg/kg)

Echantillons	Fractions granulométriques	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-type	RSD (%)
Amont	2 mm - 200 µm	2088	2108	17	0,82
	2 mm - 200 µm'	2118			
	2 mm - 200 µm''	2118			
	200 - 50 µm	2988	3030	42	1,39
	200 - 50 µm'	3030			
	200 - 50 µm''	3072			
	50 - 20 µm	216	Creuset fendu		
	50 - 20 µm'	4326	4335	13	0,29
	50 - 20 µm''	4344			
	20 - 2 µm	4656	4628	54	1,16
	20 - 2 µm'	4662			
	20 - 2 µm''	4566			
	< 2 µm	821	804	17	2,14
	< 2 µm'	786			
< 2 µm''	805				
Vignes	2 mm - 200 µm	2436	2340	96	4,10
	2 mm - 200 µm'	2340			
	2 mm - 200 µm''	2244			
	200 - 50 µm	2472	2520	51	2,03
	200 - 50 µm'	2574			
	200 - 50 µm''	2514			
	50 - 20 µm	4470	4454	39	0,87
	50 - 20 µm'	4482			
	50 - 20 µm''	4410			
	20 - 2 µm	4842	4832	105	2,18
	20 - 2 µm'	4722			
	20 - 2 µm''	4932			
	< 2 µm	2334	2370	42	1,76
	< 2 µm'	2360			
< 2 µm''	2416				

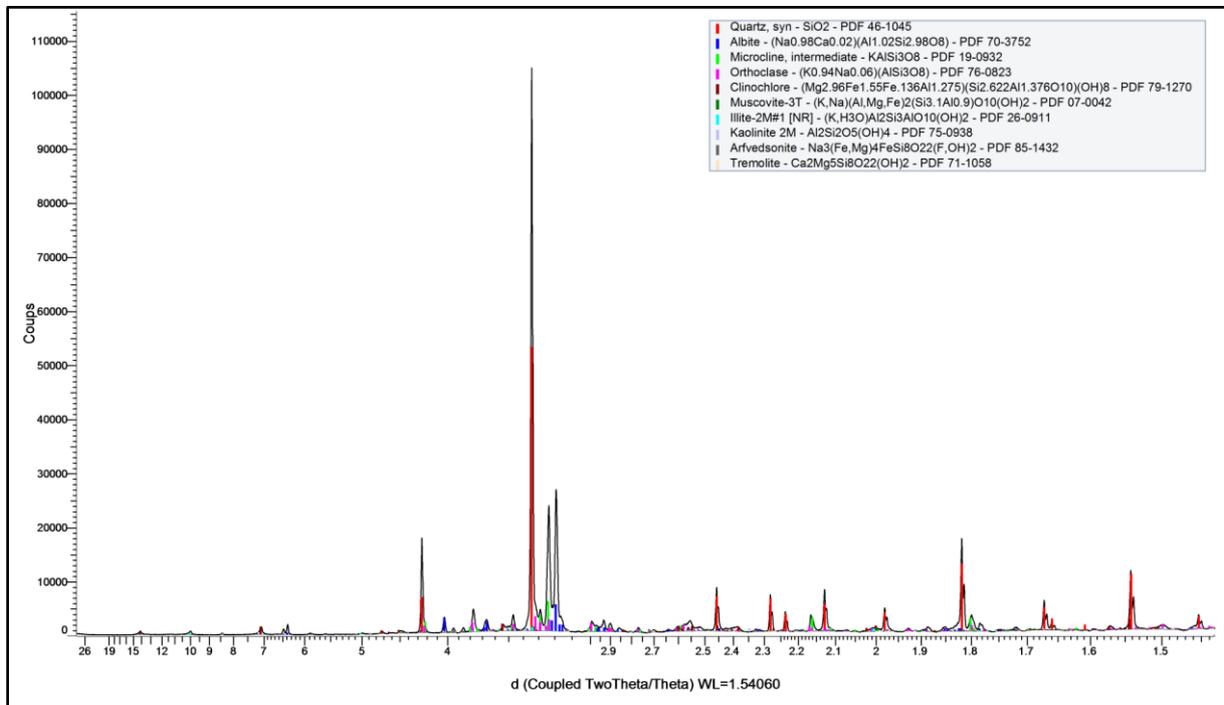
Echantillons	Fractions granulométriques	Ti (mg/kg)	Moyenne	Ecart-type	RSD (%)
Rivière	2 mm - 200 µm	5436	6072	553	9,11
	2 mm - 200 µm'	6342			
	2 mm - 200 µm''	6438			
	200 - 50 µm	39108	35972	2885	8,02
	200 - 50 µm'	33432			
	200 - 50 µm''	35376			
	50 - 20 µm	7932	7940	43	0,54
	50 - 20 µm'	7902			
	50 - 20 µm''	7986			
	20 - 2 µm	252	254	3	1,36
	20 - 2 µm'	258			
	20 - 2 µm''	252			
	< 2 µm	1232	1128	94	8,35
	< 2 µm'	1048			
	< 2 µm''	1104			
Confluence	2 mm - 200 µm	3066	3038	49	1,60
	2 mm - 200 µm'	2982			
	2 mm - 200 µm''	3066			
	200 - 50 µm	5652	5986	300	5,02
	200 - 50 µm'	6234			
	200 - 50 µm''	6072			
	50 - 20 µm	5520	5580	75	1,34
	50 - 20 µm'	5556			
	50 - 20 µm''	5664			
	20 - 2 µm	6390	6330	99	1,56
	20 - 2 µm'	6384			
	20 - 2 µm''	6216			
	< 2 µm	3123	3135	75	2,40
	< 2 µm'	3215			
	< 2 µm''	3066			
Aval	2 mm - 200 µm	1938	1962	21	1,06
	2 mm - 200 µm'	1974			
	2 mm - 200 µm''	1974			
	200 - 50 µm	1788	1694	153	9,00
	200 - 50 µm'	1776			
	200 - 50 µm''	1518			
	50 - 20 µm	2322	2458	135	5,49
	50 - 20 µm'	2460			
	50 - 20 µm''	2592			
	20 - 2 µm	4704	4664	35	0,74
	20 - 2 µm'	4644			
	20 - 2 µm''	4644			
	< 2 µm	3308	3327	17	0,50
	< 2 µm'	3340			
	< 2 µm''	3334			

Annexe 11 : Analyses DRX des fractions de sol

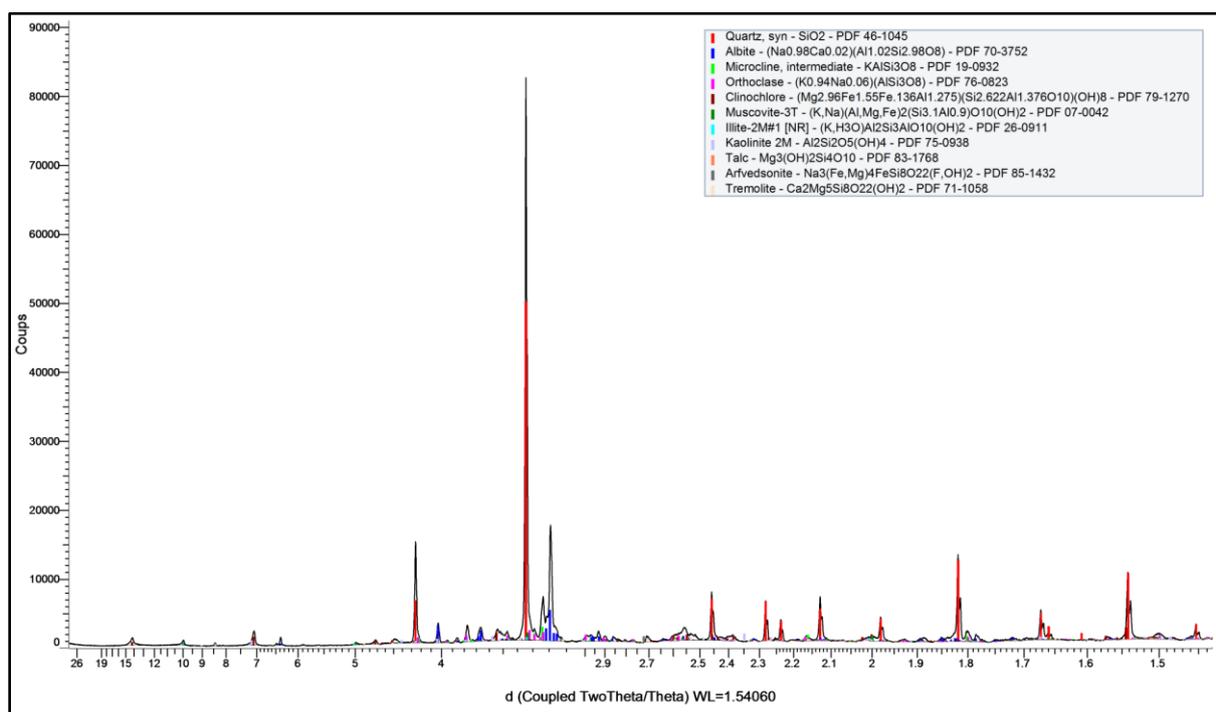
Fraction 2 mm - 200 µm du sol amont :



