



**HAL**  
open science

## Evaluation de la biodégradabilité des polymères : du test normalisé aux conditions réelles

Emmanuelle Gastaldi, Cesar Guy

### ► To cite this version:

Emmanuelle Gastaldi, Cesar Guy. Evaluation de la biodégradabilité des polymères : du test normalisé aux conditions réelles. POLYMERIX 2019, Jul 2019, Rennes, France. <hal-03706029>

**HAL Id: hal-03706029**

**<https://hal.science/hal-03706029v1>**

Submitted on 27 Jun 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.



HAL Authorization

## Evaluation de la biodégradabilité des polymères : du test normalisé aux conditions réelles

**E. Gastaldi<sup>1</sup> & G. César<sup>2</sup>,**

<sup>1</sup>UMR IATE Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, Campus INRA-SupAgro,  
2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier, France

<sup>2</sup>SERP BIO, Compositic, Université Bretagne Sud, 56321 Lorient, France

*emmanuelle.gastaldi@umontpellier.fr*

### Résumé

Pour faire face à l'accumulation massive de déchets plastiques dans tous les compartiments de l'environnement, on assiste à l'émergence de nouveaux polymères dont le temps de résistance à la biodégradation serait équivalent au temps d'utilisation. Cependant concevoir un matériau rapidement biodégradable signifie aussi que l'on puisse évaluer cette propriété de façon rapide et standardisée. Or, il existe plusieurs manières de caractériser la biodégradation d'un polymère mais toutes ne permettent pas de démontrer cette propriété de façon fiable et sans équivoque. Le domaine des polymères biodégradables véhicule ainsi un nombre important de termes et de notions qu'il est nécessaire d'expliquer pour éviter les controverses. Cet article a donc pour objet de tenter d'éclaircir les différentes notions en lien avec la biodégradabilité des polymères et de proposer une synthèse critique des différentes méthodes d'évaluation de cette propriété.

Mots clés : biodégradabilité, polymères, normes, bio-assimilation

### Introduction

Le développement des matières plastiques conventionnelles et leur exploitation intensive pour des usages courants très diversifiés associés à une faible performance des systèmes de gestion des déchets (incluant leur collecte et captation en fin de vie), ont engendré une accumulation massive de déchets plastiques dans l'environnement. Ce phénomène d'accumulation est majoritairement lié au fait que la durée d'utilisation de la plupart de ces plastiques est largement inférieure aux temps nécessaires pour leur biodégradation. En effet, comme toutes les matières organiques basées sur la chimie du carbone organique, ces plastiques conventionnels pourraient en réalité se biodégrader dans l'environnement mais sur une échelle de temps très longue, probablement de l'ordre de plusieurs centaines d'années, car la plupart ne vont se dégrader que très lentement sous l'action des micro-organismes. Par conséquent, on ne peut pas les considérer comme « biodégradables » d'autant plus qu'entre temps, ils se seront certainement transformés en micro, puis nanoparticules, avec un très fort potentiel de contamination des écosystèmes et de toute la chaîne alimentaire.

A plus court terme, ces déchets plastiques constituent une véritable source de nuisance visuelle et de pollution des sols et des milieux aquatiques. Des stratégies ont été mises en place pour réduire leur impact sur l'environnement comme le recyclage et l'incinération. La solution dorénavant mise en avant est le recyclage des déchets plastiques qui vise idéalement à redonner une nouvelle vie à ces polymères. Le recyclage est une option envisageable mais elle

ne peut pas être la seule car aucun plastique ne peut être retransformé plusieurs fois sans être considérablement dégradé ce qui le rend impropre pour un recyclage visant un usage similaire. Devenu inutilisable, il se voit alors contraint de finir sa vie en décharge ou en centre d'incinération. La valorisation énergétique des déchets plastiques par incinération se confronte quant à elle à la nécessité du retraitement des fumées, en particulier pour les plastiques contenant des halogènes ou du soufre, et à la réduction des émissions de dioxyde de carbone issu de matières carbonées fossiles. Aucune de ces deux options n'évitent par ailleurs les fuites de déchets plastiques qui sortent des filières de captation pour devenir des déchets sauvages à l'origine de la contamination des écosystèmes.

