
Développement de la
méthode AF4-ICP-MS pour
la caractérisation des NPs
de TiO₂

III.1 Sommaire

Chapitre III : Développement de la méthode AF4-ICP-MS pour la caractérisation des NPs de TiO₂

Error! Bookmark not defined.

III.1 Sommaire**Error! Bookmark not defined.**

III.2 Caractérisation de NM-102**Error! Bookmark not defined.**

III.3 Evaluation du potentiel zêta des NPs de TiO₂ du NM-102 et des membranes AF4.....**Error!**

Bookmark not defined.

III.3.1 Réactifs**Error! Bookmark not defined.**

III.3.2 Détermination expérimentale des Concentrations Micellaires Critiques (CMC) des tensioactifs**Error! Bookmark not defined.**

III.3.3 Détermination du potentiel zêta et du diamètre hydrodynamique des NPs de TiO₂ du NM-102.....**Error! Bookmark not defined.**

III.3.4 Détermination du potentiel zêta des membranes AF4.....**Error! Bookmark not defined.**

III.3.5 Choix des conditions d'éluant pour l'analyse AF4-ICP-MS**Error! Bookmark not defined.**

III.4 Analyses des NPs de TiO₂ du NM-102 par AF4-ICP-MS.....**Error! Bookmark not defined.**

III.4.1 Méthode.....**Error! Bookmark not defined.**

III.4.2 Résultats.....**Error! Bookmark not defined.**

III.5 Bilan.....**Error! Bookmark not defined.**

Dans ce chapitre, la méthode AF4-ICP-MS sera étudiée afin de caractériser des NPs de TiO₂. Une première partie présente les travaux menés afin de caractériser des NPs de TiO₂ en utilisant différentes techniques (décrites dans le chapitre précédent). Ces méthodes ont permis de déterminer la taille, la surface spécifique ou encore la structure cristalline des NPs de TiO₂ dans le but d'utiliser ces NPs pour optimiser la méthode AF4-ICP-MS. Afin de mieux comprendre cette technique, la seconde partie porte sur l'étude des interactions électrostatiques présentes entre les particules et la membrane AF4 à travers la mesure de leur potentiel zêta. Cela a pour but d'obtenir des informations supplémentaires pour appréhender l'agglomération des particules ou leur potentielle perte dans le système AF4. Dans la dernière partie, plusieurs conditions d'éluant ont été évaluées directement par des analyses AF4-ICP-MS. Le principal objectif est de déterminer les conditions favorisant la dispersion des NPs de TiO₂

dans leur milieu ainsi que la répulsion électrostatique entre la membrane AF4 et les particules pour minimiser les pertes des NPs dans le système.

III.2 Caractérisation de NM-102

Le dioxyde de titane (TiO_2) utilisé pour cette étude est un nanomatériau de référence (code NM-102, [Rasmussen et al. 2014](#)) caractérisé par le Centre commun de recherche de la Commission européenne (Joint Research Centre, JRC). Le NM-102 présente une structure cristalline *anatase* comme la plupart des additifs alimentaires TiO_2 ([Tableau 5](#)). Il est composé de NPs monodisperses avec un diamètre de 21 ± 10 nm. Le terme « monodisperse » signifie que la taille des particules est similaire, ce qui se traduit par une distribution en taille quasi centrée sur une valeur de diamètre. Cela s'avère très intéressant pour l'optimisation de la méthode AF4-ICP-MS, puisque c'est la fraction nanoparticulaire du TiO_2 présent dans les aliments qui nous intéresse. De plus, le fait que les NPs soient monodisperses permet de mieux évaluer l'agglomération des NPs pendant l'analyse par AF4-ICP-MS. Avant de l'utiliser pour optimiser la méthode AF4-ICP-MS, il a été décidé d'effectuer, à l'aide de différentes techniques dont les protocoles ont été décrits au chapitre précédent ([paragraphe II.2, II.3, II.4, et II.5](#)), nos propres caractérisations du NM-102 et de comparer les résultats à ceux fournis par le JRC.

Résultats de la caractérisation du NM-102

Le spectre DRX obtenu pour déterminer la structure cristalline du NM-102 est présenté dans la [Figure 45](#).

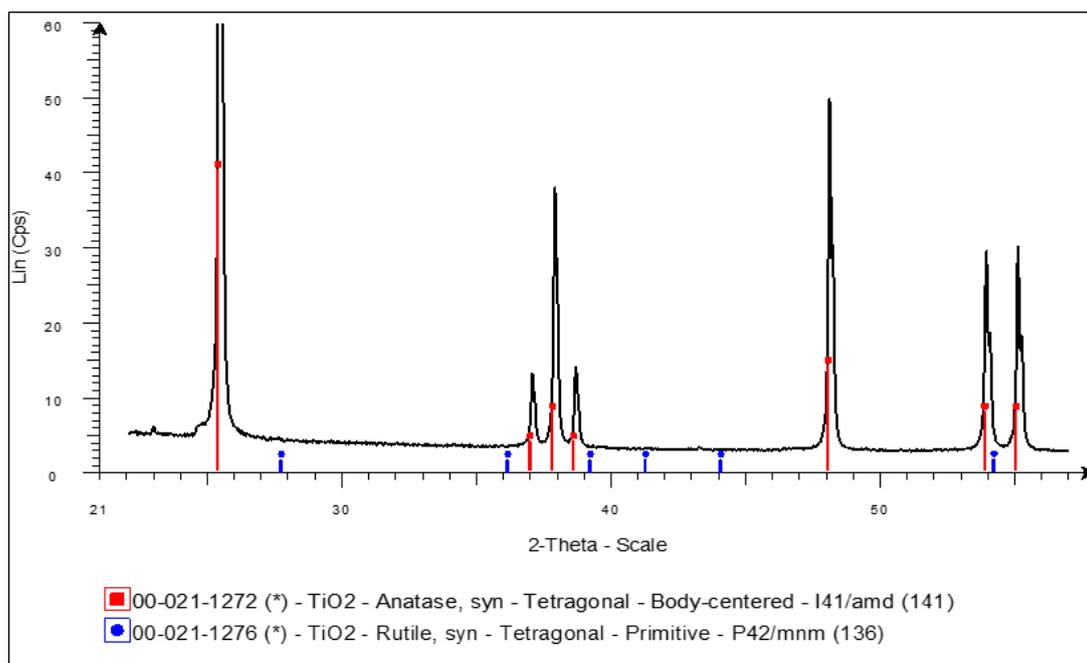


Figure 45 : Diffractogramme de rayon X de la poudre de NM-102 avec les signaux théoriques de la forme cristallographique anatase en rouge et de celle du rutile en bleu.

La courbe noire correspond au diffractogramme de rayon X du NM-102 tandis que les repères rouges et bleus indiquent la position théorique des raies spécifiques des phases cristallines *anatase* et *rutile*, respectivement. Le résultat montre que la structure cristalline du NM-102 est bien exclusivement sous la forme *anatase*, comme décrit par le JRC (Rasmussen et al., 2014).

Concernant la surface spécifique du NM-102, l'isotherme d'adsorption obtenue avec la méthode BET est présentée dans la Figure 46.

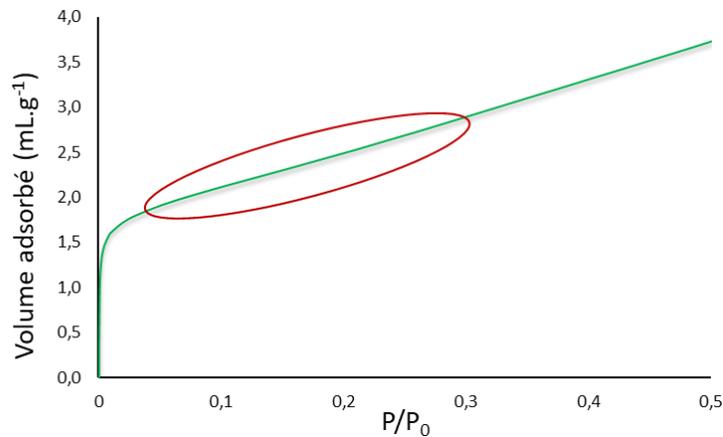


Figure 46 : Isotherme d'adsorption de l'azote sur le NM-102, en rouge la gamme de pression relative (P/P_0) pour calculer la surface spécifique.

Le volume d'azote nécessaire pour couvrir sous forme d'une monocouche la surface du NM-102 peut être déterminé dans la gamme de pression relative (P/P_0) entre 0,05 et 0,3 (Équation A5, paragraphe II.3). La méthode BET a permis d'estimer la surface spécifique du NM-102 égale à $79,1 \pm 0,8 \text{ m}^2/\text{g}$, une valeur équivalente à celle obtenue par Krystek et al. (2014).

La masse volumique du NM-102 a été mesurée à $3,94 \pm 0,23 \text{ g}/\text{cm}^3$ avec la pycnométrie hélium. Cette valeur correspond à la masse volumique de la structure cristalline anatase (McAleer and Peter, 1982) et confirme le résultat déterminé précédemment par diffraction RX.

Grâce à la surface spécifique et à la masse volumique, le diamètre des particules du NM-102 peut être déterminé théoriquement à l'aide de l'Équation 1 de la section II.3. Le diamètre des NPs ainsi calculé est de $19,2 \pm 1,4 \text{ nm}$; ce qui est en accord avec les résultats d'autres études (Jensen et al., 2013 ; Rasmussen et al., 2014).

La [Figure 47](#) présente les clichés des NPs du NM-102 obtenus par Microscopie Electronique en Transmission (MET) ainsi que les images d'analyses chimiques (O, Ti et Si) obtenues par EDX.

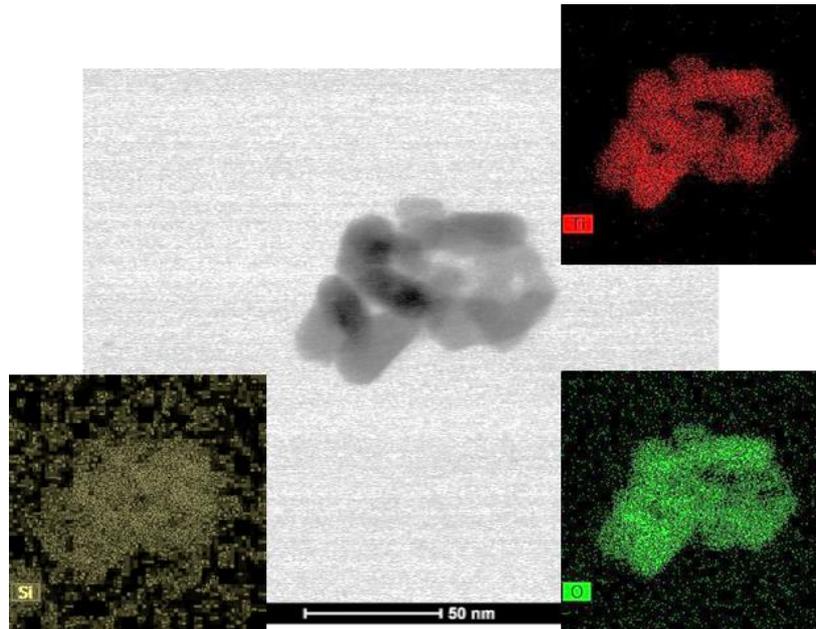


Figure 47 : Image obtenue à l'aide d'un MET en mode STEM et cartographies EDS des NPs de NM-102

Les diamètres des NPs observées sont de 21 ± 6 nm ce qui est cohérent avec le diamètre théorique calculé précédemment et aux valeurs obtenues par microscopie électronique retrouvées dans la littérature en tenant compte des écart-types ([Jensen et al., 2013](#) ; [Rasmussen et al., 2014](#)). Ces données ont été obtenues par la mesure du diamètre de Féret d'une quarantaine de particules ([Figure 48](#)), ce qui est nettement insuffisant pour utiliser cette valeur comme référence mais permet cependant de confirmer la valeur obtenue lors d'autres études.