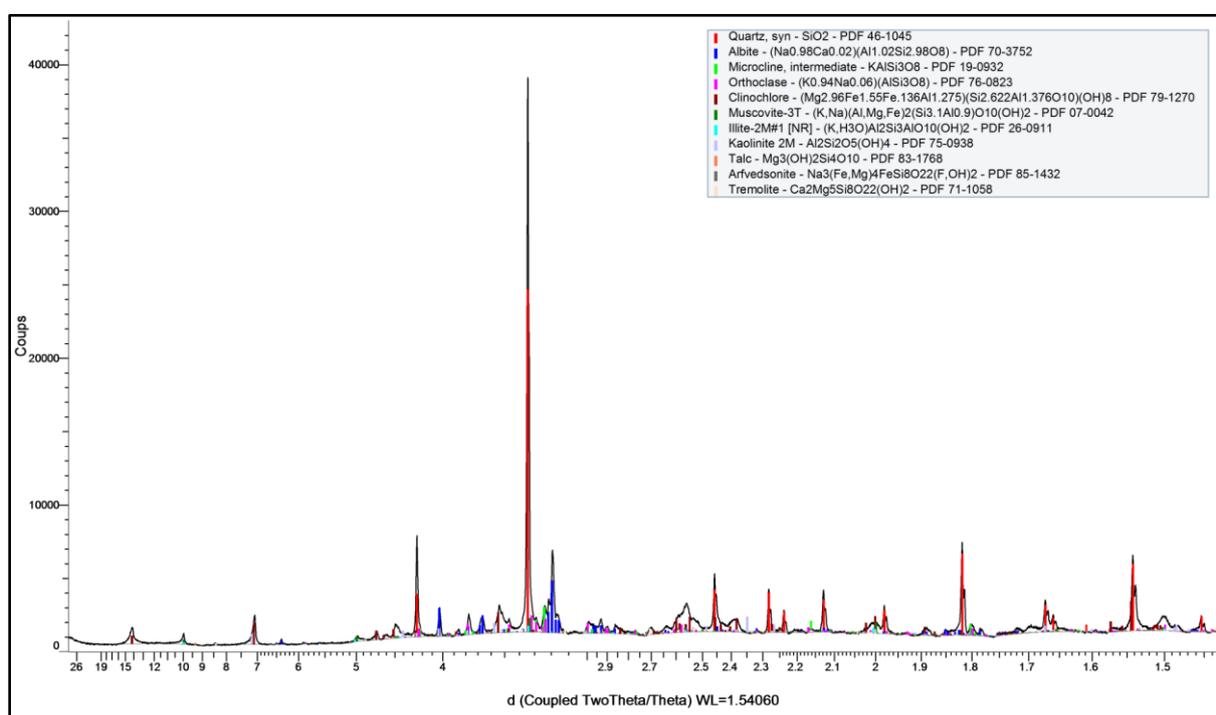
Fraction 200 µm - 50 µm du sol amont :



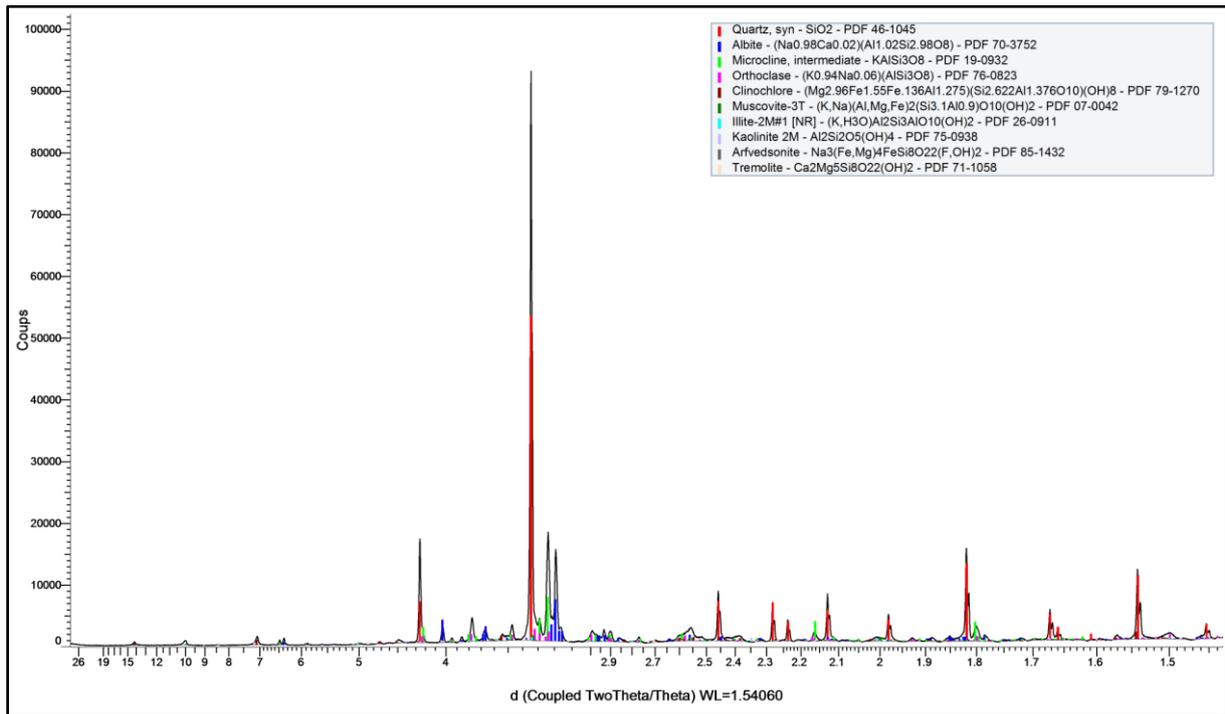
Fraction 50 µm - 20 µm du sol amont :



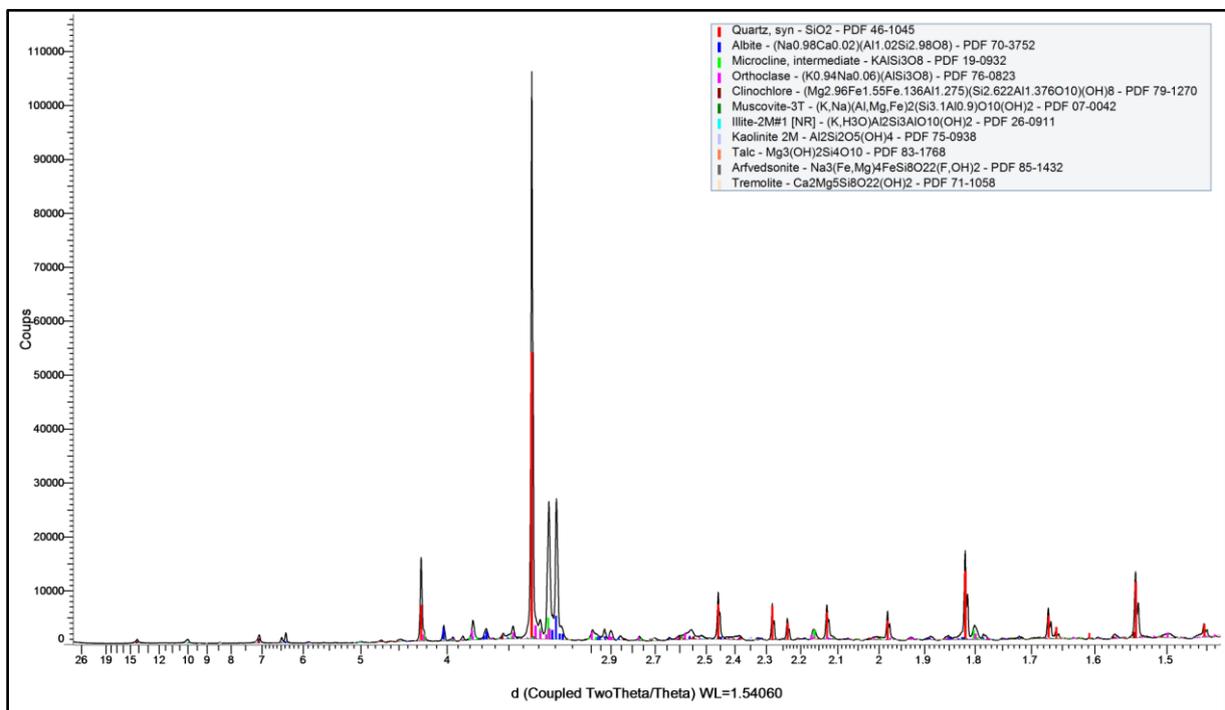
Fraction 20 µm - 2 µm du sol amont :