Devant l'ampleur des phénomènes cumulatifs engendrés, de nombreuses études ont été initiées dans le monde de la recherche académique et industrielle pour faire émerger et mettre au point de nouveaux polymères dont le temps de résistance à la biodégradation serait équivalent au temps d'utilisation. Les déchets plastiques issus de ces matériaux dits « biodégradables » auraient ainsi l'avantage de pouvoir se biodégrader *in situ* (eau, sol, compost), ce qui apparaît comme une stratégie particulièrement intéressante dans le cas des déchets difficile à trier, récupérables ou valorisables autrement, notamment comme c'est le cas des films de paillage agricole et autres objets plastiques utilisés en agriculture.

Cependant concevoir un matériau rapidement biodégradable signifie aussi que l'on puisse prouver scientifiquement sa biodégradabilité d'une part, et que d'autre part, cette propriété puisse ensuite être évaluée de façon fiable et sans équivoque par différents laboratoires spécialisés dans ce type de mesure. Ce dernier impératif nécessite la mise en place d'un ensemble de méthodes et de conditions d'analyses standardisées faisant l'objet de normes auxquelles le matériau devra répondre pour pouvoir juger de son caractère biodégradable. Toutefois, comme il n'existe aucune norme permettant d'affirmer qu'un produit est « biodégradable » indépendamment des conditions dans lesquelles cette biodégradation est évaluée, cette revendication devra impérativement être complétée par une indication précisant ces conditions de biodégradation. Ainsi, certains matériaux biodégradables nécessitent des conditions spécifiques pour se biodégrader. Par exemple, rapidement biodégradable dans le sol ils ne le seront pas nécessairement dans le milieu marin, et cette restriction est encore plus évidente lorsqu'on considère un milieu compost industriel au lieu d'un sol. D'autre part, il est important de souligner que certaines normes (dites « d'analyse et d'essai ») se limitent à fournir des indications relatives à la façon dont le test de biodégradation doit être mené en laboratoire sans préciser de seuil de performance à atteindre, ni de niveau, ni de durée (comme le font les normes dites « de spécification »). Or, c'est précisément le cas de toutes normes ISO de biodégradation en milieu marin et en eau douce. Affirmer aujourd'hui qu'un matériau est « biodégradable en milieu marin » est donc une revendication abusive source de confusion chez les utilisateurs puisque elle ne repose sur aucun seuil de performance associé à une durée.

Il apparaît donc clairement que le domaine des polymères biodégradables véhicule un nombre important de termes et de notions qu'il est impératif de bien expliquer de manière à ce que tous les acteurs participant à la production, la mise en forme, l'utilisation et enfin le traitement de ces matériaux, parlent et comprennent tous le même langage. Il existe d'autre part plusieurs manières de caractériser la biodégradation d'un polymère mais toutes ne permettent pas de

démontrer de façon fiable et sans équivoque la biodégradabilité d'un matériau comme l'illustrent les nombreuses controverses autour de ce sujet. Cet article a donc pour objet de tenter d'éclaircir les différentes notions en lien avec la biodégradabilité des polymères et de proposer une synthèse critique des différentes méthodes d'évaluation de cette propriété.

## 1. Définition d'un matériau biodégradable

Un matériau est dit biodégradable s'il se fragmente, puis se dégrade jusqu'à un niveau suffisant pour lui permettre d'être utilisé comme source de carbone par les microorganismes de l'environnement (bactéries, champignons, algues). Le résultat de cette dégradation conduit à la formation de vapeur d'eau, de CO<sub>2</sub> (et éventuellement méthane), de résidus et sous-produits non toxiques pour l'environnement, ainsi qu'une nouvelle biomasse. Par opposition au terme «dégradation» qui désigne de manière générale toutes les altérations d'origine chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir, celui de «biodégradation» fait aussi intervenir des mécanismes de dégradation biotiques qui conduisent à son assimilation par les microorganismes suivie de sa minéralisation.

## 2. Phénomènes mis en jeu

La biodégradation d'un matériau résulte d'un ensemble de phénomènes physiques, chimiques et biologiques successifs ou concomitants aboutissant dans tous les cas à sa bio-assimilation. Pour une meilleure compréhension des phénomènes mis en jeu, on considère généralement 3 étapes successives bien que la plupart du temps ces étapes soient concomitantes.