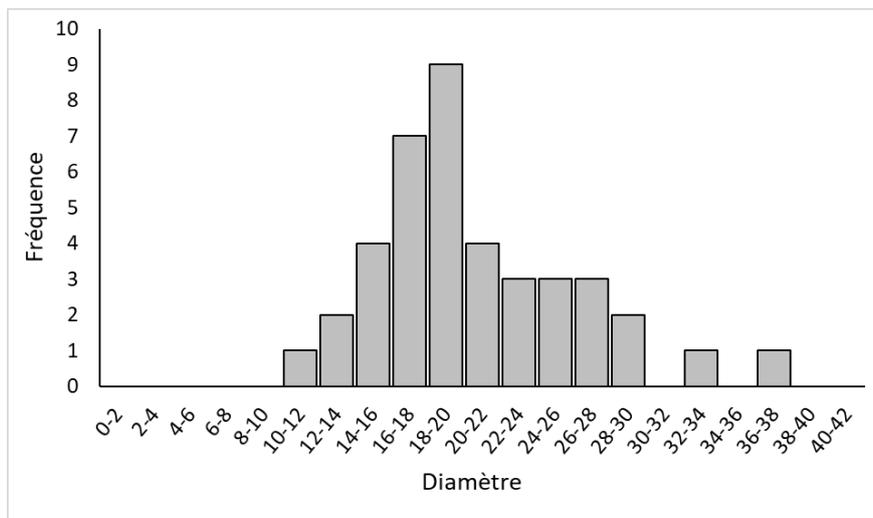


Figure 48 : Distribution en taille du NM-102 obtenue à partir de 45 particules

L'analyse EDS a permis d'évaluer la composition chimique des particules et les résultats sont présentés dans la [Figure 49](#).

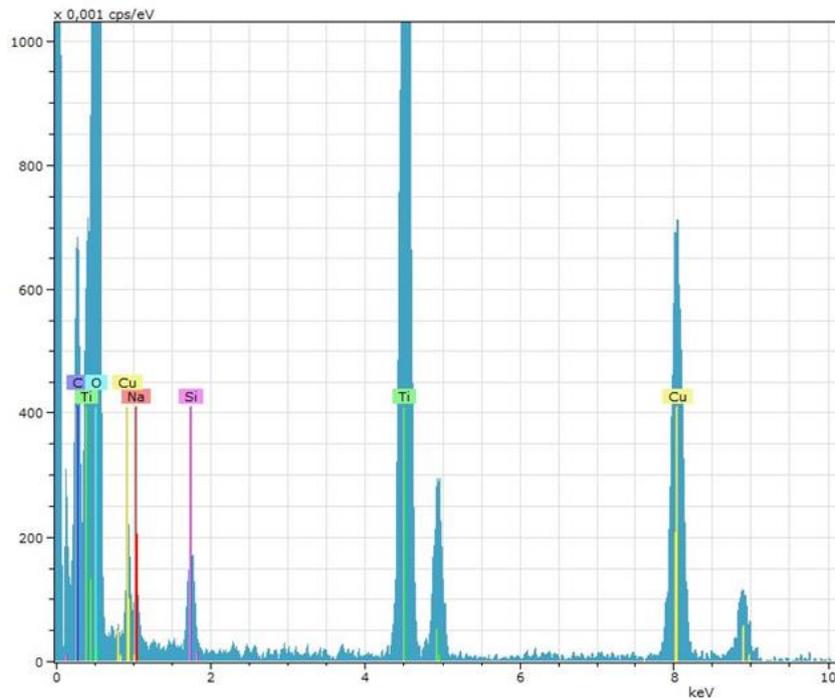


Figure 49 : Analyse EDS des NPs de NM-102

L'analyse EDS confirme la nature chimique du NM-102 (TiO_x) mais révèle également la présence de silicium à la surface des NPs de TiO_2 comme il est possible de voir sur la cartographie de la [Figure 47](#). Le silicium peut provenir des flacons en verre utilisés pour la préparation et le stockage des suspensions, ou bien du processus de production du TiO_2 qui utilise de l'ilménite (FeTiO_3) et qui peut contenir des traces de silice ([Gázquez et al., 2014](#)). L'analyse EDS ([Figure 49](#)) révèle également la présence de cuivre qui provient de la grille du support du MET.

En somme, les caractéristiques des NPs de TiO_2 du NM-102 se résument à une structure cristalline *anatase*, avec une masse volumique de $3,94 \pm 0,23 \text{ g/cm}^3$ et une surface spécifique de $79,1 \pm 0,8 \text{ m}^2/\text{g}$ et avec un diamètre moyen de 20 à 30 nm. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues par le JRC ([Rasmussen et al., 2014](#)).

Nous allons ensuite nous intéresser à la charge de surface de ces NPs ainsi qu'à celle des membranes AF4 dans différents types de milieux. Le but étant d'améliorer la compréhension du comportement des NPs lors de leur séparation en AF4-ICP-MS.

III.3 Evaluation du potentiel zêta des NPs de TiO₂ du NM-102 et des membranes AF4

Comme discuté dans le [paragraphe II.8.5.5](#), la nature de l'éluant peut influencer la séparation des NPs en raison de la variation de différents paramètres comme le pH, la force ionique ou la présence de tensioactifs ([Dubascoux et al., 2008](#) ; [Ulrich et al., 2012](#) ; [Bendixen et al., 2014](#) ; [Correia et al., 2018](#)). Ces différents paramètres peuvent modifier le potentiel zêta des particules ou des membranes, ce qui peut avoir pour conséquence de modifier le taux de récupération ou l'agglomération des NPs via des interactions électrostatiques ([Bendixen et al., 2014](#)). C'est pourquoi, dans cette partie, le potentiel zêta sera évalué en fonction des différents paramètres. Pour cela, les méthodes utilisées sont la diffusion dynamique de la lumière et l'électrophorèse laser doppler, dont les principes sont présentés au préalable, dans les [paragraphe II.6](#) et [II.7](#) respectivement.

III.3.1 Réactifs

Toutes les solutions ont été préparées en utilisant de l'eau ultrapure obtenue par un système Millipore (Direct-Q). L'acide nitrique (HNO₃, suprapur, 65% m/m), l'hydroxyde de sodium (NaOH, suprapur, 30% m/m) et le nitrate de sodium (NaNO₃, > 99,5%) proviennent de la société Merck (Darmstadt, Allemagne). Le dodécylsulfate de sodium (SDS, ≥ 99%), le cetyltriméthylammonium chloride (CTAC, ≥ 98%) et le Triton X-100 ont été achetés à la société Sigma Aldrich (Saint Louis, USA). Le FL-70 a été commandé à la société Fischer Scientific (Hampton, USA). Sa composition étant complexe, elle est détaillée dans le [Tableau 8](#).

Tableau 8 : Liste des composés du FL-70

Fraction (%)	Composé
88,8%	Water
3,8%	Triethanolamine oleate
2,7%	Carbonate de sodium
1,8%	Alcools, C12-14-secondaire, ethoxylé
1,4%	Tetrasodium ethylenediaminetetraacetate
0,9%	Polyéthylène glycol
0,5%	Oléate de sodium
0,1%	Bicarbonate de sodium

Une suspension mère de NM-102 à 1 g/L a été préparée dans de l'eau ultrapure et stockée à température ambiante à l'abri de la lumière. Avant chaque utilisation de la suspension mère de NM-102, celle-ci est passée dans un bain à ultrasons pendant 15 min à température ambiante afin de disperser les NPs. Toutes les suspensions de NM-102 ont été analysées dans les 30 min suivant leurs préparations et sont à nouveau passées dans un bain à ultrasons pendant 30 s, avant l'analyse. Toutes les solutions contenant des tensioactifs sont préparées de façon à obtenir une concentration finale correspondant à 50% de la Concentration Micellaire Critique (CMC) de chaque tensioactif. Les CMC sont données par le fournisseur ou déterminées par mesure de la conductivité (paragraphe III.3.2).

III.3.2 Détermination expérimentale des Concentrations Micellaires Critiques (CMC) des tensioactifs

La CMC correspond à la quantité minimum à partir de laquelle les tensioactifs vont former naturellement des micelles, qui sont des agrégats microscopiques (Figure 50).

Afin d'avoir une comparaison pertinente entre les différents tensioactifs employés, il a été jugé plus approprié de les comparer en utilisant des concentrations égales par rapport à leur CMC et non par rapport à leur concentration molaire. C'est pourquoi il est nécessaire de déterminer la CMC de ces tensioactifs.

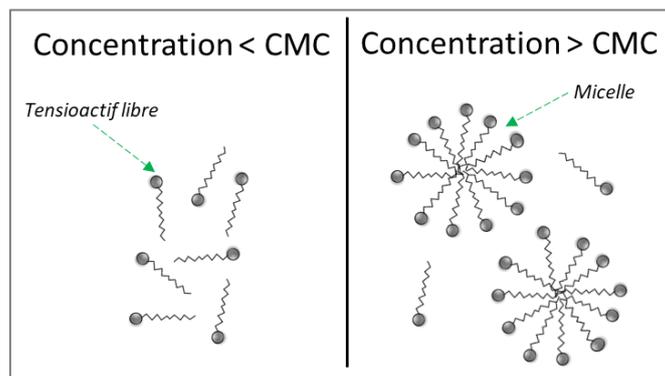


Figure 50 : Exemple de comportement d'une substance tensioactive par rapport à sa CMC

Les quatre tensioactifs étudiés lors de ces travaux sont : le SDS qui est un tensioactif anionique, le CTAC qui est un tensioactif cationique, le Triton X-100 qui est un tensioactif non ionique et le FL-70 qui est un mélange de plusieurs composés (Tableau 8). Seule la CMC du Triton X-100 était indiquée par le fournisseur, nous l'avons évalué pour les trois autres.

III.3.2.1 Méthode

La mesure de la conductivité d'une solution avec une concentration croissante de tensioactif permet de déterminer sa CMC. En effet, lorsque les tensioactifs forment des micelles, les charges électriques se déplacent moins facilement et cela impacte la courbe de conductivité. Celle-ci est mesurée dans un bécher contenant 35 mL d'eau ultrapure, dans lequel est ajouté progressivement le tensioactif. La concentration des solutions mères de tensioactifs est de 77,8 mM pour le SDS, 75 mM pour le CTAC et 10% (m/m) pour le FL-70 (La concentration du FL-70 ne peut être exprimée en concentration molaire puisque c'est un mélange de plusieurs composés). La conductivité est enregistrée après chaque ajout de 50 μ L de solution de tensioactif. L'expérience est réalisée à température ambiante à l'aide de l'électrode de l'Analyseur électrocinétique SurPASS (Anton Paar GmbH, Vienne, Autriche).