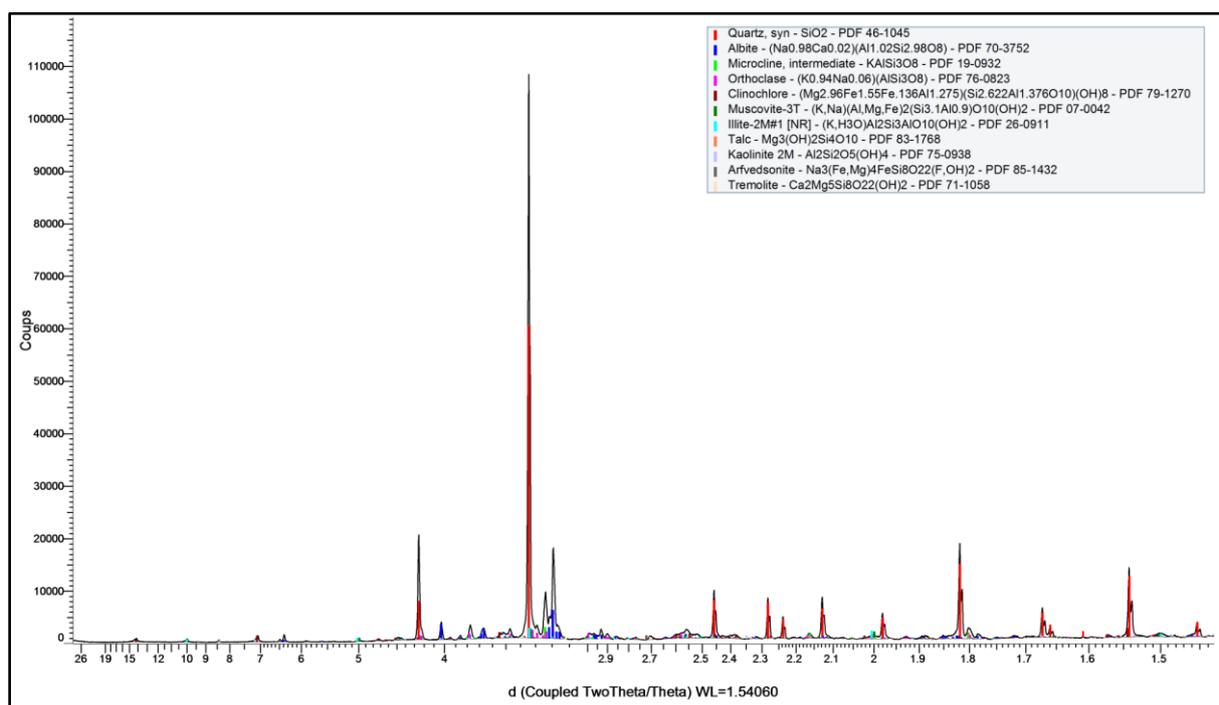
Fraction 2 mm - 200 µm du sol confluence :



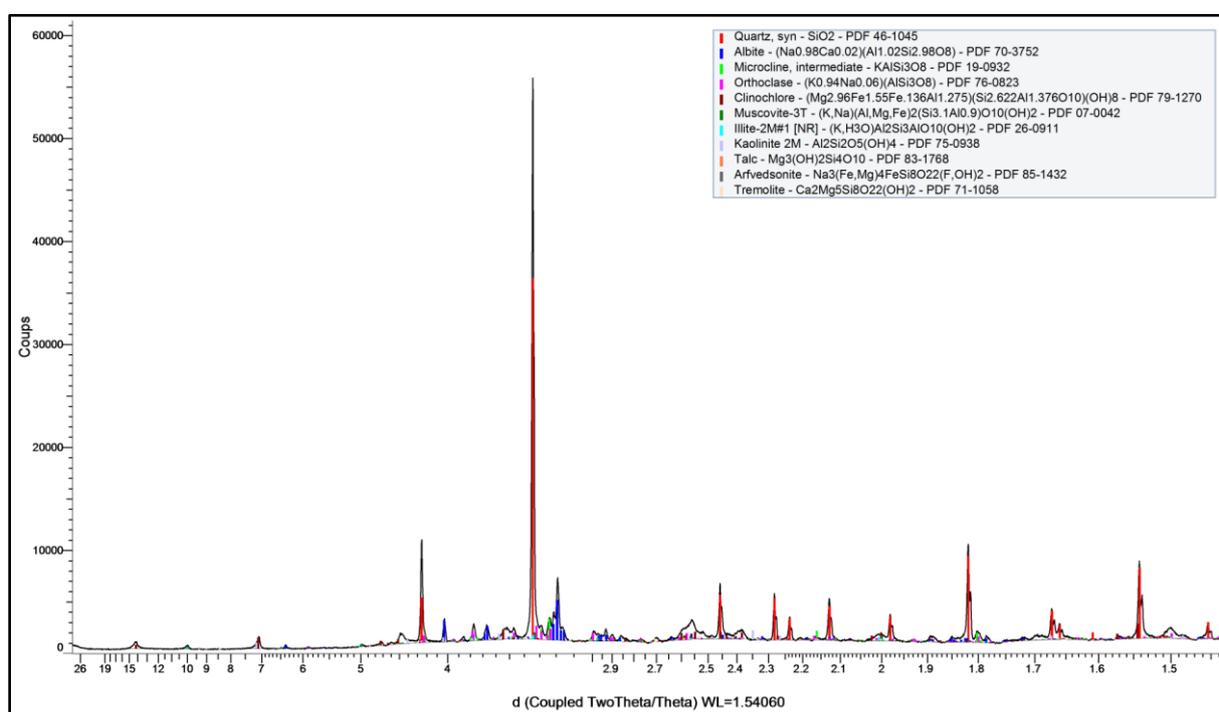
Fraction 200 µm - 50 µm du sol confluence :



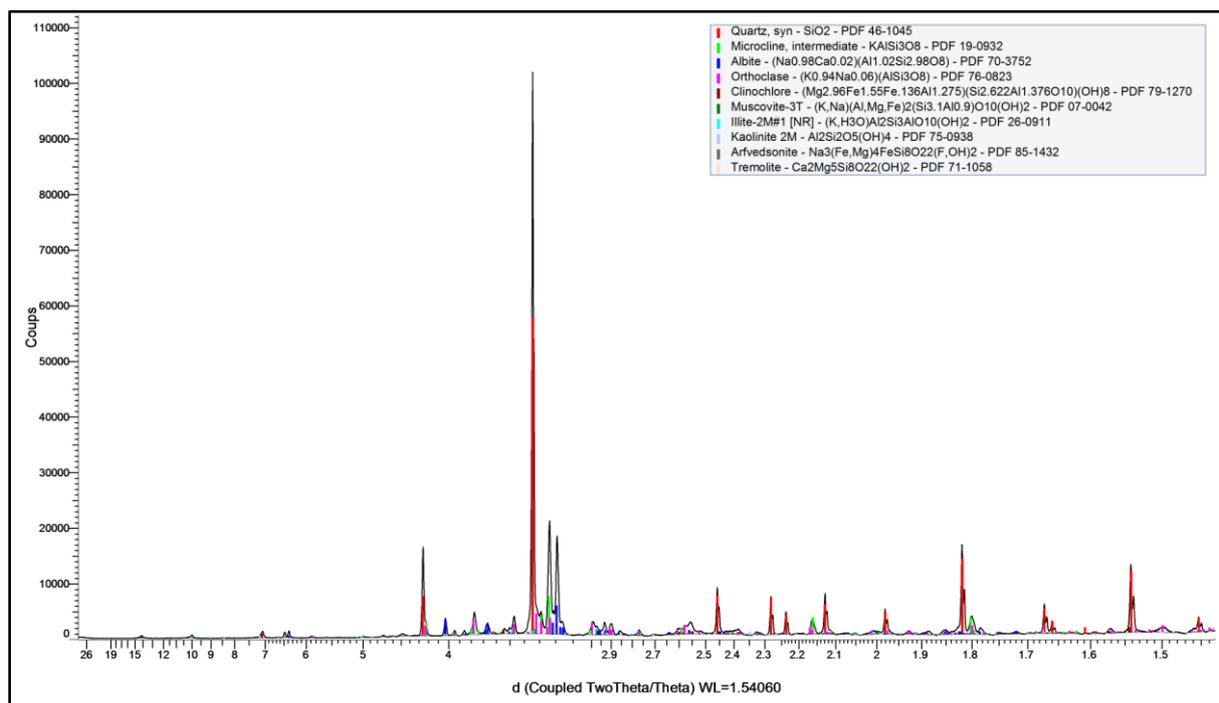
Fraction 50 µm - 20 µm du sol confluence :



