



HAL
open science

Nanoparticules : influence des conditions d'essais et des paramètres physico-chimiques sur l'écotoxicité pour le milieu aquatique

Nicolas Manier, Pascal Pandard

► **To cite this version:**

Nicolas Manier, Pascal Pandard. Nanoparticules : influence des conditions d'essais et des paramètres physico-chimiques sur l'écotoxicité pour le milieu aquatique. Rapport Scientifique INERIS, 2011, 2010-2011, pp.49-52. ineris-01869388

HAL Id: ineris-01869388

<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-01869388>

Submitted on 6 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.



Contributeurs



Nicolas
Manier



Pascal
Pandard

Nanoparticules

Influence des conditions d'essais
et des paramètres physico-chimiques
sur l'écotoxicité pour le milieu aquatique

Références

[1] OECD, *Preliminary guidance notes on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials*, 2010.

[2] Manier N., Garaud M., Delalain P., Aguerre-chariol O. et Pandard P., *Ecotoxicity of ceria nanoparticles towards aquatic micro-invertebrates and algae*, Nanosafe 2010, pp. 16-18, November 2010, Minatec, Grenoble, France.

[3] Manier N., Garaud M., Delalain P., Aguerre-Chariol O., Pandard P., 2011, *Behaviour of ceria nanoparticles in standardized test media – influence on the results of ecotoxicological tests*, Journal of Physics: Conference Series, 304:012058.

[4] Van Hoecke K., Quick J. T. K., Mankiewicz-Boczek J., De Schamphelaere A., Van der Meeren P., Barnes C., McKerr G., Vyvyan Howard C., Van De Meent D., Ryzdzynski K., Dawson K. A., Salvati A., Lesniak A., Lynch I., Silversmit G., De Samber B., Vincze L., Janssen C. R., 2009, *Fate and effects of CeO₂ nanoparticles in aquatic ecotoxicity tests*, Environ. Sci. Technol. 43:537-46.s

La singularité des propriétés physico-chimiques des nanoparticules (NP) et le fait qu'un grand nombre de produits dits « nanostructurés » sont d'ores et déjà mis sur le marché en font un des sujets majeurs d'étude de ces dernières années. La dissémination de ces NP ou des résidus nanoparticulaires dans les différents compartiments de l'environnement est ainsi devenue une préoccupation grandissante, à l'instar de l'impact potentiel qu'ils peuvent avoir sur les organismes vivants. De nombreuses questions se posent, en effet, quant à l'applicabilité des outils actuels pour évaluer l'écotoxicité de ces produits émergents, notamment dans un cadre réglementaire [1]. Les méthodes de préparation et les propriétés physico-chimiques des milieux d'essai (pH, force ionique) ont notamment été identifiées comme des éléments clés dans l'évaluation de l'écotoxicité des NP. Ils vont en effet conditionner certains paramètres physiques de la suspension tels que l'état d'agglomération des NP et leur stabilité, lesquels peuvent influencer leur écotoxicité. Cependant, peu de travaux concernant l'écotoxicité des NP intègrent de façon systématique l'influence des conditions d'essai, de même que l'importance des propriétés physico-chimiques des NP.

Ainsi, les objectifs de nos travaux sont multiples et visent à étudier l'influence de différentes méthodes de préparation des suspensions d'essai sur l'état d'agrégation de NP, et à identifier les paramètres physicochimiques (état d'agglomération, chimie de surface, taille initiale de la particule) potentiellement responsable de

l'écotoxicité pour les organismes aquatiques. Nous avons pour cela entrepris l'étude de différentes NP d'oxydes de cérium en tant que particules modèles. Ces NP sont utilisées comme catalyseur dans certains moteurs diesels ou comme agent protecteur (anti-rayure, anti-UV) dans les peintures extérieures. Ils peuvent de ce fait se retrouver facilement dans l'environnement. Les effets pour le compartiment aquatique de ces NP ont été appréhendés à travers l'étude de leur écotoxicité vis-à-vis des micro-algues d'eau douce (*P. subcapitata*). Ces organismes, à la base des chaînes trophiques aquatiques, sont classiquement utilisés en tant qu'organismes modèles pour la détermination de l'écotoxicité des substances et préparations chimiques (OCDE).