III.3.2.2 Résultats

L'observation des droites de la conductivité obtenues (Figure 51) permet de déterminer la CMC, qui correspond au point d'intersection de la première droite de conductivité (tensioactif libre) avec la deuxième droite de conductivité (formation des micelles et diminution de la conductivité).

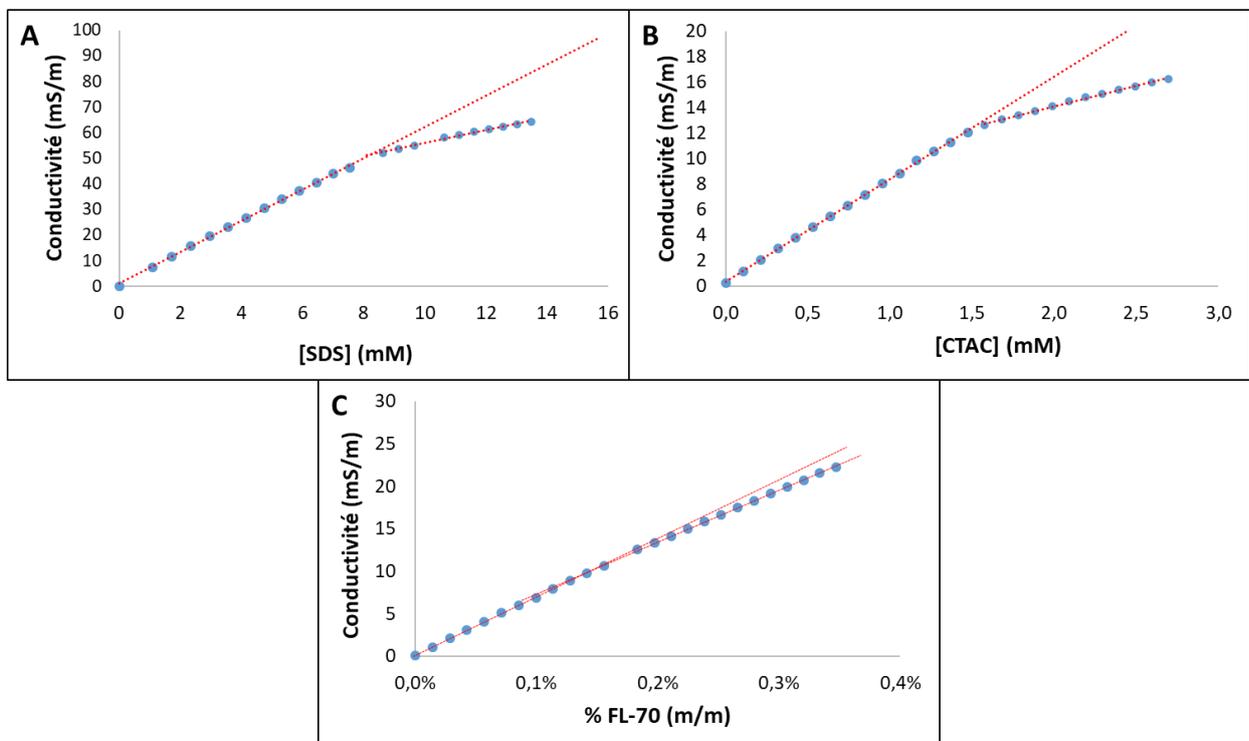


Figure 51 : Variation de la conductivité en fonction de la concentration du SDS (A), du CTAC (B) et du FL-70 (C)

Pour le SDS et le CTAC, le point d'inflexion de la courbe qui indique la formation de micelles se distingue sans difficulté (Figure 51A et B). A partir de ce point, deux droites de tendance sont déterminées et le calcul de la CMC s'effectue à partir de l'équation de chaque droite (Équation 9).

Équation 9

$$CMC = \frac{(b_2 - b_1)}{(a_1 - a_2)}$$

avec :

a_1 : pente de la droite correspondante aux tensioactifs libres

a_2 : pente de la droite correspondante aux micelles

b_1 : ordonnée à l'origine de la droite correspondante aux tensioactifs libres

b_2 : ordonnée à l'origine de la droite correspondante aux micelles

Pour le FL-70, le point de rupture de la pente est plus difficile à déterminer (Figure 51C). Cela est probablement dû à la présence de nombreux composés dans ce mélange, (Tableau 8) dont le bicarbonate de sodium (NaHCO_3) et le carbonate de sodium (Na_2CO_3) qui augmentent fortement la conductivité et peuvent alors minimiser l'impact de la formation des micelles sur la conductivité de la solution.

Les CMC calculées sont répertoriées dans le Tableau 9. Les valeurs de CMC du SDS et du CTAC correspondent à celles retrouvées dans la littérature (Mukerjee and Mysels, 1972) tandis que pour le FL-70, la CMC n'est pas documentée.

Tableau 9 : CMC des différents tensioactifs étudiés

Tensioactif	CMC (mM)	CMC (% m/m)	50% CMC (mM)	50% CMC (% m/m)
SDS	8,3	0,24	4,13	0,12
CTAC	1,5	0,05	1,26	0,025
Triton X-100	0,24 ^a	0,01	0,12	0,005
FL-70	-	0,175	-	0,088

^a Indiquée par le fournisseur

Après avoir obtenu les CMC des différents tensioactifs, le potentiel zêta des particules sera étudié en fonction de plusieurs paramètres dont la présence de tensioactif. La concentration utilisée pour ces derniers est fixée à 50% de la CMC afin de ne pas avoir de micelles qui pourraient interférer avec les mesures de taille, tout en ayant une présence significative de tensioactifs.

III.3.3 Détermination du potentiel zêta et du diamètre hydrodynamique des NPs de TiO₂ du NM-102

III.3.3.1 Méthode

Une suspension de NM-102 à 10 mg/L a été utilisée pour réaliser les analyses. Avant chaque mesure, le pH est ajusté à 9 par ajout de NaOH et l'échantillon est passé aux ultrasons pendant 30 s. Un volume de la suspension de 12 mL est prélevé pour effectuer les mesures du potentiel zêta. Une titration automatique avec de l'acide nitrique (0,14 mol/L) permet de diminuer le pH progressivement de 9 à 3. Le potentiel zêta et le diamètre hydrodynamique sont mesurés en triplicata à chaque valeur de pH et leurs moyennes sont utilisées pour le traitement de données. Le modèle Smoluchowski est utilisé pour le calcul du diamètre hydrodynamique. Ce modèle utilise l'équation de Stokes-Einstein ([Annexe A, Équation A10](#)). Enfin, le modèle du nombre sera utilisé pour calculer les diamètres hydrodynamiques car il favorise les petits diamètres, contrairement au modèle du volume ([paragraphe II.6](#)).

Pour l'évaluation de l'influence de la force ionique sur la séparation des NPs, quatre suspensions de NM-102 (10 mg/L) ont été préparées à cinq concentrations différentes en NaNO₃ : 0 ; 1 ; 5 ; 10 et 30 mM. Pour évaluer l'influence des tensioactifs, quatre types de tensioactif différents ont été utilisés : SDS (anionique), CTAC (cationique), Triton X-100 (non ionique) et FL-70 (anionique + autres composés). La concentration des tensioactifs est égale à 50% de leur CMC ([Tableau 9](#)).

III.3.3.2 Résultats

III.3.3.2.1 Évaluation de l'influence de la force ionique et du pH

Les valeurs des potentiels zêta en fonction du pH et pour différentes forces ioniques sont présentées dans la [Figure 52A](#). La première constatation est que le NM-102 ne possède pas de Point IsoElectrique (IEP), point pour lequel la somme des charges de surface est nulle ([Figure 52A](#)), quel que soit le pH et la concentration de NaNO₃ étudiés ici. Il semble que si la gamme de pH avait été élargie, alors l'IEP pourrait s'estimer aux alentours de 1,5-2. Le potentiel zêta reste négatif sur toute la gamme de pH évaluée, ce qui est similaire aux résultats obtenus par [Freyre-fonseca et al. \(2016\)](#) avec un IEP à pH ≈ 2 pour une suspension de TiO₂ provenant du fournisseur de Sigma-Aldrich et un lot de E171 dans de l'eau. A l'inverse, ([Dudefoi et al., 2017](#)) obtiennent un IEP à pH ≈ 2 pour un échantillon de TiO₂. Cette différence peut s'expliquer par la présence de silice à la surface des NPs qui a été observée ([Figure 47](#)) qui possède un IEP entre 2 et 4 ([Lin et al., 2002](#) ; [Teleki et al., 2008](#) ; [Chen et al., 2010](#)). Il semble que le potentiel zêta augmente légèrement avec la force ionique. Cela est cohérent puisqu'avec l'ajout

d'ions en solution, la densité des charges augmente et cela comprime la double couche électrique autour des particules. Cette compression se traduit par une diminution des charges autour de la particule et des valeurs de potentiel zêta qui tendent vers 0 mV (Dubascoux *et al.*, 2008).

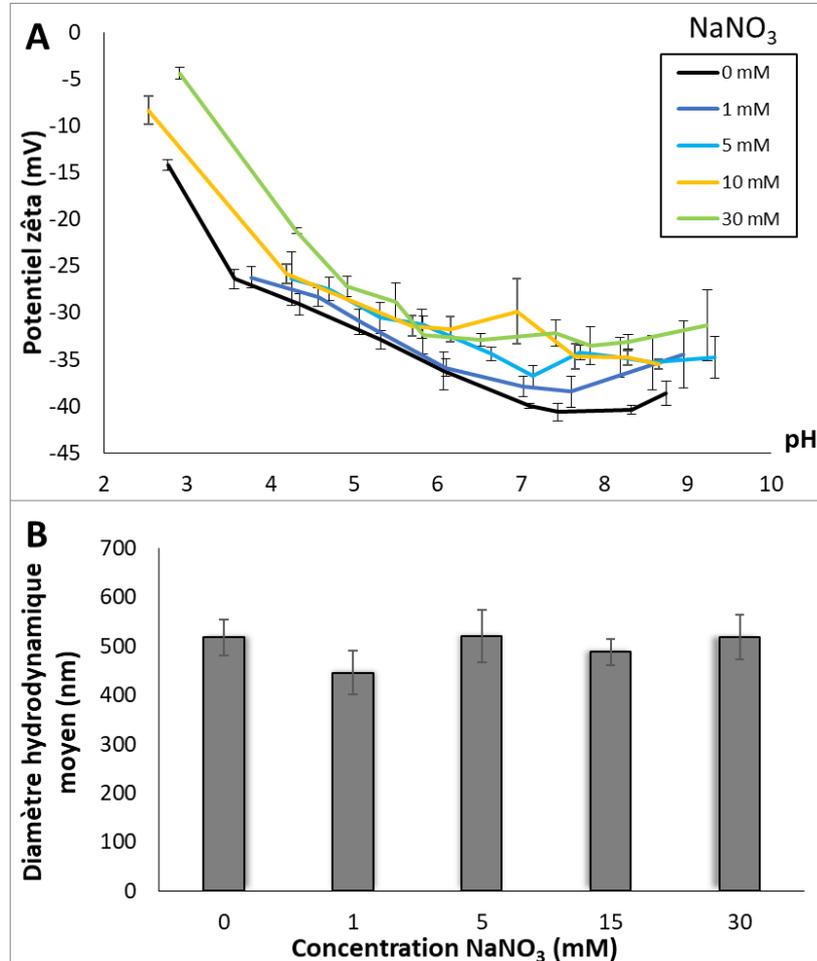


Figure 52 : Variation du potentiel zêta (A) et du diamètre hydrodynamique (B) du NM-102 en fonction du pH et de la force ionique (modifiée par ajout de NaNO₃)

La Figure 52B présente le diamètre hydrodynamique moyen du NM-102 pour chaque condition de force ionique car il s'avère qu'une seule population en taille est observée et que celle-ci n'est pas modifiée avec la variation de pH (Annexe B, Figure B1). D'après les résultats de la Figure 52B, les diamètres obtenus varient entre 450 et 520 nm pour toutes les conditions de force ionique et ne présentent pas de différences significatives en tenant compte des incertitudes de répétabilité. Ces tailles sont nettement supérieures aux diamètres mesurés par MET (Figure 48) et à ceux mesurés par le JRC (Rasmussen *et al.*, 2014). Cela signifie que les particules ont formé des agglomérats. En effet, pour toutes les conditions de force ionique, le logiciel calcul un Indice de PolyDispersité (PDI) qui est systématiquement supérieur à 0,57. Le maximum de cette valeur étant 1, cela confirme une forte variation

en taille des NPs dû aux agglomérats présents au sein de la suspension de NM-102. La présence d'agglomérats peut biaiser les tailles mesurées puisque les plus grosses particules diffusent plus de lumière que les plus petites particules (paragraphe II.6). Par conséquent, il est important d'utiliser des méthodes complémentaires plus précises pour mesurer la taille des NPs dans le NM-102, comme l'AF4-ICP-MS qui permet de séparer les particules en fonction de leur taille.