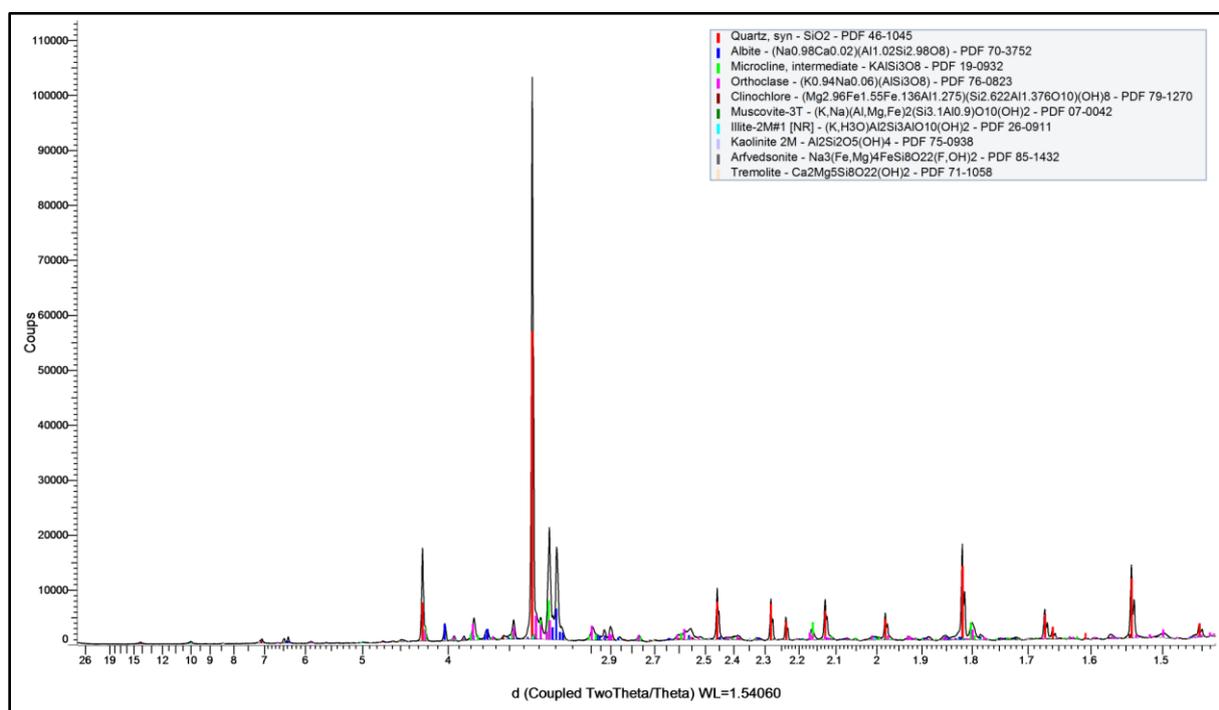
Fraction 20 µm - 2 µm du sol confluence :



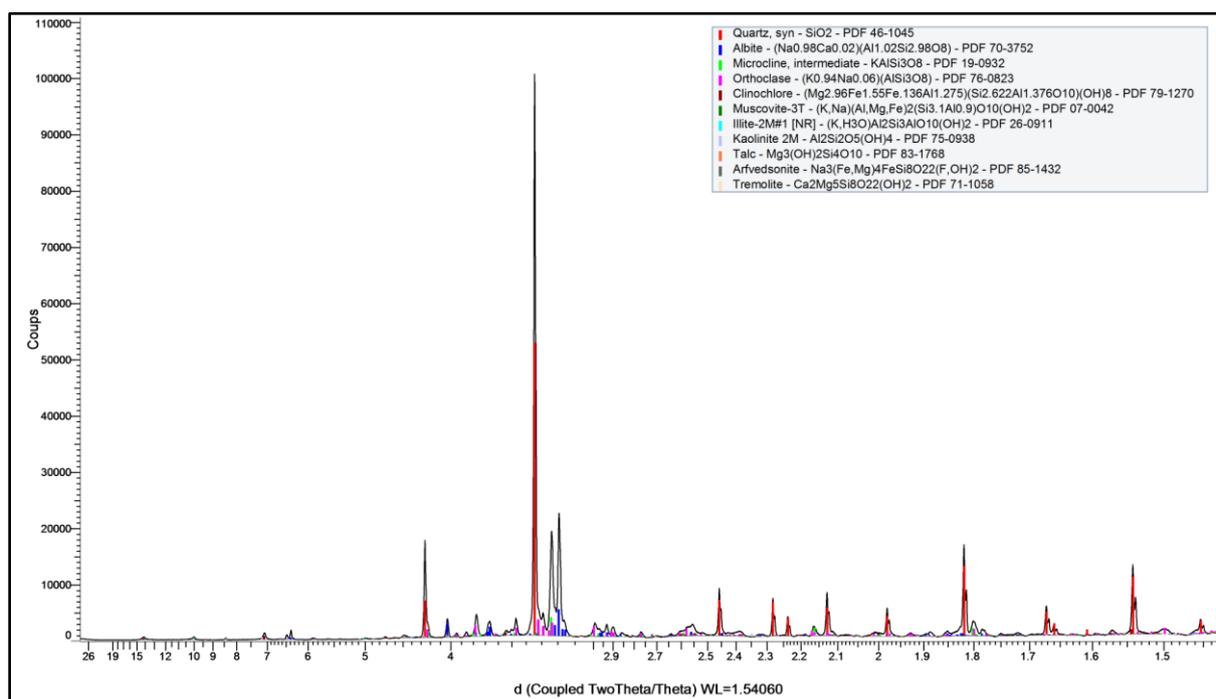
Fraction 2 mm - 200 µm du sol aval :



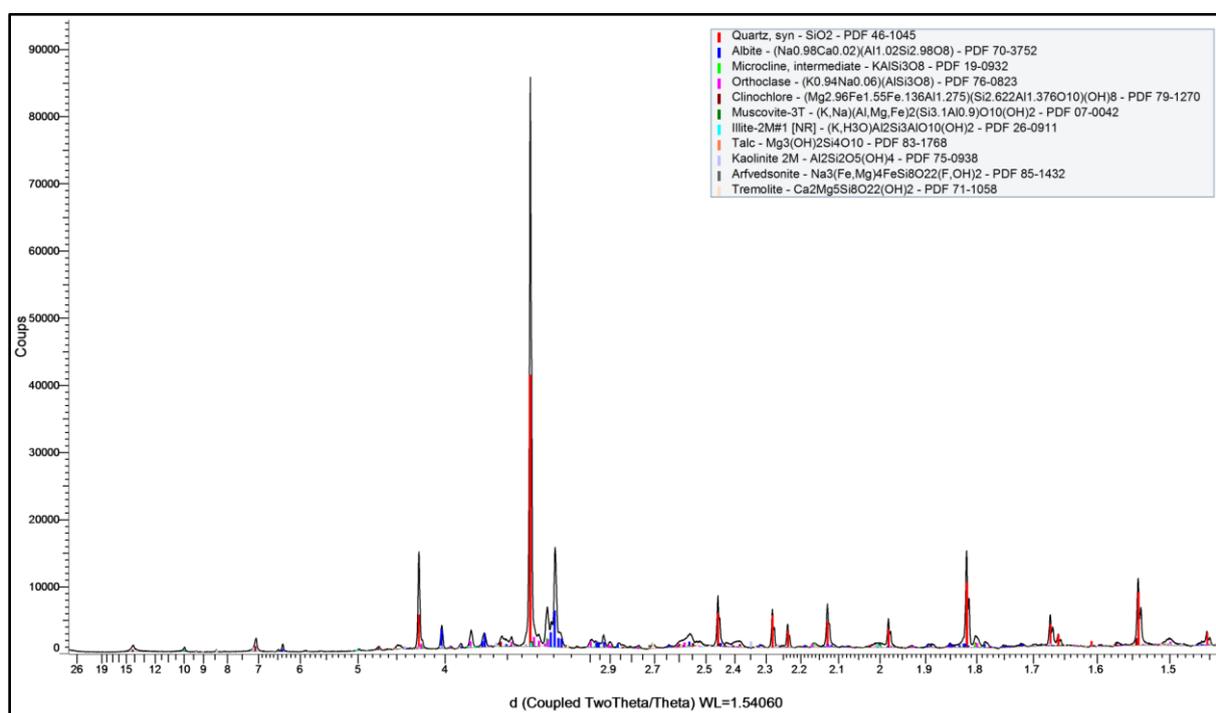
Fraction 200 µm - 50 µm du sol aval :



