

SOURCES ET DEVENIR DES NANOPARTICULES MANUFACTUREES ET ANTHROPIQUES: TRANSPORT, ACCUMULATION ET REACTIVITE AUX INTERFACES

Julien Gigault

▶ To cite this version:

Julien Gigault. SOURCES ET DEVENIR DES NANOPARTICULES MANUFACTUREES ET ANTHROPIQUES: TRANSPORT, ACCUMULATION ET REACTIVITE AUX INTERFACES. Géochimie. Université de Rennes 1, 2017. tel-01877729

HAL Id: tel-01877729 https://insu.hal.science/tel-01877729

Submitted on 20 Sep 2018

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.

Habilitation à Diriger des Recherches

SOURCES ET DEVENIR DES NANOPARTICULES MANUFACTUREES ET ANTHROPIQUES : TRANSPORT, ACCUMULATION ET REACTIVITE AUX INTERFACES

Julien GIGAULT

Laboratoire Géosciences Rennes UMR6118 CNRS-Université de Rennes 1

5 juillet 2017

Préambule

Dans le cadre du concours national 2014, j'ai été nommé Chargé de Recherche (CR2) au sein de l'unité mixte de recherche (UMR5805 CNRS/Université de Bordeaux) Environnements et Paléo-Environnements Océaniques et Continentaux dirigée par le Pr. Antoine Grémare, et plus particulièrement dans l'équipe Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'Environnement (LPTC) dirigée par Hélène Budzinski. Depuis janvier 2016, je suis affecté au Laboratoire Géosciences Rennes (UMR6118, CNRS-Université de Rennes 1) au sein de l'équipe Géochimie des Eaux et Interfaces à ma demande pour raisons personnelles.

A travers mes travaux de recherche de Master 2 jusqu'à mes travaux de recherche au CNRS, en passant par le NIST, le point commun a été l'étude du comportement de colloïdes et nanoparticules dans l'environnement et le vivant passant par le développement de méthodologies analytiques novatrices pour l'étude de leur transport et de leur réactivité aux interfaces.

Depuis le début de ma jeune carrière, j'ai toujours été intéressé et motivé par les nanomatériaux et les colloïdes d'une manière générale, que ce soit de leur caractérisation ou de leur implication dans les mécanismes naturels. Cet intérêt m'a permis de franchir des barrières géographiques et thématiques. En effet l'échelle nano implique naturellement une interdisciplinarité que je pense avoir intégré dans l'ensemble de mes travaux.

La figure 1 illustre mon positionnement à travers les différentes disciplines abordées dans mes travaux de recherche. Concernant l'aspect que je nomme « nano-analytique », contrairement aux contaminants « classiques », la caractérisation de l'échelle nano nécessite la prise en compte d'une multitude de paramètres physico-chimiques comme la taille, la distribution en taille, la forme et la surface qu'il est nécessaire de considérer dans un ensemble. Ces paramètres sont bien dépendant de la composition du matériau et surtout de la matrice dans laquelle le nanomatériau est localisé.

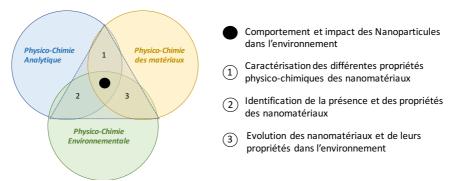


Figure 1: Principales disciplines impliquées dans mes travaux de recherche sur le comportement et impact des nanoparticules dans l'environnement.

La chimie de l'environnement propre aux nanomatériaux et aux colloïdes est une des parties les plus complexe de mon projet de recherche car la physico-chimie des colloïdes dans les milieux naturels est en perpétuelle renouveau du fait des développements analytiques en constante (r)évolution. Accéder à la nano-spéciation des nanoparticules et colloïdes requièrent la prise en compte de nombreux paramètres physiques, chimiques et biologiques qui peuvent largement biaiser les résultats obtenus en laboratoire de ceux susceptibles d'être obtenus dans les systèmes environnementaux réels.

Enfin, pour développer les méthodes analytiques et comprendre leur comportement dans l'environnement il est nécessaire de connaître le nanomatériau étudié. La chimie des matériaux est, à mon sens, trop peu considérer dans les sciences de l'environnement et la chimie analytique également. Pourtant, il est primordial de bien connaître son « ennemi pour anticiper ses moindres faits et gestes dans la nature ». Cette discipline a pris une partie importante dans mes travaux de recherche sans être valorisée. En effet il a fallu, se former à la synthèse de nanomatériaux et à la caractérisation des propriétés physiques et chimiques en milieu contrôlé. Cette approche m'a permis d'envisager de nouveaux comportements dans l'environnement et de nouvelles perspectives de recherches.

L'ensemble de ces disciplines m'a permis de rencontrer et de collaborer avec des chercheurs incroyables tout au long de mon cursus. Les résultats que je présente dans mon Habilitation à Diriger des Recherches ont été obtenu grâce à un travail d'équipe avec l'ensemble de mes collaborateurs sans considération de l'éloignement culturel, géographique, et thématique. Qu'ils en soient remerciés à travers ce manuscrit.

Table des matières

II.1. Contexte et objectifs de mes travaux de recherches antérieures	- 7 -
II.1.1. Contexte	- 7 -
II.1.2. Positionnement de mes travaux de recherche	- 8 -
II.3. Chimie (nano-)analytique	- 9 -
II.3.1. Enjeux analytiques	- 9 -
II.3.3. Méthodes de détection par l'utilisation de laser : applications environnementales	- 18 -
II.3.4. Elaboration de nanoparticules « standards »	- 22 -
II.4. Chimie environnementale des nanoparticules	- 25 -
II.5. Pollution plastiques à l'échelle du nanomètre	- 28 -
II.5.2. Mise en évidence de la présence de nanoplastique dans le gyre Atlantique Nord	- 28 -
II.5.3. Dégradation photochimique des Plastiques du gyre Atlantique Nord	- 31 -
II.5.4. Etude de la pollution nanoplastique en Guadeloupe : Impact du gyre atlantique Nord et de l'activité humaine	- 33 -
III. PERSPECTIVES DE RECHERCHES	- 35 -
III.1. Principales motivations	- 35 -
III.1.1. Mécanismes étudiés	- 35 -
III.1.2. Nanoparticules étudiées	- 35 -
III.1.3. Objectifs de mes futures recherches	- 37 -
III.2. Méthodologies analytiques	- 38 -
III.2.1. Extraction et concentration	- 38 -
III.2.2. Caractérisation des nanoparticules	- 40 -
III.2.3. Développement de réacteurs environnementaux avec mesure in-situ	- 40 -
III.2.4. Apport de la micro-fluidique	- 40 -
III.3. Représentativité des mécanismes de transport des nanoparticules dans l'environnement	- 41 -
III.3.1. Influences des facteurs abiotiques	- 41 -
III.3.2. Interaction avec les contaminants organiques et inorganiques	- 43 -
III.3.3. Echantillonnage des systèmes environnementaux	- 44 -

I. Curriculum Vitae

Born in Novembre 4th of 1985. Married, 1 child (1 year) 38 rue des Toiles, Apt C201 35410 Châteaugiron CNRS Research Scientist (Section 13) Laboratoire Géosciences Rennes, (UMR6118-CNRS/Université de Rennes 1) Equipe Géochimie des Eaux et Interfaces Avenue Général Leclerc, Campus de Beaulieu, Bâtiment 15

Tel: 06 16 37 78 79

Email: julien.gigault@univ-rennes1.fr

Competences

- o 6 years of post-PhD research activities; 10 years of total full-time research activities
- o Author on 30 publications in International Journal (ranked A)
- o Participation to 10 international conferences, with 2 invited participation
- o Scientific advisor of 6 Masters student and 1 PhD
- o Fundings: PI and co-PI on 6 national projects totaling 232 k€ in research funds.
- o Reviewer Activities: -10/year for review in Environmental and analytical chemistry.
- o H-index of 12

Education and training

2011. PhD Degree in Analytical and Environmental Chemistry, Université de Pau et des Pays de l'Adour, laboratory IPREM. Disseration title "Développement de méthodes de Fractionnement par couplage Flux-Force (FFF) – multi-détection pour la caractérisation de nanotubes de carbone dispersés en milieu aqueux" **PhD** awarded 08/07/2011. Advisor : Gaëtane Lespes

2008. Master Degree in Analytical Chemistry for Marine Environment, Université de Bretagne Occidentale, IUEM laboratory. Major of the promotion

2007. Master Degree in Analytical and Environmental Chemistry, Université of Bordeaux.

2006. Bachelor Degree in Chemistry, Université de Bordeaux.

2005. General Academic Studies (DEUG) Degree in Science of the Matter, Université de Rennes 1.

Research Experience

Since 2016. CNRS-Research Scientist (CR2 Level) – Geosciences Rennes (UMR6118- CNRS/Université de Renes 1), Rennes, France.

2014-2016. CNRS-Research Scientist (CR2 Level) – Environnements et Paléo-Environnements Océaniques et Continentaux (UMR5805- CNRS/Université de Bordeaux), Bordeaux, France.

2014. Post-doc (Chair of Excellence) from the Université of Bordeaux – Environnements et Paléo-Environnements Océaniques et Continentaux (UMR5805- CNRS/Université de Bordeaux), Bordeaux, France.

2011-2013. Post-Doc at the National Institute of Standards and Technology (NIST, US department of commerce), Washington DC, USA.

2010. Visiting Scientist at the Department of Fluid Mechanics, University of Utah, Salt Lake City, USA.

2008-2011. PhD at the Laboratoire de Chimie Anlaytique Bio-Inorganique de l'Environnement (LCABIE), Institut des sciences analytiques et de physico-chimie pour l'environnement et les matériaux (UMR5254 – CNRS/Université de Pau)

Teaching and Student Supervision

2017-2020: PhD advisor of Zélie Venel, "Détection et caractérisation des nanoplastiques dans les eaux naturelles - évaluation de leurs impacts écotoxicologiques sur les organismes aquatiques" (CIFRE Funding, o-advised with Pr. Magalie Baudrimont, EPOC UMR5805).

2017 : MSc advisor of Gwendoline Masse, "Détermination de la pollution nanoplastiques sur les littoraux guadeloupéens".

2016 : MSc advisor of Zélie Venel, "Développement du LIBD pour la caractérisation de nanoparticules manufactures dans l'environnement".

2016 : MSc advisor of Loriane Villaumé, "Couplage de l'ultrafiltraiton séquentielle à la diffusion de lumière dynamique in-situ".

2015 : MSc advisor of Zélie Venel, "Caractérisation de dispersions de fullerènes et de polystyrènes avec la technologie Laser Induced Breakdown Detection".

2015 : MSc advisor of Léon Guichet, "Caractérisation de la stabilité de nanoparticules au moen d'outils de diffusion de lumière".

2012 : MSc advisor of Charlène Schmitt, "Caractérisation de polystyrènes stabilisés par des tensio-actifs naturels".

2012: MSc advisor of Darren Driscoll, "A versatile tool for the synthesis of reference material for the field flow fractionation development".

2008-2011: Teaching assistant at the Université de Pau (France) (180 hours cumulated) for undergraduate and graduate courses in: Analytical chemistry, Environmental chemistry, and Physical and chemical of colloidal species in complex medium.

Peer-reviewed publication

Julien Gigault, Bruno Grassl, *Improving the understanding of fullerene (nC60) aggregate structures:* fractal dimension characterization by static light scattering coupled to asymmetrical flow field flow fractionation, Journal of Colloid and Interface Science, Article accepted.

Alexandra ter Halle, Laurent Jeanneau, Marion Martignac, Boris Pedrono, Emilie Jarde, Laurent Brach, Julien Gigault: *Evidence of nanoplastics in the North Atlantic Ocean*, Environmental Science & Technology, Article accepted.

Hélène Guénet, Mélanie Davranche, Delphine Vantelon, Julien Gigault, Sylvain Prévost, Olivier Tache, Sebastian Jaksch, Mathieu Pedrot, Vincent Dorcet, Antoine Boutier, Jacques Jestin: *Characterization of ironorganic matter nano-aggregate networks through a combination of SAXS/SANS and XAS analyses: impact on As binding.* Environmental Science: Nano. Article accepted.

Hind El Hadri, Julien Gigault, Jiaoje Tan, Vincent A. Hackley: *Retention behavior of gold nanorods in asymmetric flow field-flow fractionation*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. Article accepted for publication.

Julien Gigault, Hind El Hadri, Emmanuel Mignard, Bruno Grassl: Influence of Particle-Particle interaction on the size characterization by asymmetric-flow field-flow fractionation and dynamic light scattering detection. Chromatographia.

Julien Gigault, Hélène Budzinski: *Selection of an appropriate aqueous nano-fullerene (nC60)* preparation protocol for studying its environmental fate and behavior. Trends in Analytical Chemistry; 2016 (80) 1-11.

Julien Gigault, Boris Pedrono, Benoit Maxit, Alexandra ter Halle: *Marine plastic litter: The unanalyzed nano-fraction*. Environmental science: Nano; 2016 (3) 346-350.

Thao M. Nguyen, John M. Pettibone, Julien Gigault, Vincent A. Hackley: *In situ monitoring, separation, and characterization of gold nanorod transformation during seed-mediated synthesis*. Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2016 (408) 2195-2201.

Tae Joon Cho, John M Pettibone, Justin M Gorham, Thao M Nguyen Nguyen, Robert I MacCuspie, Julien Gigault, Vincent A Hackley: *Unexpected Changes in Functionality and Surface Coverage for Au Nanoparticle PEI Conjugates: Implications for Stability and Efficacy in Biological Systems.* Langmuir; 2015 (31) 7673-7683.

Julien Gigault, Thao M. Nguyen, John M. Pettibone, VincentA. Hackley: *Accurate determination of the size distribution for polydisperse, cationic metallic nanomaterials by asymmetric-flow field flow fractionation*. Journal of Nanoparticle Research; 2014 (16) 1-10.

Tae Joon Cho, Robert I Maccuspie, Julien Gigault, Justin M Gorham, John T Elliott, Vincent A Hackley: *Highly Stable Positively Charged Dendron-Encapsulated Gold Nanoparticles*. Langmuir; 2014 (30) 3883-3893.

Julien Gigault, Wenjing Zhang, Gaëtane Lespes, Bernadette Charleux, Bruno Grassl: Asymmetrical flow field—flow fractionation analysis of water suspensions of polymer nanofibers synthesized via RAFT-mediated emulsion polymerization. Analytica Chimica Acta; 2014 (819) 116-121.

Julien Gigault, John M Pettibone, Charlène Schmitt, Vincent A Hackley: *Rational strategy for characterization of nanoscale particles by asymmetric-flow field flow fractionation: A tutorial.* Analytica chimica acta; 2014 (809) 9-24.

Charlene Schmitt, Bruno Grassl, Gaëtane Lespes, Jacques Desbrières, Virginie Pellerin, Stephanie Reynaud, Julien Gigault, Vincent A Hackley: Saponins: A Renewable and Biodegradable Surfactant From Its Microwave-Assisted Extraction to the Synthesis of Monodisperse Lattices. Biomacromolecules; 2014 (15) 856-862.

Xiaofei Ma, Christopher D. Zangmeister, Julien Gigault, George W. Mulholland, Michael R. Zachariah: Soot aggregate restructuring during water processing. Journal of Aerosol Science; 2013 (66) 209-219.

Thao M. Nguyen, Julien Gigault, Vincent A. Hackley: *PEGylated gold nanorod separation based on aspect ratio: Characterization by asymmetric-flow field flow fractionation with UV-Vis detection Field-Flow Fractionation*. Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2014 (406) 1651-1659.

Julien Gigault, Vincent A. Hackley: *Observation of size-independent effects in nanoparticle retention behavior during asymmetric-flow field-flow fractionation*. Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2013 (405) 6251-6258.

De-Hao Tsai, Tae Joon Cho, Sherrie R Elzey, Julien Gigault, Vincent A Hackley: *Quantitative analysis of dendron-conjugated cisplatin-complexed gold nanoparticles using scanning particle mobility mass spectrometry*. Nanoscale; 2013 (5) 5390-5395.

John M. Pettibone, Julien Gigault, Vincent A Hackley: *Discriminating the States of Matter in Metallic Nanoparticle Transformations: What Are We Missing?* ACS Nano; 2013 (7) 2491-2499.

Julien Gigault, Vincent A Hackley: Differentiation and characterization of isotopically modified silver nanoparticles in aqueous media using asymmetric-flow field flow fractionation coupled to optical detection and mass spectrometry. Analytica chimica acta; 2013 (763) 57-66.

Hind El Hadri, Julien Gigault, Philippe Chéry, Martine Potin-Gautier, Gaëtane Lespes: *Optimization of Flow Field-Flow Fractionation for the Characterization of Natural Colloids*. Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2014 (406) 1639-1649.

Julien Gigault, Tae Joon Cho, Robert I Maccuspie, Vincent A Hackley: *Gold nanorod separation and characterization by asymmetric-flow field flow fractionation with UV–Vis detection*. Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2013 (405) 1191-1202.

Julien Gigault, Bruno Grassl, Gaëtane Lespes: *A new analytical approach based on asymmetrical flow field-flow fractionation coupled to ultraviolet spectrometry and light scattering detection for SWCNT aqueous dispersion studies.* The Analyst; 2011 (137) 917-923.

Julien Gigault, Bruno Grassl, Isabelle Le Hécho, Gaëtane Lespes: *Accurate determination of the length of carbon nanotubes using multi-angle light scattering*. Microchimica Acta; 2011 (175) 1-7.

Julien Gigault, Bruno Grassl, Gaëtane Lespes: Size characterization of the associations between carbon nanotubes and humic acids in aqueous media by asymmetrical flow field-flow fractionation combined with multiangle light scattering. Chemosphere; 2011 (86) 177-182.

Julien Gigault, Bruno Grassl, Gaëtane Lespes: *Multi-wall carbon nanotube aqueous dispersion monitoring by using A4F-UV-MALS.* Analytical and Bioanalytical Chemistry; 2011 (401) 3345-3353.

Julien Gigault, Bruce K Gale, Isabelle Le Hecho, Gaëtane Lespes: Nanoparticle Characterization by Cyclical Electrical Field-Flow Fractionation. Analytical Chemistry; 2011 (83) 6565-6572.

Gaëtane Lespes, Julien Gigault: *Hyphenated analytical techniques for multidimensional characterisation of submicron particles: A review.* Analytica chimica acta; 2011 (692) 26-41.

Virginie Tanguy, Mathieu Waeles, Julien Gigault, Jean-Yves Cabon, François Quentel, Ricardo D. Riso: The removal of colloidal lead during estuarine mixing: Seasonal variations and importance of iron oxides and humic substances. Marine and Freshwater Research; 2011 (62) 329-341.

Julien Gigault, Isabelle Le Hécho, Stéphane Dubascoux, Martine Potin-Gautier, Gaëtane Lespes: Single walled carbon nanotube length determination by asymmetrical-flow field-flow fractionation hyphenated to multiangle laser-light scattering. Journal of Chromatography A; 2010 (1217) 7891-7897.

Book Chapter

Julien Gigault, *Chapter 7 : Manufactured nanoparticles*, **Field Flow Fractionation**, Ed. Kim R William, Mohammed Baalousha, Céline Gueguen, Wiley&Sons.

Gaëtane Lespes, Julien Gigault, Serge Battu, *Field Flow Fractionation*, **Analytical Separation Science**, Vol 1, Ed. Jared L. Anderson, Alain Berthod, Verónica Pino Estévez, and Apryll M. Stalcup, Wiley&Sons.

Scientific Expedition

2016 CAPP – Leader organizer – *Determination of the nanoplastics presence in the Guadeloupe coastal area.* (funded by the Interdisciplinary mission of the CNRS).

2014 and 2015 7th Continent Expedition (http://www.septiemecontinent.com) – Partner (Nanoparticles expert) – Evaluation of the plastics contamination in the North Atlantic Ocean. (Funded by the Total Fundation)

Scientific vulgarization

Julien Gigault. Les Nanoparticules dans l'Environnement. Public Conference at the « Espace des Sciences » (Rennes). May 2nd, 2017. http://www.espace-sciences.org/conferences/les-nanoparticules-dans-lenvironnement.

Julien Gigault. Du plastique à la mer. Public debate and conference at the « Café de l'Espace des Sciences » (Rennes). April 6th, 2017. http://www.espace-sciences.org/evenements/du-plastique-a-la-mer

Julien Gigault. Portrait Ce que je Cherche. Magazine Science Ouest. Volume Janvier 2016. http://www.espace-sciences.org/node/53400.