- **Fragmentation du matériau** : sous l'action de phénomènes érosifs plus ou moins sévères (action humaine, eau, vent, passage d'animaux, croissances racinaires, érosion sableuse, alternance de gels et de dégels etc.), les matériaux en voie de biodégradation sont déchirés en lambeaux plus ou moins grands (de quelques décimètres à quelques millimètres), sans perte importante de qualités physico-chimiques.
- **Dégradation du matériau** : la dégradation correspond à la modification indésirable des propriétés originelles, due à un clivage chimique des macromolécules constitutives du polymère, quel que soit le mécanisme mis en jeu. La dégradation peut être abiotique si elle est purement physico-chimique), ou biotique si elle fait intervenir des organismes vivants (bactéries, champignons, algues etc.). Très généralement, en conditions naturelles, les deux types de dégradations sont concomitantes et font principalement intervenir des mécanismes d'hydrolyse et d'oxydation. Qu'elle fasse intervenir des exo-enzymes ou non, l'hydrolyse d'un polymère est en général assez rapide (de l'ordre de quelques jours à quelques semaines ou quelques mois) et s'opère à température ordinaire. Par opposition, à température ambiante l'oxydation d'un polymère est souvent plus lente que l'hydrolyse et peut faire intervenir des enzymes de type oxydoréductases ou être simplement induites par effet radiatif. Les principaux facteurs impliqués au cours de cette étape sont l'humidité et le pH au sein du milieu de dégradation, le rayonnement UV, la température, la teneur en oxygène et la présence d'enzymes exogènes.
- **Bio-assimilation du matériau** : la bio-assimilation correspond à l'étape ultime de conversion du polymère en biomasse. Les macromolécules constitutives de chaînes polymères ont alors été réduites molécules (oligomères, dimères, monomères)

suffisamment petites ( $\approx 500$  Daltons) pour pénétrer dans les cellules vivantes et être intégrées aux cycles physiologiques pour servir d'une part de matériaux constructeurs assurant le maintien et la réorganisation de la biomasse (anabolisme) et de sources d'énergie conduisant à la minéralisation (catabolisme). Le catabolisme, considéré comme le stade ultime de la bio-assimilation, consiste en un ensemble de réactions enzymatiques de dégradation de macromolécules en molécules de faible taille qui s'effectuent avec une libération d'énergie libre dont une partie est stockée sous forme d'ATP et de transporteurs d'électrons réduits (NAD(P)H et FADH<sub>2</sub>). Les voies cataboliques aboutissent, après oxydation complète, à des produits terminaux communs (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O) et conduisent à la synthèse d'ATP.

### **3. Facteurs influençant la biodégradation**

#### **➤ Milieu et conditions de dégradation**

La biodégradation d'un matériau va dépendre de la nature du milieu de dégradation utilisé mais aussi de ses paramètres physico-chimiques. Ces paramètres physico-chimiques sont non seulement déterminants pour les réactions chimiques impliquées dans les phases de fragmentation et dégradation du matériau mais ils conditionnent aussi la croissance et l'expression des micro-organismes. Selon la nature du milieu utilisé (sol, eau douce, eau de mer, compost industriel ou ménager, etc.) et de l'écosystème qui lui est propre, les paramètres microbiologiques du milieu de dégradation seront différentes, et par conséquent, l'aptitude du matériau à être biodégradé le sera aussi. D'une manière générale, la biodégradation d'un polymère peut avoir lieu dans tous les milieux à condition que les microorganismes présents possèdent l'arsenal enzymatique spécifiquement adapté à l'hydrolyse du polymère en question. On notera toutefois que la vitesse de biodégradation du polymère va dépendre du degré de colonisation microbienne de la surface du matériau, ce qui ne signifie pas pour autant une preuve que le matériau sera biodégradé. Cette aptitude à la colonisation est liée à la nature et à la concentration des microorganismes présents dans le milieu, ainsi qu'aux propriétés de surface du matériau (rugosité de surface, caractère hydrophile). Parmi les paramètres physico-chimiques les plus importants, on notera la *température* du milieu qui va influencer la nature et l'activité des microorganismes mais aussi la cinétique des réactions chimiques, la *teneur en eau* du milieu qui doit être suffisamment élevée pour permettre aux réactions d'avoir lieu et aux microorganismes d'exprimer leur fonctions, le *pH* du milieu dont la valeur peut favoriser l'expression de certaines réactions d'hydrolyse abiotiques et/ou enzymatique, la *teneur en oxygène* dans le cas d'une biodégradation aérobie, les conditions de mélange et de turbulence notamment en milieu aqueux, la teneur en agents nutritifs (azote, phosphore) déterminante pour la croissance des microorganismes, la salinité notamment en milieu aquatique compte tenu de l'influence de la force ionique sur l'activité catalytique d'une enzyme, le rayonnement solaire et en particulier les U.V. susceptibles de casser les chaînes de polymère et également les réticuler, les effets érosifs divers provoqués par le vent, la pluie, les frottements, etc.).