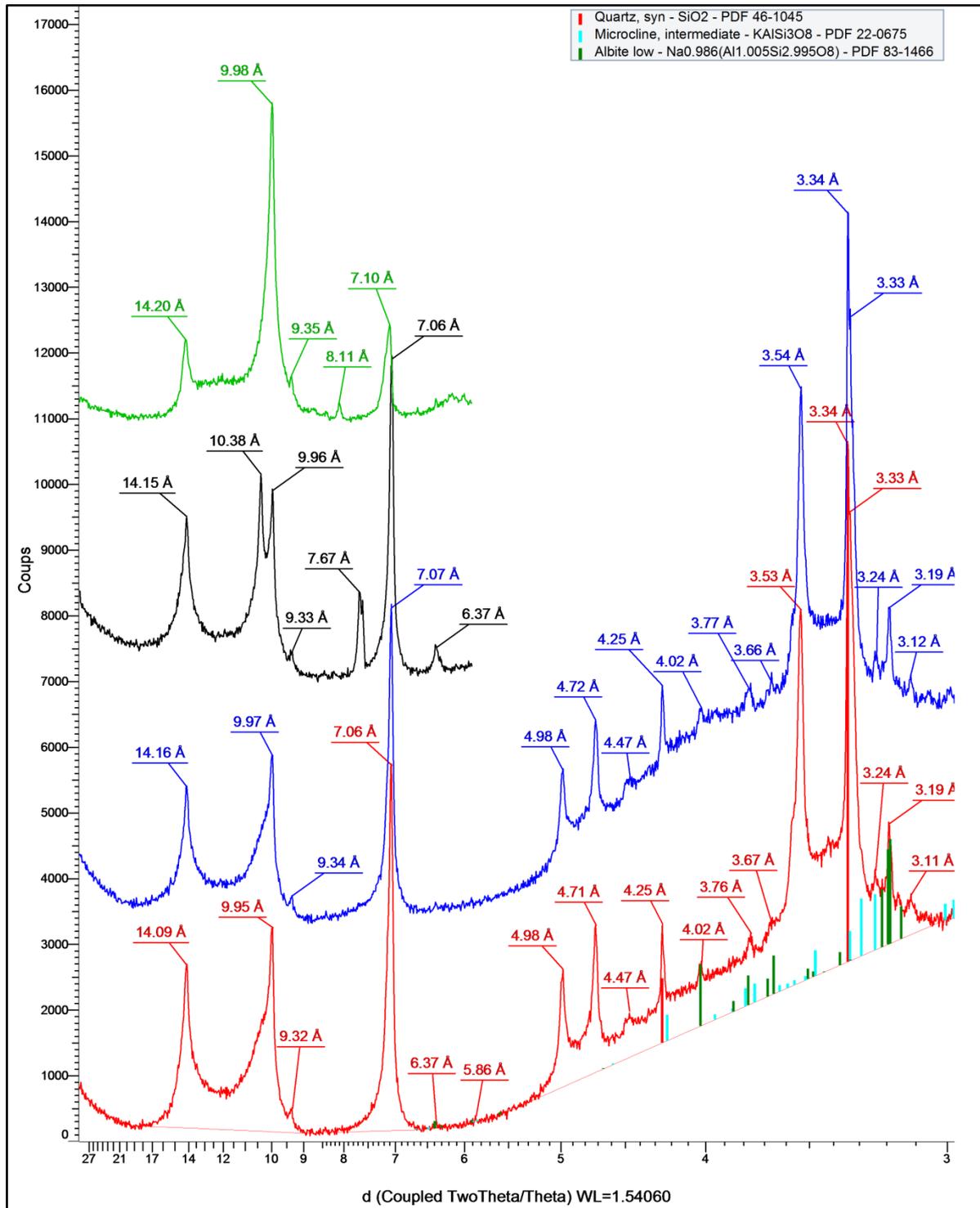
Fraction 50 µm - 20 µm du sol aval :



Fraction 20 µm - 2 µm du sol aval :

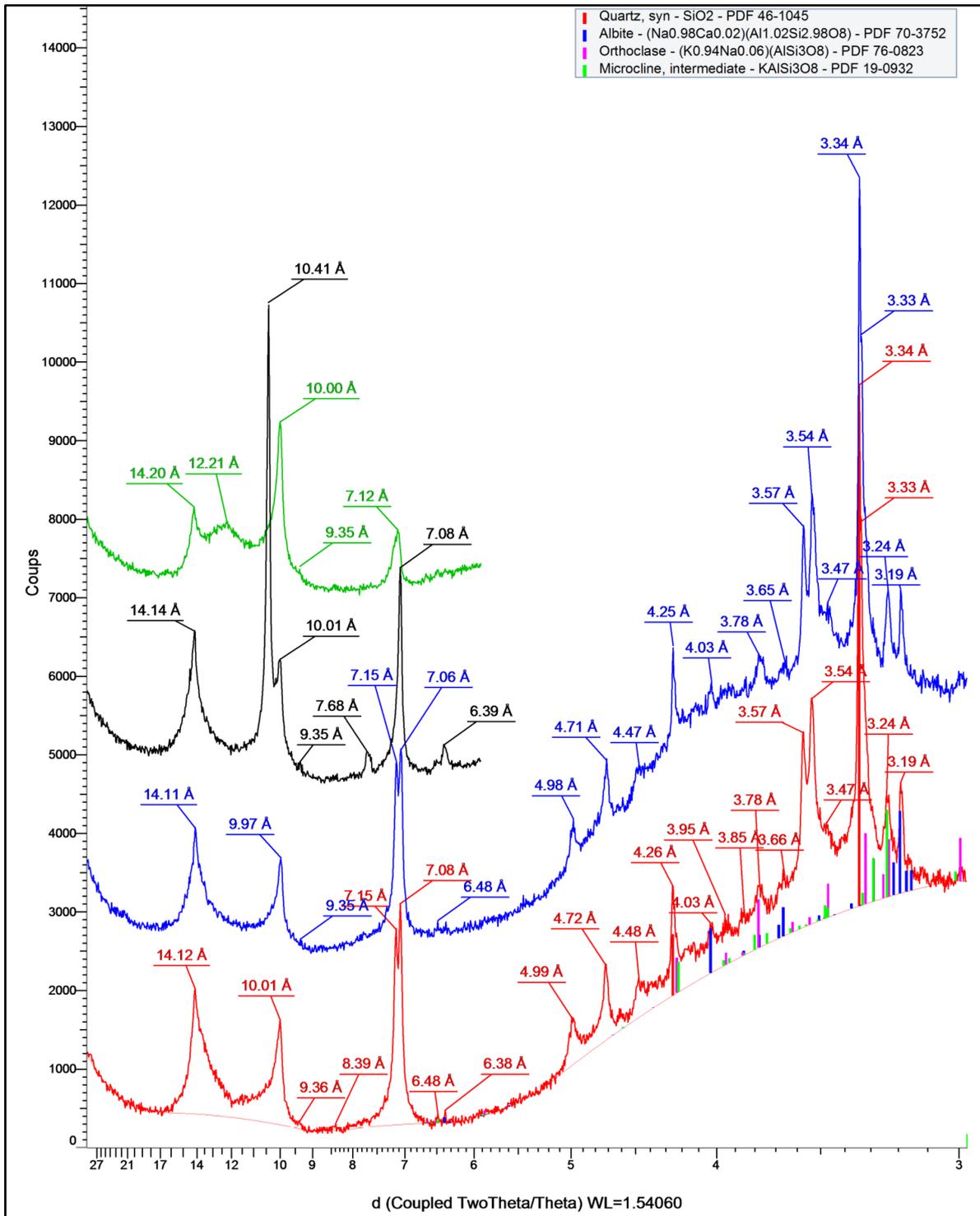


Fraction < 2 µm du sol amont :