Awards

Asgard Grant (2017). Invited in Norway by the French Institute to meet Researchers and present Conference.

Research highlighted by media

https://reporterre.net/Si-rien-ne-change-il-y-aura-plus-de-plastique-dans-les-oceans-que-de-poissons https://www.science-et-vie.com/galerie/dans-l-ocean-le-plastique-se-decompose-en-des-milliers-de-milliards-de-nanoparticules-polluantes-6615

 $\underline{https://savoir.actual itte.com/article/culture/1631/les-dechets-en-plastique-se-transforment-en-nano-particules-\underline{dans-les-oceans}$

http://www.pourlascience.fr/ewb_pages/a/actu-fragmentation-dechets-plastiques-oceans-37088.php http://www.lemarin.fr/secteurs-activites/environnement/24708-pollution-plastique-vers-un-huitieme-continent

II. Travaux de recherche

II.1. Contexte et objectifs de mes travaux de recherches antérieures

II.1.1. Contexte

Les investissements considérables dans les nanotechnologies ont pour conséquence un inévitable relargage de nanoparticules manufacturées dans l'environnement. Pour cette raison, déterminer le comportement, le devenir et l'impact des nanoparticules sur l'environnement et les organismes vivants représente des enjeux scientifiques considérables. La détermination du cycle de vie des nanoparticules dans l'environnement est primordiale pour le développement de régulation permettant la protection des écosystèmes.

La plupart des gouvernements impliqués dans le développement des nanotechnologies ont octroyés des ressources conséquentes pour étudier et évaluer l'impact des nanoparticules sur la santé et l'environnement. A titre d'exemple en Amérique du nord, le gouvernement américain a attribué pour 2013 un budget de 1,3 milliard de dollars au programme « National Nanotechnology Initiative », impliquant une partie considérable de ce budget au sousprogramme « Nano- Environmental, Health and Safety » (http://www.nano.gov/node/748). A l'échelle nationale, l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) et le CNRS ont fait de l'étude des impacts environnementaux et écologiques des nanoparticules manufacturées une priorité des recherches à court, moyen et long terme.

La raison de ces efforts considérables est due au manque considérable de données et de connaissances sur le devenir et le comportement des nanoparticules dans l'environnement et des interactions possibles avec les organismes vivants. Quelles sont les voies d'entrées des nanoparticules dans les différents écosystèmes ? Comment les nanoparticules vont se comporter en fonction des conditions physico-chimiques du milieu ? Quelles sont les interactions de ces nouvelles espèces avec les substances naturelles/anthropiques et les espèces vivantes ? Comment identifier/quantifier/caractériser la présence des nanoparticules dans l'environnement ? Quelle est l'écotoxicité des nanoparticules et comment l'évaluer ? Autant de questions qui restent à ce jour en suspens. L'obstacle majeur à la réponse à ces nombreuses questions réside dans la limitation des techniques analytiques permettant la caractérisation des nanoparticules en milieu naturel. En effet, la caractérisation des nanoparticules dans l'environnement est hautement complexe due aux nombreuses propriétés physico-chimiques à considérer comme : la taille, la distribution en taille, la forme, la surface, l'état de dispersion, la solubilité, la stabilité chimique, la charge, etc. L'ensemble de ces paramètres peut avoir des effets dramatiques sur leur réactivité, transport et leur accumulation dans les différents compartiments et interfaces de l'environnement, dans les organismes vivants et dans la chaîne trophique.

Il existe une multitude de nanoparticules manufacturées représentant des enjeux environnementaux et sociétaux, et dont les principales identifiées par l'OECD 1 sont présentées dans le Tableau 1. Les nanoparticules manufacturées (nanoparticules) inorganiques et métalliques (NPI) sont majoritairement représentés par les nanoparticules de titane (TiO₂), de silice (SiO₂) d'argent, d'or, et de cadmium-souffre/selenium (quantum dots). Ces nanoparticules sont utilisées dans de nombreux domaines comme les cosmétiques, les produits anti-bactériens, les produits pharmaceutiques (« drug delivery ») et dans l'industrie optique et mécanique, etc. Elles peuvent être synthétisées sous différentes formes, tailles, avec des spécificités de surface bien établies et maîtrisées. Néanmoins, leur devenir dans l'environnement est difficile à appréhender du fait de la présence d'espèces naturelles de même composition qui peut interférer à leur détection. D'autre part ces espèces métalliques nanométriques sont très réactives et se transforment rapidement dans le milieu naturel. Même si ces nanoparticules retiennent une part importante de l'attention au sein de la communauté scientifique, les nanoparticules inorganiques ne représentent pas la plus grande quantité produite. En effet, les nanoparticules manufacturées organiques et carbonées (NPOC) représentent une partie considérable de l'ensemble des nanoparticules aujourd'hui synthétisées et disponibles. A titre d'exemple, la production de nanotubes de carbone (NTC) et fullerènes a été estimée entre 57 et 1 181 tonnes par an dans l'Union européenne ¹. Concernant les NPOC, il existe une multitude de tailles, de structures, de formes, de compositions, etc. Contrairement aux nanoparticules inorganiques (NPI), les connaissances sur le comportement environnemental et biologique des NPOC sont quasi inexistantes. L'absence de ces connaissances est due conjointement à la grande complexité en termes de propriétés physico-chimiques (taille, forme, structure, stabilité en milieu aqueux, etc.) des NPOC et aux manques de méthodologies analytiques permettant de les déterminer. De plus, la composition chimique des NPOC est très proche des espèces naturellement présentes dans l'environnement, rendant leur identification et caractérisation délicates. Au cours de mes travaux de recherche j'ai choisi de me spécialiser principalement sur les NPOC.

Tableau 1: Principales nanoparticules manufacturées ayant un enjeux économique, environnemental, et sociétal.

Classification Type NP

¹ OECD: Organisation for economic Co-Operation and Development

_

Nanoparticules inorganiques	Métalliques	Nanoparticules d'Or et d'Argent
	_	Quantum Dots (CdS, CdSe)
		Nanoparticules de Fer
	Oxydes Métalliques	Aluminium (AlO)
		Titanium (TiO ₂)
		Cerium (CeO)
		Silicon (SiO ₂)
		Zinc (ZnO)
Nanoparticules organiques et carbonées (NPOC)	Nanoparticules de	Fullerènes (C ₆₀)
	Carbone (NPC)	Nanotube de carbone simple paroi (SWCNT)
		Nanotube de carbone multi-paroi (MWCNT)
		Nanofeuillet de graphène
		Noir de carbone
	Polymères organiques	Dendrimères, Chrlorure de Polyvinyle ou de
	et carbonées	latex, Polystryrène, Polyethylène,
		Polypropylène
	NP d'inspiration biologique	Lipides, Peptides, Polysaccharides,
	Autres	Argiles, Suies

II.1.2. Positionnement de mes travaux de recherche

C'est dans ce contexte que s'inscrit mon projet de recherche et qui se décline selon deux parties distinctes :

- (i) Développement de méthodologies analytiques innovantes permettant de disposer d'outils de caractérisation représentatifs des nanoparticules en milieu naturel ;
- (ii) Etude du comportement physico-chimique des nanoparticules dans les milieux environnementaux via notamment l'étude de leurs réactivités vis à vis de la matière organique et les contaminants organiques ;

Au-delà d'une réponse aux nombreux besoins de connaissance, mon projet de recherche propose d'y parvenir par une approche originale et inédite fondée sur une appréhension à la fois multidimensionnelle et sans a priori des questionnements scientifiques liés à ces trois paries.

Comme mes travaux s'inscrivent dans une continuité, après avoir rappelé le contexte scientifique dans lequel se situe mon projet de recherche, j'ai choisi de vous présenter brièvement les nanoparticules sur lesquels je me suis focalisé puis mes travaux de recherche sans considération de l'ordre chronologique mais suivant une démarche réfléchie et rationnelle. Dans un premier temps, les principaux outils analytiques que j'ai développé pour la caractérisation des différentes propriétés physico-chimiques propres aux nanomatériaux sont présentés. Parmi les différentes techniques que j'ai pu utiliser et développer, j'ai choisi de vous présenter celle qui a retenue majoritairement mon attention (c'est à dire le Fractionnement par couplage Flux-Force). Dans un deuxième temps, ces outils m'ont permis d'apporter de premiers éléments de réponses sur le comportement aqueux et environnemental des nanoparticules carbonées et organiques. Enfin, dans une troisième partie, les premiers résultats sur de nouvelles thématiques sont présentés. Ce sont ces nouveaux résultats qui me permettent de proposer mes perspectives de recherches.

II.3. Chimie (nano-)analytique

II.3.1. Enjeux analytiques

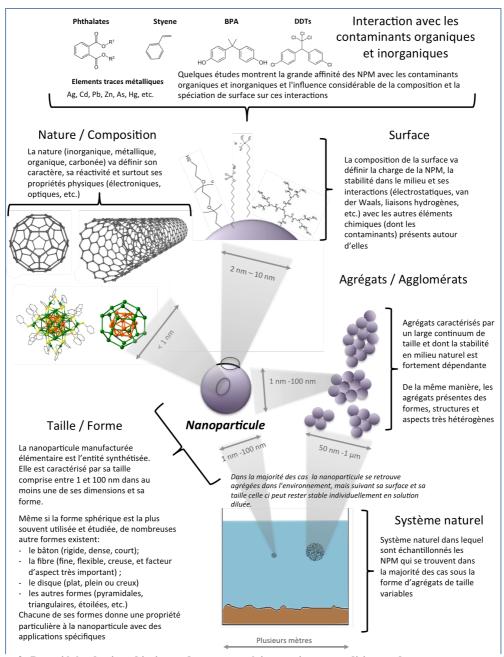


Figure 2: Propriétés physico-chimiques des nanomatériaux qui vont conditionner leur comportement dans l'environnement

Le manque de données concernant à la fois le comportement environnemental des NP et l'évaluation de leur écotoxicité est directement dû aux manques d'outils et de méthodes analytiques permettant l'identification, la quantification et la caractérisation des nanoparticules dans des systèmes naturels.

D'une manière générale, la complexité liée au processus de caractérisation et d'évaluation du devenir des nanoparticules dans un milieu réside dans la grande variété des paramètres physico-chimiques à prendre en compte (cf. Figure 2) ²⁻⁷. Même si la taille des nanoparticules est le principal paramètre contrôlant leur réactivité, de nombreux autres paramètres ont potentiellement une influence sur leurs comportements, transport et accumulation comme : l'état d'agglomération/agrégation, la forme, la dimension fractale, la composition chimique, la chimie de surface ou la solubilité...

Les principaux enjeux analytiques concernant le devenir environnemental et l'impact sur le vivant de nanoparticules en suspensions aqueuses sont liés :

- aux faibles concentrations des nanoparticules présentes dans l'environnement ;
- à la complexité chimique des matrices environnementales et biologiques, fortement concentrées en sel et autres entités moléculaires/macromoléculaires (en particulier de la matière organique naturelle) et/ou ioniques ayant une influence importante sur les propriétés physico-chimiques des NP;
- aux difficultés dans la préparation d'échantillon, liées notamment aux risques d'artéfacts et de perturbation de la stabilité colloïdale des échantillons ;
- à la polydispersité et/ou à la diversité de populations des nanoparticules ;
- à un manque de méthodes de référence fiables et reproductibles pour la caractérisation des nanoparticules
- à un manque d'échantillons de nanoparticules de référence pour l'étalonnage et la validation des méthodes analytiques développées.

Afin de déterminer ces différents paramètres et étudier les colloïdes dans différents systèmes, j'ai été amené au cours de mes travaux de recherche à développer un panel d'outils et de méthodologies analytiques. Parmi l'ensembles des outils que j'ai développé et utilisé, il y a de techniques de microscopie électronique (TEM) et à force atomique (AFM), de techniques spectroscopiques d'absorption (UV-Vis, FTIR, Raman, Fluorescence), d'émission (Fluorescence, ...), de diffusion de lumière (dynamique et statique) et enfin les techniques couplées dont notamment le fractionnement par couplage flux force couplé à de multiple détecteurs allant de la spectroscopie d'absorption, de diffusion de lumière et de spectrométrie de masse. Ce sont des techniques performantes que j'ai développé pour la détermination de la taille et de la forme des colloïdes, mais également leur forme physico-chimique et la détermination des espèces qui leurs sont associées. Afin d'être le plus synthétique possible, j'ai choisi de vous présenter les principaux outils que j'ai développé et résumés ci-dessous.

II.3.2. Développement de méthodes Field Flow Fractionation pour la nanométrologie

Une approche analytique de choix concernant la caractérisation de colloïdes (protéine, macromolécules synthétiques ou naturelles, nanoparticules) consiste à utiliser une technique séparative couplée à un ou plusieurs détecteurs. J'ai détaillé les raisons de ce choix dans une review co-écrite avec Gaëtane Lespes et publié dans Analytica Chimica Acta 8. Parmi les techniques séparatives la chromatographie d'exclusion stérique et le fractionnement par couplage flux-force (autrement appelé Field-Flow Fractionation, ou FFF) couplées à de multiples détecteurs permettent une caractérisation multidimensionnelle et représentative des échantillons. Au cours de mon parcours, je me suis plus spécifiquement intéressé aux techniques FFF. Même si cette famille de techniques n'est pas récente (inventée par Giddings dans les années 1960), elle n'a connu un essor que récemment, expliqué en partie par l'avènement des nanoparticules et la prise en compte de l'importance du rôle de la fraction colloïdale dans les processus naturels et/ou industriels. Jusqu'ici, les connaissances concernant la compréhension des mécanismes de rétention, les possibilités analytiques de cette technique restaient fragmentaires. Brièvement, comme l'illustre la Figure 3 ci-dessous, cette technique repose sur la capacité d'une espèce colloïdale à diffuser dans un milieu liquide au sein d'un canal micrométrique et dans lequel les paramètres de flux et donc de diffusion sont contrôlés. Ainsi il est possible de séparer différentes espèces ayant des propriétés de diffusion distinctes ou de les fractionner si celles-ci sont dans un continuum. Comme la taille, la distribution en taille et la forme ont une influence directe sur le coefficient de diffusion, ce sont donc les principaux paramètres qui vont influencer la rétention des composés dans ce système de fractionnement.

Le but d'une partie de mes travaux de recherche a donc consisté à explorer les capacités de cette technique, tant sur les mécanismes de rétention que sur les informations obtenues par le couplage aux différents détecteurs (diffusion de lumière statique et spectrométrie de masse notamment) faisant appel aussi bien à des aspects chimiques que physique. L'ensemble de ces travaux m'a permis de rédiger plusieurs publications sur les mécanismes de rétention dont notamment un protocole standardisé par le NIST (publié dans *Analytica Chimica Acta*) permettant d'optimiser et valider le fractionnement d'objet nanométrique par les techniques FFF dont les principales NP sont résumés dans le tableau ci-après ⁹. L'application de ces connaissances m'a ainsi permit d'étudier le comportement aqueux de colloïdes naturelles et manufacturées présentant des intérêts sanitaires, environnementaux et industriels considérables dont je vais vous présenter ci-après les principaux résultats ^{10–14}.

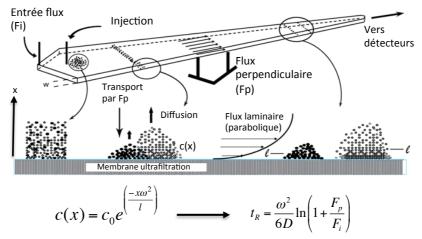


Figure 3: Principe de fonctionnement du Fractionnement par couplage flux force. Cas de l'asymmetrical flow Field Flow fractionation (A4F).

La caractérisation et la discrimination des colloïdes suivant leur forme représentent un enjeu sanitaire et environnemental important du fait à la fois de la grande variété de formes présentes dans l'environnement et de l'influence de ce paramètre sur leur comportement aux interfaces. Le manque d'outil permettant de caractériser les nanoparticules avec une résolution de l'ordre du nanomètre représente également un enjeu analytique important.

L'objectif global de ma thèse a été de développer et d'optimiser des méthodes innovantes et de hautes technicités basées sur l'association de techniques de fractionnement par couplage flux-force avec différents détecteurs comme la spectroscopie d'absorption UV et la diffusion de lumière (Statique « MALS », et dynamique « DLS ») pour la caractérisation des nanotubes de carbone (NTC) dispersés en milieu aqueux. Les nanotubes de carbone (NTC) de par leurs propriétés exceptionnelles sont devenus l'objet d'une recherche et d'un développement intensifs, et des multinationales comme des industries de pointe en ont fait leur priorité en termes de production et d'utilisation. Pour mieux maîtriser leurs propriétés et leurs applications tout en évaluant leur devenir environnemental, il est essentiel de les caractériser physico chimiquement. En effet leurs propriétés, leurs applications et leur comportement dans l'environnement sont intimement liés à leurs tailles, leurs charges et leurs comportements dans un milieu donné. Il est admis qu'il y a un manque considérable d'outils analytiques permettant une caractérisation suffisamment exhaustive des NTC dans un échantillon donné. C'est afin d'apporter des réponses à ces questions que ma thèse a été réalisée. En effet, un des principaux objectifs de ma thèse a été de développer et d'optimiser des conditions analytiques permettant d'obtenir un fractionnement des SWNTC et des MWNTC par A4F, tout en préservant l'intégrité de l'échantillon. Les phénomènes physico-chimiques pouvant intervenir dans le canal de fractionnement lors de la séparation par A4F ont pu être ainsi mieux appréhendés. Basé sur les modèles et les données obtenues, la diffusion hydrodynamique des nanotubes de carbone sous l'action d'un champ hydraulique est fonction à la fois de leur longueur et de leur état de dispersion. Pour évaluer le potentiel de séparation de l'A4F, il a fallu développer les formalismes et les modèles de diffusion de lumière adéquats pour interpréter géométriquement le rayon de giration des NTC et également la dimension fractale de ces structures particulières. Parmi ces formalismes, deux options s'avèrent pertinente : assimiler un nanotube à une ellipsoïde prolate ou bien à un cylindre. Dans le cas des NTC comme le diamètre est négligeable par rapport à la longueur, le modèle d'ellipsoïde prolate est directement relié au R_g (obtenu à partir du formalisme de Zimm) par un facteur 4.47 alors que le modèle de cylindre dépend d'un facteur 3.46 directement à partir du formalisme dit « rodlike ». Dans le cas des SWNTC il apparaît que le modèle d'ellipsoïde prolate est plus approprié alors que le modèle cylindre donne des résultats cohérents pour les MWNTC, qui ont un diamètre plus important et donc plus rigide que les SWNTC. Même si les SWNTC et MWNTC sont très proches en composition, il est apparu intéressant de constater que différentes approches de traitement de la lumière diffusée étaient nécessaires en fonction de l'arrangement des nanotubes ¹⁵. Concernant les SWNTCs, le modèle d'ellipsoide prolate correspond à des objets filandreux et donc nous indique le comportement des SWNTCs contrairement à des bâtons rigides. En effet, le modèle de traitement de la diffusion de lumière dit « rodlike » (ou cylindrique) permet de calculer directement la longueur à partir de la diffusion de lumière pour des formes assimilées à des bâtons rigides. Pour les MWNTCs, ce dernier modèle de forme conduit à une détermination précise des longueurs directement à partir de la lumière diffusée. Ces résultats montrent bien la différence de comportement des SWNTCs et des MWNTCs et qui, malgré une composition similaire, présentent des propriétés différentes et sont donc des nanoparticules à considérer séparément. Grâce à ces méthodes, nous avons pu donc obtenir des distributions en longueurs de SWNTC et des MWNTC (Figure 4a) ¹⁶ et également obtenir des informations sur leur état d'agrégation en étudiant l'influence des procédés de dispersions physiques et/ou chimiques sur la distribution en taille des NTC (Figure 4b)^{17,18}.

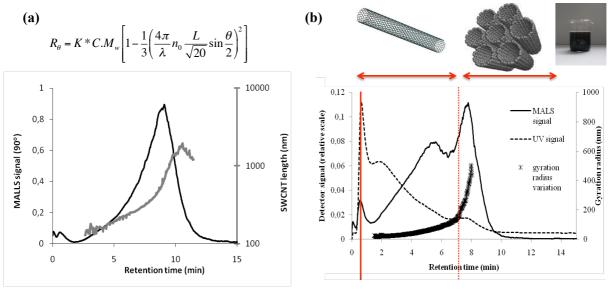


Figure 4 : (a) Fractogramme représentant la distribution en longueur obtenue à partir de la détermination du Rg et par l'utilisation de conditions optimales de fractionnement ; (b) fractogramme illustrant la séparation de nanotubes individuellement dispersés de ceux rassemblés au sein d'agrégats.

