

Introduction générale

L'essor des nano-objets est en croissance continue depuis des dizaines d'années. Aujourd'hui, pour obtenir une propriété particulière de plus en plus de produits manufacturés contiennent des nano-objets qui sont sélectionnés en fonction de leurs propriétés spécifiques à l'échelle nanométrique ou sub-micrométrique. La taille et la forme de ces substances ainsi que le choix de la matrice organique ou inorganique associée sont des aspects fondamentaux et déterminants pour accéder à une performance recherchée. Avec cet essor de l'utilisation des nano-objets et pour répondre au besoin métrologique de leur traçabilité tout au long de leur cycle de vie, la mesure dimensionnelle des particules issues de produits commerciaux est un défi majeur. Pour évaluer le risque émergeant lié à la dissémination des (nano)-objets, l'ISO/TC 229, le comité technique en charge des nanomatériaux pour la normalisation internationale (ISO), a proposé, en 2012, une liste de paramètres pour une meilleure caractérisation physico-chimique et une meilleure identification des matériaux manufacturés à l'échelle nanométrique (ISO/TR 13014:2012). L'objectif est de donner une description exhaustive de ces substances sur la base d'une caractérisation fiable de leurs propriétés physico-chimiques. Dans cette liste, nous pouvons notamment trouver les propriétés dimensionnelles et structurelles telles que la taille, la distribution en taille, la forme, la nature des surfaces et l'état d'agglomération/agrégation.

Diverses techniques instrumentales sont disponibles pour mesurer les propriétés dimensionnelles des particules. Ces techniques peuvent être classées en trois grandes familles : les techniques directes, les techniques indirectes d'ensemble ou intégrales et les techniques indirectes séparatives. A ce jour, les techniques directes basées sur la microscopie sont considérées comme des techniques de référence : AFM (Atomic Force Microscopy), MET (microscope électronique à transmission) et MEB (microscope électronique à balayage). Les techniques d'imagerie sont classées comme des techniques directes de comptage car elles impliquent une observation directe des

dimensions des (nano)-objets et fournissent une mesure de la taille "géométrique" directement liée à l'unité de longueur du système international (le mètre). La taille moyenne d'un objet est déterminée en établissant la distribution en taille des particules pondérée en nombre, qu'il s'agisse de particules isolées ou de particules constitutives d'agglomérats ou d'agrégats. Ces techniques de microscopies restent couteuses et nécessite une forte expertise sur la préparation d'échantillon ainsi que l'exploitation des images obtenues.

Les techniques indirectes sont des techniques d'analyse non destructives qui permettent d'analyser un nombre statistiquement représentatif de l'échantillon ($> 10^{10}$) pour quantifier les tailles, les structures cristallines et/ou l'état d'agrégation. Parmi ces techniques indirectes, il y a des méthodes d'ensemble telle que la diffusion (des rayons-X, neutrons ou lumière) et la diffraction des rayons-X (DRX), des méthodes intégrales comme l'adsorption de gaz (BET) et enfin les méthodes séparatives tel que le Field-Flow-Fractionation (FFF) ou la Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS).

Pour toutes ces techniques, la préparation de l'échantillon en particulier pour les produits manufacturés ou complexes est une étape clé du processus de mesure et nécessite un travail important pour minimiser l'agglomération, qui impacte les mesures dimensionnelles au travers d'erreurs de mesure. En effet, pour les techniques directes, essentiellement les techniques de microscopie, obtenir des particules isolées sur le substrat permet de réduire significativement les erreurs de mesure. Il est, de fait, plus aisés de déterminer la taille de particules isolées dont les contours sont bien définis, via des logiciels de traitements d'images, que de mesurer la taille de particules constitutives d'un agglomérat. Cependant, les microscopies n'étant pas des méthodes d'ensemble, le problème de représentativité de l'échantillon se pose : il est alors nécessaire de compter un nombre suffisant de particules afin d'être sûr que l'échantillon observé soit représentatif de l'ensemble de l'échantillon, généralement quelques centaines (> 300).

Souvent, l'observation puis la mesure d'une population de (nano)-objets sous forme de poudre n'est pas possible, même avec des logiciels de traitement d'image de dernière génération, en raison d'un très important état d'agglomération/agrégation. Par conséquent, la poudre contenant les particules doit être préalablement mise en suspension. L'obtention d'une suspension stable de ces particules est la première étape cruciale. Différentes méthodes de mise en suspension ont été trouvées dans la littérature et les effets de divers paramètres (concentration, nature du solvant, pH, charge de surface des particules) ou dispositifs (bain à ultrasons ou sonde ultrasonore) ont été rapportés.

Toutes ces étapes de préparations sont d'autant plus difficiles lorsqu'il s'agit de particules intégrées dans des produits de consommations. Le premier objectif est donc de répondre aux défis liés à la préparation des échantillons pour accéder à la mesure dimensionnelle des nanoparticules par microscopie électronique à balayage à partir de suspensions, de poudre et de milieux complexes. Dans ce contexte, les échantillons sélectionnés sont soit dans leur état natif (matière première) ou extraites de matrices complexes de produits finis.

Pour répondre aux besoins réglementaires de caractérisation dimensionnelle des nanomateriaux, l'approche multi-technique est indispensable pour à la fois s'affranchir des conditions de préparation inhérentes à une technique et pour sonder l'échantillon avec une représentativité statistique optimum. Mais chaque technique étant associée à un mesurande (grandeur à mesurer) spécifique, il est souvent difficile de comparer les résultats. Le second objectif est d'étudier une technique d'ensemble comme le SAXS qui est une des rares techniques à permettre une analyse à la fois sur des poudres et sur des suspensions colloïdales de nanoparticules. L'étude a porté sur plusieurs types de TiO₂ sous forme de poudre. Nous avons utilisé une approche multi-techniques afin d'une part d'élargir les connaissances sur la mesure dimensionnelle de (nano)-particules pour les techniques indirectes (le SAXS et la BET) et la technique

directe (le MEB) et d'autre part comprendre l'origine des disparités des mesures dimensionnelles issues de différents mesurandes pour un même échantillon.

Le manuscrit se scinde en 4 chapitres :

Le premier chapitre met en avant l'état de l'art sur les applications ainsi que les tonnages des nano-objets présents sur le marché mondial. Il permettra ensuite de définir le terme de « nanomatériaux » suivi des réglementations en vigueur les concernant. Une brève partie sur la nanométrie sera également présentée. Puis, une liste des différentes techniques utilisées pour la caractérisation des propriétés dimensionnelles des (nano)-objets est dressée avec les avantages et les inconvénients de chaque méthode. La dernière partie est consacrée à la caractérisation dimensionnelle des nano-objets dans leur état natif ou extraits de matrice complexe.

Le deuxième chapitre s'attachera à décrire les échantillons sélectionnés, les différentes techniques utilisées ainsi que les protocoles et les méthodes mise en œuvre pour chaque analyse. Les mesurandes de chaque technique sont également définis et détaillés.

Le troisième chapitre se focalisera sur les défis liés à la préparation d'échantillon pour la caractérisation dimensionnelle des (nano)-objets par MEB. Le but étant d'améliorer la dispersion des suspensions colloïdales afin d'optimiser le dépôt des (nano)-objets sur le substrat en silicium et faciliter l'étape de traitement d'images électronique.

Table des matières

Chapitre 1 : Les nanomatériaux : utilisation, réglementation et métrologie associée

Table des matières	10
Table des Figures.....	15
Table des Tableaux	18
1. Origine et tonnage des nanomatériaux présents sur le marché mondial....	22
1.1. Domaines d'applications	23
1.2. Taux de production.....	24
1.3. Exemple de nanomatériaux inorganiques.....	27
1.3.1. Le dioxyde de titane	27
1.3.2. Le dioxyde de silicium.....	28
1.3.3. Le dioxyde de céryum	29
2. Vocabulaires, définitions et réglementation sur les nanomatériaux	30
2.1. Vocabulaire normatif lié aux nanomatériaux	31
2.2. Des définitions hétérogènes selon les secteurs d'activités	32
2.2.1. La recommandation de définition des nanomatériaux de la commission européenne	33
2.2.2. Définition du règlement cosmétique.....	35
2.2.3. Définition du règlement INCO et NOVEL FOOD	35
2.2.4. Définition du règlement biocides	36
2.3. Examen de la législation et déclarations obligatoires concernant les nanomatériaux.....	39
2.3.1. En France : Le Registre R-Nano	39
2.3.2. En Europe : Le règlement REACH.....	40
3. La nanométrie	41
3.1. Généralités	41
3.2. Le système international d'unités (SI)	41
3.3. Chaine de traçabilité pour les mesures dimensionnelles (échelle nanométrique)	43
4. Les différentes techniques de caractérisation dimensionnelles de nanomatériaux	44

5. Caractérisation dimensionnelles des nano-objets sous forme de matière première ou contenus dans les produits manufacturés	48
5.1. L'approche multi-techniques	48
5.2. Préparation d'échantillon.....	50
Références.....	55

Chapitre 2 : Sélection des échantillons et techniques de caractérisation utilisées dans cette étude

1. Sélection des échantillons	65
1.1. Les échantillons de référence.....	67
1.2. Les échantillons de synthèse.....	68
1.3. Les matières premières	69
1.4. Les échantillons extraits de produits finis (matrices complexes)	69
2. Techniques de caractérisation dimensionnelles utilisées et mesurandes associés.....	72
2.1. Microscope électronique à balayage (MEB).....	72
2.1.1. Description de la technique	72
2.1.2. Zeiss Ultra Plus du LNE	74
2.1.3. Paramètres d'acquisition.....	74
2.1.4. Définition des mesurandes.....	75
2.1.5. Traitement des données.....	76
2.2. Diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS)	81
2.2.1. Description de la technique	81
2.2.2. Etalonnage.....	86
2.2.3. Préparation d'échantillons.....	86
2.2.4. Traitement des données.....	87
2.2.5. Définitions des mesurandes.....	89
2.3. Brunauer, Emmett et Teller (BET).....	90
2.3.1. Principe, mesurande et mesure	90
2.3.2. Traitement des données.....	91
2.4. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)	93
2.4.1. Principe de mesure.....	93
2.4.2. Définition du mesurande	94

2.4.3. Mesures et traitement des données	95
3. Techniques de caractérisations physico-chimiques.....	97
3.1. Evaluation de la charge de surface (zétamétrie)	97
3.2. Evaluation de la structure cristalline (Diffraction des rayons X (DRX)).....	98
3.2.1. Principe et mesurandes	98
3.2.2. Mesures et traitement des données	99
3.3. Composition chimique élémentaire par Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDS, couplé au MEB)	100
3.3.1. Principe.....	100
3.3.2. Mesures et Traitement des données	100
3.4. Analyse élémentaire par Spectroscopie d'émission optique de plasma à couplage inductif (ICP-OES).....	101
3.4.1. Principe.....	101
3.4.2. Mesures et traitement des données	101
3.5. Spectrométrie photoélectronique X (XPS)	102
3.5.1. Principe.....	102
3.5.2. Mesures et traitement des données	102
Références.....	103

Chapitre 3 : Les défis liés à la préparation des échantillons pour la mesure dimensionnelle des (nano)-objets par microscopie électronique à balayage

1. Echantillons sélectionnés.....	108
2. Préparation d'échantillon	109
2.1. Stabilité colloïdale par interaction électrostatique.....	110
2.2. Dépôt des particules sur substrat en silicium	113
3. Dépôt avec les paramètres classiques pour l'ultrasonication	115
4. Evaluation des paramètres d'ultrasonication avec un suivi DLS.....	117
4.1. Optimisation des conditions d'analyse pour la DLS.....	117
4.2. Impact de l'énergie de l'ultrasonication sur la taille des agglomérats	118
4.3. Influence des cycles lors du processus d'ultrasonication	120
4.4. Influence de la durée d'ultrasonication sur la taille des agglomérats.	121

5. Mesure dimensionnelle par MEB des (nano)-particules après l'optimisation des paramètres d'ultrasonication	122
5.1. Dépôt et acquisition des images MEB	122
5.2. Mesure des distributions en taille en nombre	125
Conclusion.....	128
Références.....	131

Chapitre 4 : L'approche multi-techniques pour la mesure dimensionnelle des (nano)-particules de dioxyde de titane (TiO_2)

1. Echantillons sélectionnés.....	135
2. Caractérisation physico-chimique des échantillons : Analyse élémentaire et identification des phases cristallines des poudres de TiO_2.....	137
2.1. Evaluation de la pureté des échantillons et quantification de l'élément Ti par ICP-OES.....	138
2.2. Analyse de la composition chimique des échantillons par EDS.....	140
2.3. Analyse de la composition chimique en surface des particules par XPS	
144	
2.4. Analyse de la cristallinité des échantillons par DRX	147
3. Comparaison des grandeurs physiques des particules de TiO_2 obtenus par MEB, SAXS et BET.....	149
3.1. Caractérisation dimensionnelle des particules de TiO_2 par MEB	149
3.1.1. Diamètres équivalents mesurés par MEB (D_{SEM} average area-eq)	149
3.1.2. Discussions sur les mesures dimensionnelles des particules de TiO_2 obtenues par MEB	152
3.2. Caractérisation dimensionnelle des particules de TiO_2 par SAXS	154
3.2.1. Protocole expérimental pour l'analyse SAXS et impact de la compacité sur l'intensité absolue	154
3.2.2. Surfaces spécifiques et diamètres équivalents obtenus par SAXS.....	158
3.3. Mesures BET et comparaison des surfaces spécifiques BET/SAXS	165
3.4. Comparaison des diamètres équivalents SAXS-BET/MEB	168
3.5. Impact de la polydispersité sur les diamètres équivalents obtenus par SAXS et MEB	173

<i>4. Discussion sur l'influence des interactions inter-particulaires et de l'anisotropie sur les mesures SAXS-BET/MEB.....</i>	176
<i>Conclusion.....</i>	179
<i>Références.....</i>	181
<i>Annexe 1</i>	189
<i>Annexe 2</i>	191
<i>Annexe 3</i>	193
<i>Annexe 4</i>	196
<i>Annexe 5</i>	199
<i>Annexe 6</i>	200
<i>Annexe 7</i>	211
<i>Annexe 8</i>	213

Table des Figures

Figure 1 : L'évolution du nombre de produits contenant des nanomatériaux (adapté de Nanodatabase à la date du 01-07-2021).....	25
Figure 2 : Représentation du nombre de produits contenant des nanomatériaux en fonction des différents secteurs d'applications (adapté de Nanodatabase à la date du 01-07-2021).....	26
Figure 3 : Représentation des trois mailles cristallines élémentaires du TiO ₂ : Rutile, Brookite et Anatase (Figure tirée de [32].....	28
Figure 4 : Représentation de la maille cristalline élémentaire du SiO ₂ , de type quartz (Figure tirée de [37])	29
Figure 5 : Représentation de la maille cristalline élémentaire du CeO ₂ , de type fluorine (Figure tirée de [41])	30
Figure 6 : Les différentes familles des nanomatériaux	31
Figure 7 : Différences entre particule isolée ou constitutive d'agglomérat et d'agrégat	33
Figure 8 : Unités de base du Système International et les constantes fondamentales associées, Figure tirée de [74].....	42
Figure 9 : Exemple de chaîne de traçabilité, une pyramide illustrant une chaîne ininterrompue, de la définition du mètre (SI) à l'échelle nanométrique. Figure tirée de [76]	43
Figure 10 : Schéma représentatif des deux types de stabilisation : stérique et électrostatique (<i>Figure tirée de Thèse Djamal Zerrouki, Assemblages colloïdaux organisés.</i>).....	52
Figure 11 : Images MEB des particules synthétisées	69
Figure 12 : Les signaux produits suite aux interactions électrons-matière. Figure tirée de [15].....	73
Figure 13 : Représentation des diamètres de Féret minimum et maximum (Figure tirée de [27])	76
Figure 14 : Impact du positionnement du seuil sur un profil en niveaux de gris d'une nanoparticule mesurée par MEB, Figure tirée de [32].....	77
Figure 15 : Exemple d'un dépôt homogène et bien dispersé de particules de référence SiO ₂ -FD101b sur substrat de silicium.....	78
Figure 16 : Interface du logiciel Platypus utilisé pour le traitement des images MEB .	79