#### **➤ Propriétés du matériau**

La biodégradation d'un matériau est en premier lieu influencée par la nature et les propriétés physicochimiques intrinsèques du ou des polymères qui le constituent. A cet effet, on citera ses

propriétés de surface (hydrophilicité/hydrophobicité, rugosité), sa composition chimique, sa masse molaire (et la distribution de ses masses molaires), son degré de polymérisation et de réticulation des chaînes de polymère mais aussi des paramètres structuraux d'ordre supérieur tels que sa température de transition vitreuse ( $T_g$ ), son degré de cristallinité et l'organisation de sa structure cristalline, sa température de fusion ( $T_m$ ), et son module élastique [1]. D'une façon générale, certaines liaisons et groupements chimiques (carboxyliques, alcool, ester, amide, etc.) sont connus pour être facilement hydrolysables par les enzymes présentes dans l'environnement et leur présence pouvant accélérer leur vitesse de biodégradation indépendamment de la structure moléculaire. C'est notamment le cas des polyesters aliphatiques très facilement hydrolysables par les enzymes dégradantes des microorganismes de l'environnement telles que les lipases et cutinases. Il est également couramment admis qu'une faible masse molaire et l'absence de ramifications latérales sont des facteurs en faveur d'une meilleure biodégradation. Cet effet est attribuable à la plus grande réactivité des fonctions situées aux extrémités des chaînes polymères, plus nombreuses de fait, ainsi qu'à leur plus grande perméabilité à l'eau favorisant les réactions d'hydrolyse. Les phénomènes de diffusion étant favorisés à l'état caoutchoutique les polymères ayant une  $T_g$  assez basse et/ou inférieure à la température ambiante se dégraderont plus vite. La morphologie et le degré de cristallinité vont aussi jouer un rôle clé dans le processus de biodégradation. Les parties cristallines d'un polymère étant peu accessibles aux enzymes, elles se dégraderont donc moins vite que ses parties amorphes, d'où l'importance de bien maîtriser ce paramètre structural lors de la mise en forme des polymères semi-cristallins. De même, les polymères ayant une faible température de fusion seront caractérisés par une plus grande flexibilité des chaînes polymères et leur biodégradation sera facilitée. Enfin, la rigidité, l'hydrophilie et la rugosité du matériau sont des paramètres capables de favoriser la biodégradation en facilitant l'adhésion et la colonisation des microorganismes à la surface du matériau [2].

Les paramètres impliqués dans la transformation du polymère en matériau peuvent également influencer sa biodégradation. Ainsi, la présence d'additifs dans sa formulation (plastifiants, agents nucléants, pigments, renforts, etc.), le procédé de fabrication utilisé (extrusion, injection, thermoformage) ainsi que les conditions opératoires choisies (température, pression) vont conduire à des matériaux ayant des caractéristiques très différentes, capables de fortement influencer leur vitesse de biodégradation sans toutefois la remettre en question. Enfin, la surface spécifique et les dimensions du matériau vont également devoir être pris en considération. Sachant que la biodégradation est essentiellement un phénomène d'érosion de surface, plus un matériau sera épais, plus lente sera sa biodégradation. Un matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura donc une vitesse de dégradation supérieure à celle d'un matériau massif et dense. Pour être conformes aux normes et respecter les temps de dégradation imposés, certains produits ne peuvent parfois pas dépasser quelques dizaines de microns d'épaisseur.

#### **4. Comment évaluer la biodégradabilité d'un matériau ?**

Malgré son incontestable intérêt, évaluer et démontrer la propriété de biodégradabilité d'un matériau de façon fiable et sans équivoque n'est pas quelque chose de trivial comme l'illustrent les nombreuses controverses autour de ce sujet. La difficulté porte principalement sur le choix de la méthode à utiliser pour évaluer cette propriété. La plupart se limitent à mettre en évidence

la capacité d'un matériau à pouvoir être utilisé comme source de carbone par les microorganismes de l'environnement. Très peu en revanche parviennent à démontrer que la totalité du carbone organique contenu dans ce matériau sera converti en CO<sub>2</sub> (et/ou en CH<sub>4</sub>) en un temps donné. Pourtant, la détermination d'un seuil de performance associé à une durée est une exigence indispensable pour pouvoir affirmer la biodégradabilité d'un matériau. Ainsi, l'incorporation de charges biodégradables de faible masse moléculaire dans la formulation d'un matériau comme dans le cas de mélanges amidon/polyéthylène par exemple peut favoriser la biodégradation globale de l'ensemble en laissant cependant une partie des autres constituants non biodégradés tels que le polyéthylène, évoluer en macro et microparticules persistantes dans l'environnement.