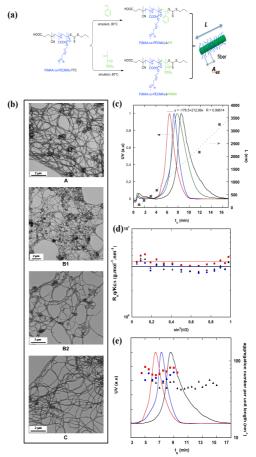


Figure 5: (a) Schéma de la polymérisation contrôlée RAFT utilisée pour synthétiser les nanofibres ; (b) TEM images de différents échantillons de nanofibres; (c) fractogramme des différents échantillons en fonction de la longueur caractérisé; (d) et (e) traitement de la diffusion de lumière statique pour obtenir le nombre d'agrégats par unité de longueur de la fibre.

Les nanotubes de carbones ont une structure similaire à de nombreux autres assemblages macromoléculaires. Ainsi, par le biais de collaboration, nous nous sommes intéressés à l'extension de ces méthodes de fractionnement à la caractérisation de nano fibres auto-assemblé de différentes natures (polystyrène, poly méthyl méthacrylate, poly(methacrylic acide-co-poly(ethylène oxyde) methyl ether methacrylate) et synthétisés par une méthode de polymérisation contrôlée « RAFT » (Figure 5a) ¹⁹. Ces polymères représentent des enjeux scientifiques important.

La microscopie électronique (TEM) a été utilisée pour déterminer la structure des nanofibres (Figure 5b), mais les images obtenues ne permettent pas une caractérisation fiable, robuste et représentative de l'échantillon dans sa globalité. C'est ainsi que les méthodes développées pendant ma thèse pour les nanotubes de carbone ont suscité et suscitent l'intérêt des personnes soucieuses de caractériser ces nano-objets aux formes asymétriques. Même si la distribution en longueur était le paramètre le plus recherché (Figure 5c), par le biais du traitement de la diffusion de lumière statique (Figure 5d), nous avons pu déterminé la quantité d'agrégats de chaîne au sein d'un nanofibre en fonction de la distribution en longueur (Agg) (Figure 5e).

Lors de mon séjour au NIST, je me suis intéressé à la caractérisation des colloïdes et nanoparticules suivant la forme, et plus particulièrement aux nanoparticules « bâton » d'or, qui sont à la fois ^{20,21}:

- O Un remarquable modèle pour comprendre et étudier les phénomènes physico-chimiques influençant la caractérisation par A4F-multi-détection (phénomène de rétention);
- Différents en termes de rigidité et donc en termes de comportements par rapports aux nanotubes et nanofibres;
- Des nanoparticules d'intérêt biomédical et environnemental.

Ces travaux, toujours en cours, ont suivi un ordre chronologique :

- (i) Développer un méthode A4F pour séparer les GNR suivant leurs propriétés physiques et étudier les mécanismes d'élution ;
- (ii) Etudier le suivi de formation et de modification en surface des GNR;
- (iii) Explorer cette méthode aux limites de son champs de fonctionnement (diffusion brownienne).

Pour développer les méthodes A4F et les mécanismes de séparation mis en jeu, nous avons utilisé des nano-bâtons d'or (GNR) commercialisés et stabilisés par un tensio-actifs cationique (CTAB). Etant donné la nature négative de la membrane de séparation dans le canal A4F, nous avons contourner le problème de l'adsorption irréversible de nanoparticules positivement chargées en contrôlant les forces élecro-statiques du milieu par l'optimisation de la composition de la phase mobile (65% de nitrate d'ammonium et 35% de CTAB à force ionique constante, i.e. 0.5 mmol.L⁻¹). Les conditions optimisées permettent de séparer les GNR suivant leur aspect de forme (rapport Longueur/diamètre) indépendamment des paramètres de tailles. Pour valider notre séparation nous avons utilisés un détecteur UV multi-longueur d'onde permettant d'acquérir un spectre UV à chaque temps de rétention sur le fractogramme. Etant donné la dépendance les bandes d'absorptions (bandes SPR) des GNR fonction de leur facteur d'aspect (Aspect Ratio), nous avons pu validé le mécanisme de séparation. Notre travail est la première étude expérimentale rapportée à montrer clairement la contribution entropique de la forme de la nanoparticule sur le processus d'élution en FFF, où le coefficient de diffusion GNR, le rapport d'aspect et le vecteur d'orientation contrôlent l'élution en mode normal. Ce résultat, selon la théorie FFF, est différent de celui obtenu dans les études antérieures sur les nanofils et les nanotubes de carbone cité ci-dessus [18, 37]. Enfin, nous avons appliqué la méthodologie développée pour séparer un mélange de différents GNR (aspect ratio compris entre 1 et 4) dans une matrice aqueuse. Comme l'illustre la figure 6 ci-dessous, les résultats montrent que la détection d'absorbance à longueur d'onde multiple peut être pertinente pour interpréter la forme des GNR selon leur temps de rétention dans A4F. La combinaison de la détection d'absorption avec A4F présente l'avantage de l'analyse in situ (par rapport à la microscopie électronique par exemple) pour détecter la forme GNR. Grâce aux résultats obtenus nous avons pu mettre en évidence une relation directe entre l'aspect ratio de ces bâtons rigides (contrairement aux nanofibres et nanotubes qui sont souples) et leur coefficient de diffusion transrationnel et rotationnel. Ainsi dans une gamme de taille allant de 1 à 100 nm, il existe différents modes d'élution en fonction de la taille, de la forme et du facteur d'aspect.

La méthode développée est particulièrement intéressante pour le suivi de formation et d'apparition de nano-bâtons à partir de sphère. Dans le cas des GNR, les avancées les concernant ont été entravé en partie par l'incapacité d'examiner et de contrôler la réduction des clusters précurseurs en matériaux anisotropes, ce qui a entraîné un faible rendement des produits souhaités et limité leur viabilité commerciale. Les avantages offerts par les méthodes de séparation en tandem et de caractérisation utilisant le fractionnement du flux de champ à flux asymétrique (A4F) sont principalement obtenus en raison de leur nature non perturbatrice (minimisation des artefacts), du débit rapide et de l'analyse in situ. Grâce aux méthodes A4F que nous avons développés nous avons suivi et en ajoutant l'hydroquinone comme agent réducteur à la solution de clusters d'or en fonction du temps, le taux de croissance des GNR est suivi et est caractérisé par une inversion du profil d'élution (Figure 6c). La

microscopie électronique à transmission a confirmé que le nombre de pics observés pendant le fractionnement correspond bien à la taille et à la distribution en forme obtenu à partir du temps rétention et les signatures optiques. L'application de cette méthode pour des analytes dans une matrice aqueuse contrôlée environnementale ou biologique ouvre de nouvelles perspectives pour comprendre les mécanismes de formation des agrégats de NP.

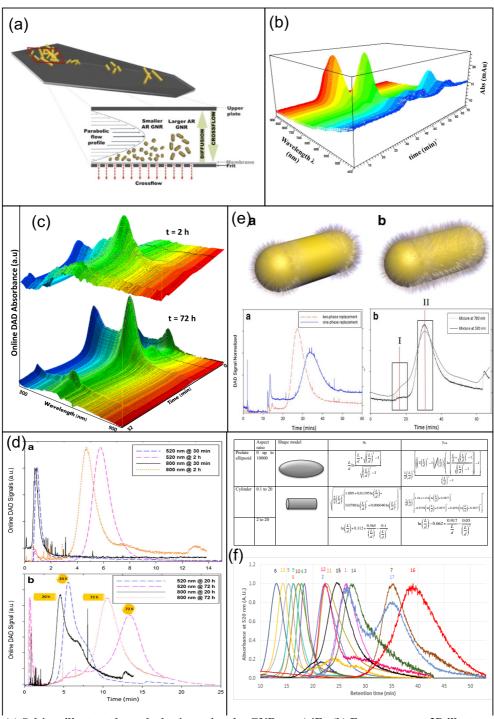


Figure 6: (a) Schéma illustrant le mode de séparation des GNR par A4F; (b) Fractogramme 3D illustrant l'élution des GNR en fonction de leur aspect ratio (AR) lui-même dépendant de la longueur d'onde UV d'absorption (bande d'effet Plasmon longitudinale); (c) Fractogramme 3D illustrant l'évolution de transformation de cluster d'or en bâton; (d) Suivi de transformation de nanoparticule d'or sphérique en bâton par l'évaluation du temps de rétention en A4F; (e) Schéma de différents mécanismes de pegylation des GNR et de leur caractérisation par A4F; (f) Séparation de GNR sur une large gamme d'aspect ratio et des différents modèles utilisés pour caractériser leur diffusion en milieu aqueux.

Néanmoins, une des limitations de notre méthode analytique est la présence de tensio-actifs cationiques rendant difficilement applicable à d'autres nano-bâtons dont la charge est négative. De plus les GNR stabilisés

avec du CTAB ne permettent pas leurs applications dans les matrices biologiques, le CTAB étant extrêmement toxiques. Pour cela nous avons développés un protocole pour changer le ligand CTAB à la surface des GNRS par du polyethylène glycol (PEG) biocompatibles (GNR PEGylés). En optimisant les conditions analytiques de l'A4F (phase mobile, flux, dimensionnement du canal de séparation), nous avons observé que le mécanisme de séparation des GNR PEGylés par A4F est identique à celui des GNR stabilisés CTAB (c.-à-d. selon leur AR), ce qui confirme que le mécanisme d'élution n'est pas fonction de la charge de surface des analytes et/ou de la membrane et ouvre de nombreuses perspectives d'applications pour tout type de nano-bâtons. De plus, nous avons démontré que A4F peut distinguer différentes populations de surface de GNR PEGylées. Les données ont établi qu'une modification de de la masse moléculaire (Mw) du groupe fonctionnel et/ou de l'orientation de la surface (voir Figure 6) peut être détectée et fractionnée par A4F. Les résultats de cette étude fournissent les bases d'une séparation complète et d'une analyse physico-chimique des GNR et de leurs revêtements de surface, qui peuvent fournir une caractérisation précise et reproductible essentielle à l'avancement de la recherche biomédicale.

Nos travaux et ma collaboration avec le NIST sur cette thématique est toujours en cours. L'objectif est d'étudier le fractionnement des GNR à l'aide d'une large gamme d'aspect ratio disponibles dans le commerce (Figure 6f). Grâce à cette étude, nous souhaitons discuter du potentiel de l'AF4 pour fractionner efficacement et pour différencier l'ensemble des aspect ratio des GNR dans un même mélange. Nous avons étudié différents des modèles basés sur la structure (cylindrique ou ellipsoïde prolate) pour obtenir des informations sur les coefficients de diffusion en rotation et en translation en fonction des mécanismes de rotation. Afin d'effectuer cette recherche, les GNR d'origine commerciale ont été analysés de manière indépendante par TEM. D'après nos résultats, le modèle de cylindre dans la gamme des AR compris entre 2 à 20 est le plus approprié pour les GNR. Grâce à nos modèles, pour un échantillon GNR (ou autre nano-bâton) inconnu, Dt et Drot peuvent être déterminés à partir des courbes d'étalonnage que nous avons établis. De plus, à partir d'équations empiriques et théoriques (Figure 6f) et du temps de rétention, L et d peuvent être déterminés.

Dans le cadre de mon recrutement au CNRS, j'ai choisi de m'intéresser plus spécifiquement aux fullerènes. Les fullerènes représentent une famille particulière des nanoparticules organiques et carbonées qui commencent à être largement utilisés dans les produits cosmétiques et autres produits de consommation courante. A base de carbone, ces nanoparticules présentent des propriétés physico-chimiques contradictoires en milieu aqueux ou organique, ce qui rend leur caractérisation et leur préparation relativement complexe. Dans le cadre de mes travaux de recherche au CNRS, j'ai valorisé l'ensemble des outils analytiques que j'ai pu utiliser et développer tout au long de mon cursus tout en allant développer de nouveaux outils. J'ai tout d'abords optimisé et développé des méthodes FFF pour la séparation et la caractérisation des dispersions de nC₆₀ en milieu aqueux (un article est en révision sur cette partie). Comme l'illustre la figure 7, les conditions FFF optimisées m'ont permis de séparer et caractériser les nC60 sur une gamme de taille totalement inédite. Les détecteurs de diffusion de lumière statique (permettant la détermination du rayon de giration R_g) et dynamique (permettant la détermination du rayon hydrodynamique R_h) m'ont permis de caractériser et calibrer la taille des nC₆₀. Enfin en modélisant le facteur de forme et en étudiant les variations inhomogènes des Rg et Rh nous avons mis en évidence des biais dans l'interprétation des résultats dans la littérature. Alors que la communauté scientifique s'accorde à attribuer un changement de forme associée à une variation du rapport R_g/R_h en fonction du temps d'élution, nous avons mis en évidence l'attribution de ces variations par des interactions particules-particules influençant leur diffusion dans le canal de séparation A4F. Derrière ces résultats, nous avons montré que l'apparition de ces interactions est dû à un changement de leur état d'agrégation. Une première population, constituée de particules avec une taille comprise entre 10 et 50 nm (en rayon), est caractérisée par des nC₆₀ homogènes en forme (sphériques), et une deuxième, comprise entre 50 et 100 nm, qui présente un arrangement structural désordonné. Ces premiers résultats permettent d'appréhender un comportement en milieu aqueux totalement différent de ce qui est généralement admis dans la littérature. Dans la partie II.4, je me suis intéressés plus particulièrement à la dimension fractale des agrégats de fullerènes et des différents régimes d'agrégation mis en jeux en milieu aqueux.

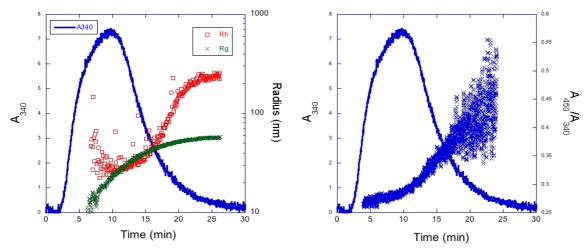


Figure 7: Fractogramme de nanoparticules de fullerènes illustrant la différence de comportement hydrodynamique des agrégats de fullerènes. Nous avons montré également que le ratio d'absorbance à 450 nm sur 340 nm était corrélé à la taille et à la forme des agrégats.

Je me suis également intéressé à la détermination de la distribution en charge des colloïdes et nanoparticules naturelles et manufacturées. Etant donné le manque d'outils analytique permettant cette détermination sans altération de leurs propriétés, l'objectif de cette partie de mes travaux de recherche a donc été de développer le « Cyclical Electrical Field-Flow Fractionation » (Cyc-ElFFF), une autre technique proche du FFF, non commercialisée, pour la caractérisation de nanoparticules manufacturées suivant leur charge ²². Le Cyc-ElFFF a été développé lors de mon séjour au sein de l'Université d'Utah à Salt Lake City (Utah, USA) de Juin à Octobre 2010 au cours de ma deuxième année de thèse en collaboration avec le Dr. Bruce Gale. Le principe de la technique consiste à appliquer dans un canal micrométrique rectangulaire un champs cyclique électrique perpendiculaire au flux au profil de vitesse parabolique éluant les nanoparticules (figure 8). Les particules fortement chargées seront davantage affectées par le champ électrique et resteront plus proches des parois et seront donc moins affectées par la vitesse maximale d'élution au centre du canal.

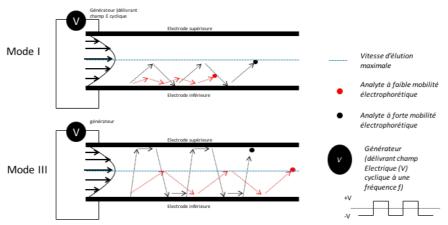


Figure 8: Deux principaux mode de séparation par Cyc-EIFFF.

L'ensemble des différents modes opérationnels Cyc-ElFFF avec les équations théoriques correspondantes ont été développées et étudiées afin de relier le temps d'élution à la mobilité électrophorétique :

$$t_R = \frac{2f\omega^2 t_0}{3V_B\mu - \frac{V_B^2}{f\omega^2}\mu^2}$$

avec f est la fréquence du champ électrique, ω l'épaisseur du canal, V_B le voltage effectif et μ la mobilité électrophorétique (directement liée à la charge des nanoparticules).

La technique de fractionnement a été optimisée pour des nanoparticules dites de « référence » c'est-à-dire des nanosphères de latex au profil physico-chimique (taille, charge, etc.) bien établi. Comme l'illustre la figure 8, l'optimisation a été réalisée sur différents types de colloïdes naturels et nanoparticules manufacturées (nanoparticules) dans le but d'étendre le champ d'application de cette nouvelle technique et d'évaluer ses limites par rapport à des composés complexes. Il apparaît clairement que le Cyc-ElFFF permet une caractérisation spécifique selon la mobilité électrophorétique (donc en relation avec la charge) uniquement. De plus, dans le cas des NTC, la gamme de longueurs n'a pas d'influence sur leur densité de charge. Cette technique ouvre des perspectives, jusqu'ici encore non évaluées, sur l'importance de la détermination de la charge des nanoparticules manufacturées dans un contexte environnemental.

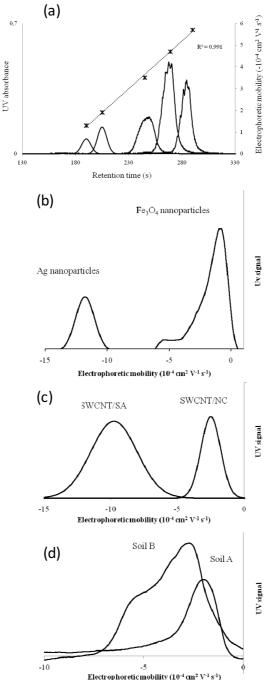


Figure 9: Illustration des modes de fractionnement en Cyc-El-FFF avec plusieurs applications sur des échantillons (a) de polystyrènes, (b) de nanoparticules d'argent et de Fer, (c) de nanotubes de carbones, (d) d'extrait de sol de différentes provenances.

II.3.3. Méthodes de détection par l'utilisation de laser : applications environnementales

Néanmoins l'A4F et les techniques de fractionnement par couplage flux-force (FFF), aussi puissante puissent elles, elles peuvent être limitées pour la caractérisation in-situ des nanomatériaux en fonction des différentes conditions physico-chimiques. Pour compléter la panoplie d'outils nécessaire à la caractérisation des nanomatériaux à des fins environnementales, dès mon recrutement au CNRS j'ai initiée une collaboration avec Cordouan Technologies (Pessac, France), PME spécialisée dans le développement d'outils et de diffusion de lumière pour caractériser les nanomatériaux. L'objectif de notre collaboration est de développer des outils et méthodes pour aller caractériser les nanomatériaux dans l'environnement en tenant compte des enjeux analytiques : complexité physico-chimique des nanoparticules et du milieu étudié, faible concentration, présence de nanomatériaux naturels, etc. Depuis ces 2 dernières années nous avons principalement travaillé sur le couplage de l'ultrafiltration séquentielle à la diffusion de lumière dynamique déportée ou in-situ et sur la spectroscopie sur plasma induit par laser (Laser Induced Breakdown Detection, LIBD). Cette collaboration s'est illustrée et s'illustre par le co-encadrement de plus de 4 stagiaires (2 Masters 2ème année Recherche, 2 Masters 1ère année) et une thèse (financement CIFRE) qui débute le 1^{ier} Octobre 2016.