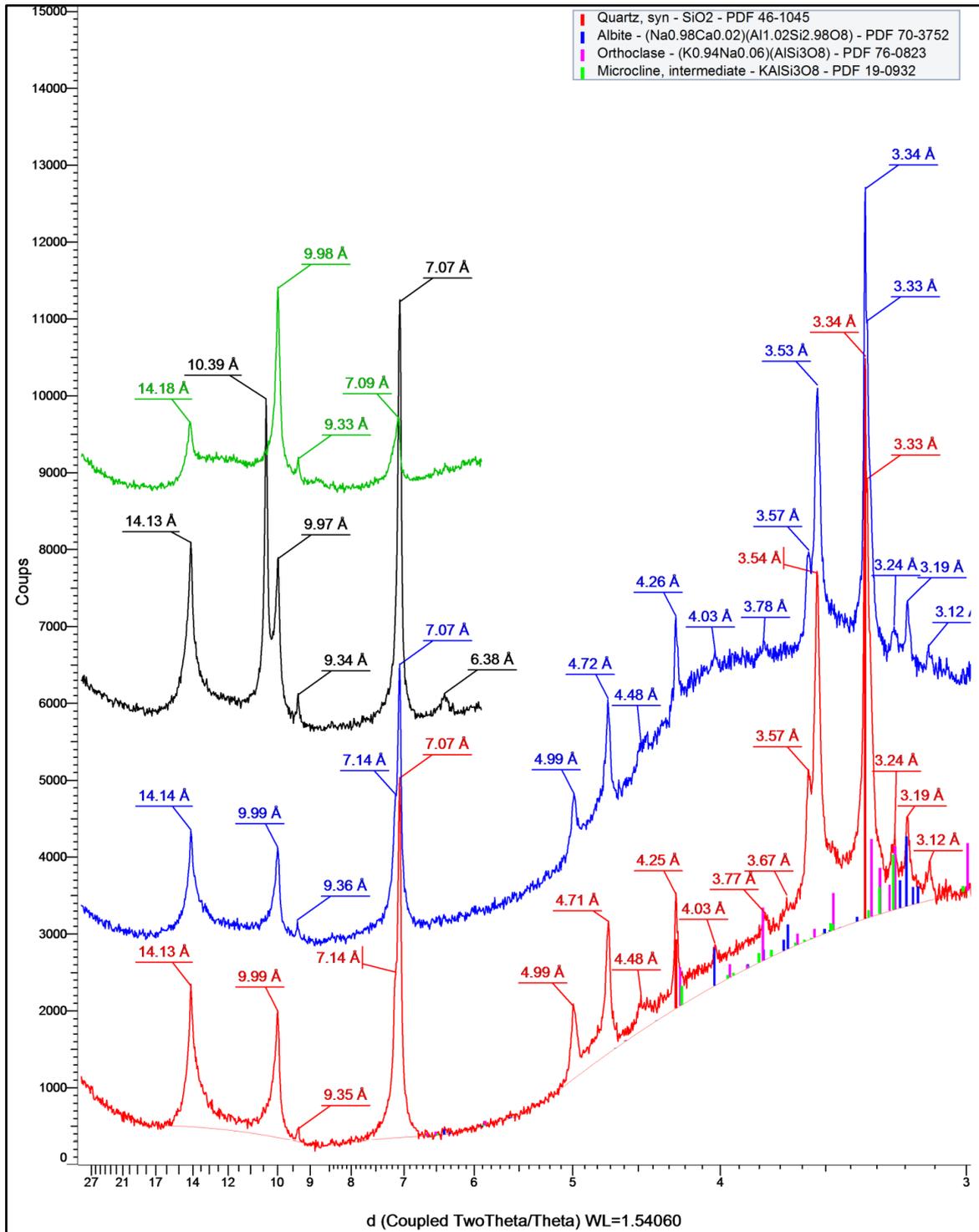
- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

Fraction < 2 µm du sol vignes :



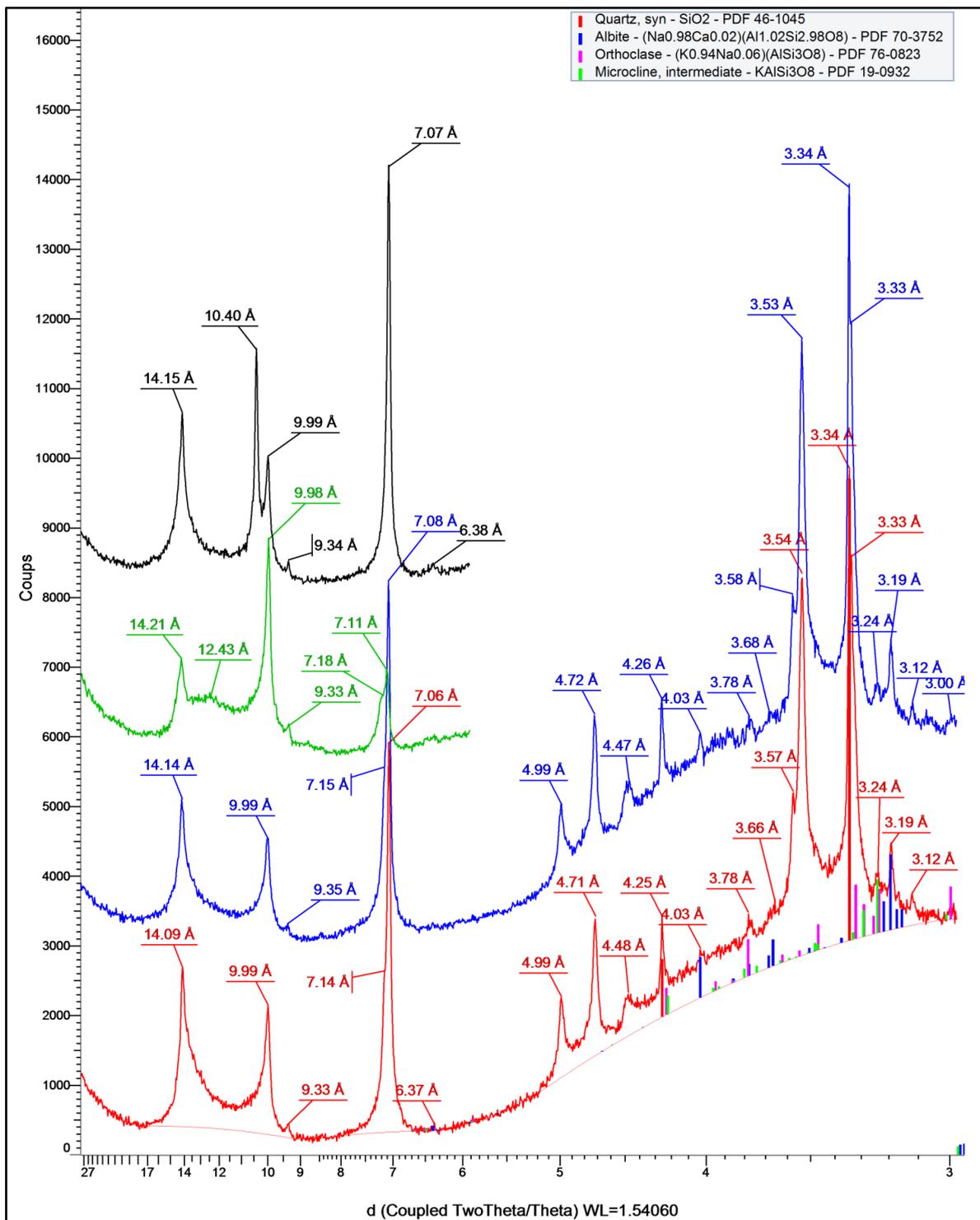
- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

Fraction < 2 µm du sol confluence :



- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

Fraction < 2 µm du sol aval :



- Sans traitement (air)
- Traitement à l'éthylène glycol
- Chauffage à 490°C pendant 4h
- Traitement à l'hydrazine

Annexe 12 : Synthèse bibliographique de la toxicité des NPs TiO₂ pour le cloporte rugueux (*Porcellio Scaber*)