Figure 17 : Nombre d'article en rapport avec la diffusion aux petits angles (Small-angle scattering : SAS) et les nanoparticules, Figure adaptée des résultats de recherche sur la plateforme ScienceDirect (Elsevier).....	82
Figure 18 : Principe du SAXS (Small Angle X-ray Scattering) (Figure tirée de [43])	83
Figure 19 : Les différentes configurations disponibles pour la diffusion des rayons-X (gamme de q et distance associée dans l'espace réel).	84
Figure 20 : Différence entre l'épaisseur macroscopique et l'épaisseur effective de l'échantillon sous forme de poudre (Figure adaptée de [44])	87
Figure 21 : Allure de la courbe de l'intensité absolue en fonction de q et représentation de la limite de Porod	89
Figure 22 : Exemple d'isotherme (gauche) ainsi que la partie linéaire de la méthode BET (droite).....	92
Figure 23 : Schéma de principe de la DLS (<i>Figure tirée de www.cordouan-tech.com</i>)	93
Figure 24 : Distribution en taille en nombre, volume et intensité d'un système bimodal (5nm et 50nm) (Figure tirée de [64])	96
Figure 25 : Représentation d'une particule chargée en suspension (Figure tirée de la référence [66]).....	97
Figure 26 : Evolution du potentiel zêta (en mV) en fonction du pH de la suspension colloïdale à déposer (les étoiles en rouge représentent les pH initiaux des échantillons)	111
Figure 27 : Principe d'utilisation du Spin-Coater (Figure tirée de [20]).....	113
Figure 28 : Images MEB des particules de TiO ₂ -Lab déposées à a) pH=6 sans spin-coating, b) pH=6 avec spin-coating, c) pH=2 sans spin-coating et d) pH=2 avec spin coating.....	114
Figure 29 : Images MEB des différents échantillons déposés à l'aide du Spin-coater après stabilisation des suspensions colloïdales par ajustement de pH (a) TiO ₂ -Lab à pH = 2, déposé sur un substrat de silicium (b) TiO ₂ -Food à pH = 7,3, déposé sur un substrat de silicium fonctionnalisé avec de la PLL, (c) CeO ₂ -Lab à pH= 2, déposé sur un substrat de silicium et (d) SiO ₂ -Tixosil43 à pH= 7,0, déposé sur un substrat de silicium fonctionnalisé avec de la PLL	115
Figure 30 : Evolution du D_h en fonction des différents facteurs de dilutions.....	117
Figure 31 : Evolution caractéristique du diamètre hydrodynamique moyen (D_h) en fonction du temps après 20 min d'ultrasonication avec des cycles de 10 s ON et 30 s OFF pour différentes amplitudes (20%, 30% ou 40%) et donc différentes densités d'énergie calorimétrique (378, 766 et 1667 J/mL), pour (a) SiO ₂ -Tixosil43 (pH= 8) et (b) CeO ₂ -Lab (pH= 2).....	119

Figure 32 : Évolution du diamètre hydrodynamique moyen (D_h) en fonction du temps après 20 minutes d'ultrasonication avec des cycles de 10 s ON et 10, 20 ou 30 s OFF, pour (a) SiO ₂ (pH= 8) et (b) CeO ₂ -Lab (pH= 2) avec une amplitude fixée à 40% dans les deux cas	120
Figure 33 : Évolution du diamètre hydrodynamique moyen (D _h) en fonction du temps en faisant varier le temps d'ultrasonication total entre 20 min et 60 min avec des cycles de 10 s ON et 10s OFF à 40% d'amplitude ou 10s ON et 30 s OFF à 20% d'amplitude, pour (a) SiO ₂ -Tixosil43 (pH=7) et (b) CeO ₂ -Lab (pH=2).....	121
Figure 34 : Impact des paramètres d'ultrasonication pour le SiO ₂ -Tixosil43, a) image MEB avec les paramètres habituels d'ultrasonication (20%, 10s ON et 30s OFF, 20 min), b) image MEB obtenue après optimisation des paramètre d'ultrasonication (40%, 10s ON et 10s OFF, 20 min), c) image MEB de la mesure de la taille d'un agglomérat/agrégat avec les paramètres optimisés et d) un exemple de mesure de taille de nanoparticules constitutive d'agglomérats à l'aide du logiciel Platypus.....	123
Figure 35 : Impact des paramètres d'ultrasonication pour le CeO ₂ -Lab, a) image MEB avec les paramètres habituels d'ultrasonication (20%, 10s ON et 30s OFF, 20 min), b) image MEB après optimisation des paramètre d'ultrasonication (40%, 10s ON et 10s OFF, 20 min) et c) un exemple de mesure de taille de nanoparticules constitutive d'agglomérats à l'aide du logiciel Platypus.	124
Figure 36 : Histogrammes de distribution en taille en nombre des quatre échantillons étudiés (1 exemple sur 3 par échantillon)	126
Figure 37 : Les cartographies EDS des échantillons de TiO ₂ de référence et de matières premières, réalisées sur un substrat en silicium ou une grille Cu-C	141
Figure 38 : Les cartographies EDS des échantillons de TiO ₂ extraits de produits manufacturés, réalisées sur un substrat en silicium ou une grille Cu-C.....	143
Figure 39 : Diffractogrammes DRX des échantillons de TiO ₂ (avec les spectres de références (A) anatase et (R) rutile). Les (*) identifie des impuretés autre que le TiO ₂	148
Figure 40 : Images MEB caractéristique et distributions en tailles correspondantes (issus de 300 particules) des échantillons de TiO ₂ (représentant une des trois distributions obtenues avec en rouge le fit du modèle statistique utilisé, cf. Annexe 6).....	150
Figure 41 : Photographie des deux échantillons de TiO ₂ -NM102 avec, a) la pastille inhomogène, b) la pastille homogène et compacte et KV le scotch en kapton vide « ligne de base »	155
Figure 42 : Impact de l'homogénéité et de la transmission de l'échantillon sur les mesures SAXS, avec à gauche les profils d'intensité et à droite les courbes obtenues	

pour différentes valeurs de transmission. Ces mesures ont été réalisées sur deux pastilles de TiO ₂ -NM102 a) une pastille inhomogène, et b) une pastille homogène.....	155
Figure 43 : Les courbes chemSAXS obtenues pour les échantillons de TiO ₂ avec une transmission <10% et selon la représentation $Iq^4=f(q)$ (pour faire apparaître le plateau de Porod illustré en pointillés rouges).....	160
Figure 44 : Courbes de diffusion des échantillons de TiO ₂ obtenus par deux instruments différents (chemSAXS en rouge et MOMAC en vert) selon la représentation $I=f(q)$..	161
Figure 45 : Isothermes BET correspondants aux échantillons de TiO ₂ analysés	166
Figure 46 : Les surfaces spécifiques obtenues par SAXS et BET pour les échantillons de TiO ₂	167
Figure 47 : Influence de l'écart-type de la distribution sur le $D_{SEM\ Average\ area-eq}$ et le $D_{Porod\ eq\ calc}$ pour un échantillon avec un diamètre moyen de 23,7 nm ($\mu = 2,85$).....	174
Figure 48 : Les diamètres équivalents mesurés par SAXS et MEB ainsi que les diamètres équivalents de Pord calculé à partir de la distribution en taille du MEB (avec les répétabilité en barres d'erreurs).....	175

Table des Tableaux

Tableau 1 : Quantité produite et importée de substances à l'état nanoparticulaire déclarée en France pour l'année 2019 [16]	24
Tableau 2 : Les hétérogénéités dans les définitions proposées par les différentes organisations françaises et européennes [65][66]	38
Tableau 3 : Quelques techniques utilisées pour la caractérisation dimensionnelle des nano-objets	46
Tableau 4 : Liste des différents échantillons sélectionnés pour les travaux de thèse... <td>67</td>	67
Tableau 5 : Paramètre utilisés pour le protocole de synthèse des NPs de TiO ₂	68
Tableau 6 : Paramètre utilisés pour le protocole de synthèse des NPs de CeO ₂	68
Tableau 7 : Les paramètres statistiques liés à la distribution log-normale avec μ , l'espérance et σ l'écart-type des données logarithmiques.....	80
Tableau 8 : Liste des échantillons sélectionnés	109
Tableau 9 : Influence de l'amplitude d'ultrasonication appliquée sur le D_h moyen mesuré par DLS sur 25 mesures (pour une durée d'une heure) et l'écart-type correspondant.	118
Tableau 10 : Influence du cycle de pulsation appliqué sur le D_h moyen mesuré par DLS sur 25 mesures (pour une durée d'une heure) et l'écart-type correspondant.....	120

Tableau 11 : Récapitulatif des paramètres d’ultrasonication ainsi que la mesure dimensionnelle des (nano)-particules par DLS et MEB (avec $\pm U_R$ les répétabilités sur les mesures).....	127
Tableau 12 : Sélection des échantions de TiO_2	136
Tableau 13 : Résultats de la quantification de l’élément Ti et du TiO_2 en supposant que tout le Ti détecté est sous forme TiO_2 (avec u les incertitudes sur les mesures).....	138
Tableau 14 : Analyse chimique en surface des particules de TiO_2	145
Tableau 15 : Densités des différentes phases cristallines du TiO_2 en $g.cm^{-3}$	149
Tableau 16 : Mesurandes du MEB avec ; le diamètre moyen ($D_{SEM\ average\ area-eq}$), le mode (D_{modal}), la médiane (D_{median}) et les diamètres de Feret min et max (D_{Fmin} et D_{Fmax}) suivis des répétabilités ($\pm u_R$). L’écart-type de la distribution ainsi que le rapport d’aspect sont également présentés. μ et σ représentent respectivement l’espérance et l’écart-type des valeurs lognormales.	151
Tableau 17 : Mesures SAXS réalisées pour différentes valeurs de transmission sur deux pastilles de TiO_2 -NM102 (inhomogène et homogène). Les résultats présentés correspondent aux mesures de deux montages différents (chemSAXS et MOMAC) avec $\Sigma_{Porod\ SSA}$ la surface spécifique issue de la limite de Porod et $D_{Porod\ eq\ SSA}$ le diamètre équivalent associé.....	157
Tableau 18 : Les surfaces spécifiques moyennes et les diamètres équivalents moyens de Porod obtenus pour plusieurs mesures sur les 9 échantillons de TiO_2 en poudre. Des écart-types de répétabilité (u_R) ont été estimées en fonction du nombre de mesures réalisées pour chaque échantillon.....	162
Tableau 19 : Diamètres équivalents obtenus par SAXS, BET ET MEB. U_R étant les répétabilités calculées sur le nombre de mesures réalisées et Δ l’écart relatif entre les mesures.....	169
Tableau 20 : le diamètre équivalent minimum ($D_{min\ vSSA}$) déterminé à partir de la surface spécifique (Σ_{vSSA}).....	172

Glossaire et abréviations

Additif : substance que l'on ajoute à une denrée alimentaire (ou autre) pour une propriété donnée.

AFM : Microscope à force atomique (Atomic Force Microscope).

AF4 : Asymmetric Flow Field Flow Fractionation.

Agglomérats : Particules faiblement liées.

Agrégats : Particules fortement liées.

Anisotropie : Propriété d'être dépendant de la direction ou de l'orientation.

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

BET : Méthode Brunauer, Emmett et Teller.

Compacité : Opération consistant à tasser mécaniquement une poudre afin d'éliminer les vides présents entre les grains, donc d'augmenter la compacité de cette poudre.

CPI : Consumer Product Inventory.

CE : Commission Européenne.

CIPM : Comité International des Poids et Mesures.

CARMEN : Plateforme de CARactérisation METrologiques des Nanomatériaux.

CEA : Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives.

DLS : Dynamic Light Scattering (Diffusion dynamique de la lumière).

DRX : Diffraction des Rayons-X.

Diamètre équivalent : Diamètre d'une particule sphérique hypothétique qui a le même comportement géométrique, optique, électrique ou aérodynamique que l'objet réellement mesuré.

Diamètre de Feret : la distance comprise entre une droite donnée D et la parallèle à cette direction de telle sorte que l'ensemble de la projection de l'objet soit compris entre ces deux parallèles.

DLVO : Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek

EDS : Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie).

ECHA : European CHemicals Agency (Agence européenne des produits chimiques).

GUM : Guide to the expression of Uncertainty in Measurement (Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure).

ICP-OES : Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (Spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif).

ICP-AES : Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (Spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif).

IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry (Union internationale de chimie pure et appliquée).

JRC : Joint Research Centre (Centre commun de recherche).

LNE : Laboratoire National de métrologie et d'Essais.

Matrices complexe : Produits fini commercialisé contenant des nanomatériaux.

MEB (SEM) : Microscope Electronique à Balayage (Scanning Electron Microscopy).

Mesurande : La grandeur que l'on cherche à mesurer.

Métrologie : la science de la mesure.

MRC : Matériau de Référence Certifié.

NNLS : Non-Negative Least-Squares, algorithme DLS.

NMs : Nanomatériaux.

ISO : International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation).

NPs : Nanoparticules.

PTA : Particle Tracking Analysis.

PIE : Point Iso-Electrique.

PLL : Poly-L-Lysine.

REACH : Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals (Règlement sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques).

SAS : Small Angle Scattering (Diffusion aux petits angles).

SAXS : Small Angle X-Ray Scattering (Diffusion des rayons-X aux petits angles).

SI : Système International.

SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer.

Stabilité colloïdale : Equilibre entre les interactions attractives et les interactions répulsives qui s'exercent sur les particules en suspensions.

Sp-ICP-MS : Single Particle-Induced Coupled Plasma-Mass Spectroscopy

MET (TEM) : Microscopie Electronique en Transmission (Transmission Electron Microscopy).

Traçabilité : la propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure

VSSA / SSA : Surface spécifique par unité de volume/masse (Volumic Specific Surface Area).

VIM : Vocabulaire International de Métrologie.

XPS : X-ray Photoelectron Spectrometry (Spectrométrie photoélectronique X).

Notations

D_h: Diamètre hydrodynamique

D_{SEM_average_area-eq} : Diamètre équivalent à une surface projetée d'un disque ayant la même surface projetée que l'objet observé par MEB.

D_{Fmin/max}: Diamètre de Feret minimum/maximum.

D_{Porod_eq SSA}: Diamètre équivalent issu de la surface spécifique extraite du Porod

D_{Porod_eq calc}: Diamètre équivalent de Porod calculé en prenant en compte la distribution en taille en nombre

D_{BET_eq SSA}: Diamètre équivalent issu de la surface spécifique obtenu par BET

Σ_{Porod SSA/VSSA}: Surface spécifique par unité de masse/volume

TiO₂ : Dioxyde de titane

SiO₂ : Dioxyde de silicium

CeO₂ : Dioxyde de cérium

Chapitre 1 : Les nanomatériaux : utilisation, réglementation et métrologie associée

Dans ce chapitre bibliographique, dans une première partie, un bilan non exhaustif des applications et tonnages des nanomatériaux (NMs) les plus utilisés, sera présenté. Ensuite, nous verrons que le terme « nanomatériaux » d'un point de vue normatif et réglementaire. Celui-ci peut rassembler des notions larges et diverses, qui ont conduit à de nombreuses et différentes réglementations, selon les secteurs d'activités. Enfin, nous listerons les méthodes de mesures disponibles avec leur mesurande pour la caractérisation des propriétés dimensionnelles (taille, distribution en taille) de ces NMs.