III.3.3.2.2 Évaluation de l'influence de la présence de tensioactifs et du pH

Concernant l'évaluation de l'influence des tensioactifs sur le potentiel, puisqu'il a été vu que le potentiel zêta est dépendant de la force ionique, les suspensions de NM-102 avec tensioactifs ont été analysées à deux conditions de forces ioniques, à savoir, sans NaNO_3 ou à une concentration de 10 mM de NaNO_3 . En comparant les résultats présentés dans la Figure 53A-B, les différences sont très faibles entre les deux conditions de force ionique. A l'inverse, l'ajout de tensioactifs modifie significativement les valeurs de potentiel zêta.

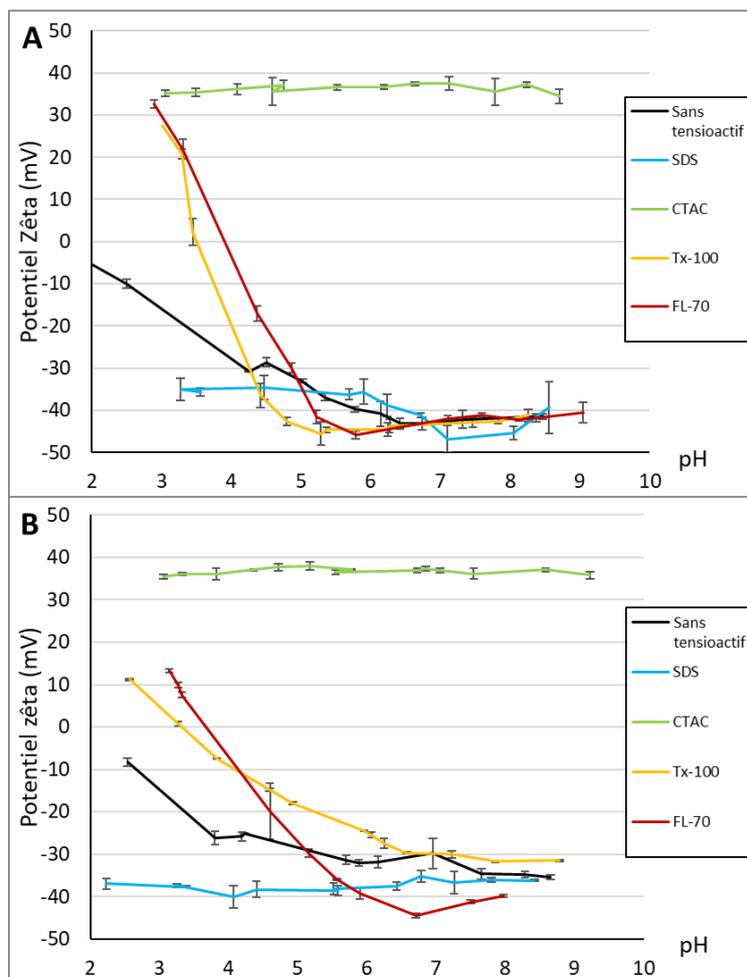


Figure 53 : Variation des potentiels zêta des NPs de TiO_2 en fonction du pH et de l'addition de différents tensioactifs avec une concentration en NaNO_3 de 0 mM (A) et 10 mM (B)

Le SDS, qui est un tensioactif anionique, permet de conserver un potentiel zêta négatif sur toute la gamme de pH, alors qu'avec un tensioactif cationique, CTAC, le potentiel zêta reste positif. Pour les tensioactifs Triton X-100 et FL-70, un IEP est atteint pour une valeur de pH \approx 3,5. Ces résultats mettent clairement en avant le rôle que peuvent avoir les tensioactifs sur les charges de surface des NPs. En tenant compte de ces résultats, le SDS et le CTAC sont les tensioactifs les plus efficaces car ils permettent de conserver un potentiel zêta négatif ou positif élevé aux NPs, ce qui favoriserait les répulsions entre particules.

Concernant le diamètre hydrodynamique ([Annexe B, Figure B2](#)), il n'y a pas de variations observées malgré la présence des différents tensioactifs, avec des diamètres compris entre 400 à 600 nm. La présence de tensioactifs ne semble donc pas améliorer significativement la dispersion des NPs. Le PDI moyen pour chaque condition d'éluant varie entre 0,51 et 0,59 ce qui est similaire aux résultats obtenus sans tensioactif. Cela témoigne également de la présence d'agglomérats qui peuvent biaiser les tailles obtenues par DLS. Il est alors nécessaire d'évaluer l'influence des tensioactifs sur la dispersion des particules avec la méthode AF4-ICP-MS afin de séparer les particules en fonction de leur taille.

III.3.4 Détermination du potentiel zêta des membranes AF4

III.3.4.1 Méthode

La membrane étudiée ici est constituée de Cellulose Régénérée (RC) avec un seuil de coupure de 10 kDa. C'est la membrane la plus utilisée pour l'analyse de NPs de TiO₂ en AF4 (Tableau 6). Le côté de la membrane exposé aux NPs lors de l'analyse par AF4-ICP-MS est le côté qui sera étudié avec l'analyseur électrocinétique, dont le principe est présenté dans le paragraphe II.8.7. Un volume de 500 mL d'éluant est préparé et avant chaque mesure, son pH est ajusté à 9 par ajout de NaOH. Le potentiel zêta est mesuré en fonction de plusieurs paramètres : pH, force ionique et présence d'un tensioactif. Pour le pH, un système d'autotitration intégré à l'appareil permet de diminuer progressivement le pH à 3 (HNO₃ 0,3 M). Pour évaluer l'impact de la force ionique, plusieurs éluants contenant différentes concentrations en NaNO₃ sont utilisés : 0 ; 1 ; 5 ; 10 et 30 mM. Enfin, l'influence des tensioactifs SDS, CTAC, Triton X-100 et FL-70 est aussi évaluée.

III.3.4.2 Résultats

III.3.4.2.1 Évaluation de l'influence de la force ionique et du pH

L'influence du pH et de la force ionique sur le potentiel zêta des membranes RC 10 kDa est présentée dans la Figure 54.

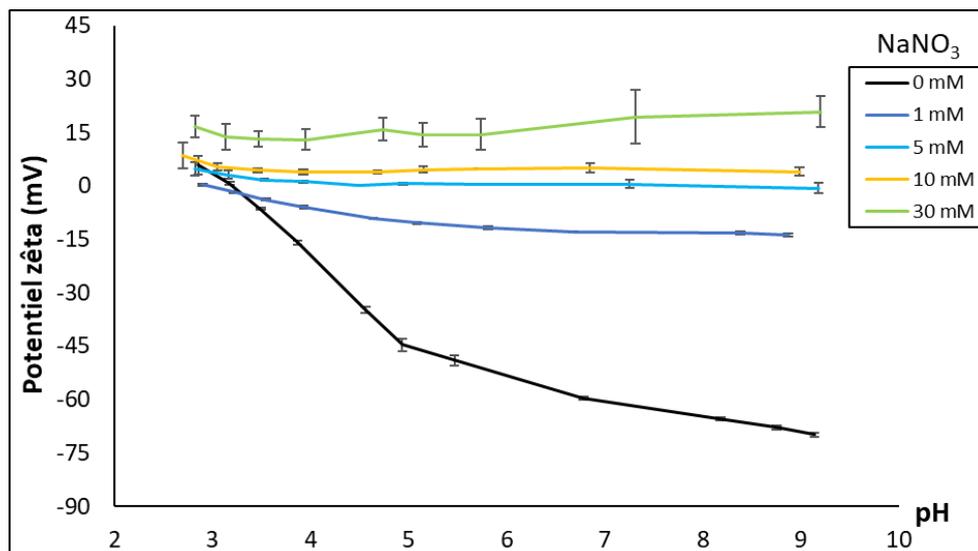


Figure 54 : Potentiel zêta des membranes RC 10 kDa en fonction du pH et de la force ionique

Ces résultats montrent que la force ionique joue un rôle important sur les charges de surface et peut même changer le signe du potentiel zêta de la membrane. Plus la concentration en NaNO_3 augmente, plus le potentiel zêta augmente. Pour des concentrations en NaNO_3 de 0 et 1 mM, le potentiel zêta reste négatif sur la quasi-totalité de la gamme de pH évaluée, avec un IEP aux alentours de $\text{pH} = 3$. Pour des concentrations en $\text{NaNO}_3 > 5$ mM, la membrane devient positive dès $\text{pH} 9$. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans d'autres études ([Bendixen et al., 2014](#) ; [Meisterjahn et al., 2016](#)). On remarque qu'en l'absence de NaNO_3 , le pH influe significativement sur le potentiel zêta. Cela est probablement dû à la protonation des groupements hydroxyles présents à la surface de la membrane RC. Cet effet est atténué mais reste encore observable avec 1 mM de NaNO_3 alors que pour des concentrations plus fortes en NaNO_3 , le pH ne semble plus avoir d'impact sur le potentiel zêta. Pour les conditions avec des concentrations en $\text{NaNO}_3 \geq 5$ mM, ces résultats sont probablement dus à l'augmentation de la concentration en ions Na^+ provenant du NaNO_3 qui viennent remplir la couche électrique proche de la membrane et augmente ainsi son potentiel zêta. En effet, ces ions peuvent interagir avec les fonctions éther et hydroxyle de la membrane RC. Ainsi, lors de la diminution du pH (ajout d'acide), les ions Na^+ provenant de NaNO_3 et H_3O^+ issu de HNO_3 , entrent en compétition pour ces sites de surface. Or, les ions Na^+ sont significativement plus concentrés que les ions H_3O^+ pour la gamme de pH étudiée, ce qui conforte l'observation du faible impact du pH sur le potentiel zêta.