Afin de concentrer et de fractionner les particules en fonction de leur taille et dans un milieu dilué nous avons optimiser un prototype d'ultrafiltration. Ce prototype (non illustré car un brevet est en cours de rédaction) permet dans un premier temps de concentrer les nanoparticules au-dessus 10 kDa. En-dessous ce seuil de coupure, composé majoritairement d'interférent dissous présent dans le milieu naturel, sont séparés de la solution. Par la suite le rétentat est fractionner en différentes classes de tailles qui dépendent du seuil de coupure des filtres utilisées, allant de 20 nm jusqu'à 900 nm. La mesure de taille intégrée consiste en une sonde de diffusion de lumière dynamique déportée qui permet d'avoir une mesure directement dans le prototype d'ultrafiltration. La diffusion de lumière dynamique, technique largement utilisée maintenant dans le domaine de la nanométrologie, repose sur le mouvement brownien d'une particule dans un milieu avec ses propriétés intrinsèques. Ce mouvement caractérisé par le coefficient de diffusion est directement relié au rayon hydrodynamique par la relation de Stokes-Einstein. Néanmoins, même si obtenir une distribution en taille est relativement facile pour n'importe quel utilisateur, la DLS n'en reste pas moins une technique complexe dont les potentialités sont sous-estimées. La corrélation de lumière diffusée par la particule dans le temps s'exprime par une courbe d'autocorrélation (appelée ACF). C'est cette courbe qui permet ensuite d'obtenir le coefficient de diffusion et donc les paramètres de taille en appliquant un fit particulier à cette courbe. Le principe de la DLS est résumé dans la figure 10 ci-dessus. La sonde DLS émet le rayonnement de deux faisceaux lasers de faibles puissances. Le croisement de ces faisceaux dans le milieu définit le volume hautement précis à caractériser. Une fois la zone d'analyse définie, l'intensité de la lumière diffusée, qui correspond au mouvement brownien des colloïdes, est mesurée en fonction du temps par rétrodiffusion au travers d'une fibre optique. La diffusion et donc la taille des nanoparticules sont donc ainsi caractérisées. Ce montage permet l'analyse de solutions colloïdales directement dans le milieu dans lequel elle est située. Un algorithme d'inversion de Padé Laplace permet l'analyse spécifique d'échantillons multimodaux et complexes, ce qui dans le cas du des nanoparticules dans l'environnement représente une plus-value certaine.

La technologie Laser Induced Breakdown Detection (LIBD) permet de détecter des colloïdes en utilisant la formation de plasma. Un plasma est produit lorsque qu'un matériau croise le faisceau d'un laser à impulsion focalisé à une énergie suffisante. Au début, au moins un atome est ionisé par ionisation multiphotons, produisant un électron "initiateur" qui est accéléré par Bremsstrahlung inverse dans le champ électrique intense de l'impulsion laser. D'autres atomes sont ionisés par collision après avoir accumulé assez d'énergie, ce qui multiplie le nombre d'électrons. La densité de porteurs de charge libres augmente ce qui créé un plasma (Figure 11a). L'onde acoustique produite par l'expansion thermique du plasma peut être mesurée par un détecteur piezo-acoustique en contact avec la cuvette de mesure en quartz, afin de compter les particules (Figure 11b). Le nombre de particules est obtenu en calculant la probabilité de produire un plasma (BDP), par le rapport du nombre de plasmas détectés sur le nombre d'impulsions laser. Un graphique des BDPs en fonction de l'énergie d'impulsion est obtenu sous la forme d'une courbe en S (Figure 11c) et suivant l'équation :

 $BDP_{mono}(E_0) = 1 - \left\{ \left(1 + C(E_0 - E_{th}) + \frac{1}{2} [C(E_0 - E_{th})]^2 + \frac{1}{6} [C(E_0 - E_{th})]^3 \right) \right\} exp\left(-C(E_0 - E_{th}) \right)$

avec BDP la probabilité de formé un plasma, C la concentration en nanoparticule, E_{th} est le seuil permettant la mesure de la taille des particule et E_0 l'énergie initiale délivrée. Le seuil de la courbe donne des indications sur la taille moyenne des particules. Le seuil est corrélé négativement à la taille des particules alors que la valeur de la pente de la courbe quant à elle est corrélée positivement à la concentration en nanoparticules. Pour évaluer la taille moyenne et la concentration moyenne de particules d'un échantillon, une calibration avec des particules de référence de même composition, avec des tailles et des concentrations connues, est nécessaire. D'où l'importance de disposer d'étalons de références pour l'ensemble des applications. La LIBD est une technologie qui comporte beaucoup d'avantages. Comme l'illustre la figure 11d, la LIBD est très sensible et permet de détecter des particules jusqu'à 20 nm et jusqu'à 10^4 particules par ml, ce qui en fait une technique de choix pour les applications environnementales.

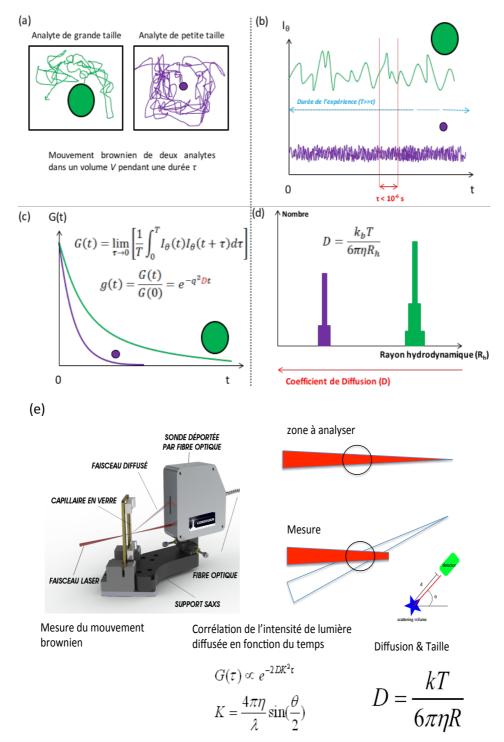


Figure 10: (a-d) Théorie de la diffusion de la lumière dynamique permettant l'obtention d'une courbe d'autocorrelation et d'une distribution en taille associée ; (e) principe de fonctionnement de la sonde DLS déportée et utilisée dans le prototype d'ultrafiltration.

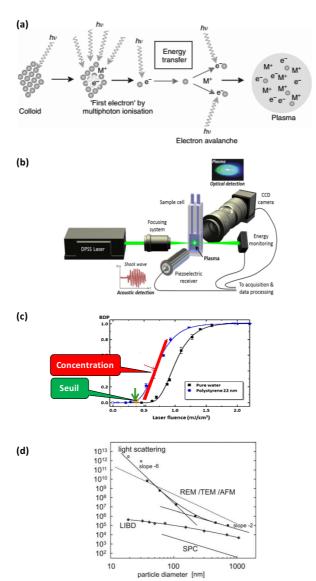


Figure 11: Processus de formation de plasma induits par un laser nano-seconde. Quelques électrons initiateurs sont produits par ionisation multiphotons pendant une impulsion laser. Ces électrons gagnent de l'énergie dans les champs électriques du laser par Bremsstrahlung inverse, et produisent d'autres électrons par la collision avec les atomes ou molécules du colloïde. En quelques nanosecondes plus de 1018 électrons cm-3 sont générés et un plasma est formé. (b) Schéma fonctionnel du Magellan. (c) Exemple de courbes de solutions standards de nanosphère en Polystyrène permettant d'estimer la concentration par la pente, et la taille par le seuil ; (d) sensibilité de différents instruments de caractérisation de particules en concentration en fonction de la gamme de taille qui peut être caractérisée.

Cet outil n'a, à ce jour, pas encore été développé pour la caractérisation de nanoparticules dans l'environnement. Le LIBD permet théoriquement de déterminer la taille des nanoparticules à des quantités d'ultra-traces dans les systèmes aqueux. Les verrous de cet outil sont liés : (i) à la polydispersité en taille des nanoparticules dans l'environnement ; (ii) aux manques de données sur les propriétés physico-chimiques des matériaux étudiés ; (iii) sur la théorie de l'instrumentation qui est toujours en développement surtout par rapport aux nanomatériaux. L'objectif de la collaboration, qui a été complétée par le co-encadrement d'un stagiaire M1, reconduit en Master 2 et finalement en thèse (convention CIFRE) de l'Université de Bordeaux, est de développer le LIBD pour la détection et la caractérisation des nanoparticules en milieu aqueux et naturel. Les premiers résultats sur les nanoparticules de fullerènes sont très encourageants (Figure 12). Il est possible grâce à cette technique de caractériser ces espèces à l'état de trace, mais surtout elle permet de caractériser les premiers agrégats de nC60 à des tailles jusqu'ici largement ignorée (<10 nm). Même si ces hypothèses sont encore en cours de validation, ces résultats soulèvent de nombreuses questions quant à leur devenir et impact sur l'environnement et le vivant. La DLS classique et les outils FFF ne peuvent déterminer, faute de détecteurs adaptés, ces faibles tailles. Les travaux en cours concernent le couplage entre l'ultrafiltration tangentielle et le LIBD, afin de lever les verrous liés à la polydispersité grâce au fractionnement en taille préalable.

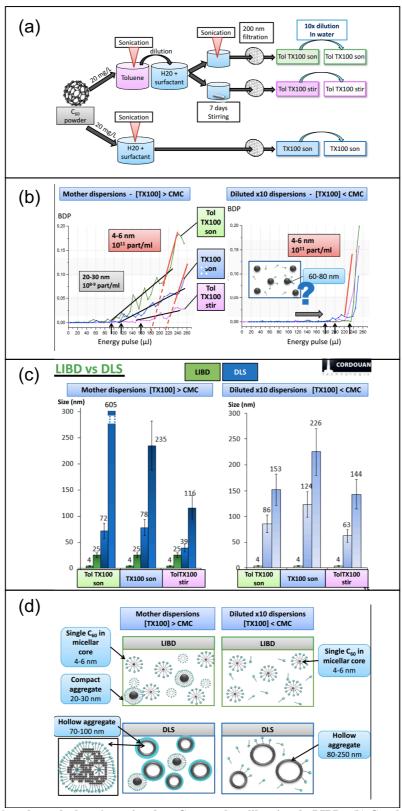


Figure 12 : (a) Schéma du mode de préparation des nC₆₀ pour la calibration du LIBD ; (b) Courbe de probabilité de formation de plasma en fonction de l'énergie de laser appliquée pour différentes dispersions et dilutions de nC60 dans le triton X-100 (alors que le seuil d'énergie de la courbe en S est directement relié à la taille, la pente est directement corrélée à la concentration ; (c) Comparaison des résultats obtenus sur les différentes dispersions par DLS et LIBD ; (d) principlales hypothèses de caractérisation des nC₆₀ par LIBD et comparaison avec la DLS.

II.3.4. Elaboration de nanoparticules « standards »

Afin de développer l'ensemble des méthodes analytiques, de comprendre les données obtenues et de les valider, il a fallu développer toute une gamme de nanoparticules étalons calibrés en composition, en taille, en forme et également en état de dispersion (agrégés et/ou dispersés). Même si ces étalons ne sont pas commercialisés, c'est un axe de mes travaux de recherche que je continue à mener de fronts avec les développements analytiques.

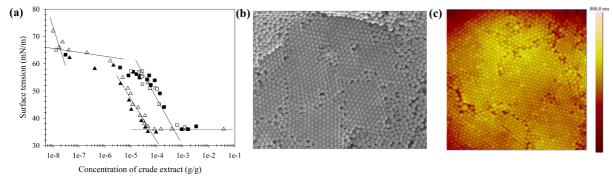


Figure 13: (a) tension de surface mesurée en fonction de la quantité de tensio-actifs extrait ; (b) et (c) sont des images obtenues par ESEM et AFM respectivement représentant des particules de polystyrene synthétisées dans un milieu contenant 4% en masse de saponine par rapport au monomère (Magnitude de l'image SEM Å~10000).

Les nanoparticules de polystyrènes sont les principales nanoparticules utilisées pour calibrer l'ensemble des outils dédiés à la nanométrologie. Même si ces nanoparticules, dans leur milieu de conservation, présentent des propriétés intéressantes en termes de distribution en taille, en forme et en propriétés optiques, leur stabilité dans des matrices aqueuses complexes est faible et la présence de nombreuses interférents (tensio-actifs) peuvent biaiser les applications environnementales. Pour cela, en collaboration avec l'IPREM de Pau et le NIST, nous avons développé la préparation d'émulsion de NP de PS à partir de molécules naturelles, comme la saponine extraite de noix de lavage et par l'utilisation de micro-ondes, pour la préparation d'émulsions de polystyrènes. Ces émulsions servant ensuite d'échantillons modèles pour la calibration des méthodes analytiques pour la caractérisation de colloïdes au sein de matrices naturelles complexes. Dans ce travail, publié dans Biomacromolecules, nous nous sommes focalisés à faire le lien entre la structure des assemblages, leurs propriétés rhéologiques et leurs caractéristiques physico-chimiques sur la stabilité physique des matrices formées. En effet comme le montre la figure 13 ci-dessus, la diminution brusque de tension de surface en fonction de la quantité de saponine extraite définit la quantité de tensio-actifs adsorbés à l'interface air-eau. Après cette diminution brusque, les tensio-actifs en excès (non adsorbés à l'interface) s'arrangent sous forme de micelles et par cette mesure nous avons donc pu évaluer la concentration micellaire critique (CMC) de ces tensio-actifs. Ce paramètre est déterminant pour contrôler la taille, la distribution en taille, la forme et la stabilité des émulsions de polystyrène ensuite formées et représentées sur la figure 13 (13b et 13c).

Toujours par l'utilisation de tensio-actif, j'ai mis au point la synthèse de nanoparticules à base de sélénium et d'or qui permet la calibration des outils séparatifs à des outils de spectrométrie de masse pour les espèces inorganiques. Par l'utilisation de tensio-actifs cationiques, l'hexadecyl ammonium bromide (CTAB), j'ai pu développer différents procédés pour synthétiser des nanoparticules fortement mono-disperses, de tailles (de 2 à 100 nm) et formes (bâtons, triangles, cubes) différentes, et aux propriétés optiques singulières (indice de réfraction, propriétés effet plasmon). Ces nanoparticules, dont certaines images obtenues par microscopie électroniques sont présentées ci-dessous (figure 14b et 14c) m'ont permis de développer et calibrer des outils de mesures physicochimiques propres aux objets nanométriques (figure 14a), mais également pour évaluer l'influences de ces diverses propriétés sur les arrangements nanométriques susceptibles de se produire dans les systèmes naturels. Par le biais de différentes techniques (conductivité, potentiel zeta, ...), je me suis particulièrement intéressé à l'étude de l'influence des propriétés thermodynamiques du CTAB à s'arranger sous différentes formes à l'état micellaire afin de contrôler in fine la taille et la forme de ces objets.

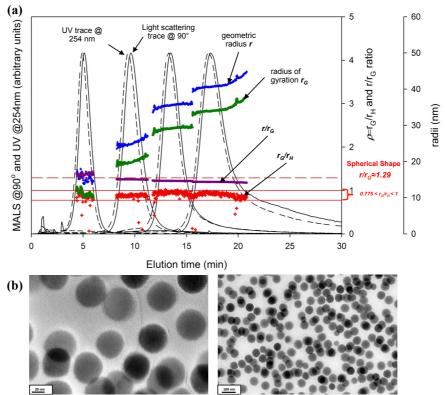


Figure 14: (a) fractogrammes de différentes tailles de nanoparticules de sélénium synthétisés dans une solution micellaire de CTAB; (b) et (c) images TEM de 2 tailles différentes de SeNP-CTAB synthétisées.

Plus récemment dans le cas des fullerènes, afin de développer l'ensemble des méthodes analytiques nécessaire à la caractérisation des fullerènes et à la compréhension de leur comportement dans l'environnement, mes premiers travaux ont consisté à développer au laboratoire des échantillons de fullerènes représentatifs des formes susceptibles d'être identifiées dans l'environnement. A l'échelle élémentaire, les fullerènes sont des composés typiquement hydrophobes, solubles dans le toluène et instables en milieu aqueux. Néanmoins, de par leurs applications et leurs propriétés, les fullerènes en milieu aqueux se comportent comme des hydro-colloïdes (nC₆₀) en s'agrégeant sur des gammes de tailles allant de quelques dizaines à plusieurs centaines de nanomètres et en s'entourant de macromolécules, et de propriétés diverses. Aujourd'hui, plusieurs auteurs relatent le manque de considération de ce comportement en milieu aqueux et les données disponibles dans la littérature à ce sujet sont contradictoires. Dans un premier temps, j'ai pris l'initiative d'établir un état de l'art critique des méthodes de préparation des nC₆₀ nécessaires à leur caractérisation et à l'étude de leur comportement environnemental ²⁴. Sur la base de cet état de l'art, j'ai ensuite pu développer, optimiser et comparer différents protocoles pour l'obtention d'une dispersion de nC₆₀ stable et représentative. Ces dispersions ont été ensuite purifiées et fractionnées par des outils d'ultrafiltration afin de disposer d'étalons couvrant toute la gamme colloïdale et présentés sur la figure 15. Ces dispersions m'ont permis de développer les différentes méthodes analytiques permettant de caractériser les nC₆₀ en milieu naturel.

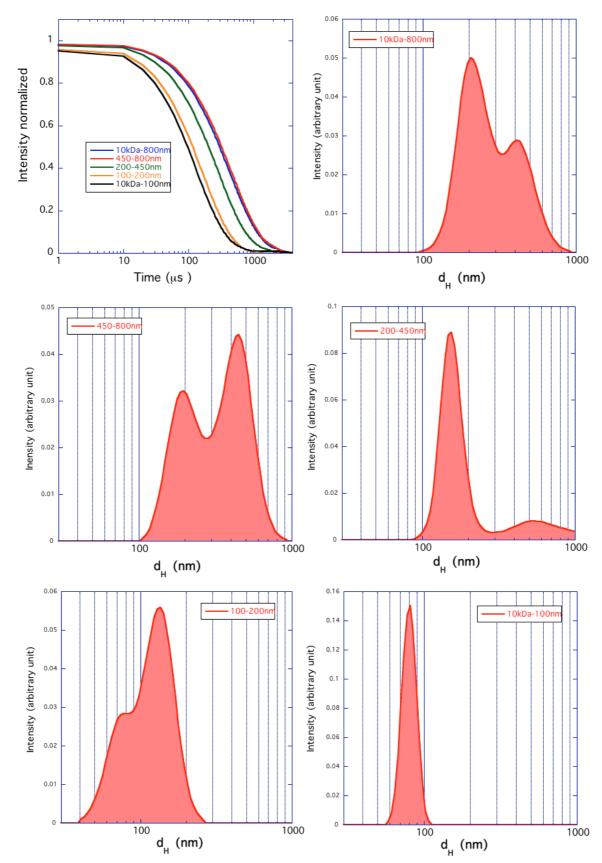


Figure 15: Fonction d'auto-corrélation des différentes fractions de fullerènes « étalons » et les distributions en tailles correspondantes.

II.4. Chimie environnementale des nanoparticules

Afin d'étudier le comportement environnemental des nanoparticules, il est primordial d'avoir une approche suffisamment large de l'ensemble des processus susceptibles de se produire. Elle permet également de se rendre compte de l'ubiquité des nanoparticules et du challenge important que cela entraîne en termes de chimie analytique et de physico-chimie environnementale. La matière organique est le principal vecteur de contaminant dans l'environnement et c'est également elle qui va régir le comportement et le transport des nanoparticules dans l'environnement ^{4,5,25–30}. Pour tenter d'apporter des éléments de réponses à la fois pertinents, inédits et originaux, j'ai en premier lieu eu recours à des modèles de MON pour étudier les interactions avec les NPOC. Par rapport aux travaux précédents réalisés sur les interactions entre MON et contaminants tels que les éléments trace par exemple, des modèles non seulement en termes de fonctions chimiques mais également en termes de taille ont été considérés ^{31–34}.

Grâce aux méthodologies analytiques développées dans la première partie de mon projet, de nombreuses autres propriétés physico-chimiques cruciales à l'étude du comportement environnemental des NP ont été déterminées. Celles-ci comprennent l'agrégation et la sédimentation, la dissolution, l'adsorption sur les particules et autres surfaces solides, la capacité à se lier à la matière organique naturelle dissoute, et la stabilisation par des tensioactifs. D'autres procédés environnementaux impliquent la dégradation biologique (aérobie et anaérobie), et la dégradation abiotique (hydrolyse et photolyse) sont également étudiés. Une attention particulière est portée sur l'état de dispersion des NP, paramètre permettant de décrire le transport et l'accumulation aux interfaces des NP. Les premiers résultats ont montrés que l'agrégation des NP a une influence considérable sur leur toxicité et donc leur impact environnemental ^{35–37}. L'état de dispersion se caractérise par la taille et la distribution en taille. Ce sont donc ces propriétés majeures qui ont été caractérisées au travers de mon projet de recherche.

Parmi les nanoparticules, les nanotubes de carbone font figures de modèles, tant pour leurs propriétés physico-chimiques que pour les enjeux qu'elles suscitent. Néanmoins la taille, la forme, et surtout le comportement aqueux (état de dispersion, agrégats) de ces objets sont encore mal appréhendés malgré l'importance de l'étudier pour mieux prédire le devenir des NTC dans l'environnement.