1. Origine et tonnage des nanomatériaux présents sur le marché mondial

De nos jours, de plus en plus de produits manufacturés contiennent des nanomatériaux (NMs). Depuis une dizaine d'années, les secteurs industriels intègrent de plus en plus de ces NMs dans leur processus de production ou dans les produits finis, que ce soit des nanomatériaux naturels ou manufacturés. L'objectif est de conférer de nouvelles propriétés aux produits finis. En effet, à l'échelle nanométrique, il existe de nombreux phénomènes physiques différents de ceux observés à l'échelle micro ou macroscopique. Ainsi, « l'effet nano » résulte principalement des effets de surface (associés à l'augmentation de la surface spécifique) et des effets quantiques. Ces effets influencent plusieurs propriétés physico-chimiques, tels que la réactivité physico-chimique [1–3], les propriétés électroniques [4], les propriétés optiques [5], les propriétés magnétiques [6] et/ou les propriétés structurelles [7]. Les propriétés remarquables des nanomatériaux sont souvent dépendantes des propriétés dimensionnelles (taille, distribution en taille et forme).

1.1. Domaines d'applications

Plusieurs secteurs d'industrie et de développement sont concernés par cette révolution nano-technologique, à savoir le domaine de la santé, de l'alimentaire, du cosmétique, de l'électronique, textile et bien d'autres [8].

Ainsi les NMs métalliques (l'argent (Ag), le titane (Ti)), d'oxydes métalliques (le dioxyde de titane (TiO_2), l'oxyde de zinc (ZnO) etc.), de silicates ou de carbonates rentrent dans la composition de plusieurs produits de soin, de produits cosmétiques ou alimentaires [9]. Les nanomatériaux semi-conducteurs ou métalliques avec leurs propriétés uniques (optiques, électriques et thermiques) et les nanotubes de carbone permettent, par exemple, le développement d'une nouvelle génération de matériaux électroniques et de nouveaux capteurs [10,11].

Les applications des NMs d'argent avec leur propriété bactéricide se retrouvent principalement dans le domaine de la parapharmacie avec le développement de pansements ou bien dans le cadre de technologies à haute valeur ajoutée tels que les textiles hautes performances, vêtement antibactérien etc. [12].

Les silicates sous forme de dioxyde de silicium (SiO_2) sont également très répandus dans différents secteurs (cosmétique, alimentaire, polymères...). A titre d'exemple, le dioxyde de silicium est utilisé depuis des dizaines d'années comme antiagglomérants (E551 dans le secteur alimentaire, cf. Annexe 1) ou comme porteur d'arôme dans des produits sous forme de poudre [13].

Les NMs peuvent également être présents dans les matériaux d'emballage (nano-argile, nano-Argent...), afin d'en améliorer différentes propriétés (antibactérienne, résistance aux UV, résistance mécanique etc.). L'oxyde de zinc sous sa forme nanométrique fait partie des filtres UV, comme le dioxyde de titane, largement utilisés en cosmétique [9].

Les dérivés carbonés tels que les nanotubes de carbone et le noir de carbone ainsi que les oxydes de fer sont considérablement présents dans l'électronique pour augmenter la résistance mécanique des matériaux [14,15].

1.2. Taux de production

Au regard de la littérature, notamment d'après le dernier rapport d'étude publié concernant les déclarations du registre R-Nano [16], les quantités de NM déclarées à base de matériaux inorganiques (tels que les carbonates de calcium, les dioxydes de silicium, les dioxyde de titane) semblent majoritaires. Les NM à base de carbone et de silicates sont les secondes familles les plus représentées. D'autres nanomatériaux non identifiés présentent tout de même un tonnage important équivalent à celui des silicates et des dérivés carbonés. Cette catégorie regroupe les céramiques, les polymères mais aussi les nano-argiles. Ces composés, notamment les argiles sont très complexes car ce sont des nanoparticules anisotropes et composés majoritairement de multiéléments ce qui rend très difficile leur caractérisation. Les tonnages des nanomatériaux déclarés en France sont présentés dans le Tableau 1 en fonction des différentes familles identifiées. Parmi les familles les plus produites et importées, on distingue les nanomatériaux inorganiques et carbonés [16].

Tableau 1 : Quantité produite et importée de substances à l'état nanoparticulaire déclarée en France pour l'année 2019 [16]

Famille	Quantité des nanomatériaux produits et importés sur le territoire Français
Nanomatériaux inorganiques	> 100 000 t
Métaux et alliages métalliques	De 10 à 100 kg
Silicates et argiles	De 1 000 à 10 000 t
Autres*	> 100 000 t
Nanomatériaux carbonés	> 100 000 t
Nanopolymères	De 1 000 à 10 000 t

*Autres : nanomatériaux organiques, organométalliques et mixtes organique - inorganique

De nombreuses bases de données ont étudié les produits de consommation contenant des nanomatériaux. Les informations répertoriées sont plus ou moins détaillées et difficiles à évaluer. Selon Vance et al [17], 1814 produits dans 32 pays ont été classés en 2015 comme contenant des nanomatériaux. Cet inventaire, ou CPI (Consumer Product Inventory), créé en 2005 par le Woodrow Wilson International Center liste les produits contenant des nanomatériaux. Ces NMs ont été représentés par famille, on y trouve la proportion des métaux (dont les oxydes métalliques avec une majorité pour l'argent suivi du titane), les carbonates, les silicates et d'autres types avec également une grande partie de nanomatériaux non identifiés [17].

Une autre base de données, la « Nanodatabase », est disponible sur internet [9]. Cette dernière fait l'inventaire des produits commercialisés en Europe et contenant des nanomatériaux. Elle est mise à jour tous les ans et contient à ce jour 5169 produits [9]. La Figure 1 montre leur évolution à travers les années. En 8 ans le nombre de produits a augmenté de plus de 300 %.

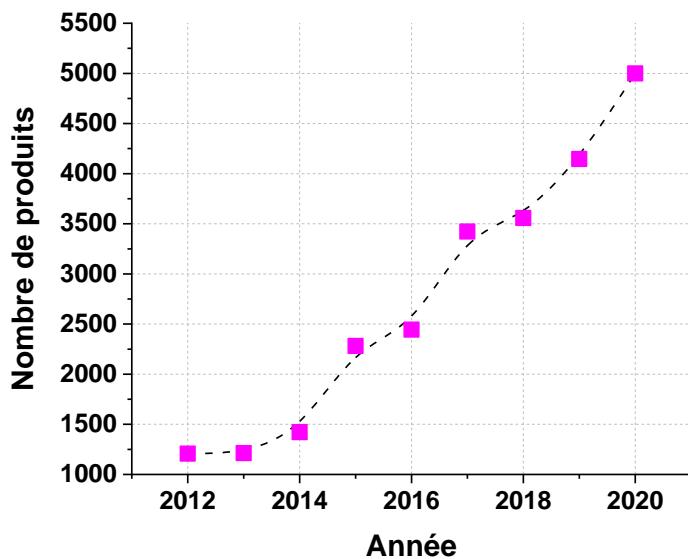


Figure 1 : L'évolution du nombre de produits contenant des nanomatériaux (adapté de Nanodatabase à la date du 01-07-2021)

Sur la même base de données, nous pouvons voir la classification de ces produits en fonction des secteurs d'applications, le domaine de la santé reste majoritaire suivi des produits d'entretien et du secteur automobile (Figure 2).

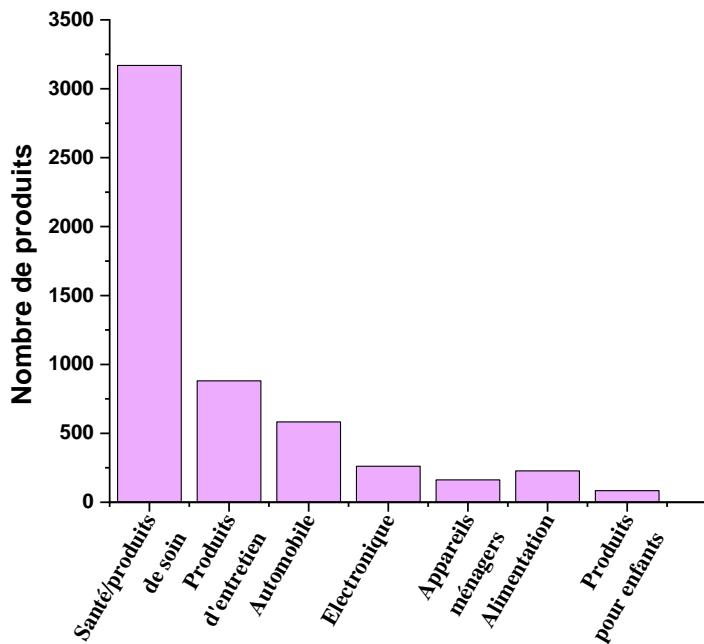


Figure 2 : Représentation du nombre de produits contenant des nanomatériaux en fonction des différents secteurs d'applications (adapté de Nanodatabase à la date du 01-07-2021)

Une étude faite par Hansen et al. [18] fait l'inventaire, via une base de données, des différents types de nanomatériaux utilisés dans diverses catégories, à savoir, la santé et remise en forme, l'entretien de la maison, le secteur automobile, les produits alimentaires, l'électronique et les produits pour enfants et insiste sur le besoin de déclaration de ces nanomatériaux.

Le dioxyde de titane et dioxyde de silicium font partie des nanomatériaux inorganiques les plus utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire [16]. Le CeO₂ est également largement utilisé et produit à l'échelle industrielle. Dans le paragraphe suivant, un focus sur ces particules est proposé.

Cette partie présente une compilation non exhaustive des données de marché concernant les nanomatériaux employés : oxydes métalliques, silicates et dérivés carbonés.

1.3. Exemple de nanomatériaux inorganiques

1.3.1. Le dioxyde de titane

Parmi les différents NMs utilisés à l'échelle industrielle, le dioxyde de titane (TiO_2) est l'un des plus utilisé offrant de nombreuses applications [19,20]. En effet, le dioxyde de titane se retrouve dans la plupart des secteurs industriels tels que l'alimentaire en tant que colorant blanc (chewing-gum, confiserie, chocolaterie, bien qu'il ait été suspendu depuis de janvier 2020 en France), dans la peinture mais aussi dans la cosmétique (notamment comme agent anti-UV dans les crèmes solaires). Ce vif intérêt est dû d'une part au blanc éclatant et à sa résistance à la décoloration et d'autre part à sa capacité de bloquer les UV. Le dioxyde de titane fait partie des cinq substances nanométriques les plus produites (en tonnage), avec plus de 10 000 tonnes de TiO_2 à l'état de nanoparticules déclarées dans le registre français R-Nano (cf. paragraphe 2.3.1) pour l'année 2019 [16]. De plus, sur les 5169 produits commerciaux répertoriés dans la Nanodatabase [9], 145 produits contiennent du TiO_2 sous forme nanoparticulaire. Le nombre de publications sur ce sujet a explosé ces dernières années [21–24], mais il manque toujours une stratégie appropriée pour la caractérisation systématique et quantitative des nanoparticules de TiO_2 .

Le titane est un élément naturel et très abondant dans la croûte terrestre et existe sous plusieurs formes minérales, l'ilménite ($FeTiO_3$), la pérovskite ($CaTiO_3$) ou bien la titanite ($CaTiSiO_5$). Le TiO_2 manufacturé peut être obtenu via deux procédés majeurs [25][26]:

- Le procédé au chlorure [27]
- Le procédé au sulfate [28]

Le TiO_2 manufacturé peut se présenter sous 3 structures cristallines différentes (Figure 3) : rutile, anatase et brookite, possédant chacune des propriétés caractéristiques. A titre d'exemple, l'indice de réfraction du TiO_2 peut varier d'une phase cristalline à une autre (entre 2,48 et 2,70) [29]. La forme rutile et la phase la plus stable thermodynamiquement par

rapport aux phases anatase et brookite qui sont métastables et finissent par se transformer en rutile à haute température (700°C - 900 °C) [30][31].

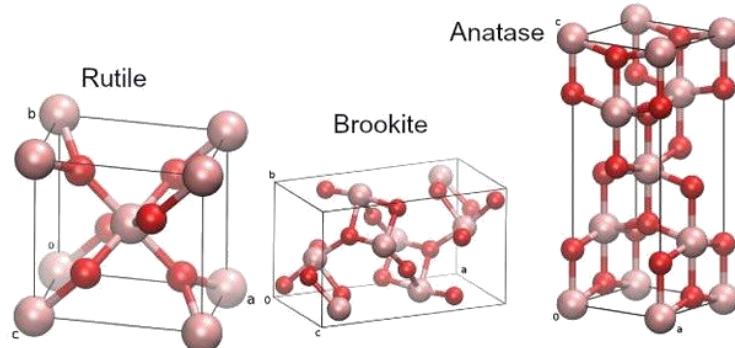


Figure 3 : Représentation des trois mailles cristallines élémentaires du TiO_2 : Rutile, Brookite et Anatase (Figure tirée de [32]).

Par ailleurs, le TiO_2 présente une activité photo-catalytique lorsqu'il est exposé à un rayonnement UV [33]. Ce processus de photo-catalyse est largement utilisé dans le traitement des eaux usées, la dépollution de l'air [34] ou encore les revêtements autonettoyants [35].

1.3.2. Le dioxyde de silicium

Le dioxyde de silicium, ou silice (SiO_2), est un des matériaux les plus abondants dans la lithosphère (composé principal du sable). Il existe sous sa forme libre (cristalline ou amorphe) ou sous forme combinée (silicates de calcium ou de magnésium). A titre d'exemple, le quartz présente une structure cristalline naturelle (Figure 4) et le verre présente une structure amorphe synthétique [36].

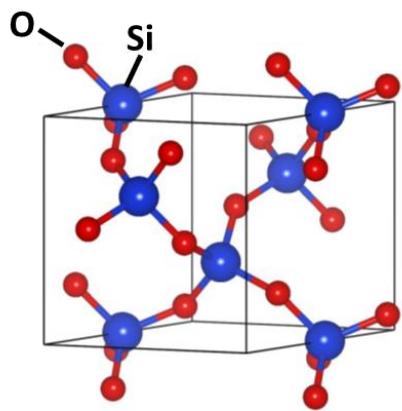


Figure 4 : Représentation de la maille cristalline élémentaire du SiO₂, de type quartz (Figure tirée de [37])

La silice amorphe sous forme nanométrique est souvent utilisée comme agent abrasif ou additif dans les produits finis (E551, cf. Annexe 1). La silice cristalline est, quant à elle, essentiellement présente dans divers produits de constructions. Parmi les produits répertoriés dans la Nanodatabase [9], 72 contiennent du SiO₂.

Un des procédés les plus utilisés pour la synthèse des (nano)-particules de SiO₂ manufacturées est le procédé Stöber. Cette méthode consiste en une réaction d'hydrolyse-condensation d'un précurseur de silice de type alkoxyde (ex : tétraalkoxysilane), catalysé avec une solution d'ammoniac, le tout en milieu alcoolique [38]. Le contrôle de la taille des particules réside dans le choix du précurseur, de l'alcool (méthanol, éthanol ou mélange des deux), de la proportion eau/alcool, de la température et enfin de la quantité d'ammoniac ajoutée.

1.3.3. Le dioxyde de cérium

Le cérium est l'élément le plus abondant des terres rares (groupe des lanthanides). Lorsqu'il est combiné à l'oxygène, l'oxyde de cérium (CeO₂) adopte une structure cristalline de type fluorine (Figure 5) [39][40].

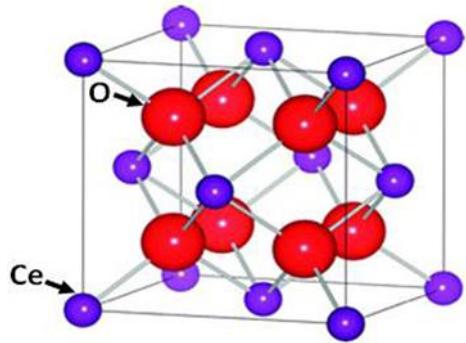


Figure 5 : Représentation de la maille cristalline élémentaire du CeO₂, de type fluorine (Figure tirée de [41])

Le céryum est aussi utilisé pour le polissage du verre [37] et comme additif dans les carburants [42].