Prise en compte de la méthode de mise en suspension et influence de l'état d'agrégation des NP sur leur écotoxicité

Afin d'étudier l'importance de la méthode de préparation des suspensions d'essai sur le comportement en solution des NP de cérium, une poudre nanoparticulaire (taille initiale 25 nm) a été mise en suspension selon quatre modes de préparation: une dispersion par agitation magnétique (24 heures), stabilisée ou non par l'ajout d'acides humiques (AH) et une dispersion par ultrasons (1 min/70 watts) stabilisée ou non par l'ajout d'AH. Ces suspensions d'essai ont été caractérisées en fonction de différents paramètres. La taille moyenne des agglomérats a été suivie par diffusion quasi élastique de la lumière (Zétasizer, Malvern) et l'état →

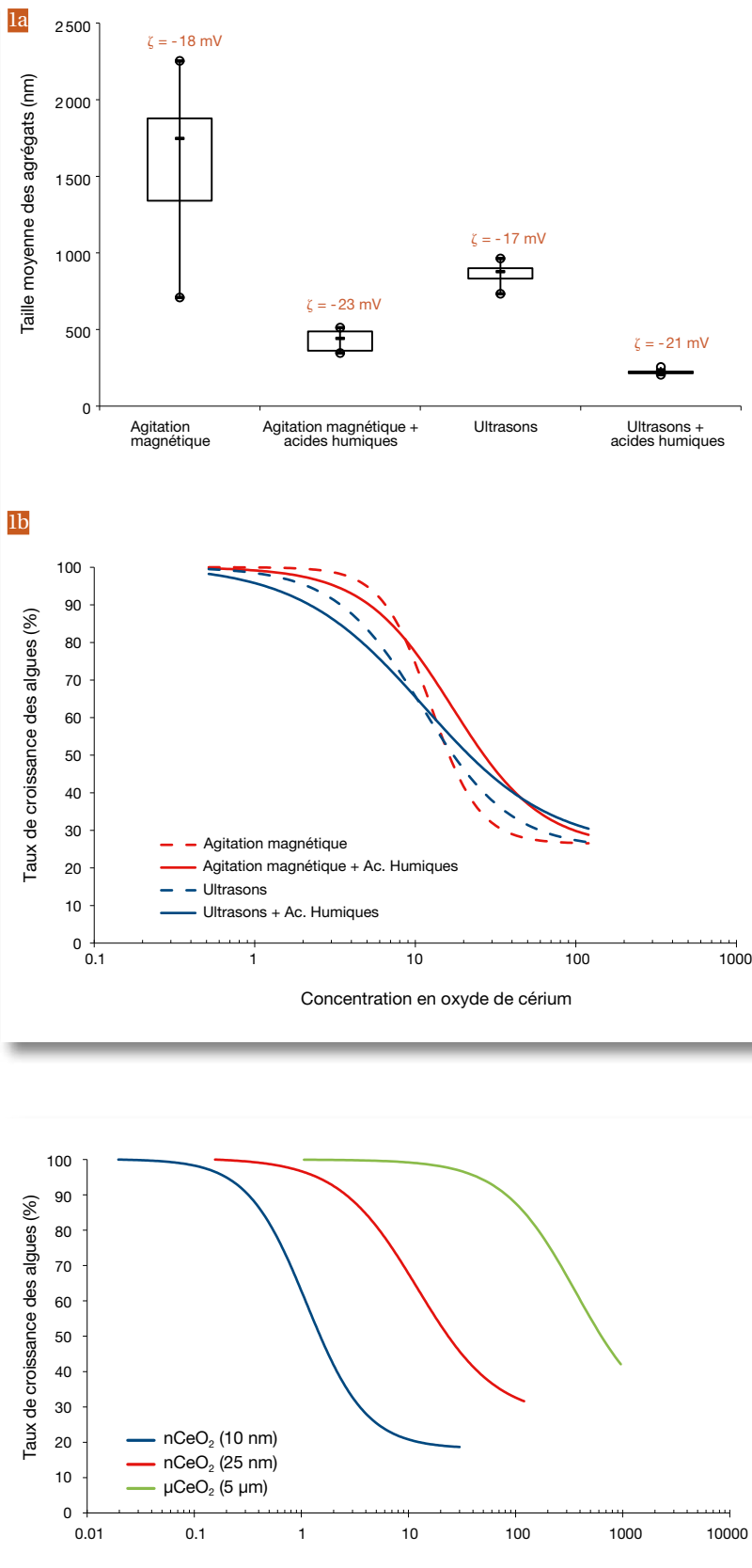


Figure 2

Inhibition de la croissance des algues en fonction de la taille initiale des particules d'oxyde de cérium.

Figures 1a et 1b

Taille moyenne des agrégats de NP de cérium (a) et inhibition de la croissance des algues (b) en fonction du mode de préparation des suspensions d'essai.

→ d'agglomération a été appréhendé par microscopie électronique à transmission (MET). Enfin, le potentiel de surface des particules (potentiel zêta $[\zeta]$) a été mesuré pour chaque préparation.

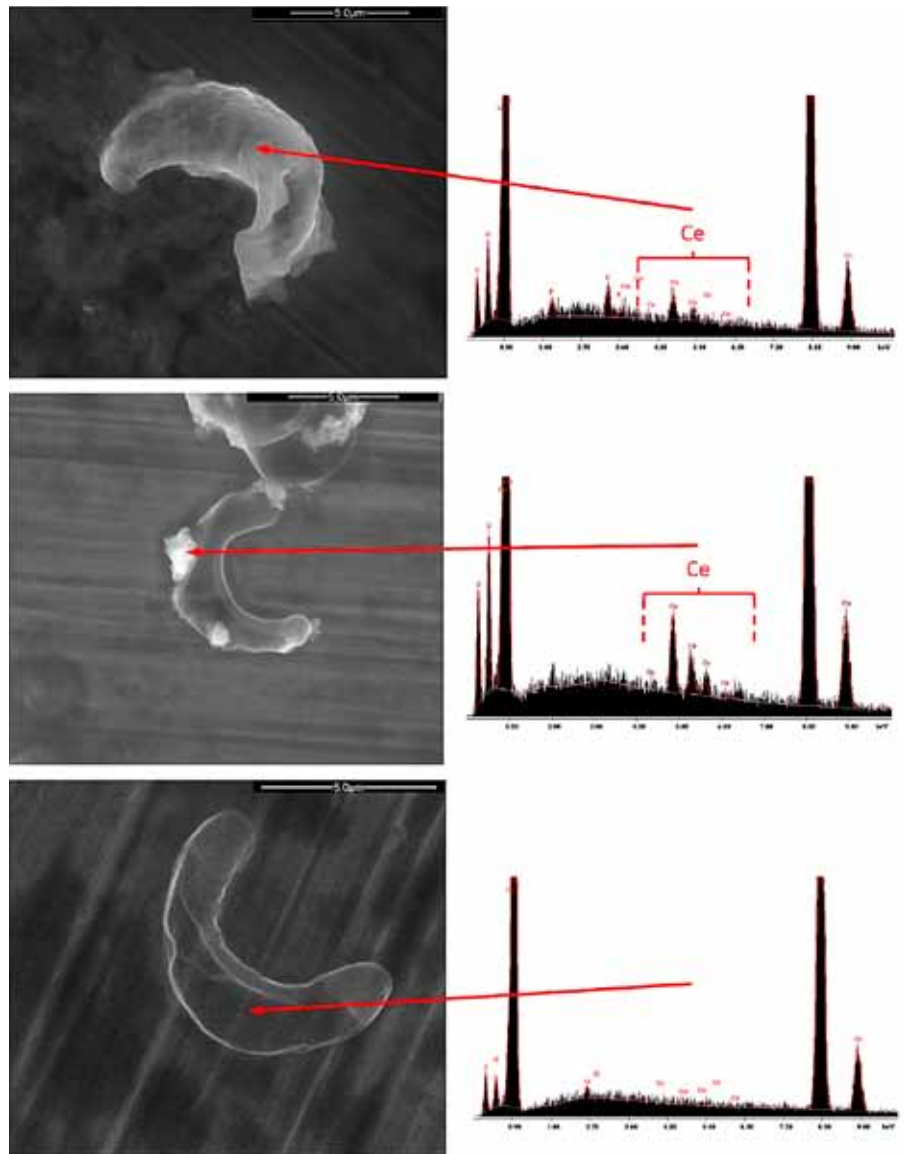