Un des objectifs de mes travaux de thèses était clairement de comprendre comment la taille et la structure de ces assemblages en solution conditionnent leurs comportements aux interfaces. Nous avons ainsi développé une approche innovante permettant de disperser les NTC, de nature hydrophobe, en milieux aqueux et de contrôler leur état d'agrégation basée sur l'utilisation conjointe d'un traitement thermomécanique, via l'utilisation d'ultrasons, et de molécules tensio-actives (naturelles et synthétiques). Grâce aux méthodes analytiques utilisées, nous avons ainsi pu étudier l'influence de la nature et de la concentration des tensio-actifs (Sodium dodecyl sulphate, Triton X-100, Sodium dodecyl-benzene sulphonate, etc.) sur la taille et la quantité d'agrégats de NTC. Alors qu'une concentration élevée en tensio-actifs entraîne la formation de larges agrégats stables en solution, une concentration aux abords, ou légèrement supérieurs, à la concentration micellaire critique est nécessaire pour induire une répulsion suffisante entre les NTC individuellement dispersés ou faiblement agrégés. Il a été alors possible de relier les différentes structures d'assemblages en solution des tensio-actifs (présence de micelles, taille et forme des micelles) à celle qu'elles adoptent à l'interface. Complémentairement aux tensio-actifs, nous avons évalué l'influence des traitements thermomécaniques (ultrasons) sur les mécanismes d'agrégation et la nature des interactions pouvant moduler la taille et la structure des NTC. A titre indicatif, une énergie faible (<90 kJ) ne permet pas de désagréger l'ensemble des NT simple paroi (SWNTC) initialement produits à l'état solide sous forme de larges agrégats. Cependant même si une énergie plus forte (> 100 kJ) permet de ne plus avoir d'agrégats, elle induit des dommages structuraux (cassures) des SWNTC plus longs ¹⁷.

L'ensemble des méthodologies analytiques développées au cours de mes travaux de recherche m'a permis d'étudier les interactions entre les colloïdes manufacturés et les molécules d'origine naturelle comme la matière organique colloïdale. Au travers de ma thèse, comme expliqué précédemment, nous avons étudié la dispersion des NTC en milieu aqueux et d'apporter des premiers outils pour l'application en milieu naturel ¹⁰. Grâce à ces méthodes et connaissances, j'ai par la suite étudié les interactions entre les NTC et la matière organique naturelle. L'objectif a été d'obtenir des premières données sur l'interaction potentielle entre les NTC et les acides humiques ¹⁰

Au cours de ce travail, il a ainsi été montré que la matière organique de par ses propriétés tensioactives permettait de disperser une quantité importante de NTC en solution sans recours aux ultrasons comme il est généralement fait pour les disperser en milieu aqueux. La figure 13a et 13b présente les fractogrammes typiques des SWCNT et des MWCNT dispersés par SDS (ligne grise) en présence de 50 mg L⁻¹ d'acide humique comme modèle de matière organique (ligne noire). Les deux fractogrammes pour les NTC dispersés avec le SDS ne présentent qu'un seul pic (ligne grise). Les rayons de giration des NTC (R_g) varient de 30 à 200 nm et de 20 à 145 nm, pour les SWNTC et les MWNTC respectivement. Une quantité de 50 mg L⁻¹ semble être suffisante pour obtenir une dispersion CNT, alors qu'une concentration d'environ 2.3 g L⁻¹ de SDS est habituellement nécessaire pour obtenir le même état de dispersion¹⁶. Aucune étape d'ultrasons à sonde n'a été utilisée. Ce traitement physique est une étape critique pour obtenir une dispersion individuelle de NTC lorsque les tensioactifs usuels sont utilisés.

Toutes ces observations confirment la grande affinité des HA aux NTC, ce qui fournit une forte puissance de dispersion pour les HA. La similarité de comportement aqueux des NTC vis à vis du SDS et des HA soulève également de nombreuses questions sur l'influence de la balance hydrophile-lipophile de la matière organique sur sa capacité à disperser des nanoparticules dans un système aqueux.

La stabilité des dispersions ainsi obtenues a été ensuite évaluée en fonction du temps de stockage et de la force ionique du milieu aqueux. Pour étudier l'effet de la force ionique, nous avons préparé des dispersions de SWNTC et des MWNTC en présence d'acides humiques (à une concentration fixée à 100 mg L-1 pour fournir une suspension quantitative et stable de NTC) à différentes forces ioniques avec des concentrations de NaCl De 0,01 à 0,5 mol.L⁻¹. La figure 13c représente la variation de l'air du pic MALS du signal obtenu sur le fractogramme pour les suspensions SWNTC/HA et MWNTC/HA. Globalement, la même variation de l'air du pic MALS en fonction de la concentration en NaCl est obtenue. L'air de pic MALS qui correspond au SWNTC/HA diminue plus lentement que celle pour les MWNTC/HA. Cette observation suggère que les SWNTC sont moins affectés que les MWNTC par des changements de force ionique. En évaluant les Rg des NTC, nous avons observé que les nanotubes les plus longs sédimentent d'abords tandis que les plus petits restent en solution. Ce phénomène est plus marqué pour les MWNTC que pour les SWNTC. Cela s'explique par la surface spécifique des NTC nettement plus importante pour les longueurs les plus élevées et donc d'autant plus affactées par la diminution de la double couche électronique (elle-même inversement corrélée à la force ionique). Alors que les MWNTC sédimentent rapidement par l'augmentation de la force ionique, la cinétique de sédimentation des SWNTC est plus lente et reste donc sont plus résistent à un changement de conditions physico-chimique du milieu. Les informations obtenues sur l'état de dispersion ont permis de montrer les interactions susceptibles de se produire quand une poudre de NTC est mise en « contact » avec une solution aqueuse contenant de la matière organique naturelle et illustre l'influence de la structure des NP sur leur persistance en milieu aqueux.

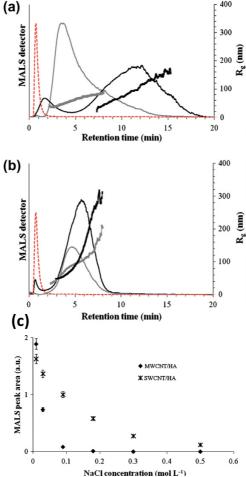


Figure 16: Les fractogrammes et la variation de R_g correspondante des SWCNT (a) et des MWCNT (b) dispersés par SDS (en utilisant une étape de sonication, ligne grise) et avec 50 mg L⁻¹ des acides humiques (dispersés par agitation sans sonication, ligne noir). Le fractogramme qui correspond aux acides humiques est présenté en pointillée. (c) Le rapport entre l'air du pic MALS correspondant à celui des SWCNT et MWCNT dispersés par les acides humiques et celui des acides humiques non adsorbés.

L'étude du comportement des nC_{60} dans l'environnement en laboratoire a été référencée plusieurs fois ces cinq dernières années. Les principaux paramètres étudiés sont l'influence de la salinité et la présence de matière

organique. Ces études présentent de nombreux comportements : agrégation, dispersion, association, mais à l'heure actuelle il est très difficile d'obtenir un accord tangible sur l'ensemble de ces données. Ce manque de clarté et de validation des résultats s'explique par :

- (i) Un manque de protocoles de préparation des nC₆₀ représentatifs de ceux susceptibles d'être identifiés dans l'environnement ;
- (ii) Des besoins en méthodologies analytiques pour la caractérisation des nC_{60} en milieu complexe .
- (iii) Des besoins de systèmes environnementaux modèles.

Premièrement, concernant les premiers résultats obtenus sur les fullerènes en milieu aqueux et présentés dans la partie II.3., nous avons identifié différents régimes d'agrégation des fullerènes. Pour aller plus loin sur l'identification du régime d'agrégation des fullerènes, nous sommes allés chercher la dimension fractale (D_f) directement sur les fractions séparées au préalable par A4F.

En ce qui concerne les nanoparticules, le D_f est une indication précise de la forme et de la porosité des matériaux. La théorie de la diffusion des agrégats de fractale prédit plusieurs régimes de diffusion de la lumière avec des dépendances sur les caractéristiques physiques fondamentales de l'agrégat, notamment le rayon de giration et la dimension fractale. En outre, la manipulation des données de distribution angulaire peut être utilisée pour extraire facilement ces paramètres comme nous l'avons récemment démontré³⁸.

A ce jour les seules données sur la dimension fractale des agrégats de fullerènes concernent les tailles inférieures à 200 nm et obtenus sur la solution entière (dites « bulk ») sans fractionnement préalable comme celle présentées sur la figure 17a que nous avons réalisés avec un goniomètre sur les différentes fractions. Contrairement à ce qui est attendus dans la littérature, l'étude que nous avons menée soulève de nombreuses questions :

- O Les nC₆₀ sont stables en solution aqueuse sous la forme d'hydrocolloïdes avec des tailles allant de 10 nm jusqu'à 800 nm. Dans la littérature, les nC₆₀ sont généralement étudiés après avoir été filtrés à 200 nm.
- La distribution en dimension fractale (D_f) est plus large que celle généralement reportée dans la littérature. Comme l'illustre la figure 17b, grâce aux méthodes A4F, nous montrons que les fullerènes ont une dimension fractal comprise entre 1.4 jusqu'à 2.8.
- Enfin il semblerait que les D_f obtenues après filtration à 200 nm sont biaisés par le processus de filtration. En effet, même si des tailles de fullerènes sont inférieures à 200 nm, leurs structures fractales ne permettent pas de passer à travers le filtre, biaisant ainsi les résultats de D_f reportés dans la littérature.

Ces résultats inattendus apportent des réponses nouvelles aux phénomènes déjà observés dans la littérature restante, à ce jour, inexpliqués. Néanmoins, ces nouvelles données soulèvent de nombreuses questions sur leur comportement dans l'environnement, en particulier quand il s'agit d'étudier l'influence de la force ionique.

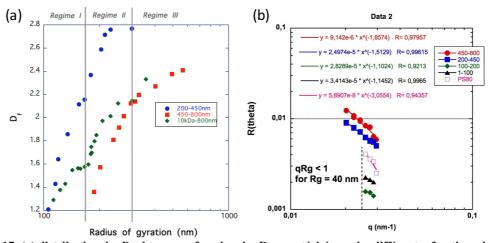


Figure 17: (a) distribution des D_f obtenus en fonction des R_g caractérisés sur les différentes fractions de nC_{60} préalablement caractérisés par A4F-SLS; (b) Représentation de l'intensité de la lumière diffusée en fonction du vecteur d'onde q sur le régime de fractal obtenus par un goniomètre sur les différentes fractions de nC_{60} .

Il apparaît que le mode de préparation des nC_{60} en milieu aqueux conditionne sa stabilité et donc son comportement. Avec les outils généralement utilisés il est difficile d'observer une différence au sein même de la population de nC_{60} . Par diffusion de lumière dynamique, comme pour tout colloïde, il est généralement admis qu'une seule population de nC_{60} s'agrège en fonction de la force ionique avec une cinétique qui varie avec la présence de matière organique 39,40 . Grâce aux méthodes analytiques que nous avons développées (FFF, in-situ DLS couplée à l'ultrafiltration séquentielle et la LIBD) nous avons ainsi pu mettre en évidence une cinétique plus

précise et fonction de la forme des agrégats de nC₆₀ préalablement caractérisés. L'ensemble de ces résultats soulevant de nombreuses questions sur les mécanismes d'agrégation mis en jeu qui sera étudié et détaillé dans mes perspectives de recherche.

II.5. Pollution plastiques à l'échelle du nanomètre

Avec la mise en évidence des « grand vortex » de déchets plastiques dans les principaux océans, les débris plastiques retiennent de plus en plus l'attention de la communauté scientifique. Certains chiffres indiquent plusieurs millions de km² de débris millimétriques à la surface des océans, ce qui correspond à plusieurs tonnes de déchets. Les récentes expéditions ont apportées de nouvelles informations, comme la présence de débris plastiques dont la taille est majoritairement inférieure à 5 millimètres. Il a aussi été montré que le plastique se fissure puis se fragmente par l'action des contraintes environnementales en plusieurs morceaux de différentes formes dont la taille est cette fois ci inférieure à 1-2 mm ⁴¹⁻⁴³. A l'heure actuelle, la quasi-totalité des études se focalisent sur la fraction des débris plastiques dont la taille est supérieure à plusieurs micromètres voire plusieurs centaines de micromètres. Or qu'en est-il de la fragmentation à l'échelle colloïdale et nanométrique ? La prise en compte de cette fraction représente des enjeux environnementaux considérables par la grande mobilité et la forte réactivité des espèces colloïdales et nanométriques. De plus, du fait de leur faible taille et donc leur grande surface spécifique, les plastiques colloïdaux (PC) sont susceptibles d'interagir davantage avec les polluants présents dans l'environnement que leurs semblables à l'échelle micrométrique, et ainsi amplifier considérablement leur mobilité et biodisponibilité. L'ensemble de ces incertitudes permet d'identifier plusieurs défis, verrous, qui résident notamment dans le manque d'outils et de méthodes analytiques permettant l'identification, la quantification et la caractérisation des PC dans des systèmes naturels (environnement et organismes vivants).

II.5.2. Mise en évidence de la présence de nanoplastique dans le gyre Atlantique Nord

Lors de la campagne Expédition Septième Continent de 2014 et 2015, des eaux ont été prélevées à des endroits stratégiques ou des macro- et micro-objets plastiques ont été identifiés et échantillonné comme illustré sur la figure 18a ci-dessous. Pour caractériser les matériaux colloïdaux, l'eau de mer a subi une première filtration à 1.2 µm et a été analysée par DLS, comme illustré à la figure 18b. La courbe d'autocorrélation de l'eau de mer filtrée donne un signal constant d'environ 0.95, ce qui suggère qu'aucun matériau colloïdal ne peut être détecté dans les échantillons. Comme prévu, ces résultats confirment que les espèces colloïdales détectées sont très diluées. En conséquence, plusieurs cycles de concentration par ultrafiltration avec une membrane dont le seuil de coupure moléculaire est fixé 10 kDa ont été réalisé. Le rétentat final a été concentré 200 fois. Cette étape permet également l'élimination de la matière organique dissoute sous ce seuil de coupure. L'analyse DLS du rétentat montre une relaxation de l'intensité de la lumière au fil du temps, ce qui indique la présence indéniable de matériaux colloïdaux dans trois des échantillons. En raison de la dilution de l'échantillon, il était encore difficile d'obtenir une analyse fine de la distribution en taille dilution des échantillons. Néanmoins la présence de corrélation sur les courbes d'autocorrélation montre clairement la présence de plusieurs populations de particules fortement polydispersées à l'échelle nanométrique (1 à 1000 nm).

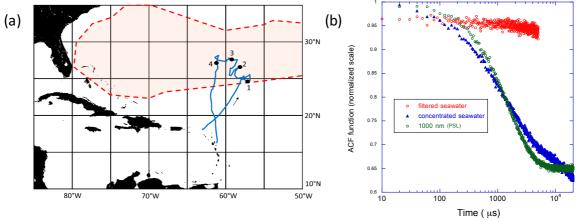


Figure 18: (a) Parcours de croisière de la 7ème expédition continentale en juin 2015 dans l'océan Atlantique Nord (ligne bleue). La zone d'accumulation plastique a été déterminée en fonction de 30 années de mesures et est délimité à l'aide de la ligne rouge pointillée. Les points indiquent les lieux d'échantillonnage (les 2, 4, 8 et 11 juin 2015). (b) Courbes d'auto-corrélation de nanoparticules de polystyrène standards de 1000 nm et de l'eau de mer prélevée dans le gyre Atlantique Nord en 2015 après simple filtration à 1200 nm et après concentration par ultrafiltration

L'ensemble de ces différentes populations a été lyophilisé et quantifié par Pyrolyse GC-MS afin de mettre en évidence la présence de débris plastiques. La Py-GC-MS est largement utilisée dans l'industrie du plastique pour obtenir des informations structurelles. Elle a été appliquée dans des études environnementales pour l'évaluation des microplastiques dans les échantillons naturels et nous l'avons développé pour la première fois pour étudier la présence de nanoplastiques dans l'eau de mer. Les quatre échantillons de mer analysés ont présenté des empreintes pyrolytiques reproductibles et similaires comme l'illustre la figure 19 pour un des points de prélèvement. Les produits de pyrolyse de la matière organique naturelle dissoute océanique sont les furannes et les furaldéhydes. Ils n'ont pas été détectés dans les échantillons. Ceci s'explique par le facteur de concentration appliqué dans cette étude qui n'apparaît pas suffisamment élevé pour détecter la matière colloïdale océanique naturelle. L'empreinte chimique des colloïdes a donc été attribuée à des causes anthropiques. Pour déterminer si cette empreinte pyrolytique provient de macromolécules ou de la désorption de molécules plus petites, nous avons effectué la thermo-désorption (Py-GC-MS à 300 ° C) qui n'a donné aucun signal. Ce résultat confirme notre hypothèse que les colloïdes étaient associés à des macromolécules.

Les empreintes pyrolytiques des colloïdes présentaient des composants aromatiques et aliphatiques (figure 19). Parmi les molécules aromatiques, le benzène était le composé le plus abondant, suivi du toluène, du styrène et du naphtalène. Les signaux aromatiques ont été comparés à une base de données de polymères commerciaux. En outre, la base de données comprenait les principaux polymères fabriqués. La prédominance des hydrocarbures aromatiques n'a été trouvée que dans les empreintes pyrolytiques du PVC, du PET et du PS. Ce résultat est en accord avec les résultats de la littérature⁴⁴. En supposant que le signal aromatique des colloïdes provient d'une combinaison des empreintes chimiques de ces polymères, une approche chimiométrique utilisant l'analyse des composants principaux a été appliquée (figure 20).

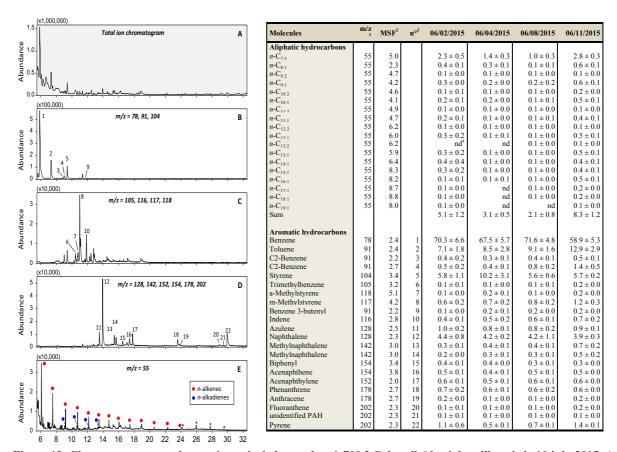


Figure 19: Chromatogrammes obtenus à partir de la pyrolyse à 700 ° C de colloïdes échantillonnés le 11 juin 2015. As chromatogramme ionique total. B, C et D : chromatogrammes reconstruits. Le rapport m/z utilisé est indiqué sur la figure. Les rapports m/z et la numérotation sur B, C et D correspondent aux rapports m/z et aux chiffres indiqués dans le tableau illustrant la répartition relative des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques identifiés dans la fraction colloïdale de l'eau de mer (les valeurs sont la moyenne de trois répétitions et les incertitudes sont des écarts types). Es chromatogramme monocomposant de m/z = 55. Les astérisques indiquent les n-alcanes hérités d'une contamination d'échantillons de nanoparticules lors du processus de lyophilisation.

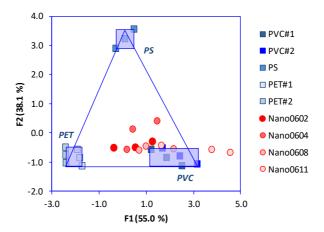


Figure 20: Projection sur le diagramme 2D défini par les deux premiers facteurs de l'analyse des composants principaux. Ces deux facteurs expliquent 93,1% de la variance. Le PVC, le PET et le PS définissent un triangle qui inclut les projections des empreintes aromatiques des nanoparticules océaniques, à l'exception de deux répliques analytiques de l'échantillon à partir du 11 juin. Les coordonnées des sommets du triangle ont été utilisées dans une approche de mélange d'éléments finaux pour calculer la proportion d'empreintes chimiques à partir du PVC, du PET et du PS aux empreintes aromatiques des nanoparticules océaniques. Pour les deux échantillons prélevés sur le triangle, la proportion de PET était <0. Il a été fixé à 0 et les proportions de PVC et de PS ont été calculées de telle sorte que leur somme était de 1. Chaque échantillon a été analysé en trois exemplaires.