Une autre des raisons qui alimentent les divergences de point de vue est liée au fait que démontrer la fragmentation et/ou la dégradation d'un matériau ne prouve pas sa bio-assimilation. Ainsi, certaines méthodes se limitent à mettre en évidence la phase de dégradation du polymère en suivant par exemple la réduction de sa masse molaire sans prendre en considération la phase de bio-assimilation. Or, c'est pourtant cette étape ultime qui confirme la conversion du polymère en biomasse. D'une façon générale, toutes les méthodes qui conduisent à mesurer l'impact de la biodégradation sur les propriétés physico-chimiques et thermiques d'un matériau ne sont pas des méthodes adaptées à l'évaluation de sa biodégradation d'un matériau. La diversité des milieux et des conditions de température à prendre en compte constitue une autre contrainte. En effet, comme évoqué précédemment, la notion de biodégradabilité est indissociable des conditions dans lesquelles cette biodégradation est observée. Ainsi, certains polymères comme le PLA ne se dégradent pratiquement pas dans le sol alors qu'ils sont parfaitement biodégradables en milieu de compostage « industriel » à 58°C.

Enfin, on peut noter que les mesures de biodégradabilité effectuées en laboratoire (sur la base des méthodes édictées dans normes en vigueur) sont souvent difficiles à corrélérer aux résultats obtenus dans des conditions réelles. Ces différences sont attribuables au fait qu'en laboratoire les conditions choisies sont standardisées (notamment en termes de température et d'humidité) pour que les tests puissent être répétables et reproductibles d'un laboratoire à l'autre. Cette standardisation a pour effet d'accélérer toutes les réactions impliquées dans le processus de biodégradation ce qui explique pourquoi les seuils de performance mesurés en laboratoire sont souvent assez éloignés de la réalité. Ainsi, malgré des essais de modélisation [3] [4] [5], il n'est pas possible de prédire la dégradation d'un polymère en milieu réel en se basant sur sa biodégradabilité mesurée en laboratoire.

#### **4.1 Les tests *in vitro* ou de laboratoire**

##### **➤ Méthodes Microbiologiques**

La « méthode des zones claires » et la « méthode d'envahissement » se basent sur le développement microbien pour déterminer la capacité des microorganismes (bactéries ou champignons) à dégrader un polymère particulier en l'utilisant comme source de carbone. Le polymère à tester est déposé à la surface d'un milieu gélosé sous forme de film [6] ou ajouté à la gélose [7] sous forme de poudre. Après inoculation avec une source de microorganismes provenant d'une boue active ou d'un sol, la croissance des souches ayant la capacité de dégrader le polymère provoquera l'apparition de zones claires dans le premier cas. Dans le second cas, l'estimation de la biodégradabilité du polymère sera

basée sur l'observation en MEB du matériau envahie par les microorganismes et/ou comptage après ensemencement suivi éventuellement par une identification par PCR. Il s'agit de méthodes qualitatives, rapides et faciles à mettre en œuvre, qui permettent éventuellement d'orienter des formulations polymériques vers du biodégradable et la sélection des souches biodégradant les matériaux. Néanmoins, comme ces méthodes ne permettent pas de conclure si le développement des microorganismes se fait aux dépens de la gélose ou du film. Par conséquent, bien que de nombreux auteurs utilisent cette technique pour « démontrer » la biodégradabilité de leurs polymères, ces démonstrations ont une fiabilité non avérée.

➤ **Estimation par dosage de l'ATP**

Le principe de cette méthode est basé sur le dosage de l'ATP, un métabolite permettant de dénombrer la population de cellules actives qui est en relation directe avec la consommation du substrat nutritionnel. Le polymère à tester est incubé dans une solution constituée de macro et micro éléments en présence de l'un ou plusieurs microorganismes (bactérie et/ou champignons). Le dosage de la quantité totale d'ATP étant destructrice, il ne peut pas être suivi au cours du temps. D'autre part, l'ATP dosé correspond à toutes les cellules actives sans distinction de celles qui colonisent le polymère et le dégradent. La biodégradabilité du polymère est alors confirmée si le nombre de cellules vivantes atteint ou dépasse un certain seuil après 100 (ou 200) jours d'incubation. Cette technique n'a pas fait la preuve de sa fiabilité et aucune norme existante de spécification ne la préconise. En outre, elle ne permet de conclure ni sur la vitesse, ni sur le niveau de performance de la biodégradation.