Par ailleurs, les nanoparticules d'oxyde de céryum présentent une excellente activité catalytique, qui découlent d'un changement rapide de l'état d'oxydation entre Ce⁴⁺ et Ce³⁺ [40]. Le CeO₂, comme le TiO₂, permet des activités photo-catalytiques, notamment sous forme de nanotubes [43].

Diverses méthodes de synthèse de NPs de CeO₂, telles que les procédés hydrothermaux [44], solvothermiques [45][46], de précipitation aqueuse [46] et de décomposition thermique [47] ont été décrites dans la littérature.

2. Vocabulaires, définitions et réglementation sur les nanomatériaux

Nous avons vu précédemment que les divers domaines d'applications ainsi que les tonnages des nanomatériaux actuellement présents sur le marché local et international sont en croissance exponentielle. Cependant, il n'existe à ce jour pas de définition unique et détaillée du terme « nanomatiériaux ». Nous verrons par la suite que les experts ne s'accordent pas sur une définition commune ce qui entraîne la coexistence de diverses réglementations concernant ces substances.

Ce paragraphe a pour but de définir la notion de nanomatériaux, de la terminologie associée et des différentes définitions existantes au regard du contexte réglementaire selon

les secteurs d'activités. En effet, afin d'identifier et de classer une substance à l'échelle nanométrique, une discussion des termes et définitions associés aux nanomatériaux est nécessaire.

2.1. Vocabulaire normatif lié aux nanomatériaux

Le développement des nanomatériaux a connu une importante évolution durant ces trente dernières années. Utilisés dans différents domaines, il est important d'en avoir une définition claire et applicable aux différents secteurs concernés pour pouvoir les utiliser, les mesurer et les quantifier. A l'heure actuelle, plusieurs définitions de diverses sources coexistent. D'après la norme, (ISO/TS 80004-1:1), publiée en 2015 par l'organisation internationale de normalisation (ISO), le terme de nanomatériau désigne un matériau ayant au moins une dimension externe à l'échelle nanométrique ou ayant une structure interne ou une structure de surface à l'échelle nanométrique [48]. Cette définition couvre tous les types de nanomatériaux représentés sur la Figure 6.



Figure 6 : Les différentes familles des nanomatériaux

Par ailleurs, selon le document normatif ISO/TR 13014 [49], une liste de paramètres physico-chimiques est nécessaire à l'identification et à la caractérisation des nano-objets :

- **La taille et la distribution en taille** (Mesure des dimensions physiques et de la polydispersité des particules).
- **L'état d'agglomération/agrégation** (Les particules fusionnées ou fortement liées sont des agrégats et les particules, ou agrégats, faiblement liées sont des agglomérats).
- **La forme** (le contour de la surface des nanomatériaux).
- **La surface spécifique** (la quantité de surface accessible exprimée par unité de masse en $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ ou par unité de volume en $\text{m}^2.\text{cm}^{-3}$).
- **La composition chimique** (nature chimique, phase cristalline des nanomatériaux).
- **La chimie de surface** (La nature chimique de la couche externe des nanomatériaux).
- **La charge de surface** (La charge électrique de surface des nanomatériaux).
- **La solubilité** (La capacité d'un matériau à se dissoudre dans un solvant entraînant la formation d'une seule phase homogène).
- **La dispersibilité** (La capacité d'un matériau à se répartir uniformément dans un dispersant en formant ainsi une phase stable pour une certaine durée).

L'objectif de cette norme est d'identifier, dans le cadre d'une étude toxicologique, les paramètres physico-chimiques associés aux nanomatériaux. La mesure de chacun de ces paramètres est effectuée avec une ou plusieurs techniques différentes, la caractérisation multiple à mettre en œuvre est donc longue et complexe. De plus l'absence de matériaux de référence certifiés rend cette tâche encore plus difficile.

2.2. Des définitions hétérogènes selon les secteurs d'activités

Malgré la place importante qu'occupe ces matériaux plusieurs définitions, publiées pour des secteurs différents coexistent.

2.2.1. La recommandation de définition des nanomatériaux de la commission européenne

La Commission Européenne (CE) a proposé en 2011 une recommandation de définition concernant les nanomatériaux [50]. Il s'agit d'une définition générale qui couvre un grand nombre de domaine afin d'éviter la spécialisation des définitions selon les secteurs. Cette définition est donnée comme suit « *On entend par nanomatériaux un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégrat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50% des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm* » [50].

Les nano-objets peuvent être libres (particule isolée) ou sous formes d'agglomérats et d'agrégats (Figure 7). Il est donc important à ce stade de définir les termes d'agglomérats et d'agrégats, la recommandation européenne faisant la différence entre ces deux types de structures :

- Dans le cas des agglomérats, les nano-objets se lient entre eux par des liaisons de faible intensité (du type Van-der-Waals ou électrostatiques) tout en étant tangents les uns aux autres.
- Les agrégats sont quant à eux constitués de nano-objets fortement liés entre eux (liaisons chimiques : covalentes ou métalliques) et sont inséparables, puisque ce phénomène est irréversible (fusion partielle des nano-objets) [51].

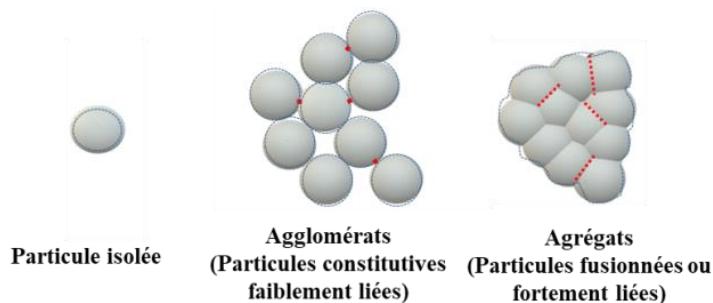


Figure 7 : Différences entre particule isolée ou constitutive d'agglomérat et d'agrégat

De plus, il est important de noter que des particules constitutives peuvent facilement se détacher des agglomérats.

La mesure d'une distribution de taille en nombre des particules (isolées ou constitutives d'agglomérats) est nécessaire afin de confirmer le caractère nano. Selon la recommandation de définition, c'est le diamètre médian de la population de nanoparticules constitutives correspondant au seuil de 50% qui est donné pour caractériser la distribution en taille (répartition en nombre).

La limite inférieure de 1 nm a été précisée afin d'exclure les molécules et les atomes et éviter qu'ils soient désignés en tant que nano-objets. Seuls le fullerène, le graphène et les nanotubes de carbone monocouche sont considérés comme des nanoparticules par dérogation parce qu'une seule de leur dimension est de l'ordre de 1 nm. En revanche, la limite supérieure (100 nm) suscite de nombreux débats à travers le monde. En effet, certains considèrent que le seuil des 100 nm est trop faible et que certaines propriétés spécifiques (électrique, mécanique, optique...) peuvent être observées dès l'échelle submicronique [52].

La CE spécifie également que la définition peut être établie sur la base de la surface spécifique en volume du matériau, encore appelée VSSA (lorsque cela est techniquement possible), et caractérisable par SAXS et/ou BET (voir Tableau 3). Un matériau présentant une VSSA supérieure ou égale à $60 \text{ m}^2.\text{cm}^{-3}$ fait partie de la catégorie des nanomatériaux [50]. Néanmoins, ce seuil théorique est calculé pour une sphère de 100 nm de diamètre avec une masse volumique de 1 g.L^{-1} , ne correspondant pas à la grande diversité des NMs. Cette valeur seuil pour des nano-objets peut être différente en fonction de la forme et de la nature chimique (masse volumique du matériau). Ainsi la VSSA ne peut confirmer le caractère «nano» d'un matériau seulement s'il est validé par la distribution granulométrique en nombre tout en ayant les informations sur sa nature chimique [53].

Une révision de cette définition de nanomatériaux était initialement prévue par la commission européenne pour fin 2014. À ce jour rien n'a été publié et aucune révision n'est programmée.

D'autre part, il existe des définitions sectorielles, selon le domaine d'activité concerné (cosmétiques, alimentaires, biocides). Chacune de ces définitions va être détaillée dans les paragraphes qui suivent.

2.2.2. Définition du règlement cosmétique

En 2009, un règlement a été voté par le parlement européen pour imposer l'indication de la présence des nanomatériaux dans les produits cosmétiques. L'indication du terme « nano » entre crochets sur la liste des ingrédients est devenue obligatoire depuis juillet 2013. Ce règlement définit un nanomatériau comme un « *matériau insoluble ou bio-persistant, fabriqué intentionnellement et se caractérisant par une ou plusieurs dimensions externes, ou une structure interne, sur une échelle de 1 à 100 nanomètres* » [54]. Une différence majeure avec la définition donnée par la commission européenne est l'absence d'un seuil pour les produits cosmétiques. Dès lors qu'une particule nanométrique est détectée, le produit est considéré comme contenant des nanomatériaux.

Jusqu'à présent cinq nanomatériaux étaient autorisés dans les produits cosmétiques : quatre filtres UV (ZnO, TiO₂, MBBT et TBPT) et un colorant (le noir de carbone, C). L'utilisation d'autres types de nanomatériaux nécessitent une déclaration auprès de la commission européenne avant leur mise sur le marché européen [54,55].

2.2.3. Définition du règlement INCO et NOVEL FOOD

Dans le secteur alimentaire, deux ans après la publication du règlement cosmétique, le Règlement INCO avait également prévu l'obligation d'apposer, sur l'étiquette des produits commercialisés, le nom de l'ingrédient contenant des nanomatériaux, à compter de fin 2014. De plus, l'article 18 de ce règlement précise bien l'obligation de mentionner les nanomatériaux dans la liste des ingrédients suivi du mot « nano » entre crochet [56]. Une nouvelle version de ce règlement a vu le jour en octobre 2015 sous le nom de « Novel Food », concernant les produits alimentaires contenant des nanomatériaux manufacturés [57]. Ce

règlement définit un nanomatériaux manufacturé comme étant « *un matériau produit intentionnellement présentant une ou plusieurs dimensions de l'ordre de 100 nm ou moins, ou composé de parties fonctionnelles distinctes, soit internes, soit à la surface, dont beaucoup ont une ou plusieurs dimensions de l'ordre de 100 nm ou moins, y compris des structures, des agglomérats ou des agrégats qui peuvent avoir une taille supérieure à 100 nm mais qui conservent des propriétés caractéristiques de l'échelle « nano »* » [57]. L'étiquetage des nanomatériaux fait maintenant référence à cette nouvelle définition. En France, il a fallu attendre mai 2017 pour que le ministère de l'environnement publie en 2017 un arrêté évoquant l'obligation et les conditions d'étiquetage des nanomatériaux manufacturés dans les denrées alimentaires [58]. Cependant, ce règlement n'était toujours pas effectif, ce qui entraîne une difficulté d'identification et de traçabilité de ces substances [13][59].

Parmi les additifs alimentaires les plus utilisés, le dioxyde de titane, encore appelé E171 (cf. la nomenclature dans l'Annexe 1, est à l'origine de certaines controverses concernant son impact sur la santé des consommateurs [60]. Depuis janvier 2017, les ministères de l'économie, de la santé et de l'agriculture ainsi que l'ANSES (Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale) se sont regroupés pour décider de l'éventuel risque toxicologique que peut avoir cet additif alimentaire. D'où la publication de l'arrêté du 17 avril 2019 qui annonce la suspension de la mise sur le marché de denrées alimentaires contenant l'additif E171 pour l'année 2020 et qui a été reconduit jusqu'à fin 2021 [61,62].

2.2.4. Définition du règlement biocides

Le règlement biocide, quant à lui, concerne uniquement les produits désinfectants, bactéricides, insecticides et fongicides. Il ne couvre donc pas les pesticides destinés au secteur agricole ou les substances actives introduites dans les produits cosmétiques et les médicaments. Cette réglementation exige l'indication de la présence des nanomatériaux entre parenthèses ainsi que les risques liés à ces derniers sur l'étiquette des produits commercialisés. Ce règlement est basé sur une définition de nanomatériaux similaire à celle

proposée dans la recommandation de la CE. En effet, il définit un nanomatériaux comme « *une substance active ou une substance non active, naturelle ou manufacturée, contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm* » [63].

Pour résumer les paragraphes précédents, la coexistence de plusieurs textes combinant des définitions différentes témoigne d'une absence d'uniformité [64]. Le Tableau 2 montre la diversité des définitions données pour ce terme de nanomatériaux en fonction du secteur d'activité.

Tableau 2 : Les hétérogénéités dans les définitions proposées par les différentes organisations françaises et européennes [65][66]

<i>Organisation</i>	<i>Taille</i>	<i>solubilité</i>	<i>Type de nanomatériaux</i>	<i>Secteur d'activité</i>
<i>Recommandation de définition CE</i>	Entre 1 et 100 nm avec un seuil minimal de 50% en nombre de particules constitutives	Pas de précision	Nano-objets et agglomérat/agrégats	Ensemble
<i>Définitions adoptées par la réglementation sectorielle</i>	Entre 1 et 100 nm	Insoluble ou biopersistant	Nano-objets, agglomérat/agrégats et matériaux nanostructurés	Cosmétiques
	Entre 1 et 100 nm pour les particules constitutives, et supérieure pour les agrégats ou agglomérats	Pas de précision	Nano-objets, agglomérat/agrégats et matériaux nanostructurés	Alimentation
	Entre 1 et 100 nm avec un seuil minimal de 50% en nombre de particules	Pas de précision	Nano-objets et agglomérat/agrégats	Biocides

Comme nous pouvons le voir dans le Tableau 2, des différences sont notées. Par exemple le règlement sur les produits cosmétiques évoque la solubilité des nanomatériaux, qui n'est pas précisée dans la recommandation de la CE. De plus dans certaines définitions, un seuil est exigé (Recommandation CE, Règlement biocides), d'autres pas (Règlement cosmétique et INCO). Le type de nanomatériaux concerné n'est pas toujours le même puisque la recommandation de la CE et le règlement biocide n'incluent pas la famille des matériaux nanostructurés dans leurs définitions. Les matériaux nanostructurés, qui représentent tous

les matériaux avec aucune dimension externe à l'échelle nanométrique mais qui sont composés de parties nanométriques (interne et/ou en surface), ne sont pas inclus dans la définition proposée par la commission européenne.

Le besoin de développer une seule définition harmonisée et applicable à tous les secteurs et types de nanomatériaux est donc nécessaire pour l'identification, la caractérisation, la traçabilité et la compréhension des nouveaux phénomènes observés à cette échelle nanométrique. En effet, afin de pouvoir évaluer les éventuels risques des nanomatériaux, il faut d'abord les identifier et les caractériser en se basant sur une définition unique [64]. Une définition générale pourrait s'appliquer sur des matériaux dont il est inutile d'interdire la commercialisation, et inversement, une définition trop limitative pourrait autoriser la commercialisation de nanomatériaux à risques ou qui nécessite des contrôles avant mise sur le marché.

Suite à ces définitions, des déclarations obligatoires ont été mises en place d'abord en France puis en Europe.

2.3. Examen de la législation et déclarations obligatoires concernant les nanomatériaux

2.3.1. En France : Le Registre R-Nano

Pour une meilleure surveillance des substances circulantes sur le sol Français, le registre R-Nano a été mis en place en 2012, en imposant aux fabricants, importateurs et distributeurs de nanomatériaux, la déclaration annuelle des substances utilisées (leurs natures, leurs quantités et leurs usages) auprès des autorités en se basant sur la définition recommandée par la commission européenne (2011) [50]. Cette déclaration est obligatoire dès lors qu'une quantité supérieure à 100 g est concernée. Seules les substances manufacturées intentionnellement, sur le territoire français ou importées, sont concernées par ce registre. En effet, il ne couvre pas les nanomatériaux introduits dans des produits

commerciaux à l'étranger qui sont ensuite importés en France. Cette démarche se fait via l'application en ligne du « R-nano » [67]. Les données collectées sont gérées par l'ANSES. Les déclarations se font en fonction des familles (qui eux même sont composées de sous familles) et de l'usage auquel les nanomatériaux sont destinés.