Types de NPs	Mode d'administration	Concentrations	Temps d'exposition	Paramètres étudiés	Résultats	Valeurs de références	Références
TiO₂, 15 nm (anatase)	Nourriture (feuilles séchées)	0 - 3000 µg/g	3 jours	Taux d'alimentation, efficacité d'assimilation de la nourriture, masse de l'animal, mortalité et activité enzymatique	Modification de l'activité enzymatique	/	Jemec <i>et al.</i> (2008)
TiO₂, 10 nm (anatase) et 40 nm (anatase/rutile)	Nourriture (feuilles séchées)	0 - 1000 µg/g	3 et 14 jours	Taux d'alimentation, efficacité d'assimilation de la nourriture, masse de l'animal, mortalité et activité enzymatique	Modification de l'activité enzymatique et augmentation du taux d'alimentation	/	Drobne <i>et al.</i> (2009)
TiO₂, 10 nm (anatase)	Nourriture (feuilles séchées)	0 - 2000 µg/g	3 et 7 jours	Taux d'alimentation, masse de l'animal, mortalité, peroxydation des lipides et stabilité de la membrane cellulaire de la glande digestive	Peroxydation des lipides et dommages sur les cellules de la membrane de la glande digestive	/	Valant <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 10 nm (anatase)	Nourriture (feuilles séchées)	0 - 2000 µg/g	3, 7, 14 et 28 jours	Taux d'alimentation, masse de l'animal, mortalité et stabilité de la membrane cellulaire de la glande digestive	Diminution ou augmentation du taux d'alimentation et dommages sur les cellules de la membrane de la glande digestive	/	Novak <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 10 nm (anatase)	Nourriture (feuilles séchées)	0 - 5000 µg/g	28 jours	Efficacité d'assimilation de la nourriture, masse de l'animal, mortalité, stabilité de la membrane cellulaire, épaisseur de l'épithélium de la glande digestive et abondance des gouttelettes lipidiques	Réduction de l'épaisseur de l'épithélium digestive et diminution de l'abondance des gouttelettes lipidiques	/	Srpčič <i>et al.</i> (2015)
93 % TiO₂ et 7 % Al₂O₃-ZrO₂, 220 nm (rutile)	Nourriture (feuilles séchées) et sol	0 - 1000 µg/g (feuilles et sol)	14 jours	Taux d'alimentation, choix de la nourriture (contaminée ou non) mortalité, statut physiologique de l'animal et conditions d'exposition (laboratoire/extérieur/grange)	Diminution du taux d'alimentation à l'extérieur et dans la grange	/	Jemec <i>et al.</i> (2016)

Annexe 13 : Synthèse bibliographique de la toxicité des NPs TiO₂ pour les vers de terre

Types de NPs	Espèces	Mode d'administration	Concentrations	Temps d'exposition	Paramètres étudiés	Résultats	Valeurs de références	Références
TiO₂, 10-20 nm (rutile)	<i>Eisenia fetida</i>	Poudre de NPs mélangée au sol	0 - 5 g/kg	7 jours	Bioaccumulation, dommages sur l'ADN et les mitochondries et activité enzymatique	Bioaccumulation, dommages sur l'ADN et les mitochondries et modification de l'activité enzymatique	NOEC : 500 mg/kg LOEC: 1 g/kg	Hu <i>et al.</i> (2010)
TiO₂, bâtonnet, 10x50 nm enrobées de Al(OH)₃ et PDMS	<i>Lumbricus terrestris</i>	Eau, nourriture et solution de NPs ajoutée au sol	Eau : 0 - 100 mg/L, nourriture : 0 à 100 mg/kg, sol : 0 - 15 mg/kg	Eau : 7 jours, nourriture : 8 semaines, sol : 4 semaines	Mortalité, bioaccumulation et apoptose	Augmentation de l'apoptose et bioaccumulation	/	Lapied <i>et al.</i> (2011)
TiO₂, 32 nm (anatase)	<i>Eisenia fetida</i>	Contact sur le papier filtre ou dans le sable ou sol	0 - 10 g/L sur papier filtre et 0 - 2500 mg/kg de sable ou 0-1000 mg/kg sable	14 jours pour la mortalité et 4 semaines pour la reproduction	Mortalité, poids de l'animal et reproduction	Diminution de la reproduction	/	Canas <i>et al.</i> (2011)
TiO₂, 21 nm (73 % anatase et 27 % rutile)	<i>Eisenia fetida</i>	Solution de NPs ajoutée au sol	1000 mg/g	28 jours	Mortalité et reproduction	Diminution de la reproduction	EC ₅₀ (28 jours) : 1000 mg/g	Heckmann <i>et al.</i> (2011)
TiO₂, 10x50 nm enrobées de Al(OH)₃ et PDMS	<i>Eisenia fetida</i>	Eau	0 - 100 mg/L	24 h	Mortalité, bioaccumulation, expression génétique, apoptose, immunotoxicité, viabilité des cellules et phagocytose	Bioaccumulation, augmentation de l'apoptose, baisse de la phagocytose et modification de l'activité enzymatique	/	Bigorgne <i>et al.</i> (2011)
TiO₂, 5 nm (anatase)	<i>Eisenia fetida</i>	Solution de NPs ajoutée au sol	0 - 200 mg/kg	20 et 23 semaines	Réponse métabolique de 8 acides aminés, du maltose et du glucose	Augmentation de tous les acides aminés et diminution du maltose	/	Whitfield Aslund <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 5 et 10 nm (anatase), 21 nm (80 % anatase et 20 % rutile)	<i>Eisenia fetida</i> <i>Eisenia andrei</i>	Solution de NPs ou poudre sèche ajoutées au sol	0 - 20200 mg/kg	2 à 18 semaines	Mortalité, reproduction, croissance et choix du sol contaminé ou non	Tendance à éviter le sol contaminé	/	McShane <i>et al.</i> (2012)

TiO₂, 8nm (anatase), 20 nm enrobées de Al(OH)₃ (rutile) et 21 nm (rutile/anatase)	<i>Eisenia andrei</i>	Poudre sèche ajoutée au sol	0 - 1000 mg/kg	4 et 8 semaines	Reproduction	Inhibition du cycle circannuel	/	Schlich <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 22 nm (86 % anatase et 14 % rutile), 20 nm (rutile) +Al₂O₃/PDMS ou Al₂O₃/glycérol, 9 nm (anatase) benzoate ou acétate	<i>Enchytraeus crypticus</i>	Eau, solution de NPs ajoutée au sol et eau du sol	Sol : 0 - 1000 mg/kg, eau : 0 - 100 mg/L	5 jours	Mortalité et reproduction	Mortalité (NPs enrobées d'acétate)	LC ₅₀ (5 jours) = 0,3 mg/L	Gomes <i>et al.</i> (2015)
TiO₂, 20-40 nm	<i>Phrretima hayayana</i>	Solution de NPs ajoutée au sol	0 - 400 mg/kg (toxicité aigüe) et 0 - 100 µg/kg (toxicité chronique)	24 h ou 4 semaines	Mortalité, activité enzymatique et réserves énergétiques	Mortalité, modification de l'activité enzymatique et diminution des réserves énergétiques	LC ₅₀ (24 h) : 145,36 mg/kg	Khalil <i>et al.</i> (2015)
TiO₂ synthétisées : T1, T2 et T3 (5 nm) dopées au Ce, T4 (6 nm), T5 (24 nm) et T6 (33 nm), TiO₂ commercial (21 nm)	<i>Eudrilus euginae</i>	Poudre sèche ajoutée au sol	50 mg/kg	60 jours	Reproduction et dommages physiques	Diminution de la reproduction (NPs dopé au Ce), dommages sur l'épiderme, les muscles et la barrière intestinale	EC ₅₀ (chronique) = < 50 mg/kg	Priyanka <i>et al.</i> (2018)
TiO₂, P25 (21 nm, anatase/rutile)	<i>Eisenia andrei</i>	Solution de NPs ou poudre de NPs ajoutées au sol, nourriture	0 - 200 mg/kg sol et nourriture	4 et 8 semaines	Mortalité, poids de l'animal et reproduction	Inhibition du cycle circannuel	/	Hund-Rinke <i>et al.</i> (2012)

Annexe 14 : Synthèse bibliographique de la toxicité des NPs TiO₂ pour *Caenorhabditis elegans*

Types de NPs	Mode d'administration	Concentrations	Temps d'exposition	Paramètres étudiés	Résultats	Valeurs de références	Références
TiO₂, 50 nm anatase	Eau	0 - 239,6 mg/L	24 h ou 5 jours	Mortalité, taille des organismes et reproduction	Mortalité, diminution de la taille et de la reproduction	LC ₅₀ (24 h) = 80 mg/L NOEC = 24 mg/L LOEC = 47,9 mg/L	Wang <i>et al.</i> (2009)
TiO₂, 7 et 20 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	1 mg/L	24 h	Mortalité, taille des organismes, reproduction et expression des gènes	Mortalité, modifications génétiques, diminution de la taille et de la reproduction	/	Roh <i>et al.</i> (2010)
TiO₂, 25 et 100 nm	Eau	0 à 500 mg/L	24 h	Mortalité	Mortalité	LC ₅₀ (24 h) = 77 mg/L	Khare <i>et al.</i> (2011)
TiO₂, 4, 10, 60 et 90 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	0 à 50 mg/L (24 h) et 0 à 100 µg/L (8 jours)	24 h ou 8 jours	Mortalité, taille des organismes, mobilité, dommages cellulaires et formation de ROS	Mortalité, diminution de la mobilité, dommages cellulaires et formation de ROS	EC ₅₀ = 0,1 µg/L (4 nm) et 1 µg/L (10 nm)	Wu <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 4, 10, 60 et 90 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	0 à 10 µg/L	3,5 jours	Mortalité, taille des organismes, reproduction, mobilité, dommages cellulaires, formation de ROS et expression des gènes	Mortalité, diminution de la taille, de la reproduction et de la mobilité, dommages cellulaires, formation de ROS et modifications génétiques	EC ₅₀ = 10 µg/L (10 nm) et < 10 µg/L (4 nm)	Li <i>et al.</i> (2012)
TiO₂, 10 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	20 µg/L et 25 mg/L	24 h	Mortalité, taille des organismes, reproduction, mobilité, dommages cellulaires, formation de ROS et expression des gènes	Diminution de la reproduction et de la mobilité et modifications génétiques	Organismes mutants donc pas de valeurs de référence	Rui <i>et al.</i> (2013)
TiO₂, 30 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	0 à 50 µg/L	3,5 jours	Mortalité, taille des organismes, reproduction, mobilité, formation de ROS	Mortalité, diminution de la taille, de la reproduction et de la mobilité et formation de ROS	NOEC = 0,005 µg/L et LOEC = 0,05 µg/L	Wu <i>et al.</i> (2013)