Les résultats obtenus (figure 1a) ont permis de mettre en évidence que la méthode de préparation utilisée influençait l'état d'agglomération des NP dans le milieu d'essai. Il en ressort également que l'état d'agglomération pouvait être accentué par la force ionique du milieu et limité par l'ajout d'AH (2 mg COT/l) [2, 3]. Ainsi, pour une même poudre nanoparticulaire mise en suspension selon les différentes méthodes testées, la taille moyenne des agglomérats varie de quelques centaines de nanomètres pour la méthode la plus dispersante (utilisation d'ultrasons + AH) à plusieurs micromètres pour la méthode la moins dispersante (agitation magnétique seule). D'autre part, la dispersion par ultrasons, couplée à l'ajout d'AH, s'est révélée être la méthode la plus reproductible par rapport, notamment, aux méthodes utilisant l'agitation magnétique. L'écotoxicité des différentes préparations ainsi générées a ensuite été étudiée en suivant la croissance d'une population d'algues exposées pendant 72 heures à différentes concentrations de NP de cérium. Les résultats obtenus (figure 1b) mettent en évidence une inhibition dépendante des concentrations en NP. Par ailleurs, quels que soient le mode de préparation utilisé et, par conséquent, l'état d'agglomération des NP, l'inhibition de la croissance des algues reste similaire et conduit à 50 % d'effet sur la population pour des concentrations en NP de cérium (25 nm) autour de $14 \pm 2,6$ mg/l.