2.3.2. En Europe : Le règlement REACH

Il existe un règlement européen depuis 2007 concernant l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques, encore appelé le règlement REACH (obligation d'enRegistrement, Evaluation et Autorisation, restriction des produits CHimiques). C'est un règlement européen mis en place pour sécuriser la production et l'utilisation des substances chimiques en Europe [68]. L'enregistrement se fait directement en ligne via le site de l'ECHA (Agence Européenne des produits CHimiques). Depuis décembre 2018, le règlement intègre les nanomatériaux dans la liste des substances déjà présentes et exige des spécificités requises les concernant, notamment la forme, la surface spécifique ou encore la distribution de taille en nombre accompagnée d'une indication de la fraction de particules de tailles comprises entre 1 nm et 100 nm [69]. Ces nouvelles règles ont été appliquées le 1er janvier 2020.

Outre le fait que l'un soit à l'échelle française et l'autre Européenne, le Registre R-Nano présente les déclarations a posteriori alors que REACH présente les déclarations a priori.

Afin de pouvoir répondre à ces règlements en vigueur, la métrologie, plus précisément la nanométrie, est primordial pour mieux définir ces substances dont la production augmente et qui suscitent encore des questions au niveau de leur toxicité et de leur cycle de vie.

3. La nanométrie

3.1. Généralités

Définie comme la science de la mesure, la métrologie s'intéresse au processus de mesurage théorique et pratique d'une grandeur donnée [70]. La nanométrie est, par extrapolation, la métrologie liée aux activités des nanotechnologies. La métrologie se résume aux notions suivantes : mesurande, incertitude de mesure et traçabilité métrologique. Selon le vocabulaire international de métrologie (VIM) [70], le mesurande est la grandeur que l'on veut mesurer. Ainsi, il faut toujours commencer par identifier le mesurande, la méthode de mesure et la procédure correspondante. Plusieurs approximations peuvent être appliquées au résultat du mesurande souvent liées à l'instrument, la méthode, le milieu d'étude et/ou l'opérateur. C'est là où intervient l'incertitude de mesure, définie dans le GUM (Guide to the expression of uncertainty in measurement) comme étant « *le paramètre associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient être raisonnablement attribuées au mesurande* » [71]. La valeur vraie du mesurande est donc être encadrée par l'intervalle d'incertitudes.

La métrologie permet ainsi l'évaluation des différentes sources d'erreurs liées au processus de mesurage et leur prise en compte afin d'avoir une incertitude globale associée au mesurande sélectionné.

3.2. Le système international d'unités (SI)

Chaque grandeur mesurée est liée à une unité de mesure donnée par un référentiel commun, le système international d'unités (SI). Le SI a été fondé, en 1960 par le Comité International des Poids et Mesures (CIPM) [72], sur 7 unités de base : Le mètre (la longueur), le kilogramme (la masse), la seconde (le temps), l'ampère (le courant électrique), la mole (la

quantité de matière), le kelvin (la température) et le candela (l'intensité lumineuse). Toutes ces unités sont associées à des constantes fondamentales, comme la vitesse de la lumière dans le vide c (la célérité) pour définir la longueur en mètre ou encore la constante de Planck, récemment fixée et qui permet la définition du kilogramme [73]. Les sept unités ainsi que leurs constantes respectives sont illustrées par la Figure 8.

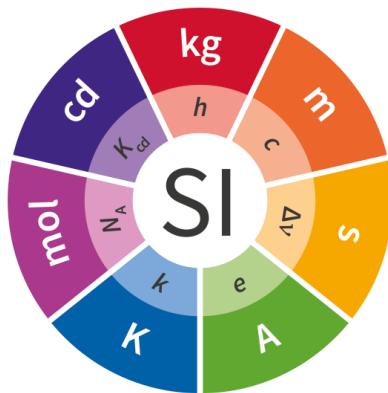


Figure 8 : Unités de base du Système International et les constantes fondamentales associées, Figure tirée de [74].

Des unités dérivées peuvent être définies à partir des unités de base, tel que le volt ($\text{kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-3} \cdot \text{A}^{-1}$), le newton ($\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$), le hertz (s^{-1}) etc.

Nous allons maintenant nous intéresser à l'unité de longueur qui est au cœur de notre sujet. La définition actuelle du mètre a été établie lors de la 17^{ème} Conférence Générale des Poids et des Mesures (CGPM) en 1983 [75]. Le mètre correspond donc à « *la longueur du trajet parcouru dans le vide par la lumière pendant une durée de 1/299 792 458 de seconde* », une unité liée à la définition de la seconde qui est basée sur la transition énergétique entre deux niveaux hyperfins de l'atome de Césium, ^{133}Cs . Comme la valeur de la célérité de la lumière c , est fixée ($299\ 792\ 458\ \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), la définition du mètre est fixe et aucune incertitude ne lui est attribuée.

3.3. Chaine de traçabilité pour les mesures dimensionnelles (échelle nanométrique)

Un des objectifs de la métrologie est d'établir la chaîne de traçabilité des grandeurs mesurées. Cette dernière permet la comparaison des processus de mesurage. La traçabilité est définie, dans le VIM, comme « *la propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure* » [70]. La Figure 9 illustre un exemple de chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles, allant de la définition du mètre selon le SI à l'échelle du nanomètre.

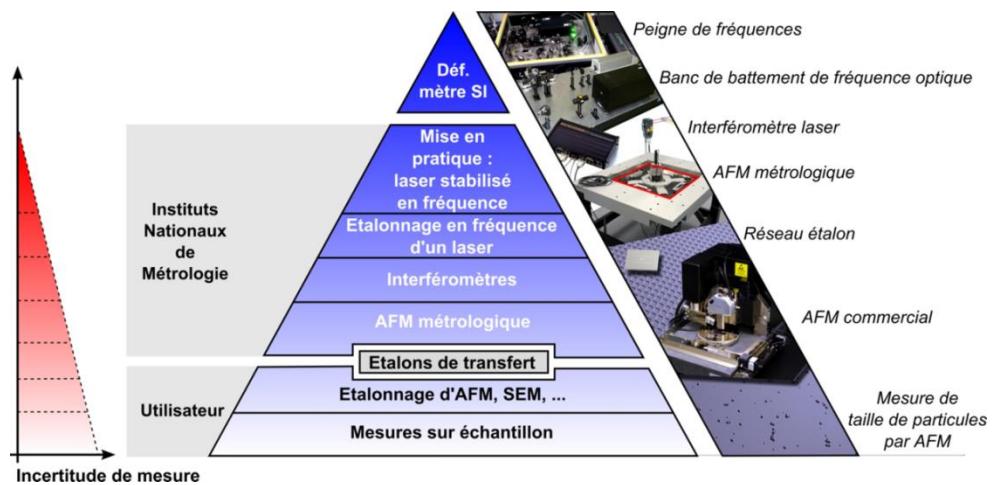


Figure 9 : Exemple de chaîne de traçabilité, une pyramide illustrant une chaîne ininterrompue, de la définition du mètre (SI) à l'échelle nanométrique. Figure tirée de [76]

Afin de garantir la traçabilité des mesures dimensionnelles réalisées en microscopie électronique, les instruments utilisés doivent être étalonnés via ce qu'on appelle un étalon de transfert. Cet étalon se présente sous forme d'un réseau de motifs avec une hauteur de marche (selon l'axe z) et un pas de réseau qui correspond à la période des motifs (selon les axes x et y). Ce réseau doit être étalonné par un instrument de référence, l'AFM métrologique, qui fera le lien entre les mesures expérimentales et la définition du mètre. L'AFM métrologique, développé au LNE [76], met en pratique des interféromètres et des sources laser étalonnées en fréquence, aussi appelées étalons primaires, directement liées à la définition du mètre dans le SI (Figure 9). Cet instrument de

référence est essentiel pour ne pas rompre la chaîne de traçabilité et avoir un bilan d'incertitude complet.

4. Les différentes techniques de caractérisation dimensionnelles de nanomatériaux

Plusieurs techniques de mesure sont utilisées pour la caractérisation des propriétés dimensionnelles des nano-objets. Ces dernières peuvent être classées en deux grandes familles ; les techniques « directes » et les techniques « indirectes ». Chaque technique étant basée sur une loi physique distincte, elle peut nous fournir de façon directe ou indirecte la grandeur que l'on veut mesurer. Il existe quatre autres sous familles pour la classification des techniques de caractérisation dimensionnelle (qu'elles soient directes ou indirectes) présentées dans le cadre du projet Nanodefine [77] :

- Les méthodes de comptage (mesure d'une propriété physique d'une particule individuelle)
- Les méthodes d'ensemble (mesure de la réponse spectrale ou paramétrique de l'ensemble de particules représentatif de l'échantillon)
- Les méthodes intégrales (mesure d'une seule valeur intégrale de l'ensemble des particules ne permettant pas l'accès à une distribution en taille).
- Les méthodes séparatives (mesure d'une gamme de quantité ou de taille après séparation par fractionnement)

Les techniques directes sont principalement représentées par les microscopes électroniques ainsi que le microscope à force atomique puisqu'elles sont directement traçables au système international d'unités, via l'AFM métrologique, et permettent l'accès aux mesures dimensionnelles et locales des nano-objets. Elles sont également classées parmi les méthodes de comptage car les particules étudiées sont comptées une par une, selon une certaine propriété physique (diamètre géométrique pour les microscopes électroniques), dans le but d'établir une distribution en taille pondérée en nombre.

Les techniques « indirectes » donnent une information globale de l'échantillon étudié et la grandeur que l'on veut mesurer (le mesurande) est souvent déduite d'une relation mathématique mettant en jeux plusieurs autres grandeurs. Parmi ces techniques indirectes, nous pouvons distinguer des méthodes de comptage (*Particle Tracking Analysis* ou PTA, *Single particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* ou sp-ICPMS), des méthodes d'ensemble (*Dynamic Light Scattering* ou DLS, *Small angle X-ray Scattering* ou SAXS, *Diffractométrie des rayons X* ou DRX), des méthodes intégrales (*Brunauer, Emmett et Teller* ou BET) et des méthodes séparatives (*Field-Flow-Fractionation* ou FFF, *Scanning Mobility Particle Sizer* ou SMPS).

Afin de sélectionner la technique appropriée pour la caractérisation d'un échantillon donné, il est impératif de connaître les performances des méthodes disponibles ainsi que de prendre en compte différents paramètres comme le type de l'échantillon, la gamme de taille et la forme des particules, la gamme de concentration et les propriétés physico-chimiques des particules considérées. Il est important de souligner que l'état (solide, poudre, suspension colloïdale, aérosol...) de l'échantillon dépend de la technique présélectionnée. Dans ce contexte, une évaluation des performances et un aperçu général des méthodes de caractérisation recommandées en fonction des différents paramètres cités ci-dessus sont présentés dans le projet Nanodefine [77]. Cette approche est développée pour soutenir la mise en œuvre de la recommandation de définition des nanomatériaux de la CE. En vue de caractériser ces substances à l'échelle nanométrique, le Tableau 3 présente une liste des méthodes utilisées, leurs mesurandes associés ainsi que leurs avantages et inconvénients.

Tableau 3 : Quelques techniques utilisées pour la caractérisation dimensionnelle des nano-objets

Technique	Analyse	Méthode	Mesurande	Avantages	Inconvénients	Références
MEB	Directe	Comptage	Dimension physique (selon x et y) en nm	-Information sur la forme et distribution en taille en nombre des nano-objets observés.	-Non représentative de tout l'échantillon. -Absence d'information en 3D -Une préparation d'échantillon spécifique est nécessaire.	[78–82]
MET			Dimension physique (selon z) en nm	-Possibilité de mesure des particules constitutives d'agglomérats/agrégats		[82–85]
AFM						[80,86,87]
PTA	Indirecte	Comptage	Diamètre hydrodynamique (individuel) en nm	Distribution en taille en nombre des particules.	-Analyse des suspensions uniquement. -Mesure les agglomérats/agrégats au lieu des particules constitutives. -Faible sensibilité pour les particules de très petite taille. -Dissolution possible. -Mesures fiables limitées aux particules sphériques. -Non adaptée aux particules agglomérées/agrégées.	[77]
Sp-ICP-MS			Concentration massique en ng/L	-Forte sensibilité et information sur la taille (des particules individuelles) et la composition élémentaire des échantillons. -Analyse rapide.		[88–90]
DLS	Ensemble		Diamètre hydrodynamique en nm	Analyse rapide et peu couteuse	-Non adaptée aux échantillons très ou peu concentrés ni aux échantillons polydisperses et/ou présentant un état d'agglomération/agréation.	[89,91,92]
SAXS			Surface spécifique en m ² /g	-Adaptée à tout type d'échantillon (suspensions colloïdales, poudre, solide, gel etc.) -Analyse de plus de 10 ¹⁰ particules		[89,90,93,94]

DRX		Taille de cristallite en nm	Identification des phases cristallines et information sur la taille des cristallites	Analyse des poudres uniquement. Pas de distribution en taille	[95–97]
BET	Intégrale	Surface spécifique en m ² /g	-Appareil très reproductible et représentatif de l'échantillon. -Disponibilité de matériaux de références pour une large gamme de surface spécifique.	Analyse des poudres uniquement. Pas de distribution en taille.	[89,96–98]
FFF		Diamètre hydrodynamique en nm	-Séparation physique des particules. -Distribution en taille en masse	-Non adaptée pour les agglomérées/agrégées. -Pas de distribution en taille en nombre.	[77]
SMPS	Séparative	diamètre de mobilité électrique (nm)	-Distribution en taille en nombre. -Analyse rapide et applicable aux échantillons polydisperses.	-Non adaptée pour les particules constitutives d'agglomérats/agrégats et/ou les particules de forme complexes. -Analyse des aérosols uniquement.	[77]

5. Caractérisation dimensionnelles des nano-objets sous forme de matière première ou contenus dans les produits manufacturés

La caractérisation dimensionnelle des nano-objets implique de développer des techniques et des protocoles permettant de les caractériser sous forme de matières premières (au moment de leur production et avant leur utilisation) ou dans des produits finis commercialisés. Depuis quelques années, une forte augmentation des publications sur les particules introduites dans des matrices complexes (par exemple, des produits alimentaires, de soins et de santé), cependant, il manque une stratégie appropriée pour la caractérisation de ces substances. Une étude plus rigoureuse sur ce sujet est donc essentielle, et reste un défi majeur pour la traçabilité des (nano)-objets. A titre d'exemple, des particules de TiO₂ ont été détectées et quantifiées dans de nombreux écrans solaires par de multiples techniques d'analyse, en particulier des techniques séparatives telles que le fractionnement à flux asymétrique couplé à la spectrométrie de masse à plasma inductif (AF4-ICP-MS) [99] ou le spICP-MS [100][23]. L'objectif et le principe de l'approche multi-techniques est développé dans le paragraphe suivant.

5.1. L'approche multi-techniques

Toutes les recommandations, définitions et législations, détaillées dans le 2, soulignent la nécessité de caractériser quantitativement les nanomatériaux sous leur forme initiale ou comme additifs dans des produits manufacturés. Ce type de caractérisation est essentiel pour la classification des substances « nano ». Les méthodes de caractérisation présentées dans la section précédente (Tableau 3) fournissent une mesure de la taille "physique", qui est directement associée à l'unité de longueur SI, le mètre (techniques directes) ou une mesure d'autres propriétés physiques (ex, surface spécifique) à partir desquelles un diamètre

équivalent peut être calculé sur un grand nombre de particules statistiquement représentatives (techniques indirectes).