III.3.4.2.2 Évaluation de l'influence de la présence de tensioactifs et du pH

La force ionique a une influence importante sur le potentiel zêta de la membrane, contrairement à la suspension de NPs de TiO_2 ([Figure 52A](#)). De même que pour les NPs, les deux concentrations en NaNO_3 choisies sont 0 et 10 mM pour évaluer l'impact des tensioactifs sur le potentiel zêta des membranes. Ces deux conditions permettent d'avoir, dans le premier cas, une membrane chargée initialement négativement et dans l'autre cas, une membrane chargée initialement positivement. Les variations du potentiel zêta en fonction du pH et du type de tensioactif sont présentées dans la [Figure 55](#).

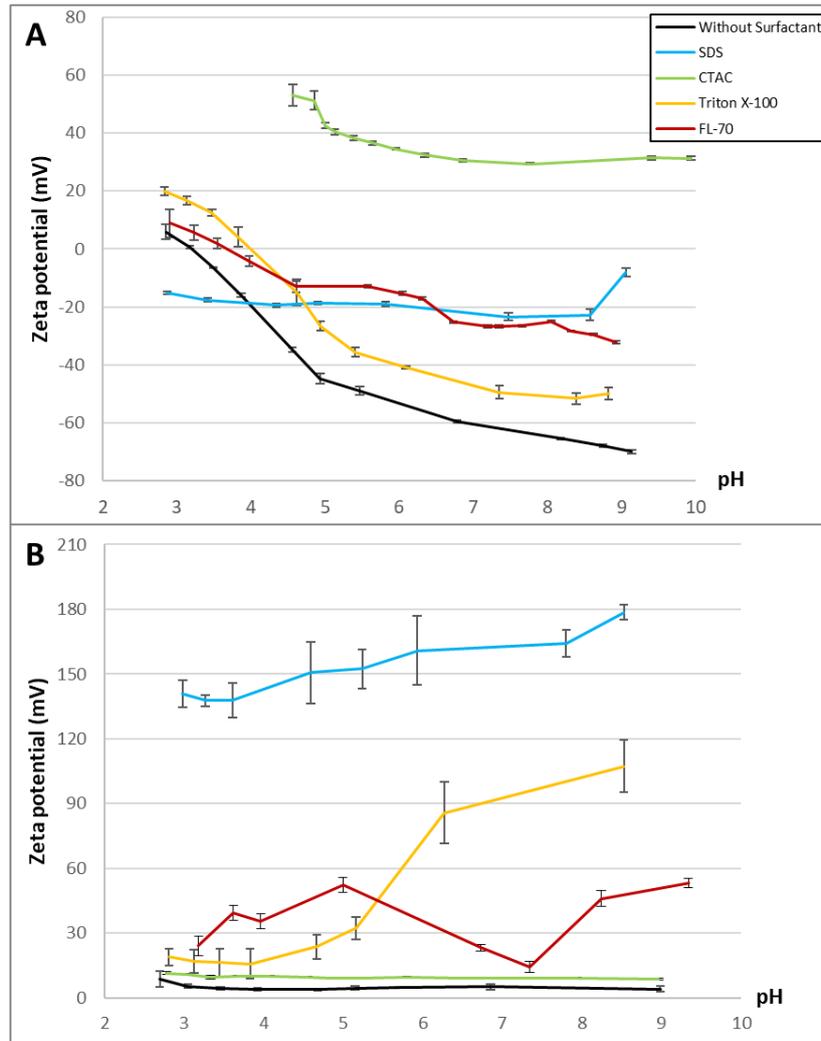


Figure 55 : Potentiel zêta des membranes AF4 (RC 10 kDa) en fonction du pH et de la présence de différents tensioactifs à 50% de leur CMC avec du NaNO₃ à 0 mM (A) et 10 mM (B)

Dans le cas où il n'y a pas de NaNO₃ (Figure 55A), le potentiel zêta de la membrane qui était négatif initialement est tout de même positif avec le tensioactif cationique CTAC, ce qui indique que celui-ci influe bien sur la charge de surface de la membrane de façon à avoir un potentiel positif sur toute la gamme de pH étudiée. A l'inverse, le tensioactif anionique SDS fournit un potentiel zêta négatif à la membrane sur toute la gamme de pH testée. Il est intéressant de noter que la valeur du potentiel zêta de la membrane est moins négative en présence de SDS, comparée à la valeur du potentiel zêta obtenue sans tensioactif, sur la gamme de pH 4 à 9. Cela s'explique par la présence d'ions Na⁺ apportés par le SDS. Or, il a été observé que la présence de ces ions augmente la valeur du potentiel zêta de la membrane (Figure 54). La même tendance est observée avec le FL-70, constitué de plusieurs composants dont certains pouvant apporter des ions Na⁺ (Tableau 8). L'IEP est déterminé aux alentours de 3,5-4 pour les conditions sans tensioactif, avec Triton X-100 et avec FL-70.

Dans le cas de la présence de NaNO_3 à 10 mM (Figure 55B), toutes les conditions d'éluant testées permettent d'obtenir un potentiel zêta de membrane positif sur toute la gamme de pH. Les valeurs obtenues avec le SDS sont étonnamment très élevées (130-180 mV) même si la forte concentration d'ions Na^+ participe à l'augmentation de la valeur du potentiel zêta. Avec le Triton X-100, la membrane présente un potentiel zêta élevé pour un pH compris entre 5 et 9. Ce tensioactif étant non ionique permet peut-être de rapprocher les ions Na^+ de la membrane par effet stérique, ce qui stabiliserait la couche électronique. La membrane avec le FL-70 possède un potentiel zêta plus élevé que celui obtenu sans tensioactif, ce qui est probablement dû à la présence de composés ioniques dans le FL-70 (Tableau 8).

III.3.5 Choix des conditions d'éluant pour l'analyse AF4-ICP-MS

Tous les résultats portant sur les potentiels zêta des NPs et membranes sont résumés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Synthèse des signes des potentiels zêta des particules et de la membrane RC 10 kDa, obtenus en fonction de la présence de tensioactif, de la force ionique et du pH de l'éluant. Les conditions retenues pour les analyses AF4-ICP-MS sont encadrées en pointillé.

Tensioactif	Sans tensioactif		SDS		CTAC		Triton X-100		FL-70	
	< 5 mM	> 5 mM	0 mM	10 mM	0 mM	10 mM	0 mM	10 mM	0 mM	10 mM
Concentration NaNO_3										
Potentiel zêta des particules										
Potentiel zêta des membranes	 IEP = 3,2						 IEP = 4		 IEP = 3,5	

Il est nécessaire de sélectionner des conditions qui permettent d'évaluer l'impact du potentiel zêta sur l'analyse AF4-ICP-MS. Ces conditions ont pu être choisies grâce au Tableau 10, qui résume les signes des potentiels zêta des particules et membranes. Ainsi, les conditions qui favorisent les répulsions ou attractions électrostatiques entre particules et membranes ont pu être identifiées. Par exemple, le SDS sans NaNO_3 permet d'avoir une membrane et des particules chargées négativement, ce qui favoriserait les répulsions électrostatiques. A l'inverse, en présence de NaNO_3 , la membrane se charge positivement, ce qui faciliterait les attractions électrostatiques et potentiellement des pertes de particules sur la membrane. Les conditions finalement retenues sont répertoriées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Potentiels zêta des NPs de TiO₂ (NM-102) et des membranes AF4 (RC 10 kDa) obtenus pour différentes conditions de phase mobile

Condition de la phase mobile	Potentiel zêta des particules (mV)	Potentiel zêta de la membrane RC 10 kDa (mV)	Type d'interaction électrostatique particules-membrane attendue
Sans tensioactif NaNO ₃ = 0 mM pH = 5,5-6	- 39,7	- 49,0	Répulsion
SDS NaNO ₃ = 0 mM pH = 5,5-6	- 36,0	- 19,1	Répulsion
CTAC NaNO ₃ = 0 mM pH = 5,5-6	+ 36,5	+ 36,0	Répulsion
Triton X-100 NaNO ₃ = 0 mM pH = 7,5	- 42,0	- 49,5	Répulsion
FL-70 NaNO ₃ = 0 mM pH = 9	- 40,5	- 32,2	Répulsion
Sans tensioactif + NaNO ₃ (10 mM) pH = 5,5-6	- 31,4	+ 4,8	Attraction
SDS NaNO ₃ (10 mM) pH = 5,5-6	- 38,5	+ 18,6	Attraction

Parmi ces conditions, cinq ont été choisies car elles favorisent les répulsions électrostatiques et se différencient en utilisant chacune un tensioactif différent (SDS, CTAC, Triton X-100, FL-70 et sans tensioactif). Cela permettra d'évaluer l'impact de la composition de l'éluant, en plus des interactions électrostatiques. Deux conditions favorisant les attractions électrostatiques ont aussi été sélectionnées à savoir, un éluant sans présence de tensioactif mais avec NaNO₃ à 10 mM et un éluant avec du SDS et 10 mM de NaNO₃. Ces deux conditions pourront être comparées directement avec les mêmes éluants sans NaNO₃, qui eux, favorisent les répulsions électrostatiques. Le choix de ces différentes conditions va permettre d'évaluer l'influence des interactions électrostatiques mais aussi l'influence des différents tensioactifs sur la séparation des particules. Le pH indiqué dans le [Tableau 11](#) correspond au pH sans ajustement, excepté pour le Triton X-100 dont le pH a été augmenté par ajout de NaOH pour éviter d'être proche de l'IEP. Le FL-70 tamponne naturellement le pH aux alentours de 9.

III.4 Analyses des NPs de TiO₂ du NM-102 par AF4-ICP-MS

III.4.1 Méthode

III.4.1.1 Instrument

Le principe de la séparation AF4 est détaillé dans le [paragraphe II.8](#). Le système AF4 utilisé pour ces travaux est composé d'un système HPLC (1260 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) modifié avec un contrôleur de flux (Eclipse, Wyatt Technology, Goleta, USA) et un canal de séparation de 275 mm de longueur et 50 mm de largeur, avec un espaceur de 350 µm. Pour mesurer la taille des particules, le système est couplé à un détecteur de diffusion de la lumière multi angles (MALS) de Wyatt Technology (Goleta, USA), il est composé de 18 photodétecteurs et les diamètres de giration ([paragraphe II.8.6](#)) sont mesurés à un angle de 90°. Enfin, un ICP-MS Agilent 7700x (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) est couplé au système pour quantifier les NPs de TiO₂. L'isotope analysé est le ⁴⁷Ti et les paramètres d'analyses restants sont présentés en annexe ([Annexe B, Tableau B1](#)).

III.4.1.2 Changement de membrane

Chaque analyse AF4-ICP-MS a été effectuée en utilisant une membrane neuve (RC 10 kDa) qui est conditionnée en amont dans de l'eau ultrapure durant 24 h. Lors de chaque changement d'éluant, une nouvelle membrane est utilisée afin d'avoir des conditions identiques. Après la mise en place de chaque nouvelle membrane dans le canal, l'étape de concentration-relaxation est vérifiée en utilisant une solution de bleu dextran (Wyatt Technology) à 10 g/L. L'usage de ce colorant permet d'observer la ligne de concentration ([Figure 31](#)). L'avancement de cette ligne sur le canal peut alors être réglé en modifiant le flux croisé durant l'étape de concentration-relaxation. Par conséquent, à chaque changement de membrane, cette ligne de concentration est ajustée au même niveau pour toutes les analyses ([Figure 56](#)).