Grâce à cette approche nous pouvons estimer que le signal de la fraction aromatique colloïdale de l'eau de mer peut être attribué à un mélange de 42% de PVC (±4%), 33% de PET (±14%) et 25% de PS (±15%) (Figure 20). La composante pyrolytique aliphatique des colloïdes est composée d'une série d'hydrocarbures linéaires, C7 à C19, avec une intensité décroissante à mesure que leur longueur augmente. Cette empreinte pyrolytique ne correspond pas au signal d'un polymère de la base de données, mais était similaire au signal du PE standard. Le schéma de pyrolyse du PE standard comprend une répartition des pics correspondant aux hydrocarbures n-C7-C40. Les pics, qui sont caractéristiques de l'empreinte du PE, sont constitués de pics triplets identifiés comme des alcanes linéaires, des alcènes et des alcadiènes. Les fragments m/z = 55 et m/z = 57 ont été choisis pour caractériser les alcènes et les alcanes, respectivement, car ils sont produits pendant la pyrolyse de tous les hydrocarbures, quelle que soit leur longueur⁴⁵. Nous avons observé deux distributions gaussiennes, l'une centrée à C10 et l'autre à C26. Nous avons comparé les signaux pyrolytiques des méso-plastiques (taille entre 20 cm et 5 mm), les microplastiques et les petits microplastiques collectés lors de la campagne d'échantillonnage. Les signaux pyrolytiques des mésoplastiques et les microplastiques étaient semblables à ceux du PE standard, mais la deuxième répartition gaussienne des hydrocarbures a été atténuée dans le signal microplastique. En outre, la deuxième distribution gaussienne a été largement atténuée dans le petit signal microplastique (figure 21). Selon l'échantillon microplastique, l'hydrocarbure le plus long détecté varie de C18 à C38. Le signal de la fraction colloïdale de l'eau de mer est composé d'hydrocarbures plus courts et le plus long hydrocarbure détecté est C19 (figure 21). Le raccourcissement de la longueur de la chaîne aliphatique détectée dans la pyrolyse des particules à l'échelle microet nano-métrique pourrait être attribué au vieillissement PE. Lors du vieillissement, le PE présente des modifications structurelles des macromolécules (oxydation, raccourcissement des chaînes et autres ramifications) ^{46,47}. Ces modifications sont confinées à la couche externe du matériau (limitée à 100 μm)^{46,48}.

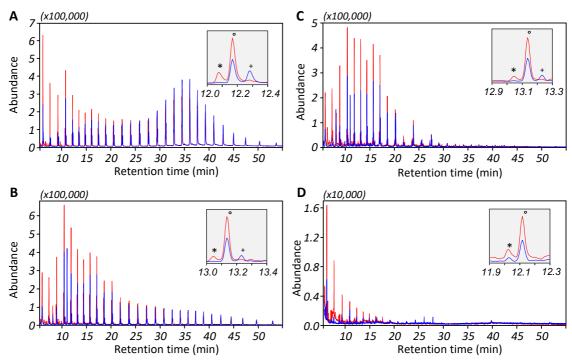
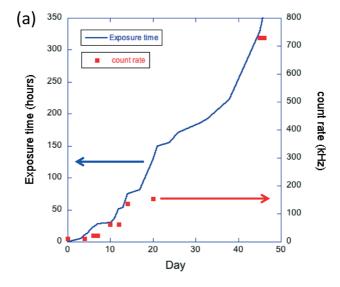


Figure 21: Chromatogrammes ioniques simples (m / z = 55 en rouge et m / z = 57 en bleu) de polyéthylène standard (A) et de débris plastiques collectés le 8 juin; B: microplastiques (0,3 à 5 mm); C: petite microplastique (25 à 300 μm); Et D: la fraction colloïdale de l'eau de mer. La partie agrandie de chaque parcelle (montrée dans la boîte) met en évidence le triplet n-alcadiène *, n-alcène ° et n-alcane + triplet avec 11 atomes de carbone. Le décalage des temps de rétention est dû aux différences de longueur de la colonne en raison de la maintenance hebdomadaire.

En résumé, la fraction colloïdale de l'eau de mer comprenait une combinaison de PE, PS, PVC et PET. Cette composition reflète celle des microplastiques échantillonnés dans la même zone. Cette découverte suggère que les plus petits débris plastiques se comportent différemment des microplastiques, en particulier en termes de capacité de flottabilité, car les plastiques tels que les micro-plastiques ou les nanoplastiques ont des densités supérieures à celles de l'eau de mer. Ce résultat indique également que bien que l'on prétende que le PE soit le polymère le plus persistant dans le milieu marin, d'autres polymères peuvent se casser plus rapidement et s'accumuler aux micros et nano-échelles. Il existe actuellement une limitation évidente associée à des méthodes d'échantillonnage, de caractérisation et de quantification des plus petites particules de plastique dans des échantillons naturels. Nos données préliminaires suggèrent la présence de nanoplastiques dans l'eau de mer et il est devenu essentiel d'estimer leur abondance et leur devenir dans l'environnement. Il est particulièrement important d'enquêter sur les nanoparticules dans la colonne d'eau. Nos résultats soulignent l'urgence de considérer les débris plastiques comme une menace environnementale réelle et la nécessité de développer de nouvelles stratégies de gestion pour limiter la libération de déchets plastiques dans l'environnement.

II.5.3. Dégradation photochimique des Plastiques du gyre Atlantique Nord



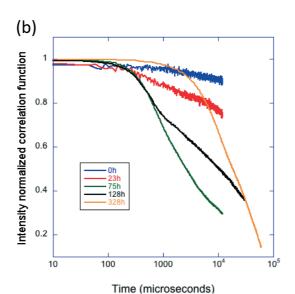


Figure 22: (A) Temps d'exposition UV selon le jour de l'exécution de l'expériences (le temps d'exposition UV correspond au moment où la lampe UV a été allumée); (B) la fonction d'autocorrélation mesurée par la sonde DLS selon le temps d'exposition UV.

Dans le cadre d'une collaboration avec Cordouan Technologies et Alexandra Ter Halle (CR CNRS, UMR 5623), j'ai développé un prototype de réacteur UV qui consiste au suivi de la dégradation de débris plastiques prélevés dans le gyre Atlantique Nord (par Alexandra Ter Halle lors de l'expédition septième continent) par rayonnement UV grâce à une sonde de diffusion de lumière dynamique déportée par fibres optiques monomodes. Nous avons d'abord développé un photo-réacteur pour simuler la lumière solaire pour dégrader les plastiques en incorporant une mesure in situ de la taille des particules. Le plastique irradié était composé de fragments micrométriques recueillies dans le gyre Atlantique Nord lors de la campagne maritime Expédition 7ème continent de 2015. Les micro-plastiques sont millimétriques, la plupart du temps entre 1 et 2 mm. La composition (déterminée par spectroscopie infrarouge) est majoritairement de polyéthylène (90%) et minoritairement (10%) de polypropylène. Les micro-plastiques collectés à partir du gyre présente un état d'oxydation avancé avec un indice de carbonyl généralement compris entre 0.2 et 1.6. Ces micro-plastiques flottent à la surface de l'eau dans une cellule de quartz hermétique et placer dans le réacteur UV avec un suivi de l'intensité de la lumière diffusée en fonction du temps. Après 23h d'exposition aux UV, on observe l'apparition d'une corrélation de l'intensité de lumière diffusée dans le temps, caractéristique d'un mouvement brownien et de la présence de matériaux colloïdaux comme l'illustre la figure 22. Néanmoins, à ces niveaux de concentration, une analyse en taille à partir de la courbe d'autocorrélation ne peut être considérée comme fiable. Après 75 heures d'exposition (courbe verte), le processus se poursuit avec une meilleure définition sur la courbe d'auto-corrélation.

Il est alors possible de distinguer deux populations : une avec une taille inférieure à 400 nm et une autre au-dessus $2 \mu m$. La courbe d'auto-corrélation de la lumière diffusée semble stable passé 75h jusqu'à 128h d'exposition (Figure 22). On observe néanmoins une légère transition de la décroissance exponentielle de la courbe d'autocorrélation dans cet intervalle de temps caractéristique de la présence d'agrégats de taille plus importante (c.à.d., $> 2 \mu m$).

Pour confirmer nos résultats DLS et nos différentes interprétations nous avons utilisé la microscopie électronique à transmission sur les échantillons finaux (après la durée totale d'exposition aux UV). La figure 23 illustre les clichés obtenus. Ces deux images sont représentatives de l'ensemble de l'échantillon (sélection à partir de multiples grilles). La représentativité de l'analyse se caractérise par (i) la distribution de taille et (ii) la forme inhomogène des particules de plastiques caractérisées. Sur l'illustration, avec une barre d'échelle de 500 nm, nous avons clairement identifié l'hétérogénéité en taille et en forme. La figure de droite montre une quantité considérable de particules plus petites <100 nm avec quelques particules importantes sur 100 nm. Les nanoparticules ont été caractérisées par une polydispersité très élevée, allant de quelques nanomètres (c'est-à-dire 3-4 nm) à 500 nm et une population maximale située à 230 nm. Ce résultat est clairement conforme aux résultats DLS. Alors que les plus petites particules (c'est-à-dire <50 nm) semblent sphériques, les plus grandes semblent avoir une forme aléatoire. Des particules en forme d'étoile et d'autres fractales sont visibles. De telles observations confirment la première hypothèse faite à partir des résultats DLS in situ. Ces images présentent une preuve indéniable de la présence de plastiques dans l'eau à l'échelle nanométrique après la dégradation UV. Le film noir qui apparaît sur les images est caractéristique des molécules haute densité électronique présentes dans la solution. Généralement, ces molécules sont des sels, des ions et d'autres petites molécules attachés, adsorbés ou absorbés dans les matrices polymères. Ces espèces sont essentiellement situées autour des nanoplastiques qui ont induit ces aspects sombres et flous.

Le prototype se décompose en deux parties où l'échantillon se place à l'interface de ces deux compartiments comme illustré sur la figure ci-dessus. La partie de mesure est constituée par la sonde DLS qui a été précédemment détaillée. Pour la partie d'exposition, des lampes simulant le rayonnement solaire ont été utilisé. Un contrôle de température et un cycle de lumière a été réalisé afin de rester au plus proche des conditions environnementales.

Les premiers résultats mettent en évidence pour la première fois la présence de débris plastiques à l'échelle du nanomètre issus de la dégradation d'objets millimétriques par la lumière ⁴⁹. L'analyse in-situ permet d'apporter des résultats sans précédent et sans équivoque sur l'influence de ces paramètres sur les propriétés physiques des matériaux sans aucune altération ou perturbation de son milieu. L'ensemble des tailles des nanoplastiques a été caractérisé par microscopie électronique à transmission une fois la dégradation UV terminée (Figure 17). Les travaux se poursuivent à l'heure actuelle et consistent en la caractérisation physico-chimique des débris plastiques colloïdaux formés par diverses méthodes analytiques : microscopie électronique, spectroscopie infra-rouge (FTIR), spectrométrie de masse, fractionnement par couplage flux force (à force hydrodynamique et gravitationnelle), analyseur à mobilité différentielle, etc.

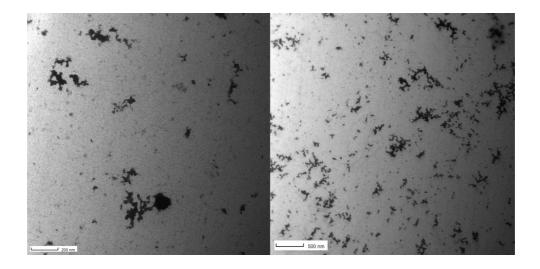


Figure 23: Image TEM de débris nanoplastiques issus de la dégradation de macro-objets ⁴⁹.

II.5.4. Etude de la pollution nanoplastique en Guadeloupe : Impact du gyre atlantique Nord et de l'activité humaine

Le projet proposé ici s'inscrit dans le cadre d'un projet Défi Littoral, projet CAPP « Caractérisation des Particules colloïdales issues de la dégradation des débris Plastiques », que je porte et que nous (en collaboration avec Cordouan Technologies, Alexandra Ter Hal, Stéphanie Reynaud et Bruno Grassl) avons obtenu auprès la Mission de l'Interdisciplinarité du CNRS en 2015 et 2016 pour la mise en évidence l'étude des nano-plastiques et micro-plastiques sur les littoraux français. Dans le cadre de ce projet CAPP, nous organisons une expédition sans précédent en Guadeloupe de Septembre à Décembre 2016 avec des procédés de prélèvement et d'analyse unique au monde. Les principaux objectifs du projet sont :

- (i) Appliquer et développer des outils analytiques pour déterminer la présence de nanoplastiques sur les littoraux guadeloupéens : méthodes d'échantillonnages et de mesures.
- (ii) Etudier la source et le devenir des plastiques. Etant donné la grande proximité de la Guadeloupe et du gyre Atlantique Nord, où s'accumule les déchets plastiques, il est fortement probable de suspecter un apport considérable de ces débris plastiques sur les littoraux guadeloupéens déjà fortement impactés. Comparer et étudier la contamination des plastiques à l'échelle du nanomètre jusqu'au millimètre sur ces littoraux permettrait d'apporter des éléments de réponses inédits sur le devenir des plastiques et l'identification des sources des plastiques sur les littoraux.
- (iii) Etudier l'influence des différents écosystèmes côtiers guadeloupéens sur le comportement des débris plastiques micro- et nanométriques. Quelle est la répartition des nanoplastiques en fonction des écosystèmes (Mangroves, plages, falaises, coraux)? Y a-t-il une zone susceptible de les accumuler plus qu'une autre? A l'heure actuelle, il n'y a aucun élément de réponses à ces questions.

III. Perspectives de recherches

Mon intention de passer mon Habilitation à Diriger des Recherches s'inscrit dans un contexte de changement d'affectation au Laboratoire Géosciences Rennes (UMR6118- CNRS/Université de Rennes 1). Dans ce contexte, je souhaite consolider les travaux entrepris et initier de nouvelles thématiques en adéquation avec ma nouvelle affectation à court, moyen et long terme.

III.1. Principales motivations

III.1.1. Mécanismes étudiés

Au cours de ma jeune carrière, l'ensemble de mes travaux a eu pour but de développer et de disposer d'un ensemble de méthodes analytiques permettant de caractériser l'ensemble des paramètres illustrés sur la figure 24 ci-dessous. En perspective, je souhaite bien entendu continuer à développer de nouvelles méthodes plus performantes et précises pour caractériser les nanoparticules, mais surtout les appliquer pour obtenir des informations sur les mécanismes physico-chimiques qui vont contrôler le comportement et le devenir des nanoparticules dans l'environnement. Depuis une quinzaine d'année, dans la littérature, une grande majorité des articles et des projets s'intéressent à la nanoparticule dans l'environnement en se focalisant sur la détection à l'échelle nano (1-100 nm) dans le milieu étudié. Même si cette détection représente un défi analytique, avec mes collaborateurs, nous pensons que cela ne représente pas la stratégie la plus adaptée. En effet afin, dans la grande majorité des situations, les nanoparticules arrivant dans l'environnement sont susceptibles de s'agréger et de soit sédimenter ou soit se disperser. Dans les deux cas, la taille, la forme et la structure ne correspond plus à celle propre aux nanoparticules. D'autre part, du fait de ces mécanismes et du manque d'outils pour les caractériser, on observe un certain essoufflement des recherches concernant les nanoparticules dans l'environnement. Il m'apparaît donc important de relancer cette thématique en incorporant les nanoparticules dans une thématique plus large impliquant l'ensemble de la gamme colloïdale des particules et des mécanismes physico-chimique mis en jeu.

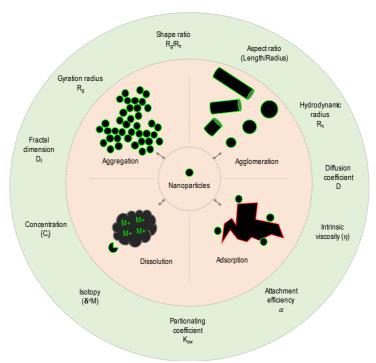


Figure 24: Principaux mécanismes de transformation plausibles de nanoparticules dans l'environnement et les paramètres physico-chimiques à caractériser.

III.1.2. Nanoparticules étudiées

Dans le cadre de mes travaux de recherche sur les nanoparticules manufacturées, je me suis rendu compte de la forte similarité du comportement avec les NP dites anthropiques (issus de l'activité humaine mais non intentionnelle). En effet les outils, la démarche analytique sont identique et le comportement environnemental semble très proche sur les premières données dont nous disposons. Cette forte similarité nous permet d'envisager

de nouvelles collaborations et de nouvelles perspectives de recherche. Je souhaite donc consacrer une partie importante de mes activités dans la thématique des nanoparticules anthropiques d'une manière générale en prenant en compte celle qui sont intentionnelles et celles qui ne le sont pas. Parmi celles qui sont intentionnelles, je souhaite fortement me consacrer aux agrégats de fullerènes. Concernant les nanoparticules anthropiques non intentionnelles, je souhaite continuer mes récents travaux sur les nanoplastiques et ceux sur les nanoparticules issues des mégots de cigarettes, des pots catalytiques et voiture et des résidus de pneus.

Agrégats de fullerènes

Farré et al ont mis en évidence la présence de C_{60} dans l'environnement aquatique à des doses très faibles (ng L^{-1}) en développant un outil de spectrométrie de masse et en utilisant une étape préalable de dissolution des fullerènes dans le toluène⁵⁰. Depuis ce travail, aucune autre étude n'a été publiée sur le suivi de cette concentration dans l'environnement soulevant ainsi des questions sur la représentativité environnementale des C_{60} détectés. Cette première étude souligne l'urgence de considérer les fullerènes comme une nouvelle espèce émergente et problématique dans notre environnement⁵¹. D'autre part la méthode ne dosait que les fullerènes C_{60} et aucune valeur n'a été donnée sur les nC_{60} . A l'heure actuelle il existe peu d'études représentatives sur les mécanismes de relargage des nC_{60} dans l'environnement.

Le devenir dans l'environnement des nC_{60} , et comme l'ensemble des nanoparticules et colloïdes anthropiques et/ou naturelles, est conditionné par l'ensemble des facteurs abiotiques dans lequel il se trouve comme : le pH, la force ionique, le potentiel Redox et la présence de matière organique naturelle. L'ensemble de ces paramètres a une influence sur les principaux mécanismes physico-chimiques affectant les nanoparticules et plus particulièrement les nC_{60} dans les systèmes naturels comme : l'agrégation, l'agglomération, la dispersion, l'adsorption et la désorption d'espèces associées. Plusieurs auteurs ont déjà montré l'influence conjointe de la matière organique (MO), du pH et de la force ionique sur l'agrégation et/ou la dispersion des nC_{60} , caractérisé par la distribution en taille des particules 40,52,53 . Il semblerait que le poids moléculaire de la matière organique naturelle permet de disperser sélectivement les nC_{60} en milieu aqueux. D'autres auteurs montrent que cette même matière organique naturelle associée aux nC_{60} permet de limiter l'adsorption de contaminants organiques en bloquant les sites susceptibles de les accueillir à la surface des $nC_{60}^{54,55}$. Enfin l'augmentation de la force ionique, au détriment de l'influence du poids moléculaire de la MO, force l'agrégation des nC_{60} ayant un effet de déstabilisation en milieu aqueux.

Malgré ces premiers résultats, comme pour les tests de toxicité, de nombreuses incertitudes sont liés aux méthodes de préparation d'échantillon ^{56–58}:

- (i) L'utilisation d'une méthode préalable utilisant des solvants et appareils ultrasoniques perturbant et induisant des biais à la fois sur la structure des agrégats des nC₆₀ formés et de la présence d'interférents (résidus de solvant, présence de TiO₂ issus de la dégradation de la sonde à ultrasons)²⁴;
- (ii) L'utilisation d'additifs non représentatifs de la matrice dans laquelle les nC₆₀ sont souvent incorporés et les possibles additifs rencontrés au cours de son relargage dans l'environnement ;
- (iii) L'utilisation des méthodes de filtration (la plupart du temps inférieur à 0.2 μm) masquant toute une possibilité de structure d'agrégats et une gamme de taille dont la présence est fortement probable dans l'environnement et dont l'impact peut être considérable. En effet, nos récents travaux ont montré que contrairement à ce qui était admis les nC₆₀, dispersés dans des conditions idéales et représentatives des conditions environnementales, sont des agrégats dont la dimension fractale est plus faible que prévue (D_f compris entre 1.2 et 2.8) et stable en milieu aqueux sur une gamme de taille allant de quelques nanomètres à plusieurs centaines de nanomètres (i.e. 800 nm).