Le rapport du JRC sur l'identification des nanomatériaux [101] a conclu que seules les mesures d'imagerie effectuées avec le MET ou le MEB donnent un accès direct aux particules constitutives d'agrégats et à la plus petite taille de particule externe pour une majorité de matériaux, mais avec un nombre limité de particules. Cependant, afin d'avoir une caractérisation complète des NMs, il est nécessaire de combiner plusieurs techniques [102–104]. Certains articles ont souligné la fiabilité de la méthode SAXS combinée à une autre technique pour extraire des informations dimensionnelles sur des particules de référence (exemple du couple SAXS/Sp-ICPMS [90,105] ou de la combinaison SAXS, MEB, MET et DLS sur des particules synthétisées [96,106] ou des matières premières [107]. Une étude approfondie de l'additif TiO₂-E171, montre une grande hétérogénéité dans la composition des lots présents sur le marché, notamment en ce qui concerne la distribution granulométrique (le pourcentage en nombre de particules inférieures à 100 nm varie de 11 à 46%) [108]. Verleysen et al. [109] ont identifié une grande variation dans la taille pour les 15 lots d'additif E171 analysés avec des résultats similaires obtenus par MET et sp-ICP-MS.

La nécessité d'un tel panel de caractérisation, incluant les techniques de fractionnement et les spectroscopies, est soulignée par le projet européen NanoDefine [53,110]. A partir de l'analyse de la mesure de nano-objets de taille contrôlée et de matériaux industriels de forme et de taille complexes, ce projet a identifié certains biais dans la comparaison des techniques basées sur différents principes et modèles physiques. Comme l'appuie le projet NanoDefine, pour les échantillons hautement polydisperses en forme et en taille, certaines méthodes classiques sont limitées pour mesurer la taille des NMs selon la recommandation de la CE. Par conséquent, une analyse de microscopie électronique est nécessaire pour l'évaluation de la polydispersité de l'échantillon.

A. Philippe et al [21] montrent que, dans le cas des particules de TiO₂ utilisées comme filtre UV dans les écrans solaires, l'aspect multi-technique (une technique de séparation combiné au TEM) a permis de déterminer la taille des particules constitutives. Par ailleurs,

Dudefoi et al. [111] se sont intéressés à quatre marques de chewing-gums afin de quantifier (par ICP-AES) la teneur des particules TiO₂ présentes dans la couche externe des particules avant l'analyse de taille par TEM. Pour l'un d'entre eux, la poudre extraite contient 99% de TiO₂ pur, tandis que les autres étaient composés d'un mélange de TiO₂ avec d'autres additifs tels que le carbonate de calcium (E170), le silicate de magnésium (E553a) ou le talc (E553b). I. De La Calle et al ont étudié, avec une combinaison de DLS et de AF4-ICP-MS, 21 produits alimentaires et boissons contenant du TiO₂ et du SiO₂ pour évaluer la présence ou non de nanoparticules dans leur composition [23]. Ils ont ainsi identifié des particules dont la taille varie de 10 nm à 300 nm. Les techniques présentent des résultats plus ou moins proches dus à la sensibilité de chaque technique, à la nature des NPs, à la matrice concernée ainsi qu'au protocole appliqué [23].

Pour tous les échantillons étudiés, les nanoparticules ont été facilement identifiées par une microscopie directe (MET ou MEB) mais toutes ces études mettent en évidence la difficulté de comparaison entre différents mesurandes associés à différentes techniques. Il est nécessaire de développer une approche à plusieurs niveaux qui combine différents matériaux de référence et une connaissance préalable du matériau étudié (propriétés physico-chimiques, forme etc.) afin de pouvoir déterminer pleinement leur caractéristique dimensionnelle.

L'identification et la mesure dimensionnelle de ces (nano)-objets pourraient être problématiques sans une préparation préalable des échantillons, qui une étape cruciale pour cette étude.

5.2. Préparation d'échantillon

La mise en évidence de la dimension nanométrique n'est pas toujours facile pour les matières premières et encore moins pour les particules contenues dans les produits finis. Afin de faciliter les mesures, une étape en amont de préparation d'échantillon est nécessaire.

La préparation d'échantillon, cruciale dans le processus d'identification et de caractérisation des nano-objets, se divise en deux étapes : La première étape, commune à tous les échantillons, mais qui peut varier d'une technique à une autre (conditions d'analyse, état physique de l'échantillon, paramètres, milieux d'étude etc.) et la deuxième étape d'extraction qui ne concerne que les nano-objets introduits dans les produits finis.

F. Babick et al [89] ont fait une sélection de 15 échantillons de nature variable (matières premières et matériaux de référence) pour caractériser leur dimensions. Ils ont choisi 6 matériaux de référence en suspensions colloïdales et 9 poudres commerciales pour les analyser par plusieurs techniques (MEB, MET, sp-ICP-MS, PTA, AF4-LS, DLS, SAXS, et BET) et comparer les résultats. Ils ont listé l'influence de la préparation de l'échantillon, de l'état d'agglomération et de la technique utilisée sur la mesure de taille. La technique choisie dépend du milieu d'étude (par exemple les suspensions ne sont pas mesurables par BET), des propriétés et compositions chimiques des NMs (difficulté de dissolution ou présence de matériaux organiques pour le sp-ICP-MS) et des limites de détection intrinsèques à chaque techniques (Tableau 3).

Deux paramètres sont très importants pour la caractérisation des propriétés dimensionnelles de différentes populations de nanoparticules en suspension colloïdale : la stabilité et la dispersibilité. Ces deux facteurs permettent d'avoir une mesure fiable et représentative de l'échantillon dans le cas d'une technique indirecte mettant en œuvre une analyse de suspension colloïdale ou un dépôt homogène et bien dispersé dans le cas des techniques directe. La stabilité caractérise la capacité d'une suspension à résister aux variations de propriétés (telles que la sédimentation, agrégation ou agglomération par exemple) dans le temps [112]. La majorité des suspensions colloïdales sont instables car leur état physique est susceptible d'évoluer vers un état d'agglomération et/ou d'agrégation. Pour maintenir la stabilité d'un système colloïdal, les forces de répulsion doivent donc être dominantes (théorie DLVO [113]). Plusieurs études ont été réalisées dans le cadre de la préparation d'échantillon pour stabiliser les suspensions colloïdales, en jouant sur les paramètres d'ultrasonication pour casser le maximum d'agglomérats [114–116] (éviter la

sédimentation des particules), et en ajustant le pH de la solution pour modifier la charge en surface des particules (stabilisation électrostatique) (Figure 10). L'ajout des tensioactifs est également très utile (stabilisation stérique), pour modifier la balance attraction/répulsion de forces entre les particules dispersées en solution, en tenant en compte les propriétés physico-chimiques des particules (hydrophobes, hydrophile) et des solvants utilisés (protique ou aprotique) (Figure 10).

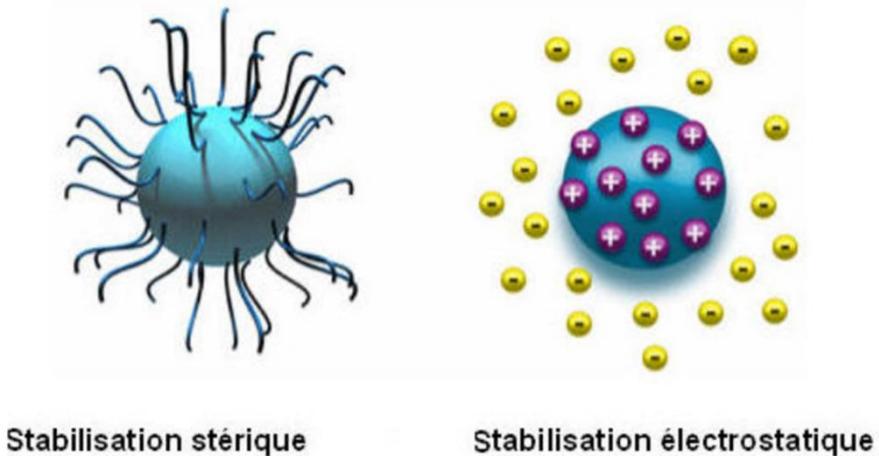


Figure 10 : Schéma représentatif des deux types de stabilisation : stérique et électrostatique (Figure tirée de Thèse Djamal Zerrouki, Assemblages colloïdaux organisés.

La dispersibilité de nanomatériaux est définie, dans le cas des suspensions colloïdales, comme la capacité des nanomatériaux à être réparti de manière homogène dans le milieu dispersé et où la taille des particules correspond idéalement à celle des particules primaires [49]. Une suspension colloïdale bien dispersée peut rester stable un temps t donné. Il est possible de redisperser des particules dans une solution et la technique la plus efficace et répandue est l'utilisation des ultrasons. En effet, les ultrasons ont été très fortement développés pour leur effet dispersant et désagglomérant sur les particules. Ces effets générés résultent d'un phénomène de cavitation. Ayant une fréquence supérieure à 20 kHz, les ultrasons entraînent la formation de microbulles, appelées bulles de cavitation [117,118]. Ces microbulles croissent en subissant des cycles de compression et de dilatation jusqu'à leur implosion. Lors de l'implosion, des conditions de haute température (5000 K) et pression (1000 à 2000 atm) sont mises en jeu. L'énergie ainsi dissipée conduit à l'homogénéisation

de la suspension colloïdale étudiée et à la dissociation des particules agglomérées [119,120]. Dans une étude de Kaur et al [114], différents types de NMs ont été sélectionnés (ZnO, CeO₂, Ag et des Nanotubes de carbone) dans le but d'optimiser le protocole de dispersion. Deux outils de dispersions mécaniques ont été choisis, le bain à ultrasons et la sonde à ultrasons. L'état d'agglomération a ensuite était suivi par DLS, et les résultats ont montré que le processus de dissociation des particules agglomérées dépend de la nature chimique de l'échantillon. De plus, l'utilisation de la sonde à ultrasons est généralement plus efficace et moins chronophage que le bain à ultrasons (2 min contre 15 min-1h d'ultrasonication) mais celle-ci peut avoir l'effet contraire c'est-à-dire participer à la réagglomération voire même l'agrégation des particules si l'ultrasonication est appliquée sur une longue durée ou en mode continu ce qui peut altérer l'échantillon (phénomènes de surchauffe) [114].

L'échantillon doit donc passer par différentes étapes de préparation, à savoir, la désagglomération à l'aide d'un traitement mécanique aux ultrasons pour mieux disperser les particules, la stabilisation des suspensions et enfin l'optimisation des paramètres d'analyse (ex : dépôt dans le cas des microscopes électroniques). Toutes ces étapes permettent l'obtention d'une suspension stable et bien dispersée et des résultats plus facilement exploitables.

Pour la deuxième étape de l'extraction des particules du produit fini, plusieurs protocoles coexistent et sont dépendant de la nature des matériaux, de leurs matrices ainsi que de la technique considérée. I de la Calle et al publient en 2016 une revue d'articles avec un ensemble de protocoles utilisés dans la littérature pour l'extraction des NPs des produits commerciaux [24]. Un nombre important de techniques (directes et indirectes) et de nature de NPs est mentionné. Les solvants les plus utilisés pour dissoudre la matrice contenant les NPs et permettant ainsi leur extraction sont :

- L'hexane essentiellement utilisé pour les échantillons contenant une grande partie de gras (ex : crème solaire) [121,122].

- L'acide nitrique avec le peroxyde d'hydrogène pour les matrices alimentaires (soupes et peintures en réalisant une digestion acide souvent assistée par microondes) [123,124].
- L'eau ultra pure est beaucoup utilisée pour certains aliments (bonbons, chewing-gums) et produits de soins (dentifrice) [23,111].
- D'autres solvants moins fréquents comme des sels d'ammonium (MAH) associé au surfactant triton x-100 ou la BSA, utilisés pour l'extraction des particules d'Ag des tissus biologiques [125,126].

La dégradation thermique de la matrice (textile, aliment) est aussi utilisée, en chauffant l'échantillon à haute température pendant une certaine durée tout en prenant en compte la température de fusion de l'élément dont l'extraction est souhaitée [24].

Il est important de préciser que, les (nano)-objets sont souvent présentes en faibles quantité dans les produits finis et l'étape d'extraction donne un faible rendement. L'extraction d'une quantité suffisante de particules, pour la réalisation de plusieurs analyses, est donc difficile. De plus, il faut s'assurer que les particules extraites ne soient pas dégradées lors de cette étape d'extraction qui nécessite parfois le chauffage et l'utilisation de solvants acides ou chlorés.

Malgré l'optimisation des paramètres influençant les analyses et malgré les avancées technologiques notables sur les méthodes de caractérisation, la combinaison de plusieurs techniques est souvent préférée et recommandée pour valider les mesures. La comparaison des méthodes d'identification de la taille des nanoparticules dans les systèmes complexes fait encore l'objet de débats aujourd'hui. Les méthodes indirectes sont de plus en plus utilisées mais restent difficilement traçable au SI contrairement aux méthodes directes. Ces travaux de thèse visent à comparer les mesures réalisées avec des techniques appartenant aux deux familles (SAXS, BET, DLS et MEB). La technique MEB est considérée comme une technique de référence puisqu'elle est traçable au SI.

Références

- [1] I. Laoufi, Structure, morphologie et activité catalytique des nanoparticules d'or supportées sur TiO₂ (110) : une étude *in operando* par GIXD et GISAXS au cours de l'oxydation du CO, Université de Grenoble, 2012.
- [2] N. Toshima, Metal Nanoparticles for Catalysis, in: L.M. Liz-Marzán, P. V Kamat (Eds.), *Nanoscale Mater.*, Springer US, 2003: pp. 79–96. doi:10.1007/0-306-48108-1_3.
- [3] G. Schmid, B. Corain, Nanoparticulated gold: Syntheses, structures, electronics, and reactivities, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2003) 3081–3098. doi:10.1002/ejic.200300187.
- [4] A.S. Barnard, Shape-Dependent Confinement of the Nanodiamond Band Gap, *Cryst. Growth Des.* 9 (2009) 4860–4863. doi:10.1021/cg900680e.
- [5] S. Link, M.A. El-Sayed, Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles, *J. Phys. Chem. B.* 103 (1999) 4212–4217. doi:10.1021/jp984796o.
- [6] L. Néel, Théorie du traînage magnétique des ferromagnétiques en grains fins avec applications aux terres cuites, *Anal. Geophys.* 5 (1949).
- [7] G. Apai, J.F. Hamilton, J. Stohr, A. Thompson, Extended x-ray absorption fine structure of small Cu and Ni clusters: Binding-energy and bond-length changes with cluster size, *Phys. Rev. Lett.* 43 (1979) 165–169. doi:10.1103/PhysRevLett.43.165.
- [8] I. De la Calle, M. Menta, F. Séby, Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review, *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 125 (2016) 66–96. doi:10.1016/j.sab.2016.09.007.
- [9] The Nanodatabase (www.nanodb.dk) développée par le Danish Consumer Council, The Ecological council and DTU Environment, (2021).
- [10] S. Yao, P. Swetha, Y. Zhu, Nanomaterial-Enabled Wearable Sensors for Healthcare., *Adv. Healthc. Mater.* 7 (2018). doi:10.1002/adhm.201700889.
- [11] D. Jariwala, V.K. Sangwan, L.J. Lauhon, T.J. Marks, M.C. Hersam, Carbon nanomaterials for electronics, optoelectronics, photovoltaics and sensing, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 2824–2860. doi:10.1039/C2CS35335K.
- [12] P. Verma, S.K. Maheshwari, Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors, *Int. J. Nano Dimens.* 10 (2019) 18–36. doi:10.22034/ijnd.2018.87646.1609.
- [13] ANSES, Notice of the National Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety on nanomaterials in food products, 2020.
- [14] A. V. Radhamani, H.C. Lau, S. Ramakrishna, CNT-reinforced metal and steel nanocomposites: A comprehensive assessment of progress and future directions, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* 114 (2018) 170–187. doi:10.1016/j.compositesa.2018.08.010.
- [15] A. Kamyshny, S. Magdassi, Conductive nanomaterials for printed electronics, *Small.* 10 (2014) 3515–3535. doi:10.1002/smll.201303000.
- [16] General Directorate of Risk Prevention, Study report on the elements resulting from the declarations of substances in the nanoparticle state for 2019, 2020. <https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/Rapport R-nano 2019.pdf>.