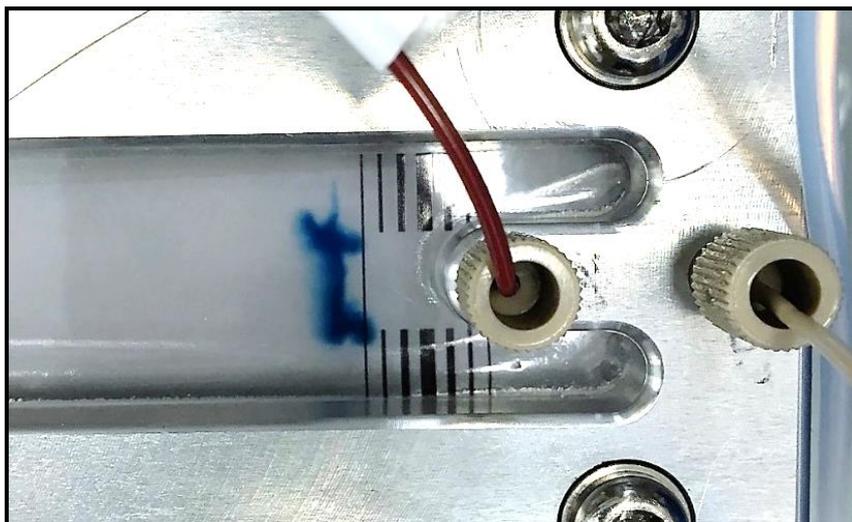


Figure 56 : Ligne de concentration visible avec du bleu dextran durant l'étape de concentration-relaxation

Les paramètres du programme d'éluion pour contrôler la ligne de concentration sont présentés dans le [Tableau 12](#).

Tableau 12 : Paramètres du programme d'éluion pour contrôler la ligne de concentration avec le bleu dextran

Flux primaire (mL/min)	1
Débit d'injection (mL/min)	0,2
Flux croisé (mL/min)	2
Temps de l'étape de concentration-relaxation (min)	8
Temps d'injection (min)	1
Elution	Flux croisé constant à 2 mL/min pendant 2 min Ensuite, flux croisé à 0,11 mL/min pendant 5 min

III.4.1.3 Conditionnement du système

Après la mise en place de la nouvelle membrane, l'eau ultrapure, qui sert de phase mobile lors du nettoyage du système, est remplacée par la phase mobile d'intérêt. Le système est ensuite mis à l'équilibre durant 48 h avec un flux primaire constant de 1 mL/min et un flux croisé à 0,6 mL/min. Pendant cette période, plusieurs injections (minimum 3) de suspension de NM-102 à 10 mg/L sont effectuées dans le but de passiver la membrane ([Benincasa and Giddings, 1992](#) ; [Ulrich et al., 2012](#)).

III.4.1.4 Calcul du taux de récupération des NPs

Le taux de récupération des NPs est calculé en comparant l'aire du signal des NPs lors d'une analyse sans rétention (absence de l'étape de concentration-relaxation et flux croisé nul) avec l'aire du signal avec rétention (avec flux croisé et étape de concentration-relaxation). Il est généralement admis mais non vérifié, que l'analyse sans rétention permet de récupérer 100% des particules (Ulrich et al., 2012 ; Bendixen et al., 2014). Un ratio est ensuite calculé entre les aires des signaux des deux analyses pour déterminer le taux de récupération.

Dans le cadre de ce travail, la quantité réelle de NPs récupérée avec l'analyse sans rétention n'est pas considérée égale à 100% et est calculée pour avoir une meilleure justesse sur le taux de récupération. La concentration en TiO₂ est quantifiée par étalonnage externe avec une gamme de six étalons de NM-102 : 0 ; 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 µg/L en Ti. Les étalons sont préparés dans le même éluant que celui évalué en AF4-ICP-MS. Les analyses de ces étalons se font en mode « Time Resolved Analysis » (TRA) pendant 3 min, avec seulement l'ICP-MS et donc sans le système AF4. Cette étape nous permet d'obtenir une équation classique d'étalonnage (Équation 10).

Équation 10

$$\text{Signal} = a \times [\text{Ti}] + b$$

avec :

Signal : signal obtenu par l'ICP-MS (cps)

a : pente de la droite d'étalonnage (cps/(µg/L))

[Ti] : concentration en titane en µg/L

b : ordonnée à l'origine (cps)

Ensuite, le système AF4-MALS est couplé à l'ICP-MS et une suspension de NM-102 (10 mg/L) est analysée en triplicata sans rétention, c'est-à-dire sans passer par l'étape de concentration-relaxation et sans l'utilisation du flux croisé. Le programme d'élution est présenté dans le [Tableau 13](#).

Tableau 13 : Paramètres du programme d'éluion pour mesurer la concentration du NM-102 sans rétention

Flux primaire (mL/min)	1
Débit d'injection (mL/min)	0,2
Flux croisé (mL/min)	0
Temps de l'étape de concentration-relaxation (min)	0
Temps d'injection (min)	3
Elution	Flux croisé constant à 0 mL/min pendant 30 min

Les données brutes de ces analyses sont ensuite récupérées et converties en concentration à l'aide de l'Équation 10. Une nouvelle courbe peut alors être obtenue et les pics correspondant au TiO₂ sont alors intégrés à l'aide d'une feuille de calcul interne. La masse expérimentale de NM-102 détectée peut alors être déterminée à l'aide de l'Équation 11.

Équation 11

$$m_{\text{expérimentale}} = A_{\text{SR}} \times Q$$

avec :

$m_{\text{expérimentale}}$: masse de Ti détectée par l'ICP-MS (µg)

A_{SR} : aire du pic de Ti pour les conditions sans rétention (µg.s/L)

Q : flux primaire (L/s)

Cette masse expérimentale calculée est ensuite comparée avec la masse théorique injectée pour obtenir le taux de récupération (Équation 12).

Équation 12

$$\text{Taux de récupération}_A = \frac{m_{\text{expérimentale}}}{m_{\text{théorique}}} \times 100$$

avec :

Taux de récupération_A : taux de récupération des particules dans le système AF4-ICP-MS sans rétention (%)

$m_{\text{théorique}}$: masse de Ti réellement injectée (µg)

Ensuite, le triplicata de NM-102 est à nouveau analysé en AF4-ICP-MS mais cette fois avec l'étape de concentration-relaxation ainsi que le flux croisé, afin d'avoir un mécanisme de rétention. Les

paramètres du programme d'éluion sont présentés dans le [Tableau 14](#). Ce programme d'éluion est un programme de base utilisé au laboratoire, recommandé par le fournisseur de l'AF4. Il est identique pour chaque condition d'éluant et n'est donc pas optimisé individuellement. Toutefois, les valeurs des différents flux croisés sont cohérentes par rapport à celles répertoriées dans la littérature ([Tableau 6](#)), notamment avec les études de [López-heras et al. \(2014\)](#) et [Correia et al. \(2018\)](#).

Tableau 14 : Paramètres du programme d'éluion pour mesurer la concentration du NM-102 avec rétention

Flux primaire (mL/min)	1
Débit d'injection (mL/min)	0,2
Flux croisé (mL/min)	0,6
Temps de l'étape de concentration-relaxation (min)	3
Temps d'injection (min)	3
Elution	Flux croisé constant à 0,6 mL/min pendant 3 min Diminution du flux croisé à 0,11 mL/min pendant 5 min Flux croisé constant à 0,11 mL/min pendant 10 min Flux croisé à 0 mL/min pendant 30 min

En utilisant la même méthodologie que pour l'analyse sans rétention, l'aire du signal de Ti obtenue par ICP-MS permet de calculer le taux de récupération des particules en comparant la somme des aires des deux analyses ([Équation 13](#)).

Équation 13

$$\text{Taux de récupération}_B = \text{Taux de récupération}_A \times \frac{A_{AR}}{A_{SR}}$$

avec :

Taux de récupération_B : taux de récupération des particules dans le système AF4-ICP-MS avec rétention (%)

A_{AR} : Aire du pic de Ti pour les conditions avec flux croisés et l'étape de concentration-relaxation (µg.s/L)

Les valeurs de taux de récupération ont été obtenues à partir d'un triplicata d'analyse d'une suspension de NM-102.

III.4.2 Résultats

III.4.2.1 Mesure des tailles des particules

Les NPs de TiO₂ ont été analysées par AF4-MALS-ICP-MS, en se basant sur les conditions présentées dans le [Tableau 11](#). Pour chaque condition, les fractogrammes obtenus avec le MALS sont représentés dans la [Figure 57](#), tandis que la [Figure 58](#), répertorie ceux obtenus par ICP-MS. Les deux conditions favorisant les attractions, à savoir l'éluant avec 10 mM de NaNO₃ ainsi que l'éluant avec SDS à 50% de sa CMC et NaNO₃ à 10 mM, ne sont pas présentées car leur taux de récupération est très faible (voir [paragraphe III.4.2.2](#)) et par conséquent, les informations en taille fournies par le MALS ne sont pas pertinentes.

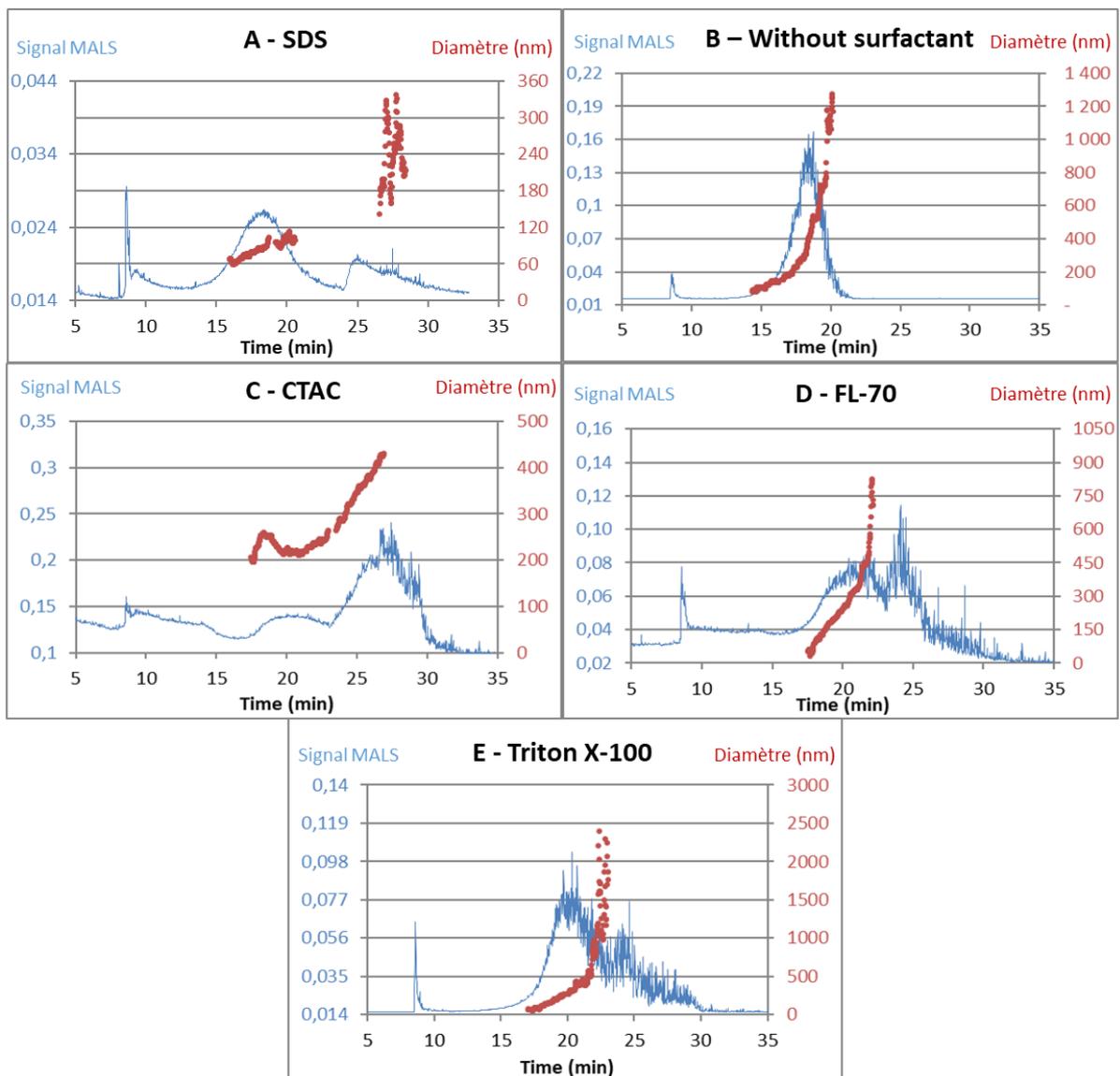


Figure 57 : Signal MALS obtenu et diamètre de giration mesuré lors de l'analyse de NM-102 avec différentes phases mobiles : SDS (A), sans tensioactif (B), CTAC (C), FL-70 (D) et Triton X-100 (E)