TiO₂, 10 nm	Eau (0,032 M KCl ; 0,051 M NaCl)	0 à 1 µg/L	3,5 jours	Mortalité, taille des organismes, reproduction, mobilité, dommages cellulaires et formation de ROS	Mortalité, diminution de la taille, de la reproduction et de la mobilité, dommages cellulaires et formation de ROS	Organismes mutants donc pas de valeurs de référence	Wu <i>et al.</i> (2014)
TiO₂, 21 nm (86 % anatase et 14 % rutile)	Eau (42 mM Na ₂ HPO ₄ , 22 mM KH ₂ PO ₄ , 86 nM NaCl, 1 mM MgSO ₄ x 7 H ₂ O)	0 à 100 mg/L	4 jours	Mortalité, taille des organismes, reproduction, expression des gènes, bioaccumulation	Diminution de la reproduction et de la taille et bioaccumulation	NOEC = 3 mg/L LOEC = 10 mg/L EC ₅₀ = 53 mg/L	Angelstorff <i>et al.</i> (2014)
TiO₂, 6, 13 et 16 nm (anatase), 69 nm (rutile), 10x40 nm (rutile), 34 nm (83 % anatase et 17 % rutile)	Eau	0 à 500 mg/L	24 h ou 3 jours	Mortalité, reproduction, expression des gènes	Diminution de la reproduction et modifications génétiques	EC ₅₀ entre 4 et 32 mg/L	Rocheleau <i>et al.</i> (2015)
TiO₂, 11 nm	Eau	7,7 et 38,5 mg/L	De 6 h à 5 jours	Reproduction, taille des organismes, formation de ROS, réponses métaboliques	Diminution de la reproduction, formation de ROS et changement dans les réponses métaboliques	EC ₅₀ = < 38,5 mg/L	Ratnasekhar <i>et al.</i> (2015)
TiO₂, 11 nm	Eau	0 à 200 mg/L	24 h ou 3 jours	Mortalité et effets d'antioxydants (curcuma et vitamine C)	Mortalité mais diminution de la mortalité si utilisation d'antioxydants	LC ₅₀ (24 h) = 172 mg/L LC ₅₀ (72 h) = 54,16 mg/L	Sonane <i>et al.</i> (2017)

Annexe 15 : Synthèse bibliographique de la toxicité des NPs TiO₂ pour les communautés bactériennes du sol

Types de NPs	Mode d'administration	Concentrations	Temps d'exposition	Paramètres étudiés	Résultats	Valeurs de références	Références
NPs TiO₂, 15-20 nm (81 % anatase et 19 % rutile)	Solution de NPs ajoutée au sol	0 à 2 g/kg	15 et 60 jours	Respiration (CO ₂), abondance et diversité bactérienne du sol	Diminution de la respiration du sol, de l'abondance et changement de la diversité bactérienne	EC ₅₀ (60 jours) = 1 g/kg	Ge <i>et al.</i> (2011)
NPs TiO₂, 20 nm	Poudre de NPs ajoutée au sol	91 mg/kg	7 mois	Activité enzymatique	Modification de l'activité enzymatique	/	Du <i>et al.</i> (2011)
NPs TiO₂, 15-20 nm (81 % anatase et 19 % rutile)	Solution de NPs ajoutée au sol	0 à 2 g/kg	15 et 60 jours	Diversité bactérienne et modification enzymatique	Changement de la diversité bactérienne	/	Ge <i>et al.</i> (2012)
NPs TiO₂, 20-30 nm (81 % anatase et 19 % rutile)	Poudre de NPs ajoutée au sol et sol au contact de vapeurs d'eau, K ₂ SO ₄ , KNO ₃ , KCl ou NaCl	20 g/kg	288 jours (9 mois et demi)	Eau du sol, matière organique, carbone et azote totaux, respiration et diversité bactérienne	Changement de la diversité bactérienne	/	Ge <i>et al.</i> (2013)
NPs TiO₂, 21 nm (80 % anatase et 20 % rutile)	Solution de NPs ajoutée au sol	1 et 500 mg/kg	0 à 90 jours	Abondance bactérienne et carbone total	Diminution de l'abondance bactérienne et du carbone total	/	Simonin <i>et al.</i> (2015)
NPs TiO₂, 10 nm (anatase)	Solution de NPs ajoutée au sol	1 g/kg	30 jours	Paramètres thermogéniques (chaleur produite, taux de croissance) abondance bactérienne et activité enzymatique	Diminution de l'abondance bactérienne et modification enzymatique	/	Chai <i>et al.</i> (2015)
NPs TiO₂, 20 nm (anatase)	Poudre de NPs ajoutée au sol	0 à 1000 mg/kg	110 jours	Carbone total et activité enzymatique	Modification de l'activité enzymatique	/	Xu <i>et al.</i> (2015)
NPs TiO₂, 28,7 nm (80 % anatase et 20 % rutile)	Solution de NPs ajoutée au sol (en 1,2 ou 3 fois)	372 mg/kg	2 mois	Abondance bactérienne et activité enzymatique	Diminution bactérienne et modification de l'activité enzymatique	/	Simonin <i>et al.</i> (2016)
NPs TiO₂, 20 nm	Poudre de NPs ajoutée au sol	0 à 200 mg/kg	6 mois	Diversité bactérienne, influence du CO ₂ ambiant	Changement de la diversité bactérienne et impact plus important avec CO ₂	/	Du <i>et al.</i> (2017)

Analyse de l'impact du cycle de vie des NPs TiO₂ manufacturées à l'échelle du site spécifique : cas de la vallée de la Thur, 68, France

Résumé en français

L'impact des NPs TiO₂ manufacturées a été évalué par la méthodologie de l'Analyse du Cycle de vie à une échelle de site spécifique. Une première approche a été menée dans le but de les détecter dans l'environnement. Les données expérimentales collectées sur le terrain ont permis de caractériser ces nanoparticules pour l'écotoxicité terrestre à une échelle locale. Les NPs TiO₂ ont été détectées dans l'eau et les sédiments de la rivière de la Thur ainsi que dans les sols de la zone d'étude jusqu'à 2,5 km d'un site de production. Le temps de résidence (facteur de devenir) des NPs TiO₂ dans les sols de la région de Thann est d'environ 8500 ans. Un facteur d'effet spécifique (12,46 PAF.m³.kg⁻¹) a également été élaboré à l'aide de données provenant d'une synthèse bibliographique sur la toxicité des NPs TiO₂ pour les organismes de l'écosystème terrestre. La détermination de ces deux paramètres a permis de calculer le premier facteur de caractérisation des NPs TiO₂ pour l'écotoxicité terrestre de la région de Thann (1,06.10⁵ PAF.m³.an.kg⁻¹).

Mots clés :

Analyse du Cycle de vie - Nanoparticules - Ecotoxicité terrestre - Environnement - Détection

Résumé en anglais

The impact of engineered TiO₂ NPs was assessed using the Life Cycle Assessment methodology at a site-specific scale. A first approach was carried out to detect them in the environment. Experimental data collected in the field were used to characterize these nanoparticles for terrestrial ecotoxicity at a local scale. TiO₂ NPs were detected in the water and sediments of the Thur river and in soils of the study area up to 2,5 km from a production site. The residence time (fate factor) of TiO₂ NPs in area soils of Thann is approximately 8500 years. A specific effect factor (12,46 PAF.m³.kg⁻¹) was also developed using data from a bibliographic synthesis on the toxicity of TiO₂ NPs for organisms in terrestrial ecosystem. The determination of these two parameters allows us to calculate the first characterization factor for TiO₂ NPs for terrestrial ecotoxicity in the Thann region (1,06.10⁵ PAF.m³.an.kg⁻¹).

Keywords:

Life Cycle Assessment - Nanoparticles - Terrestrial Ecotoxicity - Environment - Detection