Importance de la taille initiale des particules

Les essais initiés avec les NP de 25 nm ont été complétés par une série d'expositions utilisant des NP de cérium de 10 nm afin d'appréhender l'importance de la taille initiale des NP sur l'écotoxicité vis-à-vis des algues. Nous avons pu mettre en évidence que l'inhi-

Figure 3

Photo d'algues exposées aux différentes NP de cérium. (a) NP de 10 nm, (b) NP de 25 nm, (c) témoin. Les observations réalisées par la microanalyse confirment que les particules adsorbées à la surface des algues exposées correspondent au cérium.



l'inhibition de la croissance des algues varie significativement en fonction du type de NP de cérium testé (figure 2). Les concentrations induisant 50 % d'inhibition de la croissance des algues sont, respectivement, de 1,4 mg/l et 14 mg/l pour les produits de 10 nm et 25 nm. Cette différence de toxicité est à mettre directement en relation avec les différences de taille initiale des particules testées. Des suspensions d'oxyde de cérium micrométrique (taille de particule initiale de 5 µm) ont également été testées. Seule une très faible inhibition de la croissance des algues a été observée et la concentration induisant 50 % d'effet se situe au-delà de 500 mg de CeO_2/l . Ces résultats mettent en évidence la plus forte toxicité vis-à-vis des algues de la forme nanoparticulaire par rapport à la forme microparticulaire d'une part et, d'autre part, l'influence de la taille initiale des nanoparticules sur la toxicité de l'oxyde de cérium vis-à-vis de ces organismes.

Caractérisation de l'interaction algues/nanoparticules de cérium

Des analyses en cytométrie de flux, associées à des observations en Microscopie électronique à balayage en mode environnemental (MEB) couplée à de la microanalyse, ont été effectuées afin d'évaluer de quelle façon les interactions entre les NP de cérium et les algues pouvaient expliquer les phénomènes observés. Le MEB a permis d'effectuer les observations sans préparation préalable de l'échantillon.