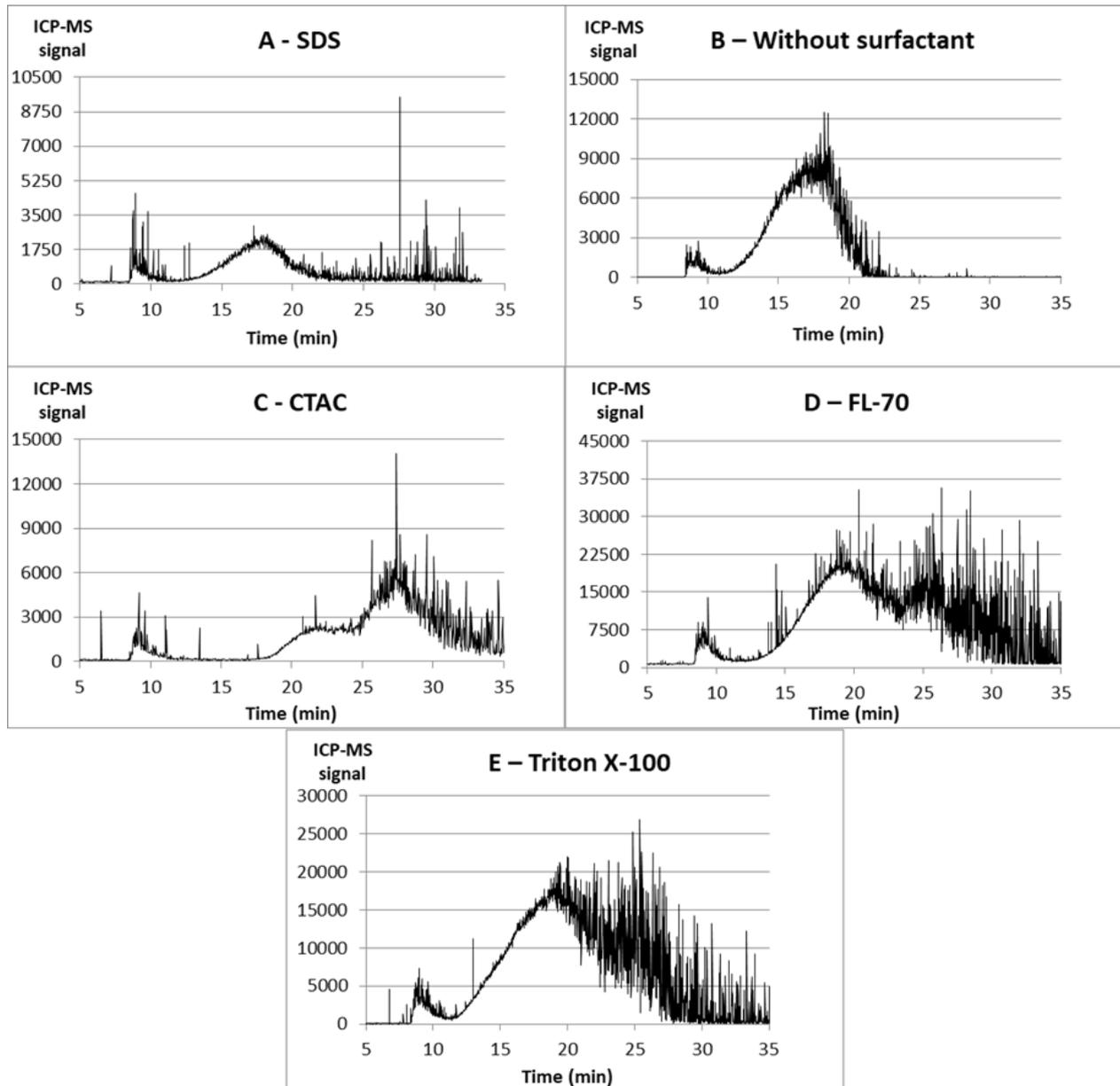


Figure 58 : Signal ICP-MS obtenu lors de l'analyse de NM-102 avec différentes phases mobiles : SDS (A), sans tensioactif (B), CTAC (C), FL-70 (D) et Triton X-100 (E)

En général, les fractogrammes MALS et ICP-MS sont similaires, excepté pour la condition avec le SDS où deux pics sont observés avec le MALS (Figure 57A) et un pic avec l'ICP-MS (Figure 58A). Cette différence peut être expliquée par le fait que le MALS est plus sensible aux agglomérats et aux particules plus grosses, tandis que l'ICP-MS ne détecte seulement que le titane qui compose la particule. Pour les autres conditions testées sur l'ICP-MS (Figure 58B-E), deux phases se distinguent sur les fractogrammes. La première partie de la courbe (< 24 min) est peu bruitée tandis que sur la deuxième partie (24-35 min), le signal est beaucoup plus bruité avec des tailles de particules détectées plus variées que dans la première partie. Cette dernière partie correspond à la fin de l'étape d'élution où le flux croisé est nul, ce qui signifie que les populations observées proviendraient des agglomérats

et des plus grosses particules qui étaient adsorbés sur la membrane et qui se seraient désorbés. La séparation n’a donc pas été optimale et il aurait fallu allonger le temps de l’étape avec un flux croisé non nul ou diminuer le flux primaire.

En ce qui concerne les tailles des particules mesurées par le MALS, les conditions ont été comparées à partir de deux valeurs du diamètre : le diamètre de giration le plus fréquent ainsi que le diamètre de giration mesuré à 10% de la hauteur du pic. Le [Tableau 15](#) répertorie ces différents résultats.

Tableau 15 : Différents types de diamètre de giration du NM-102 mesurés pour chaque condition : diamètre le plus fréquent et diamètre à 10% de la hauteur du pic.

Condition	Sans tensioactif	SDS	CTAC ^a	Triton X-100	FL-70
Diamètre de giration le plus fréquent (nm)	299 ± 27	84 ± 4	224	272 ± 106	305 ± 54
Diamètre équivalent à 10% de la hauteur du pic (nm)	132 ± 12	62 ± 4	196	67 ± 16	55 ± 10

^a Pas d’écart type suite à un problème d’acquisition du MALS

Concernant la condition avec le SDS, les NPs sont assez bien dispersées avec un diamètre le plus fréquent à 84 nm et à 62 nm à 10% de la hauteur du pic. Cette valeur reste cependant supérieure à celle déterminée par le JRC avec le MET qui est de 21 ± 10 nm ([Rasmussen et al., 2014](#)), ce qui traduit une agglomération des particules. Le triton X-100 et le FL-70 permettent d’obtenir des résultats similaires, avec des particules peu agglomérées dans la première partie du pic avec des diamètres respectifs de 67 et 55 nm. Néanmoins, une forte fraction d’agglomérats est présente avec un diamètre le plus fréquent de 272 nm pour le Triton X-100 et 305 nm pour le FL-70. Ces derniers résultats confortent l’idée de devoir allonger le temps de l’étape d’élution avec un flux croisé non nul afin de mieux séparer les NPs dispersées des agglomérats. Les conditions sans tensioactif et avec CTAC fournissent respectivement une valeur de diamètre le plus fréquent de 299 et 224 nm. Ces valeurs sont significativement supérieures au diamètre du NM-102, ce qui signifie que les NPs sont largement agglomérées. Même à 10% de la hauteur du pic, les conditions sans tensioactif et avec CTAC fournissent des diamètres élevés, respectivement, 132 et 196 nm. Par conséquent, ces conditions ne semblent pas adaptées pour l’analyse par AF4-ICP-MS. Les valeurs de potentiel zêta des NPs ([Tableau 11](#)) sont similaires en absolu pour les cinq conditions favorisant les répulsions électrostatiques avec une valeur ≈ ± 30 mV, ce qui devrait permettre une bonne dispersion ([Bihari et al., 2008](#)) des NPs. Etant donné que les diamètres de giration obtenus avec le MALS varient significativement, cela signifie que le choix de la nature chimique de l’éluant semble prépondérant pour bien disperser ces particules plutôt que les interactions électrostatiques.

En conclusion, le SDS, le Triton X-100 et le FL-70 sont les tensioactifs les plus intéressants à employer pour l'analyse de NPs de TiO₂ en AF4-ICP-MS puisqu'avec ces conditions, ils permettent d'obtenir une fraction de NPs peu agglomérées.

III.4.2.2 Détermination du taux de récupération des particules

Les taux de récupération des particules obtenus suivant la méthode décrite dans le [paragraphe III.4.1.4](#) sont présentés dans la [Figure 59](#).