➤ **Méthode enzymatique**

La dégradation biologique des polymères, en particulier celle des polyesters, peut être caractérisée par des tests d'érosion enzymatique. Cependant, démontrer qu'un polymère est capable d'être hydrolysé par voie enzymatique en laboratoire ne signifie pas que ce polymère pourra ensuite être assimilé et minéralisé par les microorganismes de l'environnement. On utilise en général des lipases identifiées pour hydrolyser notamment les liaisons ester des polyesters aliphatiques. L'érosion enzymatique du matériau est évaluée par suivi du pH et/ou dosage des acides libres issus de la rupture des liaisons esters, ou encore par mesure de la perte de masse de l'échantillon au cours du temps. Les corrélations entre les résultats obtenus à partir des tests enzymatiques et les observations *in situ* ne sont pas toujours excellentes. Ainsi, le PHBV n'est pas hydrolysé par les lipases alors qu'il est pourtant parfaitement biodégradable dans l'environnement naturel. Inversement, certains esters de cellulose peuvent répondre positivement à une attaque enzymatique en laboratoire et rester parfaitement inertes en conditions naturelles. Les résultats obtenus sont donc fortement dépendant du choix de l'enzyme ce qui est insuffisant pour démontrer le caractère biodégradable d'un polymère et restreint l'utilisation de ce test à la comparaison de matériaux ayant des compositions similaires.

➤ **Estimation par la quantité de  $^{13}\text{C}$  consommé et/ou perdu**

Cette technique consiste à utiliser un polymère marqué avec du  $^{13}\text{C}$ , un isotope radioactif stable du carbone  $^{12}\text{C}$ . Le polymère est ensuite mis en incubation comme pour une analyse respirométrique et la teneur en  $^{13}\text{CO}_2$  libéré est alors mesurée dans la solution de capture du  $\text{CO}_2$  en parallèle de l'analyse de la surface en MEB du matériau couplée à une analyse par spectrométrie de masse à

l'échelle nanométrique [8]. L'utilisation de polymères marqués au  $^{13}\text{C}$  permet de différencier le  $\text{CO}_2$  provenant du polymère de celui issu de la minéralisation de la matière organique du sol. L'incorporation du  $^{13}\text{C}$  dans la biomasse des microorganismes colonisant le matériau est mise en évidence par couplage des analyses MEB et NanoSIMS de la surface après incubation dans le milieu de biodégradation. Si cette technique conduit à une démonstration sans équivoque de la biodégradabilité d'un polymère dans un milieu donné, il est important de souligner qu'elle nécessite aussi des installations complexes et onéreuses qui ne lui permettent pas d'être utilisée en routine.

### ➤ **Méthodes respirométriques**

Le principe des méthodes respirométriques est basé sur la mesure de la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes (aérobies) pour oxyder le carbone organique issu de la dégradation d'un matériau, ou sur la mesure de la quantité de dioxyde de carbone libéré par cette réaction [9] [10]. Le dernier stade de la biodégradation, dénommé bio-assimilation se traduit « in fine » en milieu aérobie par une consommation d' $\text{O}_2$  et un rejet de  $\text{CO}_2$  (et en milieu anaérobie par un rejet de méthane) directement proportionnels à la quantité de nutriments carbonés mis à la disposition des microorganismes qui vont les bio-assimiler. Connaissant la quantité initiale de nutriments carbonés mis à la disposition de microorganismes, il suffira de mesurer précisément les quantités de  $\text{CO}_2$  (ou de  $\text{CH}_4$ ) émis, ou d' $\text{O}_2$  consommé, pour en déduire les taux de biodégradation. La diminution d' $\text{O}_2$  dans le milieu peut être détectée à l'aide d'une électrode spécifique [11], ou par l'augmentation de pression avec un système OxiTop<sup>®</sup> [12] tandis que la libération du  $\text{CO}_2$  pourra être quantifiée par FTIR [13] ou par simple dosage acido-basique en retour [14].