- [17] M.E. Vance, T. Kuiken, E.P. Vejerano, S.P. McGinnis, M.F.H. Jr, D. Rejeski, M.S. Hull, Nanotechnology in the real world : Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory, (2015) 1769–1780. doi:10.3762/bjnano.6.181.
- [18] S. Foss Hansen, L.R. Heggelund, P. Revilla Besora, A. Mackevica, A. Boldrin, A. Baun, Nanoproducts - What is actually available to European consumers?, *Environ. Sci. Nano.* 3 (2016) 169–180. doi:10.1039/c5en00182j.
- [19] A.J. Haider, Z.N. Jameel, I.H.M. Al-Hussaini, Review on: Titanium dioxide applications, *Energy Procedia.* 157 (2019) 17–29. doi:10.1016/j.egypro.2018.11.159.
- [20] X. Chen, A. Selloni, Introduction: Titanium Dioxide (TiO₂) Nanomaterials, *Chem. Rev.* 114 (2014) 9281–9282. doi:10.1021/cr500422r.
- [21] A. Philippe, J. Košík, A. Welle, J.M. Guigner, O. Clemens, G.E. Schaumann, Extraction and characterization methods for titanium dioxide nanoparticles from commercialized sunscreens, *Environ. Sci. Nano.* 5 (2018) 191–202. doi:10.1039/c7en00677b.
- [22] O. Geiss, J. Ponti, C. Senaldi, I. Bianchi, D. Mehn, J. Barrero, D. Gilliland, R. Matissek, E. Anklam, Characterisation of food grade titania with respect to nanoparticle content in pristine additives and in their related food products, *Food Addit. Contam. - Part A.* 37 (2020) 239–253. doi:10.1080/19440049.2019.1695067.
- [23] I. de la Calle, M. Menta, M. Klein, F. Séby, Study of the presence of micro- and nanoparticles in drinks and foods by multiple analytical techniques, *Food Chem.* 266 (2018) 133–145. doi:10.1016/j.foodchem.2018.05.107.
- [24] I. De la Calle, M. Menta, F. Séby, Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review, *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 125 (2016) 66–96. doi:10.1016/j.sab.2016.09.007.
- [25] P.B. Professeur, Dioxyde de titane Propriétés et applications, *Tech. l'ingénieur.* 33 (2019).
- [26] Z.R. Ismagilov, L.T. Tsikoza, N. V Shikina, V.F. Zarytova, V. V Zinoviev, S.N. Zagrebelnyi, Synthesis and stabilization of nano-sized titanium dioxide, *Russ. Chem. Rev.* 78 (2009) 873–885. doi:10.1070/rc2009v078n09abeh004082.
- [27] A. Pottier, C. Chanéac, E. Tronc, L. Mazerolles, J.P. Jolivet, Synthesis of brookite TiO₂ nanoparticles by thermolysis of TiCl₄ in strongly acidic aqueous media, *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 1116–1121. doi:10.1039/b100435m.
- [28] M. Iwasaki, M. Hara, S. Ito, Facile synthesis of nanocrystalline anatase particles from titanyl sulfate, *J. Mater. Sci. Lett.* 17 (1998) 1769–1771. doi:10.1023/A:1006660209934.
- [29] U. Diebold, The surface science of titanium dioxide, *Surf. Sci. Rep.* 48 (2003) 53–229. doi:10.1016/s0167-5729(02)00100-0.
- [30] D.A.H. Hanaor, C.C. Sorrell, Review of the anatase to rutile phase transformation, *J. Mater. Sci.* 46 (2011) 855–874. doi:10.1007/s10853-010-5113-0.
- [31] C.-N.-R. Rao, S.-R. Yoganarasimhan, P.-A. Faeth, Studies on the brookite-rutile transformation, *Trans. Faraday Soc.* 57 (1960) 504–510.
- [32] Y. Janzeer, SURFACE MODIFICATION OF TITANIUM AND TITANIUM ALLOYS TO ENHANCE BONE HEALING, King's College London Dental institute, 2013. doi:10.13140/RG.2.1.4790.1042.
- [33] K. Hashimoto, H. Irie, A. Fujishima, TiO₂ photocatalysis: A historical overview and

- future prospects, Japanese J. Appl. Physics, Part 1 Regul. Pap. Short Notes Rev. Pap. 44 (2005) 8269–8285. doi:10.1143/JJAP.44.8269.
- [34] Q. Li, N.J. Easter, J.K. Shang, As(III) Removal by Palladium-Modified Nitrogen-Doped Titanium Oxide Nanoparticle Photocatalyst, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 1534–1539. doi:10.1021/es8025837.
- [35] M. Montazer, S. Seifollahzadeh, Enhanced self-cleaning, antibacterial and UV protection properties of nano TiO₂ treated textile through enzymatic pretreatment, Photochem. Photobiol. 87 (2011) 877–883. doi:10.1111/j.1751-1097.2011.00917.x.
- [36] G.A. Lager, J.D. Jorgensen, F.J. Rotella, Crystal structure and thermal expansion of α -quartz SiO₂ at low temperatures, J. Appl. Phys. 53 (1982) 6751–6756. doi:10.1063/1.330062.
- [37] K. Reed, A. Cormack, A. Kulkarni, M. Mayton, D. Sayle, F. Klaessig, B. Stadler, Exploring the properties and applications of nanoceria: Is there still plenty of room at the bottom?, Environ. Sci. Nano. 1 (2014) 390–405. doi:10.1039/c4en00079j.
- [38] S. Reculusa, Synthèse de matériaux d'architecture contrôlée à base de silice colloïdale, Université de Bordeaux I, 2005.
- [39] U. Castanet, Contribution à l'étude des systèmes nanostructurés CeO₂, Au et Au/CeO₂, Université de Bordeaux, 2019.
- [40] C. Xu, X. Qu, Cerium oxide nanoparticle: A remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications, NPG Asia Mater. 6 (2014). doi:10.1038/am.2013.88.
- [41] A. Younis, D. Chu, S. Li, Cerium Oxide Nanostructures and their Applications, Funct. Nanomater. (2016). doi:10.5772/65937.
- [42] J.G. Dale, S.S. Cox, M.E. Vance, L.C. Marr, M.F. Hochella, Transformation of Cerium Oxide Nanoparticles from a Diesel Fuel Additive during Combustion in a Diesel Engine, Environ. Sci. Technol. 51 (2017) 1973–1980. doi:10.1021/acs.est.6b03173.
- [43] Z.R. Tang, Y. Zhang, Y.J. Xu, A facile and high-yield approach to synthesize one-dimensional CeO₂ nanotubes with well-shaped hollow interior as a photocatalyst for degradation of toxic pollutants, RSC Adv. 1 (2011) 1772–1777. doi:10.1039/c1ra00518a.
- [44] S.H. Yu, H. Cölfen, A. Fischer, High quality CeO₂ nanocrystals stabilized by a double hydrophilic block copolymer, Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp. 243 (2004) 49–52. doi:10.1016/j.colsurfa.2004.05.006.
- [45] M. Inoue, M. Kimura, T. Inui, Transparent colloidal solution of 2 nm ceria particles, Chem. Commun. (1999) 957–958. doi:10.1039/a900930b.
- [46] H. Gu, M.D. Soucek, Preparation and characterization of monodisperse cerium oxide nanoparticles in hydrocarbon solvents, Chem. Mater. 19 (2007) 1103–1110. doi:10.1021/cm061332r.
- [47] H.L. Lin, C.Y. Wu, R.K. Chiang, Facile synthesis of CeO₂ nanoplates and nanorods by [100] oriented growth, J. Colloid Interface Sci. 341 (2010) 12–17. doi:10.1016/j.jcis.2009.04.047.
- [48] ISO/TS 80004-1:2015, Nanotechnologies — Vocabulaire — Partie 1: Termes "coeur," 2015. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-1:ed-2:v1:fr>.
- [49] ISO/TF 13014:2012, Nanotechnologies – Guidance on Physico-chemical Assessment, Characterization of Engineered Nanoscale Materials for Toxicologic, 2012.

- [50] European commission, Recommandation on the definition of nanomaterial, Off. J. Eur. Union. (2011). http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/.
- [51] E. Commission, Scientific Basis for the Definition of the Term " Nanomaterial , " Sci. Comm. Emerg. New. Identified Heal. Risks. (2010) 1–43. doi:10.2772/ND-The.
- [52] Y. Bai, F. Wu, J.C. White, B. Xing, 100 nanometers: A potentially inappropriate threshold for environmental and ecological effects of nanoparticles, Environ. Sci. Technol. 48 (2014) 3098–3099. doi:10.1021/es500365k.
- [53] W. Wohlleben, J. Mielke, V.-D. Hodoaba, A. Zimathies, A. Bianchin, A. Lecloux, G. Roebben, H. Rauscher, N. Gibson, Development of an integrated approach based on validated and standardized methods to support the implementation of the EC recommendation for a definition of nanomaterial, J. Nanoparticle Res. 19 (2017). doi:10.1007/s11051-017-3741-x.
- [54] European Commission, Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products, Off. J. Eur. Union. (2016).
- [55] Comission Européenne, Règlement (UE) 2016/621 du Parlement européen modifiant l'annexe VI du règlement (CE) no 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil relatif aux, J. Off. l'Union Eur. (2016).
- [56] Parlement Européen, Règlement (Ue) N° 1169/2011 Du Parlement Européen Et Du Conseil relatif aux denrées alimentaires, J. Off. l'Union Eur. (2011). <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:fr:PDF>.
- [57] European Council Regulations, Regulation (EU) 2015/2283 on novel foods, Off. J. Eur. Union. 327 (2015) 1–22.
- [58] S. Royal, M. Sapin, M. Touraine, Arrêté du 5 mai 2017 fixant les conditions d'étiquetage des nanomatériaux manufacturés dans les denrées alimentaires, J. Off. La République Française. (2017).
- [59] Ministère de l'Économie et des Finances, Communiqué du Ministère de l'Economie suite à la réunion Conseil National de la Consommation concernant l'étiquetage des produits contenant des nanomatériaux, (2018). https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/presse/communique/2018/cp-298-Bruno-Le-Maire-reuni-cnc.pdf.
- [60] S. Bettini, E. Boutet-Robinet, C. Cartier, C. Coméra, E. Gaultier, J. Dupuy, N. Naud, S. Taché, P. Grysar, S. Reguer, N. Thieriet, M. Réfrégiers, D. Thiaudière, J.P. Cravedi, M. Carrière, J.N. Audinot, F.H. Pierre, L. Guzylack-Piriou, E. Houdeau, Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon, Sci. Rep. 7 (2017) 1–13. doi:10.1038/srep40373.
- [61] French Government Decree - Order of 17 Avril 2019 suspending the placing on the market of food stuffs containing the additive E 171 (titanium dioxide - TiO₂), J. Off. La République Française. (2019). https://www.legifrance.gouv.fr/download/pdf?id=5Ma2PrHxnC95_gRa_x-vmNTTti3CWu_4E7Em7OkjkFM=.
- [62] French Government Decree - Order of 21 December 2020 suspending the placing on the market of foodstuffs containing the additive E 171 (titanium dioxide - TiO₂), J. Off.

- La République Française. (2020). <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000042739505>.
- [63] Comission Européenne, Règlement (CE) 528/2012, relatif à la mise sur le marché des substances et produits biocides, J. Off. l'Union Eur. (2012). <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/fr/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R0528>.
- [64] K. Chami, N. Feltin, E. Gaffet, S. Lacour, M. Lassus, O. Le Bihan, A. Niaudet, M. Ricaud, F. Nesslany, Les nanomatériaux manufacturés dans l'environnement professionnel, un aperçu de l'état de l'art, Arch. Des Mal. Prof. l'Environnement. 82 (2021) 51–68. doi:<https://doi.org/10.1016/j.admp.2020.07.003>.
- [65] D.R. Boverhof, C.M. Bramante, J.H. Butala, S.F. Clancy, W.M. Lafranconi, J. West, S.C. Gordon, Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations, Regul. Toxicol. Pharmacol. 73 (2015) 137–150. doi:[10.1016/j.yrtph.2015.06.001](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.06.001).
- [66] (CPP) Comité de la Prévention et de la Précaution, Nanotechnologie – Nanoparticules : Quels dangers , quels risques ?, (2020).
- [67] French nanomaterials register website www.r-nano.fr, (n.d.). [https://www.r-nano.fr/](http://www.r-nano.fr/) (accessed March 1, 2021).
- [68] P. Européen, 1907/2006/EC Rectificatif concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), Off. J. Od Eur. Union. (2007) 1–278.
- [69] European Commission, Regulation (EU) 2018/1881 of 3 December 2018 amending Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards Annexes I, III, VI, V, Off. J. Eur. Union. (2018).
- [70] JCGM, International vocabulary of metrology: Basic and general concepts and associated terms (VIM), 2008. http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf.
- [71] JCGM, Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement, Int. Organ. Stand. Geneva ISBN. 50 (2008) 134. <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>.
- [72] BIPM, Résolution 12 de la 11ème Conférence Générale des Poids et Mesures, (1960) 139.
- [73] BIPM, 26ème Conférence Générale des Poids et Mesures, 2018. http://www.academia.edu/download/47539304/IOBC_Bulletin_2015_111_da_Donatella_Mate.pdf.
- [74] LNE, Du système métrique décimal au Système international d'unités (SI), (2018). <https://www.lne.fr/fr/comprendre/systeme-international-unites/introduction-si>.
- [75] BIPM, Résolution 1 de la 17ème Conférence Générale des Poids et Mesures, 1983.
- [76] S. Ducourtieux, B. Poyet, Development of a metrological atomic force microscope with minimized Abbe error and differential interferometer-based real-time position control, Meas. Sci. Technol. 22 (2011). doi:[10.1088/0957-0233/22/9/094010](https://doi.org/10.1088/0957-0233/22/9/094010).
- [77] C. Gaillard, A. Mech, H. Rauscher, The NanoDefine Methods Manual NanoDefine Technical Report D7.6 : Development of an integrated approach based on validated and standardized methods to support the implementation of the EC recommendation