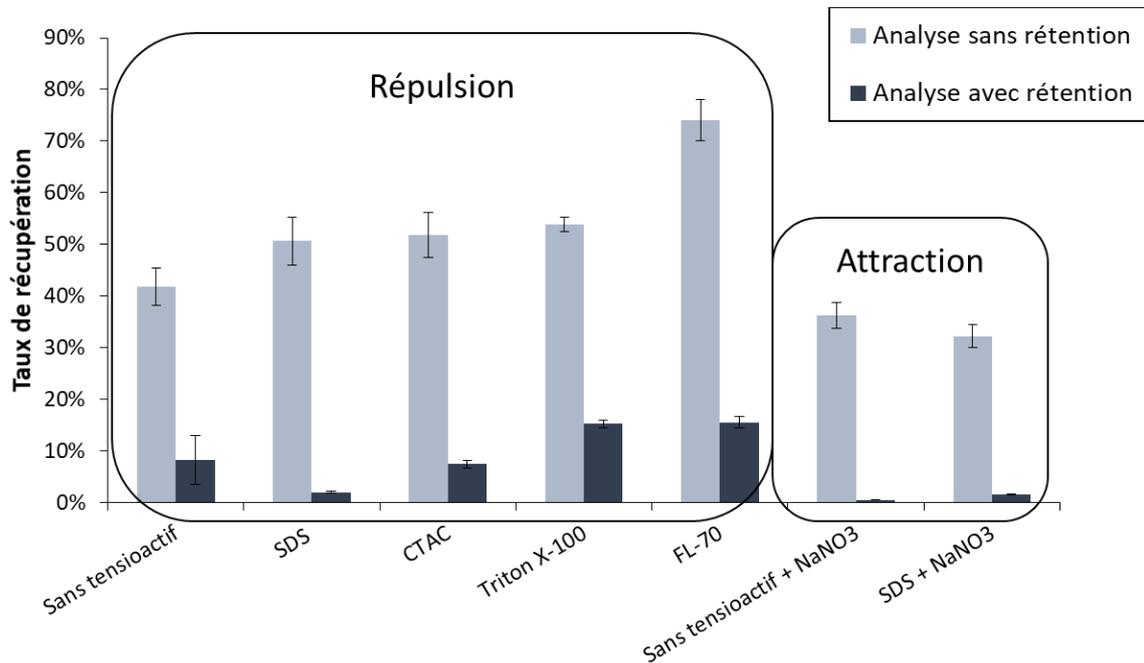


Figure 59 : Taux de récupération du NM-102 pour une analyse sans rétention et avec rétention. Répulsion = même signe de potentiel zêta des NPs et de la membrane. Attraction = signe opposé du potentiel zêta des NPs et de la membrane

III.4.2.2.1 Comparaison analyse sans rétention - analyse avec rétention

Les taux de récupération ne dépassent pas les 80% pour les analyses sans rétention. Il est donc probable d'avoir des interactions entre les particules et la membrane comme l'adsorption ou la perméation (passage à travers la membrane) sans flux croisé. Il est également possible que l'étape de passivation de la membrane ne soit pas suffisante et qu'il soit nécessaire de réaliser plus d'analyses de NPs en amont de l'analyse comme l'ont montré plusieurs études ([Benincasa and Giddings, 1992](#) ; [Ulrich et al., 2012](#)). Dans la publication de [Benincasa et Giddings \(1992\)](#), il suffit de deux injections de polystyrène pour avoir un signal maximum tandis que pour [Ulrich et al. \(2012\)](#), le taux de récupération

semble se stabiliser lors de la quatrième analyse de NPs d'Ag. Avec les NPs de TiO₂ il semble nécessaire de faire plus de trois analyses de NPs en amont pour avoir un meilleur taux de récupération. Par conséquent, ces résultats mettent en avant l'importance de mesurer précisément le taux de récupération et de ne pas le considérer automatiquement comme égal à 100% pour une analyse sans rétention.

Les résultats présentés en [Figure 59](#) montrent également que le taux de récupération diminue significativement dans le cas des analyses avec rétention. Cette observation était attendue puisque l'étape de concentration-relaxation et le flux croisé favorisent le rapprochement des NPs vers la membrane et augmente ainsi les probabilités d'adsorption. Les valeurs de taux de récupération pour une analyse avec rétention sont très faibles et ne dépassent pas les 20%. Cette petite fraction peut alors remettre en question la représentativité de l'échantillon lors d'une analyse par AF4-ICP-MS. Ces faibles taux de récupération peuvent provenir d'une part, du programme d'élution qui n'est pas optimisé et d'autre part de la méthode de calcul. En effet, l'analyse sans rétention ne permet pas d'obtenir un taux de récupération de 100% ce qui minimise donc le taux de récupération des analyses avec rétention.

III.4.2.2.2 Évaluation des conditions favorisant les attractions électrostatiques

Sur les sept conditions testées, deux d'entre elles permettent d'avoir des signes opposés de potentiel zêta des particules et de la membrane, ce qui favorise l'attraction électrostatique particule-membrane. L'ajout de NaNO₃ dans une phase mobile sans tensioactif ou avec du SDS permet d'obtenir des particules avec un potentiel zêta négatif et une membrane avec un potentiel zêta positif. D'après les résultats de la [Figure 59](#), ces deux conditions fournissent le taux de récupération de NPs le plus faible, que ce soit pour les analyses avec ou sans rétention. Cela confirme que les interactions électrostatiques ont un impact significatif sur la séparation des particules en AF4 comme l'ont observé [Dubascoux et al. \(2008\)](#) en travaillant avec plusieurs phases mobiles et avec des concentrations croissantes du nitrate d'ammonium (NH₄NO₃). Ils observent une diminution du taux de récupération avec l'augmentation de la concentration du sel, ce qui est comparable avec le NaNO₃ dans notre cas. Par conséquent, il semble déconseillé d'apporter des sels à l'éluant afin de diminuer l'adsorption des NPs sur la membrane.

III.4.2.2.3 Évaluation des conditions favorisant les répulsions électrostatiques

En regardant les cinq autres conditions qui présentent un signe de potentiel zêta identique pour les particules et la membrane, le taux de récupération le plus élevé (74 ± 4%) est obtenu avec l'éluant

contenant du FL-70 dans le cas d'une analyse sans rétention. Pour les analyses avec rétention, le FL-70 et le Triton X-100 fournissent les meilleurs taux de récupération, aux alentours de 16%.

Le taux de récupération le plus faible est obtenu avec l'utilisation du tensioactif SDS. [Meisterjahn et al. \(2016\)](#) ont également obtenu un meilleur taux de récupération en utilisant du FL-70 et un taux de récupération nul avec du SDS pour des NPs d'or. Le SDS peut diminuer l'efficacité de nébulisation ([Schmidt et al., 2011](#) ; [López-heras et al., 2014](#)) néanmoins l'étalonnage avec le NM-102 a également été fait avec du SDS, ce qui permet de s'affranchir de l'impact sur l'efficacité de nébulisation. [López-heras et al. \(2014\)](#) utilisent du méthanol pour pallier la diminution de l'efficacité de nébulisation, ce qui pourrait être envisagé pour de futures optimisations avec ce tensioactif. Cependant, ils travaillent avec une concentration élevée de SDS (0,2% m/m) proche de la CMC (0,24%), ce qui peut accentuer l'impact du SDS sur la nébulisation. [Correia et al. \(2018\)](#) obtiennent de meilleurs taux de récupération de NPs de TiO₂ avec le SDS de l'ordre de 89% avec une concentration plus faible en SDS (0,05% m/m) que celle utilisée dans ces travaux (0,12% m/m).

Enfin, les conditions sans tensioactif et avec le CTAC sont similaires, comme c'était le cas pour les résultats des tailles mesurées. Ces deux conditions ne seront donc pas retenues puisque leurs résultats concernant le diamètre sont moins pertinents et le taux de récupération n'est pas plus intéressant que celui avec le Triton X-100 ou le FL-70.

Enfinement, les essais par AF4-ICP-MS ont permis d'identifier plusieurs conditions d'éluant intéressantes pour les NPs de TiO₂ comme le Triton X-100, le FL-70 et le SDS. Toutefois, les diamètres mesurés correspondent à des agglomérats et les taux de récupération calculés s'avèrent faibles. Ce qui signifie que les tensioactifs utilisés ne permettent pas d'obtenir actuellement des conditions satisfaisantes pour caractériser les NPs par AF4-ICP-MS. Ainsi, les études nécessitent d'être poursuivies en optimisant le programme d'éluant ainsi que la composition de l'éluant (concentration en tensioactif et pH) afin d'améliorer la dispersion et le taux de récupération des NPs de TiO₂.

III.5 Bilan

Cette étude préliminaire avait pour objectif de caractériser le matériau de référence NM-102, contenant des nanoparticules de TiO_2 afin de l'utiliser pour étudier et optimiser la méthode AF4-ICP-MS. Les charges de surface de ce matériau et des membranes AF4 ont été étudiées en fonction du pH, de la force ionique et de la présence de tensioactif dans l'éluant, afin d'évaluer les potentielles interactions électrostatiques pouvant être mises en jeu durant la séparation des particules dans le système AF4.

Concernant la caractérisation du NM-102, les résultats obtenus sont cohérents avec ceux de la littérature et ont conforté le choix d'utiliser ce matériau pour développer la méthode AF4-ICP-MS pour l'analyse de NPs de TiO_2 de l'additif alimentaire E171.

Les mesures de potentiel zêta des NPs et des membranes pour plusieurs conditions d'éluant a permis de dresser une base de données qui renseigne sur la charge de surface des NPs ou membranes en fonction du pH, de la force ionique ou de la présence de tensioactif de l'éluant. Parmi les paramètres évalués, la force ionique joue un rôle important au niveau du potentiel zêta de la membrane et il est conseillé d'avoir une force ionique faible pour garder la charge de surface de la membrane négative. Cela a permis par la suite de choisir cinq conditions d'éluant favorisant les répulsions électrostatiques et deux conditions favorisant les attractions électrostatiques pour l'analyse AF4-ICP-MS.

Bien que les interactions électrostatiques soient peu connues en AF4-ICP-MS, cette étude a mis en avant l'influence des répulsions et attractions électrostatiques sur le taux de récupération des NPs par l'ajout de NaNO_3 qui conduit à un changement du signe du potentiel zêta de la membrane. Grâce aux différents essais qui ont été menés avec différents tensioactifs, les résultats obtenus ont montré que le SDS permet d'avoir la meilleure dispersion avec une population de NPs de taille < 90 nm. Le Triton X-100 et le FL-70 permettent également d'obtenir une petite fraction de NPs peu agglomérées, avec des diamètres respectifs de 67 et 55 nm. Concernant le taux de récupération, ce sont les tensioactifs Triton X-100 et FL-70 qui semblent les plus intéressants. Néanmoins, le FL-70 est une solution contenant plusieurs composés et il est difficile de bien comprendre son action sur les NPs. Il est supposé que l'action de l'EDTA du FL-70 soit prépondérante puisque les potentiels zêta mesurés sont similaires avec ceux retrouvés dans littérature pour différents types de NPs en présence d'EDTA.

D'après ces travaux, les trois meilleures conditions d'éluant pour l'analyse AF4-ICP-MS sont le FL-70, le SDS et le Triton X-100 sans ajout de sels. Toutefois, les taux de récupération sont encore faibles (< 20%) et les diamètres mesurés restent supérieurs aux diamètres observés par MET, ce qui signifie que les NPs sont encore agglomérées. C'est pourquoi il sera nécessaire de poursuivre cette étude.

En termes de perspectives, il est important de mener des travaux d'optimisation du programme d'éluion afin d'améliorer la séparation et le taux de récupération des NPs. L'optimisation de la concentration de ces tensioactifs est également nécessaire, pour améliorer le taux de récupération. Il pourrait être également envisagé d'utiliser seulement l'EDTA pour complexer les NPs afin de vérifier l'influence du FL-70 et éviter leur adsorption sur la membrane AF4. Un autre axe de travail pourrait être d'utiliser plusieurs tensioactifs. C'est-à-dire, de disperser les NPs dans un premier tensioactif, comme le SDS et d'utiliser un éluant différent, comme le triton X-100, qui permet d'obtenir l'un des meilleurs taux de récupération. Enfin, il sera également nécessaire de travailler avec d'autres types de NPs de TiO₂, afin de confirmer la justesse de la méthode pour un panel plus large de matériaux contenant des NPs de TiO₂ comme l'additif alimentaire E171.

En conclusion, compte tenu que la thèse est partagée en deux grands objectifs, avec une partie réalisée au CEA et l'autre à l'Anses, ces travaux sur l'AF4-ICP-MS n'ont pu totalement aboutir mais ont permis de donner des pistes pour une optimisation plus poussée de la méthode AF4-ICP-MS. Les résultats de ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans le journal Food Analytical Methods dont l'article est actuellement en révision (Cf. [Annexe C](#)).