Dans les 2 cas, l'échantillon de matériau à tester est mis à incuber dans un milieu donné (sol, compost, eau douce, eau de mer), et au cours du temps, la respiration de l'essai (matériau + milieu) est suivie à partir de l' $\text{O}_2$  consommé ou du  $\text{CO}_2$  libéré, en parallèle de celle du même milieu sans échantillon (milieu). C'est la différence entre la respiration de l'essai et celle du témoin, rapportée à la quantité maximale théorique d' $\text{O}_2$  consommé ou  $\text{CO}_2$  libéré par la biodégradation hypothétique totale du matériau, qui permet de calculer le pourcentage de minéralisation ou biodégradation. L'évolution du taux de minéralisation du matériau au cours du temps se traduit généralement par une sigmoïde et l'obtention d'un plateau. Ce plateau traduit le fait que tout le carbone organique contenu dans l'échantillon a été converti en dioxyde de carbone, le milieu contenant l'échantillon se mettant alors à respirer de la même façon que le milieu seul. La sigmoïde, simple ou double, obtenue peut être modélisée par les équations de Hill ou de Boltzmann, respectivement pour en déduire des paramètres descriptifs de la cinétique de biodégradation comme le temps de demi-biodégradation, ou le taux de biodégradation maximal.

Les mesures respirométriques apparaissent comme les seules méthodes à pouvoir être à la fois utilisées en routine sans nécessiter d'équipement particulier, permettant de quantifier, en condition aérobie, la biodégradation d'un matériau jusqu'à sa disparition complète du milieu, grâce à la mesure de son assimilation par des microorganismes. Ce sont d'ailleurs les méthodes respirométriques qui sont préconisées pour définir les critères d'évaluation de la biodégradabilité figurant dans les normes relatives aux milieux sol (NF EN 17033, NF U52-001, ISO/DIS 17556.2), compost industriel (PR NF EN ISO 14855, NF EN-13432, ASTM D6400-12, NF EN 14995), compost domestique (NF T51-800-2015), eau douce (ISO/DIS 14851, ISO/DIS 14852) et milieu marin (ISO DIS 19679, ISO DIS 18830, ASTM D6691, ASTM D7081).

#### **4.2 Les tests *in situ* ou de terrain**

Les mesures d'évaluation de la biodégradabilité *in situ* consistent à exposer un matériau aux conditions de biodégradation préalablement définies (enfouissement dans un sol, dans un compost ou dans une eau naturelle, exposition à l'air libre, etc.) Le matériau, est généralement utilisé sous forme de films minces, à l'état neuf ou préalablement vieillis, naturellement ou artificiellement. La biodégradation est ensuite évaluée en suivant l'évolution de la perte de masse et/ou de la surface dégradée au cours du temps. Dans les 2 cas, on estime que la perte en poids et l'augmentation de la surface dégradée résultent d'une biodégradation. A noter que ces mesures ne restent cependant fiables que tant que l'intégrité du matériau est conservée.

La mesure par perte de masse peut paraître simple et rapide mais elle présente cependant quelques inconvénients. En effet, au moment des divers prélèvements, et du fait des phénomènes de dégradation, de nombreuses microparticules générées par la fragmentation du matériau et devenues peu visibles, peuvent échapper à l'observation. Par ailleurs, il est très difficile de nettoyer les échantillons prélevés de tous les dépôts venus polluer les échantillons (terre, poussière, particules diverses). Au final, les erreurs induites sont considérables et les valeurs de « biodégradation » fournies sont toujours largement surévaluées par rapport à la réalité. En ce qui concerne la mesure de la surface dégradée, une autre contrainte est à souligner. Celle-ci n'est en effet applicable que pour des films ou des objets de quelques dizaines de microns. D'autre part, la fiabilité des mesures est fonction de la qualité du scanner utilisé (nombre de pixels et différenciation des couleurs) et du protocole de traitement d'images appliqué. Ainsi, les particules plastiques résiduelles les plus fines peuvent être « oubliées » par le traitement d'images conduisant à des surévaluations de taux de biodégradation.