Les nanoplastiques

À notre connaissance, concernant les nanoplastiques, il n'existe pas de données sur l'identification des effets nanoplastiques sur les organismes dans les systèmes réels. Les relativement peu d'études disponibles ont étudié l'effet des nanoparticules artificielles en faisant de l'expérimentation avec des organismes appropriés. Plusieurs études ont montré que certaines nanoparticules peuvent traverser les différentes barrières protectrices des organismes vivants. Les nanoparticules peuvent se retrouver dans la circulation sanguine après avoir traversé tous les mécanismes de protection respiratoire ou gastro-intestinal. Ils sont ensuite distribués dans les différents organes et s'accumulent sur des sites spécifiques. Ils peuvent voyager le long des nerfs olfactifs et pénétrer directement dans le cerveau, tout comme ils peuvent traverser les barrières cellulaires. Une autre caractéristique particulière des nanoparticules est que leur toxicité semble être liée à leur surface et aux espèces associées. Les nanoparticules sont si petites que de petites quantités (exprimées en masse), pourraient avoir des effets toxiques majeurs, en raison de leur grande surface. Deuxièmement, la capacité des nanoparticules à adsorber, à transporter et à libérer des contaminants organiques et inorganiques dans les organismes vivants pourrait considérablement augmenter leurs effets toxiques.

La caractérisation de la présence et de la modélisation du destin de l'environnement dans la répartition intégrale des débris plastiques (de la micro-échelle à l'échelle nanométrique) est très difficile et représente une approche totalement nouvelle pour considérer la contamination plastique. Depuis plusieurs années maintenant, les études se concentrent sur la contamination plastique à l'échelle millimétrique (jusqu'à 0,3 mm) en raison de la limitation et des difficultés pour caractériser les nanomatériaux dans les milieux environnementaux. Cette nano-caractérisation spécifique associée aux concentrations susceptibles d'être retrouvées dans l'environnement (trace et niveau ultratraces) et aux interactions nombreuses avec les espèces chimiques (matières organiques naturelles, organismes) représentent des enjeux scientifiques majeurs. Nous avons été les premiers chercheurs à proposer et à développer des stratégies analytiques pour relever cette barrière concernant les nanoplastiques dans l'océan Atlantique Nord. Néanmoins, la caractérisation dans les organismes vivants est une barrière analytique supplémentaire qui doit être prise en compte de manière urgente pour déterminer l'impact environnemental de nanoplastiques car, à notre connaissance, aucune donnée n'est actuellement disponible et la détection de débris plastiques (ultra-) trace à l'échelle nanométrique dans les organismes côtiers.

Et les autres...

Enfin à plus long terme je souhaite m'intéresser à des nanoparticules anthropiques non intentionnelles. En effet après les plastiques il y a de nombreux autres polluants que nous rejetons et qui peuvent potentiellement se dégrader en nanoparticules. Les procédés physico-chimiques naturels et anthropiques permettant la dégradation de macro-plastiques en nano-plastiques sont susceptibles d'affecter également les autres produits que nous consommons et nos déchets en objets nanométriques susceptibles d'impacter l'environnement qui est à ce jour totalement sous-estimé.

III.1.3. Objectifs de mes futures recherches

Développement analytique pour la caractérisation des différents mécanismes relatifs au devenir et cycle de vie des nanoparticules dans l'environnement.

La forme agrégée des nanoparticules est celle qui est susceptible d'être rencontrés dans l'environnement. Néanmoins les mécanismes naturels permettant d'agréger les nanoparticules sont encore mal connue et difficilement traçable complexifiant ainsi l'évaluation de leur diffusion et de leur devenir dans l'environnement. Cette complexité rend le développement d'outils analytique difficile et la nécessité d'obtenir des matériaux représentatifs de ceux susceptibles d'être retrouvés dans l'environnement est primordiale. En effet, aujourd'hui, comme nous l'avons récemment démontré les méthodes de préparation dont nous disposons à travers la littérature ne nous permettent pas d'avoir des agrégats de nanoparticules représentatifs et donc de développer des méthodes analytiques adaptés pour cette évaluation.

- Identifier et caractériser les nanoparticules contenues dans les principaux compartiments.
- Elaborer des nanoparticules modèles et similaires à ceux utilisés dans les différents produits
- Préparer des échantillons « étalons » de nanoparticules permettant l'optimisation des méthodes analytiques et l'étude du comportement environnemental.
- Caractériser les nanoparticules en fonction de leur taille/forme/structure/surface à l'état de trace voire d'ultra-traces dans des milieux complexes.
- Développer un couplage analytique robuste et sensible spécifique aux différentes nanoparticules étudiées
- Valider les mesures : limites de quantification, applicabilité.

Évaluer le comportement environnemental des nanoparticules relargués

Aujourd'hui nous ne disposons uniquement des fragments de données sur le comportement environnemental des nanoparticules en utilisant des méthodes de préparation d'échantillons qui soulèvent de nombreuses questions sur leur représentativité. En effet, l'influence des paramètres physico-chimiques est étudiée à travers l'élaboration d'expériences en laboratoire, dites en batch, et qui consistent à regarder le comportement des nanoparticules en fonction d'un paramètre à la fois : force ionique, pH, présence de matière organique et irradiation solaire. Or il est primordial d'évaluer l'influence conjointe de ces différents paramètres afin d'évaluer le devenir représentatifs des nanoparticules dans l'environnement. A titre d'exemple la figure 22 représente les résultats types disponibles dans la littérature sur la modélisation de l'influence de la force ionique et la matière organique sur l'agrégation des nanoparticules sans prendre en compte la notion de gradient de salinité et de la

distribution en masse de la matière organique, qui sont des caractéristiques d'un système estuarien susceptible d'être impacté par les nanoparticules.

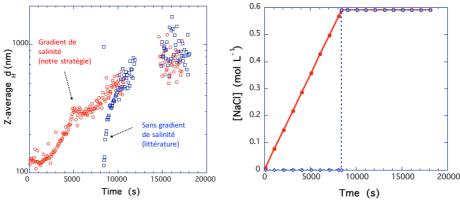


Figure 25: Variation de la taille de nanoparticules carbonées standards en fonction de la concentration en NaCl et du gradient. Mesure in-situ. (Données personnelles, non publiées)

De la même manière que la force ionique et de la matière organique, des études similaires portent sur l'interaction des nanoparticules avec certains contaminants. Même si ces études sont précieuses elles n'en restent pas moins incomplètes et non représentatives des nanoparticules susceptibles d'être relarguées et des conditions physico-chimiques naturelles. Dans cette partie, es principaux défis scientifiques sont liés :

- O Au manque de représentativité des nanoparticules étudiés. Les études déjà publiées ne traitent que d'une fraction isolée des nanoparticules (<0.2 μm), produit par des méthodes induisant de nombreux biais (sonication et solvants organiques) et enfin ne prenant pas en compte la dégradation des nanoparticules au cours de leur utilisation et relargage.
- O A la considération des interactions avec les polluants organiques et inorganiques déjà présent dans l'environnement. Même si l'impact toxique des nanoparticules reste un sujet ouvert, son impact par sa capacité à transporter les contaminants chimiques déjà présents dans l'environnement est indéniable. Etant donné l'utilisation des nanoparticules, il est fort probable qu'au cours de leur relargage dans l'environnement ils rencontrent de nombreux polluants jusqu'ici non distribués et les adsorbent.

Les principaux verrous dans cette tâche sont analytiques et expérimentaux. En effet, les besoins cités ci-dessus sont dus à un manque d'outils analytiques pour la caractérisation des nanoparticules en fonction de leurs différents paramètres directement *in situ*, et l'élaboration d'expérimentations plus complètes et représentatives de leur devenir dans l'environnement (vieillissement et transport) faisant varier l'ensembles des facteurs abiotiques dont le gradient de salinité et la présence de matière organique.

Les différents objectifs auxquels je souhaite répondre sont :

- Simuler la dégradation naturelle des nanoparticules : développer un système intégré permettant d'étudier en continu le comportement environnemental des nanoparticules.
- Evaluer le comportement des nanoparticules dégradés à partir du produit les utilisant et relarguées dans les différents compartiments de l'environnement.
- Etudier les interactions des nanoparticules avec la matière organique, les polluants organiques et les éléments traces métalliques. Evaluer les mécanismes de transport et de diffusion dans l'environnement.
- Evaluer l'influence des conditions physico-chimiques du milieu sur le transport, la réactivité et l'accumulation aux interfaces.

III.2. Méthodologies analytiques

III.2.1. Extraction et concentration

L'extraction et la préparation de NPOC de matrices environnementales représentent des étapes clés dans leur caractérisation et dans l'évaluation finale de leur impact sur l'environnement, et plus spécifiquement pour les milieux solides et biologiques. Ces nouveaux nanomatériaux sont très complexes et réactifs dans l'ensemble des milieux.

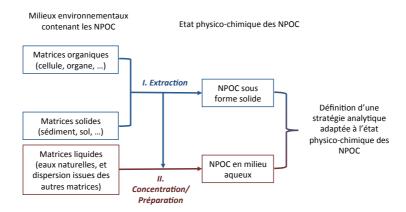


Figure 26: stratégie de la préparation d'échantillons environnementaux contenant les NPOC

Comme l'illustre la figure 26, la capacité à concentrer et/ou extraire les NPOC dépend de leur localisation et de leur source: solide (sol, sédiments), eau (fleuve, estuaire, mer, pluie) et atmosphérique, mais également au sein de matrices organiques ou biologiques (espèces vivantes). Dans mon projet de recherche, même si les efforts seront concentrés majoritairement sur les milieux aquatiques (eaux et sédiments), je considèrerais chaque composante de l'environnement afin d'évaluer l'impact global des NPOC. Pour extraire les nanoparticules nous utiliserons différentes méthodes préalablement développées et reposant sur :

- CPE). L'ultrafiltration séquentielle et de la méthode dite de « Cloud Point Extraction » (CPE). L'ultrafiltration est une procédure à simple passage pour sélectionner la taille et pour concentrer une espèce cible en utilisant une série de modules de membrane avec des pores allant de 1 nm à 100 μm. Certaines limitations dues à l'obstruction des membranes seront levées en utilisant une nouvelle membrane hydrophobe (PVDF, membrane traitée par plasma froid). Enfin, l'ultrafiltration permettra un meilleur contrôle de la taille, de la concentration et de l'état d'agrégation des nanoparticules que les méthodes classiques d'isolement telles que l'ultracentrifugation comme nous l'avons déjà démontré.
- L'utilisation de micro-ondes pour extraire la totalité des nanoparticules et permettre leur caractérisation et identification. A l'heure actuelle, l'utilisation des micro-ondes sur les nanoparticules à des fins analytiques n'est pas développée. Basé sur nos essais préliminaires, les nanoparticules sont très résistantes aux micro-ondes. L'objectif sera d'optimiser le procédé pour dégrader sélectivement les différentes matrices (aqueuses, lipidiques) des nanoparticules. Comparé à la méthode CPE, cette voie permettre de quantifier la fraction colloïdale présent dans les produits cosmétique. In fine, cette méthode pourra être utilisée pour les échantillons environnementaux et nous comparerons les micro-ondes avec la dégradation photochimique dans le but d'évaluer les possibilités des micro-ondes pour simuler en accéléré la dégradation environnementale des nanoparticules.

Table 1 : Boite à outils de nanométrologie.

Cloud Point Extraction (CPE) /	Concentration des espèces par l'utilisation conjointe d'un tensio-actif, de la
Ultrafiltration séquentielle (UF) couplée	température et de la centrifugation
à la diffusion de lumière dynamique	Séparation et concentration des nC ₆₀ au sein de différentes classes de taille
(CPE-UF-DLS)	(10kDa-100nm; 100-200nm; 200-450nm; 450-800 nm)
Fractionnement par couplage Flux-Force	Séparation et caractérisation des nanoparticules suivant leur distribution en
(A4F) couplée à la diffusion de lumière	taille, forme et structure d'agrégation comme nous l'avons préalablement
dynamique et statique et la spectrométrie	démontré.
de masse haute résolution (multi-	Identification du cycle de vie des nanoparticules via l'étude du ratio
collecteur)	isotopique en fonction de la taille.
Séparation par la mobilité	Séparation et tri des nanoparticules suivant la taille à l'état d'aérosol.
électrophorétique (ES-DMA) couplée à	Comptage de nanoparticules en fonction de la distribution en taille
la spectrométrie de masse haute	
résolution	
Nano-SIMS Nanoscale secondary ion	Caractérisation des nanomatériaux avec une composition complexe.
mass spectrometry	Carte nanométriques de la composition élémentaire (identification isotopique,
•	résolution de masse élevée)
Spectrométrie de masse moléculaire en	Détermination de la signature chimique des nanoparticules (Etant donné la
tandem (avec extraction préalable)	concentration convenable dans les échantillons commerciaux (ppm), une

	détection en MS simple avec une étape d'extraction des nanoparticules en phase aqueuse ou organique)
	Possibilité de couplage à l'A4F
Pyrolyse couplée à la chromatographie	Identification de la surface des nanoparticules préalablement isolé et de la
gazeuse et Thermo-Desorption couplées	signature du PVP et autres ligands.
à la spectrométrie de masse	Désorption des espèces associées aux nanoparticules et caractérisation par
	spectrométrie de masse.
Diffusion de lumière statique et	Caractérisation de la structure des agrégats de nanoparticules : taille,
dynamique	distribution massique, dimension fractale.
Zétamétrie	Détermination de la charge de surface et de la stabilité colloïdale des nC ₆₀ -
	PVP
Spectroscopie Infra-Rouge et Raman	Détermination de la composition et des espèces présentes en surfaces
Microscopie électronique	Visualisation de la forme et de la taille des nanoparticules

III.2.2. Caractérisation des nanoparticules

Enfin pour la caractérisation des nanoparticles, de nombreuses méthodes seront utilisés et de nouvelles méthodes analytiques et couplages originaux seront développées et résumés dans le tableau 2 ci-dessus.

Dans ce tableau apparaît le Nano-SIMS. En perspective de recherche, je souhaite développer une expertise dans ces outils pour la thématique des nanoparticules dans l'environnement. Etant donné le contexte rennais de mes recherches, je souhaite relancer l'activité du Nano-SIMS sur le site de Rennes. En effet, pour des raisons budgétaires et politiques, ce système est disponible sur le site de Rennes depuis plusieurs années sans fonctionner. Une partie de mes objectifs de recherche est d'étudier la capacité des nanoparticules (agrégés ou non) de transporter des contaminants (métalliques et organiques) à l'état de trace dans l'environnement. Par exemple, dans le cadre des nanoplastiques, la caractérisation et la spéciation (isotopie) des éléments métalliques qui leurs sont associés par Nano-SIMS permettrait, in fine, de définir leur provenance et leur devenir.

III.2.3. Développement de réacteurs environnementaux avec mesure in-situ

Néanmoins, contrairement à ce qui est réalisé dans la littérature, je propose d'étudier le comportement dans l'environnement des nanoparticules en utilisant des matériaux réels utilisant les nanomatériaux ciblés afin d'apporter des éléments de réponses concret et représentatif. Pour cela, je continuerais à développer des modèles/réacteurs environnementaux dynamique avec une détection en continue des nanoparticules issues de la dégradation des matériaux les incorporant.

Pour dégrader les nC₆₀, à titre d'exemple, la figure 23 illustre le type de réacteur que je souhaite développer. Un tel réacteur permet de dégrader de manière continue les produits contenant les nanoparticules de manière artificielle par irradiation solaire, avec une mesure en continu de la variation des paramètres physico-chimiques qui leur sont propres et les espèces associées. Brièvement, nous adapterons un prototype préalablement mis au point pour des applications sur les nanoplastiques dans l'environnement³². L'échantillon est placé dans une boucle à circulation en quartz de 15.3 mL à débit variable (quelques mL/heure et mL/min) dans lequel les conditions naturelles (pH, salinité comprise entre 1 et 10 g L⁻¹ en utilisant du NaCl et du CaCl₂ pour étudier l'influence de la divalence) sont contrôlées par un pousse-seringue. La boucle est ensuite placée dans un caisson exposé aux différents rayonnements (280-400nm grâce à des néons actinide). Un splitter de flux en fin de boucle permet de distribuer à des temps bien défini (connaissant le flux dans la boucle et la diffusion des nC₆₀) directement vers l'ES-DMA puis au compteur à particule. Un système de condensation sera également couplé afin de collecter les échantillons en fonction de leur temps de résidence dans la boucle.

III.2.4. Apport de la micro-fluidique

Un des nouveaux aspects et expertise que je souhaite développer est la micro- et milli-fluidique pour la compréhension des mécanismes d'agrégation des nanoparticules sous des contraintes naturelles modélisées de manière représentative. Cet axe est issu de la collaboration avec Bruno Grassl et Stéphanie Reynaud de l'IPREM mais également Hervé Tabuteau de l'Institut de Physiques de Rennes (UMR6251).

Les suspensions colloïdales qui traversent des milieux poreux sont presque toujours polydisperse et contiennent des agrégats de particules. L'agrégation colloïdale entraînée par le mouvement brownien en suspension conduit à la formation d'objets fractales avec les dimensions associées (Df) qui dépendent principalement des interactions DLVO, de la taille et de la polydispersité de la particule primaire formant l'agrégat. Les agrégats avec une taille primaire plus petite sont plus compacts et plus grands, tandis que des agrégats plus stables sont obtenus lors de l'augmentation de la force ionique. Alors que certaines études ont commencé à regarder l'influence de la

polydispersité et de la force ionique sur les mécanismes d'agrégation des nanoparticules en milieu aqueux, en utilisant des mélanges bimodaux et contrôlés (dit en batch), personne ne sait comment les agrégats se forment lorsqu'un mélange de particules individuelles et d'agrégats s'écoule dans un milieu dynamique (poreux, aqueux) où des gradients en paramètres physico-chimiques sont présents. En effet, à l'heure d'aujourd'hui nous ne savons pas comment la taille de l'agrégat et son influence influent sur son transport et son dépôt dans l'environnement. Grâce à la microfluidique nous commençons à développer des systèmes micro-fluidique de type Y permettant de recréer un gradient salé dans un système poreux, dans lequel la matière organique et les nanoparticules se mélangent. Nous couplons l'ensemble des outils analytiques résumés dans le tableau 2 pour déterminer la modification des propriétés physico-chimiques des nanoparticules. En perspective de recherche je souhaite consolider ces travaux et les développer.

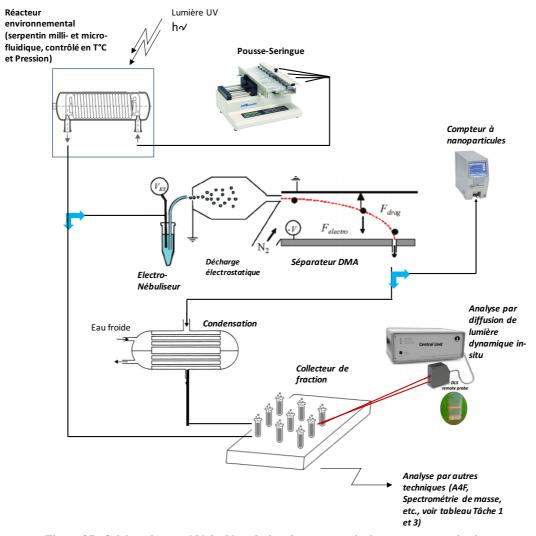


Figure 27 : Schéma du procédé de dégradation des nanoparticules avec mesures in situ.

III.3. Représentativité des mécanismes de transport des nanoparticules dans l'environnement

III.3.1. Influences des facteurs abiotiques

Afin d'étudier le comportement environnemental des nanoparticules, il est primordial d'avoir une approche suffisamment large de l'ensemble des processus susceptibles de se produire. La figure 28 en illustre la diversité. Elle permet également de se rendre compte de l'ubiquité des nanoparticules et du challenge important que cela entraîne en termes de chimie analytique et de physico-chimie environnementale.

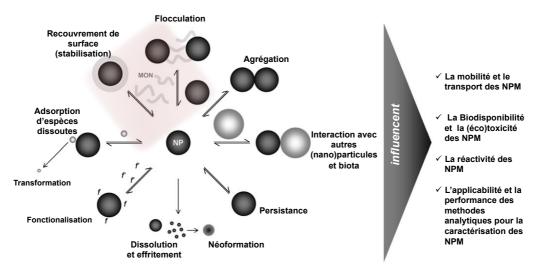


Figure 28: Interactions, réactions et transformations des nanoparticules dans l'environnement (MON : Matière Organique Naturelle ; f and f' sont des groupes fonctionnels) (adapté de [103]). Par le biais de la MON, la floculation, l'agrégation et la réactivité de surface (recouvrement de surface) sont les principaux paramètres qui seront évalués.