Les résultats obtenus en cytométrie de flux suggèrent une modification des cellules algales exposées aux NP, par rapport aux algues non exposées (cf. *La cytométrie de flux, un outil innovant adaptable à l'écotoxicologie et à la biosurveillance des milieux*, Anne Bados-Nilles). Cette modification peut s'expliquer soit par une internalisation des NP de cérium, soit par une adsorption en surface des algues. Par ailleurs, les observations réalisées à l'aide du MEB, couplées à la microanalyse, complètent les résultats obtenus en cytométrie de flux et nous ont permis de conclure que les NP de

cérium étaient en grande partie adsorbées à la surface des algues (figure 3). Enfin, il apparaît que l'interaction particules-algues est différente en fonction du type de NP de cérium étudié, avec un recouvrement plus important de la paroi des algues exposées aux NP de cérium de 10 nm par rapport au NP de cérium de 25 nm. Ceci pourrait suggérer une interaction plus forte des NP de 10 nm par rapport aux NP de 25 nm. Cette adsorption en surface des cellules algales pourrait être en partie responsable de l'inhibition de la croissance observée plus haut, soit par un effet local direct et/ou par un effet indirect dû à une limitation de l'accès à la lumière et aux micronutriments [4]. →

CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats a permis de caractériser l'écotoxicité des NP de cérium vis-à-vis des micro-algues d'eau douce en prenant en compte l'influence de certains paramètres tels que l'état d'agglomération dans les milieux liquides et l'importance de la taille initiale des particules. Les résultats ont montré que les NP de cérium entraînaient une inhibition de la croissance des algues avec un effet dépendant des concentrations en NP. Il a aussi été montré que l'écotoxicité de ces NP n'était pas directement influencée par leur état d'agrégation, mais que la taille initiale de la particule et, par conséquent, sa surface spécifique jouaient un rôle important au même titre que la concentration massique. Ces résultats sont intéressants à deux niveaux, puisqu'ils suggèrent le

fait que l'état d'agglomération et, *a fortiori*, le protocole de préparation des suspensions d'essai n'influencent pas de façon significative l'écotoxicité des NP vis-à-vis des algues. Il est cependant important de noter que ce constat n'est valable que lors d'exposition pour un milieu sous agitation constante. Les essais réalisés en milieu statique (essais sur microcrustacés) ont montré des résultats variables en fonction de l'état d'agglomération des NP. Les phénomènes de sédimentation dans les milieux d'essai, dus à l'agglomération des NP, sont l'une des explications de ces observations [2]. L'ensemble de ces données fait donc ressortir la difficulté de systématiser les recommandations de préparation des suspensions d'essai pour évaluer les propriétés écotoxicologiques de ces nanomatériaux.

ABSTRACT

Nanoparticles (NP) have been extensively applied in commercial products. It is consequently unavoidable that a large amount of NP will be discharged into environment, underlining the need to evaluate the ecotoxicological effect of NP towards aquatic organisms. However, relevant experts identified that "a large number of standardized test guidelines [...] are unlikely to be applicable in their present state to engineered nanomaterials" (OECD). Indeed, the potential hazard of NP may be related to unusual physicochemical properties such as their particles size, agglomerate state in suspension and/or surface chemistry. Moreover, the method performed to disperse NP and achieve the testing suspensions can be seen as a drawback since it introduces an additional variable into the test design. Our work aims at characterizing the ecotoxicity of ceria NP toward aquatics micro-algae taking into account the influence of the dispersive methods and the physico-chemical properties of NP. The results obtained clearly show that ceria NP are ecotoxic toward micro algae compare to bulk materials. The toxic effect was principally attributing to the initial particles size and, to a lesser extent, to the agglomeration state. This suggest that exposure to NP could be expressed in surface area complementary to a mass basis. In addition, we have demonstrated that ceria NP were able to entrap and wrap the algae cells, which may contribute to the nanotoxicity.