#### **Conclusion**

Concevoir un matériau rapidement biodégradable signifie à la fois que l'on puisse prouver scientifiquement sa biodégradabilité et que cette propriété puisse ensuite être évaluée à l'aide de méthodes adaptées. Cependant, évaluer et démontrer la propriété de biodégradabilité d'un matériau de façon fiable et sans équivoque n'est pas une démarche simple du fait de la complexité des mécanismes biologiques impliqués et du nombre importants de méthodes de mesure qui leurs sont associés. Pourtant, la détermination d'un seuil de performance associé à une durée reste une exigence indispensable pour pouvoir affirmer la biodégradabilité d'un matériau. Cette exigence nécessite la mise en place d'un ensemble de méthodes et de conditions d'analyses standardisées faisant l'objet de normes auxquelles le matériau devra répondre pour pouvoir juger de son caractère biodégradable. Par ailleurs, comme il n'existe aucune norme permettant d'affirmer qu'un produit est « biodégradable » indépendamment du milieu dans lequel cette biodégradation est évaluée, cette revendication devra impérativement être complétée par une indication précisant ces conditions de biodégradation. On notera également que pour certains milieux, il n'existe pas encore de normes de spécification précisant un seuil de performance à atteindre en un temps donné mais seulement des normes d'analyse et d'essai qui se limitent à fournir des indications relatives à la façon dont le test de biodégradation doit être mené en laboratoire. Enfin, pour leur permettre d'être répétables et reproductibles d'un laboratoire à l'autre, tous les tests normalisés sont réalisés dans des conditions standardisées où toutes les réactions impliquées dans le processus de biodégradation seront accélérées. Ceci explique pourquoi les seuils de performance mesurés en laboratoire sont souvent assez éloignés de la réalité. Les

tests menés en laboratoire ne doivent toutefois pas exclure la conduite de tests dans des conditions similaires à celles de l'environnement. Ce constat justifie la nécessité de poursuivre l'optimisation des tests déjà existants en particulier pour les milieux aquatiques pour lesquels subsiste encore actuellement un vide en matière de normalisation.

Le développement de matériaux proposant des durées de biodégradation équivalentes à leur temps d'utilisation doit être poursuivi et soutenu. Outre le fait que les objets qui en sont constitués auront la possibilité d'être biodégradés *in situ* et transformés en CO<sub>2</sub> et en eau avant d'aller s'accumuler dans les compartiments terrestre, aquatique et marin de l'environnement, cette stratégie s'avère particulièrement pertinente pour toutes les applications à courte durée de vie avec un objectif de valorisation organique qui nécessite cependant de poursuivre la mise en place de filières de collecte et de valorisation pour le compostage industriel.

## Références

- [1] Tokiwa Y., Calabia B.P., Ugwu C.U., Aiba S., *Int. J. Mol. Sci.*, 2009, **10**, 3722-3742.
- [2] Riedewald F., *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, 2006, **60**(3), 164-171.
- [3] Yakabe Y., Kitano M., In: *Biodegradable Plastics and polymers*, Doi Y. & Fukuda K. Elsevier Science, 1994, pp 331-336.
- [4] Calmon A., Silvestre F., Bellon-Maurel V., Feuilloley P., In *Ingénieries - E A T*, IRSTEA Ed, 2000, pp 41 49.
- [5] Laycock B., Nikoli M., Colwell J.M., Gauthier E., Halley P., Bottle S., Graeme G., *Prog. Polym. Sci.*, 2017, **71**, 144-189
- [6] Calmon-Decriaud A., Bellon V., Silvestre F., *Adv. Polym. Sci.*, 1998, **135**, 208-226.
- [7] Tokiwa Y., Clabia P., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 2006, 244-251.
- [8] Zumstein M. T., Schintlmeister A., Nelson T. F., Baumgartner R., Woebken D., Wagner M., Kohler H.-P. E., McNeill K., Sander M., *M. Sci. Adv.*, 2018, **4**(7), eaas9024.
- [9] Krzan A., Hemjinda S., Miertus S., Corti A., Chiellini E., *Polym. Degrad. Stab.*, 2006, **91**, 2819-2833.
- [10] Pagga U., *Chemosphere*, 1997, **35**(12), 2953-2972.
- [11] Mezzanotte V., Bertani R., Innocenti F., Tosin M., *Polym. Degrad. Stab.*, 2005, **87**, 51-56.
- [12] Massardier-Nageotte V., Pestre C., Cruard-Pradet T., Bayard R., *Polym. Degrad. Stab.* 2006, **91** (3), 620-627.
- [13] Itavaara M., Vikman M., *Chemosphere* 1995, **31** (11/12), 4359-4373.
- [15] Calmon A., Duserre-Bresson L., Bellon-Maurel V., Feuilloley P., Silvestre, F., *Chemosphere*, 2000, **41**, 645-651.