Dans ce contexte et tenant compte de ce constat, les principaux objectifs et les études y étant liées que je propose de réaliser dans cette partie de mon projet se déclinent en deux grands axes :

- (i) Appréhension du comportement environnemental des nanoparticules au travers de l'évaluation de l'influence des conditions physico-chimiques sur le devenir des nanoparticules en milieu contrôlé (micro et/ou mésocosmes).
- (ii) Evaluation de l'impact des nanoparticules sur la réactivité et la transformation des contaminants organiques et/ou inorganiques dans l'environnement et le vivant. Evaluation des modifications du cycle biogéochimique des contaminants liées à la présence des nanoparticules et de matière organique naturelle (MON).

D'un point de vue opérationnel, l'approche d'investigation envisagée et développée dans cette partie du projet sera menée en parallèle aux développements de méthodes analytiques, compte tenu de la similitude des stratégies analytiques devant être utilisées et de la pertinence à considérer conjointement entre les conditions environnementales et la présence d'organismes vivants.

Par l'élaboration d'expérience dans des systèmes environnementaux contrôlés, comme l'illustre la figure 25 cidessous, les interactions entre les nanoparticules et les différents composants des systèmes étudiés, la réactivité (oxydation, réduction, dissolution, etc.) et les transformations des NPOC dans des systèmes dits idéaux seront étudiés. L'objectif est ici de mettre en évidence des comportements prédominants des NPOC susceptibles de se produire, en fonction de leurs différentes natures et de leurs différentes propriétés physico-chimiques. Il sera étudié le comportement des nanoparticules en fonction de leur forme physico-chimique à différent stade de leur cycle de vie, mais également sous différents états (solide, liquide, aérosol) et à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement dans un avenir proche.

Afin de tenter d'apporter des éléments de réponses à la fois pertinents, inédits et originaux, je propose en premier lieu d'avoir recours à des modèles de MON pour étudier les interactions avec les NPOC. Par rapport aux travaux précédents réalisés sur les interactions entre MON et contaminants tels que les éléments trace par exemple, il s'agira de considérer des modèles non seulement en termes de fonctions chimiques mais également en termes de taille ^{31,32,34,59}. Ces modèles pourront être réalisés à partir de polymères et/ ou de nanoparticules polymériques synthétisés et sur lesquelles des molécules modèles des fonctions chimiques de la MON (par exemple acide caféique) seront greffées. La possibilité d'utiliser des matières organiques certifiées sera aussi considérée. Ces modèles devront in fine posséder des propriétés similaires aux constituants de la MON dans le continuum de taille, afin de modéliser et de comprendre leurs interactions avec les nanoparticules au plus près des conditions environnementales. Enfin une comparaison des résultats obtenus sera réalisée en utilisant des MON isolées de différents types d'environnement afin de valider la pertinence et la qualité des résultats.

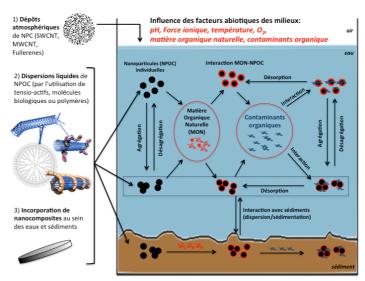


Figure 29: Exemple de système environnemental contrôlé qui sera réalisé. Les NPOC seront introduits dans le système par différentes voies : par les aires (dépôt d'aérosol), par les eaux et les sédiments (insertion de matrices liquides et solides de NPOC). Les NPOC seront introduits sous différentes formes physico-chimiques en fonction de leur cycle de vie (produits, déchets, etc.). Etant le paramètre qui contrôle le transport et l'accumulation aux interfaces, l'état de dispersion sera plus particulièrement étudié.

Grâce aux méthodologies analytiques développées dans la première partie de ce projet, de nombreuses autres propriétés physico-chimiques cruciales à l'étude du comportement environnemental des NPOC pourront être déterminées. Celles-ci comprennent l'agrégation et la sédimentation, la dissolution, l'adsorption sur les particules et autres surfaces solides, la capacité à se lier à la matière organique naturelle dissoute, et la stabilisation par des tensioactifs. D'autres procédés environnementaux impliquent la dégradation biologique (aérobie et anaérobie), et la dégradation abiotique (hydrolyse et photolyse) seront également étudiés. Une attention particulière sera portée sur l'état de dispersion des NPOC, paramètre permettant de décrire le transport et l'accumulation aux interfaces des nanoparticules. L'état de dispersion se caractérise par la taille et la distribution en taille. Ce sont donc ces propriétés majeures qui seront caractérisées au travers de ce projet de recherche.

III.3.2. Interaction avec les contaminants organiques et inorganiques

Dans une seconde partie, afin d'évaluer l'impact environnemental et écologique des NPOC, complémentairement à la considération de la MON, les principaux contaminants inorganiques et organiques doivent également être pris en compte en fonction des conditions du milieu étudié. Néanmoins, mon projet de recherche n'a pas la prétention de répondre à toutes ces problématiques mais de se focaliser sur un type de contaminant faisant appel à une méthodologie analytique, des compétences et un environnement (laboratoire) qui lui est propre. C'est pourquoi afin de concrétiser les objectifs décrits ci-après de nombreuses collaborations seront développées avec les principaux acteurs dans ce domaine à l'échelle nationale et européenne. En considérant l'ensemble des propriétés physico-chimiques des NPOC, un nouvel enjeu scientifique voit le jour et de nouvelles questions se posent sur l'impact des NPOC sur l'environnement via leurs possibles interactions avec les contaminants. La forte réactivité des particules à l'échelle du nanomètre entraîne une nouvelle forme de (nano)-vectorisation des contaminants organiques, et ainsi complexifie les cycles biogéochimiques, déjà difficilement appréhendables.

Au préalable de toute étude environnementale, il est primordial de travailler en milieu contrôlé afin de mettre en évidence le comportement des NPOC vis à vis des contaminants en fonction des paramètres physico-chimiques des milieux environnementaux et biologiques. Puis les paramètres pris en compte seront multipliés à travers les prototypes de réacteurs décrits ci-dessus, afin de rendre les descriptions de plus en plus complexes et proches des conditions environnementales et biologiques naturelles.

Comme pour la détermination des interactions entre la MON et les NPOC, les interactions entre les NPOC-MON et les contaminants seront étudiées à travers la détermination de l'état de dispersion (caractérisé par la taille et la distribution en taille), la forme et la surface pour ce qui est des paramètres physico-chimiques propres aux nanomatériaux. Cependant, les paramètres physico-chimiques propres aux contaminants, comme la capacité complexante, le coefficient de partage Ethanol/Eau, le caractère hydrophobe et autres, seront également caractérisés. Il s'agira de savoir quelle est l'influence des NPOC sur ces paramètres et ainsi évaluer l'impact des contaminants, via les NPOC, sur l'environnement et le vivant en comparant les résultats à ceux obtenus pour des systèmes dépourvus de NPOC.

III.3.3. Echantillonnage des systèmes environnementaux

L'ensemble des outils analytiques et des connaissances sur le comportement environnemental des NPOC doit me permettre de pouvoir les identifier au sein du milieu naturel. Pour cela, différentes campagnes seront réalisées et certaines se feront en collaboration comme notamment :

- Les sols. Ce premier compartiment représente une des premières destinations des NPOC (enfouissement des déchets, incinération et dépôt de nanoparticules, etc.) et seront étudiés dans des zones susceptibles d'être impactées.
- Les bassins versants. Le laboratoire Géosciences Rennes, et notamment l'équipe Géochimie des Eaux et Interfaces, possède une forte expertise dans les bassins versants. Je m'appuierais sur cette expérience afin d'organiser des missions de prélèvements sur des zones fortement susceptibles d'être impactées. Les sorties de stations d'épuration seront particulièrement surveillées. Comme l'illustre la figure 20, C'est dans ces zones que Farré et al. ont identifié la présence de fullerènes en Espagne ⁵⁰.
- Les estuaires sont le parcours d'un grand nombre de contaminant qui se déverse dans le système marin. Ces zones lacustres sont soumises à de fortes contraintes anthropiques et naturels qui soulèvent de nombreuses questions sur le devenir des NPOC : (i) transfère dans le milieu marin ; (ii) stockage dans les sédiments ; (iii) dégradation physique/chimique/biologique. Pour cela, différents estuaires seront étudiés à la fois en Bretagne, Pays de la Loire et en France d'une manière générale et en collaboration avec les institutions locales.
- Les littoraux. Les littoraux bretons seront étudiés mais également à plus large échelle, l'ensemble des côtes française sera étudiée. Dans le cadre d'une collaboration avec Pierre-Yves Pascal de l'Université des Antilles, une partie de mes travaux de recherche s'est focalisée sur les littoraux guadeloupéens de par sa forte diversité, les conditions climatiques (lumière UV, température), la pression anthropique (pêche, tourisme, décharge à ciel ouvert) et sa position géographique (proximité du gyre Atlantique Nord) unique au monde représente une zone d'étude inédite. Je souhaite conforter cette collaboration et qu'elle prenne davantage de place par le recrutement de doctorant sur place pour le prélèvement et l'application des méthodes analytique développés.

Dans le cadre d'un consortium national et en collaboration avec l'association Expédition Septième Continent, je souhaite renforcer la thématique des nanoplastiques. Dans ce consortium, je suis le responsable scientifique de la partie des polluants plastiques à l'échelle du nanomètre. Parallèlement aux travaux déjà entrepris depuis plus de deux ans nous continuerons sur différents aspects :

- Analyser les échantillons d'eau de mer prélevés dans les grandes gyres océaniques de l'Atlantique Sud et du Pacifique lors des prochaines campagnes (2017, 2018, 2019). Pour cela nous continuerons à optimiser les méthodes de concentration, de prélèvements (développement de capteurs) pour récupérer et analyser les plastiques à l'échelle du nanomètre sur site.
- Modélisation de la diffusion des plastiques dans la colonne d'eau. En collaboration avec Mercator, nous tenterons d'apporter des éléments de réponses sur le devenir des nanoplastiques en fonction de la dynamique des courants océaniques.
- Caractérisation des éléments métalliques et polluants organiques adsorbés et/ou absorbés sur les nanoplastiques. La détermination de ces éléments pourrait permettre de mieux comprendre la source et le cycle de vie des nanoplastiques.
- Impact des nanoplastiques. Détermination de l'écotoxicité des nanoplastiques sur les organismes aquatiques marins. Une thèse, co-encadrée par moi-même et Magalie Baudrimont de l'Université de Bordeaux (laboratoire EPOC), est en cours sur cette thématique.

IV. Références

- (1) Forecasting, B. R.-M. Nanotechnology: A Realistic Market Assessment; 2012; Vol. NAN031E.
- (2) Moore, M. N. Environ. Int. //, 32 (8), 967–976.
- (3) Barceló, D.; Farré, M. *TrAC Trends Anal. Chem.* //, 30 (1), 1–3.
- (4) Sanchís, J.; Farré, M.; Barceló, D. Compr. Anal. Chem. 2012, 59, 131–168.
- (5) Farré, M.; Sanchís, J.; Barceló, D. *TrAĈ Trends Anal. Chem.* **2011**, *30* (3), 517–527.
- (6) Ju-Nam, Y.; Lead, J. R. Sci. Total Environ. 2008, 400 (1-3), 396–414.
- (7) Kammer, F. von der; Legros, S.; Hofmann, T.; Larsen, E. H.; Loeschner, K. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2011**, *30* (3), 425–436.
- (8) Lespes, G.; Gigault, J. Anal. Chim. Acta 2011, 692 (1-2), 26–41.
- (9) Gigault, J.; Pettibone, J. M.; Schmitt, C.; Hackley, V. A. Anal. Chim. Acta 2014, 809, 9-24.
- (10) Gigault, J.; Grassl, B.; Lespes, G. Chemosphere 2012, 86 (2), 177–182.
- (11) Gigault, J.; Hackley, V. A. Anal. Chim. Acta //, 763, 57–66.
- (12) Pettibone, J. M.; Gigault, J.; Hackley, V. A. ACS Nano //, 7 (3), 2491–2499.
- (13) Tsai, D. H.; Cho, T. J.; Elzey, S. R.; Gigault, J. C.; Hackley, V. A. *Nanoscale II*, 5 (12), 5390–5395.
- (14) Gigault, J.; Nguyen, T.; Pettibone, J.; Hackley, V. J. Nanoparticle Res. 2014, 16 (11), 1–10.
- (15) Gigault, J.; Grassl, B.; Le Hécho, I.; Lespes, G. Microchim. Acta 2011, 175 (3-4), 265–271.
- (16) Gigault, J.; Le Hécho, I.; Dubascoux, S.; Potin-Gautier, M.; Lespes, G. J. Chromatogr. A 2010, 1217 (50), 7891–7897.
- (17) Gigault, J.; Grassl, B.; Lespes, G. Analyst **2012**, 137 (4), 917–923.
- (18) Gigault, J.; Grassl, B.; Lespes, G. Anal. Bioanal. Chem. 2011, 401 (10), 3345–3353.
- (19) Gigault, J.; Zhang, W.; Lespes, G.; Charleux, B.; Grassl, B. Anal. Chim. Acta 2014, 819, 116–121.
- (20) Nguyen, T. M.; Gigault, J.; Hackley, V. A. Anal. Bioanal. Chem. 2013, 1–9.
- (21) Gigault, J.; Cho, T. J.; MacCuspie, R. I.; Hackley, V. A. Anal. Bioanal. Chem. 2012, 405, 1191–1202.
- (22) Gigault, J.; Gale, B. K.; Le Hecho, I.; Lespes, G. Anal. Chem. 2011, 83 (17), 6565–6572.
- (23) Schmitt, C.; Grassl, B.; Lespes, G.; Desbrières, J.; Pellerin, V.; Reynaud, S.; Gigault, J.; Hackley, V. A. *Biomacromolecules* **2014**.
- (24) Gigault, J.; Budzinski, H. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *80*, 1–11.
- (25) Cornelis, G. Environ. Sci. Nano 2014.
- (26) Kaegi, R.; Voegelin, A.; Ort, C.; Sinnet, B.; Thalmann, B.; Krismer, J.; Hagendorfer, H.; Elumelu, M.; Mueller, E. Water Res. //.
- (27) Klaine, S. J.; Alvarez, P. J. J.; Batley, G. E.; Fernandes, T. F.; Handy, R. D.; Lyon, D. Y.; Mahendra, S.;
- McLaughlin, M. J.; Lead, J. R. Environ. Toxicol. Chem. 2008, 27 (9), 1825-1851.
- (28) Lin, D.; Tian, X.; Wu, F.; Xing, B. J. Environ. Qual. 2010, 39 (6), 1896–1908.
- (29) Petersen, E. J.; Zhang, L.; Mattison, N. T.; O'Carroll, D. M.; Whelton, A. J.; Uddin, N.; Nguyen, T.; Huang, Q.; Henry, T. B.; Holbrook, R. D.; Chen, K. L. *Env. Sci Technol* **2011**, *45* (23), 9837–9856.
- (30) Schierz, A.; Espinasse, B.; Wiesner, M. R.; Bisesi, J. H.; Sabo-Attwood, T.; Ferguson, P. L. *Environ. Sci. Nano* **2014**.
- (31) Drosos, M.; Jerzykiewicz, M.; Louloudi, M.; Deligiannakis, Y. Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp. //, 389 (1-3), 254–265.
- (32) Kopinke, F. D.; Georgi, A.; Mackenzie, K. Acta Hydrochim. Hydrobiol. //, 28 (7), 385–399.
- (33) McNew, C. P.; LeBoeuf, E. J. Chemosphere 2014.
- (34) Lu, Y.; Pignatello, J. J. Environ. Sci. Technol. //, 38 (22), 5853-5862.
- (35) Bernhardt, E. S.; Colman, B. P.; Hochella Jr, M. F.; Cardinale, B. J.; Nisbet, R. M.; Richardson, C. J.; Yin, L. *J. Environ. Qual.* //, 39 (6), 1954–1965.
- (36) Hotze, E. M.; Phenrat, T.; Lowry, G. V. J. Environ. Qual. //, 39 (6), 1909–1924.
- (37) Lowry, G. V.; Hotze, E. M.; Bernhardt, E. S.; Dionysiou, D. D.; Pedersen, J. A.; Wiesner, M. R.; Xing, B. *J. Environ. Qual.* **2010**, *39* (6), 1867–1874.
- (38) Gigault, J.; Grassl, B. J. Colloid Interface Sci. Article submitted.
- (39) Zhang, L. Q.; Zhang, Y. K.; Lin, X. C.; Yang, K.; Lin, D. H. J. Zhejiang Univ. Sci. A 2014, 15 (8), 634–642.
- (40) Yang, Y.; Nakada, N.; Nakajima, R.; Yasojima, M.; Wang, C.; Tanaka, H. J. Hazard. Mater. 2013, 244-245, 582-587.
- (41) Andrady, A. L. Mar. Pollut. Bull. 2011, 62 (8), 1596–1605.
- (42) Andrady, A. L. In *Marine Anthropogenic Litter*; Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M., Eds.; Springer International Publishing, 2015; pp 57–72.
- (43) Cózar, A.; Echevarría, F.; González-Gordillo, J. I.; Irigoien, X.; Úbeda, B.; Hernández-León, S.; Palma, Á. T.;
- Navarro, S.; García-de-Lomas, J.; Ruiz, A.; Fernández-de-Puelles, M. L.; Duarte, C. M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111* (28), 10239–10244.
- (44) Kusch, P. 2012.
- (45) Dümichen, E.; Barthel, A.-K.; Braun, U.; Bannick, C. G.; Brand, K.; Jekel, M.; Senz, R. *Water Res.* **2015**, *85*, 451–457.
- (46) Ter Halle, A.; Ladirat, L.; Gendre, X.; Goudouneche, D.; Pusineri, C.; Routaboul, C.; Tenailleau, C.; Duployer, B.; Perez, E. *Environ. Sci. Technol.* **2016**, *50* (11), 5668–5675.
- (47) Lambert, S.; Wagner, M. Chemosphere 2016, 161, 510–517.
- (48) Sebille, E. van; Wilcox, C.; Lebreton, L.; Maximenko, N.; Hardesty, B. D.; Franeker, J. A. van; Eriksen, M.;

- Siegel, D.; Galgani, F.; Law, K. L. Environ. Res. Lett. 2015, 10 (12), 124006.
- (49) Gigault, J.; Pedrono, B.; Maxit, B.; Halle, A. T. Environ. Sci. Nano 2016.
- (50) Farré, M.; Pérez, S.; Gajda-Schrantz, K.; Osorio, V.; Kantiani, L.; Ginebreda, A.; Barceló, D. *J. Hydrol.* **3**, *383* (1–2), 44–51.
- (51) Wiesner, M. R.; Hotze, E. M.; Brant, J. A.; Espinasse, B. *Nanomaterials as possible contaminants: The fullerene example*; 2008; Vol. 57.
- (52) Li, Q.; Xie, B.; Yu, S. H.; Xu, Y. Environ. Sci. Technol. 2009, 43 (10), 3574–3579.
- (53) Mashayekhi, H.; Ghosh, S.; Du, P.; Xing, B. J. Colloid Interface Sci. 2012, 374 (1), 111–117.
- (54) Wang, L.; Hou, L.; Wang, X.; Chen, W. Environ. Sci. Process. Impacts 2014, 16 (6), 1282–1289.
- (55) Wang, L.; Fortner, J. D.; Hou, L.; Zhang, C.; Kan, A. T.; Tomson, M. B.; Chen, W. *Environ. Toxicol. Chem.* **2013**, 32 (2), 329–336.
- (56) Brant, J. A.; Labille, J.; Bottero, J.-Y.; Wiesner, M. R. *Langmuir* **2006**, *22* (8), 3878–3885.
- (57) Brant, J.; Lecoanet, H.; Hotze, M.; Wiesner, M. Environ. Sci. Technol. 2005, 39 (17), 6343–6351.
- (58) Labille, J.; Brant, J.; Villiéras, F.; Pelletier, M.; Thill, A.; Masion, A.; Wiesner, M.; Rose, J.; Bottero, J.-Y. Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures 2006, 14 (2-3), 307–314.
- (59) Leboeuf, E. J.; Weber Jr, W. J. Environ. Sci. Technol. //, 31 (6), 1697–1702.