- for a definition of nanomaterial., 2015.
- [78] ISO/TS 24597:2011, Microbeam analysis Scanning electron microscopy Methods of evaluating image sharpness, 2011.
- [79] ISO/DIS 19749, Nanotechnologies — Détermination de la distribution de taille et de forme des particules par microscopie électronique à balayage, (2018).
- [80] A. Delvallée, N. Feltin, S. Ducourtieux, M. Trabelsi, J.F. Hochepied, Direct comparison of AFM and SEM measurements on the same set of nanoparticles, Meas. Sci. Technol. 26 (2015) 1–15. doi:10.1088/0957-0233/26/8/085601.
- [81] S.J. Underwood, J.M. Gorham, Challenges and approaches for particle size analysis on micrographs of nanoparticles loaded onto textile surfaces, NIST Spec. Publ. 1200-22. (2017) 13. <https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/SpecialPublications/NIST.SP.1200-22.pdf>.
- [82] P. Eaton, P. Quaresma, C. Soares, C. Neves, M.P. de Almeida, E. Pereira, P. West, A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles, Ultramicroscopy. 182 (2017) 179–190. doi:10.1016/j.ultramic.2017.07.001.
- [83] ISO/29301:2017, Microbeam analysis, Analytical electron microscopy methods for calibrating image magnification by using reference materials with periodic structures, 2017.
- [84] D.J. Groom, K. Yu, S. Rasouli, J. Polarinakis, A.C. Bovik, P.J. Ferreira, Automatic segmentation of inorganic nanoparticles in BF TEM micrographs, Ultramicroscopy. 194 (2018) 25–34. doi:10.1016/j.ultramic.2018.06.002.
- [85] R.K. Leach, R. Boyd, T. Burke, H.U. Danzebrink, K. Dirscherl, T. Dziomba, M. Gee, L. Koenders, V. Morazzani, A. Pidduck, D. Roy, W.E.S. Unger, A. Yacoot, The European nanometrology landscape, Nanotechnology. 22 (2011). doi:10.1088/0957-4484/22/6/062001.
- [86] O. Couteau, G. Roebben, Measurement of the size of spherical nanoparticles by means of atomic force microscopy, Meas. Sci. Technol. 22 (2011). doi:10.1088/0957-0233/22/6/065101.
- [87] R.D. Boyd, A. Cuenat, New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images, J. Nanoparticle Res. 13 (2011) 105–113. doi:10.1007/s11051-010-0007-2.
- [88] ISO/TS19590:2017, Nanotechnologies, Distribution granulométrique et concentration de nanoparticules inorganiques en milieu aqueux par spectrométrie de masse à plasma induit en mode particule unique, 2017.
- [89] F. Babick, J. Mielke, W. Wohlleben, S. Weigel, V.D. Hodoroaba, How reliably can a material be classified as a nanomaterial? Available particle-sizing techniques at work, J. Nanoparticle Res. 18 (2016) 1–40. doi:10.1007/s11051-016-3461-7.
- [90] V. Geertsen, E. Barret, F. Gobeaux, J.L. Lacour, O. Taché, Contribution to Accurate Spherical Gold Nanoparticle Size Determination by Single-Particle Inductively Coupled Mass Spectrometry: A Comparison with Small-Angle X-ray Scattering, Anal. Chem. 90 (2018) 9742–9750. doi:10.1021/acs.analchem.8b01167.
- [91] ISO/22412:2017, Particle size analysis: Dynamic light scattering (DLS), 2017.
- [92] D. Langevin, O. Lozano, A. Salvati, V. Kestens, M. Monopoli, E. Raspaud, S. Mariot, A. Salonen, S. Thomas, M. Driessens, A. Haase, I. Nelissen, N. Smisdom, P.P. Pompa, G.

- Maiorano, V. Puntes, D. Puchowicz, M. Stępnik, G. Suárez, M. Riediker, F. Benetti, I. Mičetić, M. Venturini, W.G. Kreyling, M. van der Zande, H. Bouwmeester, S. Milani, J.O. Rädler, S. Mülhopt, I. Lynch, K. Dawson, Inter-laboratory comparison of nanoparticle size measurements using dynamic light scattering and differential centrifugal sedimentation, *NanoImpact*. 10 (2018) 97–107. doi:10.1016/j.impact.2017.12.004.
- [93] ISO/17867:2020, Analyse granulométrique : Diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS), 2020.
- [94] B.R. Pauw, C. Kästner, A.F. Thünemann, Nanoparticle size distribution quantification: Results of a small-angle X-ray scattering inter-laboratory comparison, *J. Appl. Crystallogr.* 50 (2017) 1280–1288. doi:10.1107/S160057671701010X.
- [95] ISO/TS17200:2013, Nanotechnologies : Nanoparticules sous forme de poudre, Caractéristiques et mesures, 2013.
- [96] S. Pabisch, B. Feichtenschlager, G. Kickelbick, H. Peterlik, Effect of interparticle interactions on size determination of zirconia and silica based systems - A comparison of SAXS, DLS, BET, XRD and TEM, *Chem. Phys. Lett.* 521 (2012) 91–97. doi:10.1016/j.cplett.2011.11.049.
- [97] K. Rasmussen, J. Mast, P.-J. De Temmerman, E. Verleysen, N. Waegeneers, F. Van Steen, J.C. Pizzolon, L. De Temmerman, E. Van Doren, K.A. Jensen, R. Birkedal, M. Levin, S.H. Nielsen, I.K. Koponen, P.A. Clausen, V. Kofoed-Sørensen, Y. Kembouche, N. Thieriet, O. Spalla, C. Guiot, D. Rousset, O. Witschger, S. Bau, B. Bianchi, C. Motzkus, B. Shivachev, L. Dimowa, R. Nikolova, D. Nihtianova, M. Tarassov, O. Petrov, S. Bakardjieva, D. Gilliland, F. Pianella, G. Ceccone, V. Spampinato, G. Cotogno, N. Gibson, C. Gaillard, A. Mech, Titanium Dioxide, NM-100, NM-101, NM-102, NM-103, NM-104, NM-105: Characterisation and Physico- Chemical Properties, 2014. doi:10.2788/79554.
- [98] ISO 9277:2010, Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption — BET method, 2010. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9277:ed-2:v1:en>.
- [99] I. de la Calle, M. Menta, M. Klein, B. Maxit, F. Séby, Towards routine analysis of TiO₂(nano-)particle size in consumer products: Evaluation of potential techniques, *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 147 (2018) 28–42. doi:10.1016/j.sab.2018.05.012.
- [100] I. de la Calle, M. Menta, M. Klein, F. Séby, Screening of TiO₂ and Au nanoparticles in cosmetics and determination of elemental impurities by multiple techniques (DLS, SP-ICP-MS, ICP-MS and ICP-OES), *Talanta*. 171 (2017) 291–306. doi:10.1016/j.talanta.2017.05.002.
- [101] H. Rauscher, A. Mech, V. Kestens, R. Koeber, T.P.J. Linsinger, E.A. Stefaniak, Identification of nanomaterials through measurements (JRC science for policy report), 2019. doi:10.2760/053982.
- [102] EFSA, Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain, *EFSA J.* 9 (2011) 1–36. doi:10.2903/j.efsa.2011.2140.
- [103] C. Contado, Nanomaterials in consumer products: A challenging analytical problem, *Front. Chem.* 3 (2015) 1–20. doi:10.3389/fchem.2015.00048.
- [104] F. Varenne, L. Devoille, A. Makky, N. Feltin, F. Violleau, G. Barratt, C. Vauthier, Evaluation of the size distribution of a multimodal dispersion of polymer nanoparticles by

- microscopy after different methods of deposition, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 60 (2020) 1–11. doi:10.1016/j.jddst.2020.102047.
- [105] C. Guiot, O. Spalla, Stabilization of TiO₂ Nanoparticles in Complex Medium through a pH Adjustment Protocol, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 1057–1064. doi:10.1021/es3040736.
- [106] Z.H. Chen, C. Kim, X.B. Zeng, S.H. Hwang, J. Jang, G. Ungar, Characterizing size and porosity of hollow nanoparticles: SAXS, SANS, TEM, DLS, and adsorption isotherms compared, *Langmuir* 28 (2012) 15350–15361. doi:10.1021/la302236u.
- [107] H. Jensen, J.H. Pedersen, J.E. Jorgensen, J.S. Pedersen, K.D. Joensen, S.B. Iversen, E.G. Sogaard, Determination of size distributions in nanosized powders by TEM, XRD, and SAXS, *J. Exp. Nanosci.* 1 (2006) 355–373. doi:10.1080/17458080600752482.
- [108] M. Younes, G. Aquilina, L. Castle, K.H. Engel, P. Fowler, M.J. Frutos Fernandez, R. Gürtler, U. Gundert-Remy, T. Husøy, W. Mennes, P.M. Agneta Oskarsson, S. Rainieri, R. Shah, I. Waalkens-Berendsen, D. Wölfle, E. Gaffet, J. Mast, R. Peters, A.M. Rincon, P. Fürst, Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution, *EFSA J.* 17 (2019) 1–23. doi:10.2903/j.efsa.2019.5760.
- [109] E. Verleysen, N. Waegeneers, F. Brassinne, S. De Vos, I.O. Jimenez, S. Mathioudaki, J. Mast, Physicochemical characterization of the pristine E171 food additive by standardized and validated methods, *Nanomaterials* 10 (2020) 1–22. doi:10.3390/nano10030592.
- [110] V.-D. Hodoroaba, J. Mielke, Techniques evaluation report for selection of characterisation methods The NanoDefine Consortium 2015 (www.nanodefine.eu), 2015.
- [111] W. Dudefou, H. Terrisse, A.F. Popa, E. Gautron, B. Humbert, M.H. Ropers, Evaluation of the content of TiO₂ nanoparticles in the coatings of chewing gums, *Food Addit. Contam. - Part A.* (2017) 1–11. doi:10.1080/19440049.2017.1384576.
- [112] ISO/TR13097:2013, Lignes directrices pour la caractérisation de la stabilité des dispersions, 2013. <https://www.iso.org/fr/standard/52802.html>.
- [113] D.H. Napper, Colloid Stability, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 9 (1970) 467–477. doi:10.1021/i360036a005.
- [114] I. Kaur, L.J. Ellis, I. Romer, R. Tantra, M. Carriere, S. Allard, M. Mayne-L'hermite, C. Minelli, W. Unger, A. Potthoff, S. Rades, E. Valsami-Jones, Dispersion of nanomaterials in aqueous media: Towards protocol optimization, *J. Vis. Exp.* 130 (2017). doi:10.3791/56074.
- [115] N. Mandzy, E. Grulke, T. Druffel, Breakage of TiO₂ agglomerates in electrostatically stabilized aqueous dispersions, *Powder Technol.* 160 (2005) 121–126. doi:10.1016/j.powtec.2005.08.020.
- [116] N.B. Ghomrasni, C. Chivas-Joly, L. Devoille, J.F. Hochepied, N. Feltin, Challenges in sample preparation for measuring nanoparticles size by scanning electron microscopy from suspensions, powder form and complex media, *Powder Technol.* 359 (2020) 226–237. doi:10.1016/j.powtec.2019.10.022.
- [117] S.I. Nikitenko, Plasma formation during acoustic cavitation: Toward a new paradigm for sonochemistry, *Adv. Phys. Chem.* 2014 (2014). doi:10.1155/2014/173878.

- [118] T.-L. Ho, Sonochemistry, Distinctive Tech. Org. Synth. (1998) 90–132. doi:https://doi.org/10.1142/9789812839732_0003.
- [119] B. Miljevic, F. Hedayat, S. Stevanovic, K.E. Fairfull-Smith, S.E. Bottle, Z.D. Ristovski, To sonicate or not to sonicate PM filters: Reactive oxygen species generation upon ultrasonic irradiation, *Aerosol Sci. Technol.* 48 (2014) 1276–1284. doi:10.1080/02786826.2014.981330.
- [120] J. Wang, Y. Guo, B. Liu, X. Jin, L. Liu, R. Xu, Y. Kong, B. Wang, Detection and analysis of reactive oxygen species (ROS) generated by nano-sized TiO₂ powder under ultrasonic irradiation and application in sonocatalytic degradation of organic dyes, *Ultrason. Sonochem.* 18 (2011) 177–183. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.05.002.
- [121] A. Samontha, J. Shiowatana, A. Siripinyanond, Particle size characterization of titanium dioxide in sunscreen products using sedimentation field-flow fractionation–inductively coupled plasma–mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 973–978. doi:10.1007/s00216-010-4298-z.
- [122] C. Contado, L. Ravani, M. Passarella, Size characterization by Sedimentation Field Flow Fractionation of silica particles used as food additives, *Anal. Chim. Acta* 788 (2013) 183–192. doi:10.1016/j.aca.2013.05.056.
- [123] A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. von Goetz, Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 2242–2250. doi:doi:10.1021/es204168d.
- [124] S. Wagner, S. Legros, K. Loeschner, J. Liu, J. Navratilova, R. Grombe, T.P.J. Linsinger, E.H. Larsen, F. Von Der Kammer, T. Hofmann, First steps towards a generic sample preparation scheme for inorganic engineered nanoparticles in a complex matrix for detection, characterization, and quantification by asymmetric flow-field flow fractionation coupled to multi-angle light scattering and , *J. Anal. At. Spectrom.* 30 (2015) 1286–1296. doi:10.1039/c4ja00471j.
- [125] B. Bocca, S. Caimi, O. Senofonte, A. Alimonti, F. Petrucci, ICP-MS based methods to characterize nanoparticles of TiO₂ and ZnO in sunscreens with focus on regulatory and safety issues, *Sci. Total Environ.* (2018). doi:10.1016/j.scitotenv.2018.02.166.
- [126] E. Bolea, J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, I. Abad-Álvaro, C. Bladé, L. Arola, J.R. Castillo, Detection and characterization of silver nanoparticles and dissolved species of silver in culture medium and cells by AsFFF-UV-Vis-ICPMS: application to nanotoxicity tests, *Analyst*. 139 (2014) 914–922. doi:10.1039/C3AN01443F.
- [127] INCI Beauty, (n.d.). <https://incibeauty.com/> (accessed March 1, 2021).
- [128] I. Khan, K. Saeed, I. Khan, Nanoparticles : Properties , applications and toxicities, *Arab. J. Chem.* (2017). doi:10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
- [129] V.P.J. Bautista, K. Klaus, H. Uwe, W. Wendel, K. Thomas, B. Alison, M. Greg, H.-G. Angelika, K. Stefan, R. Martin, G. Douglas, G. Peter, S.-K. Birgit, S. Hermann, L. Heike, Basic comparison of particle size distribution measurements of pigments and fillers using commonly available industrial methods, 2014. doi:10.2788/21024.
- [130] N. Serpone, D. Dondi, A. Albini, Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products, *Inorganica Chim. Acta*. 360 (2007) 794–802. doi:10.1016/j.ica.2005.12.057.
- [131] European Commission, Commission regulation (EU) 2018/885 of 20 June 2018

- amending Annex VI to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products, Off. J. Eur. Union. (2018).
- [132] X. He, H. Deng, H. min Hwang, The current application of nanotechnology in food and agriculture, *J. Food Drug Anal.* 27 (2018) 1–21. doi:10.1016/j.jfda.2018.12.002.
- [133] R. Peters, P. Brandhoff, S. Weigel, H. Marvin, H. Bouwmeester, K. Aschberger, H. Rauscher, V. Amenta, M. Arena, F. Botelho Moniz, S. Gottardo, A. Mech, Inventory of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector, EFSA Support. Publ. 11 (2017). doi:10.2903/sp.efsa.2014.en-621.
- [134] EFSA, Scientific opinion on the re-evaluation of silver (E 174) as food additive, *EFSA J.* 14 (2016) 4364. doi:10.2903/j.efsa.2016.4364.

Chapitre 2 : Sélection des échantillons et techniques de caractérisation utilisées dans cette étude

Ce chapitre est consacré à la sélection des échantillons et à la description des techniques de caractérisation utilisées dans cette étude. Ainsi, les trois points suivants seront successivement présentés :

- Le choix et l'identification des échantillons.
- Les techniques de caractérisation dimensionnelles des (nano)-objets (MEB, SAXS, BET et DLS) mises en œuvre dans notre étude ainsi que les mesurandes associés.
- Plus succinctement, les techniques permettant la caractérisation physico-chimiques des échantillons.

1. Sélection des échantillons

Au regard de la littérature (cf. section 1.3 du chapitre 1), les quantités de nanomatériaux produits à base d'oxyde métalliques, tels que le dioxyde de titane ou l'oxyde de zinc, sont majoritaires. Les NMs à base de carbone et de silicates sont les secondes familles les plus représentées. Notre sélection s'orientera donc en fonction de ces grandes familles de matériaux. Ainsi, le dioxyde de titane est retenu car il est utilisé dans de nombreuses applications. Il possède plusieurs structures cristallines différentes, telles que le rutile utilisé principalement pour les produits cosmétiques et l'anatase plus usuelle pour l'alimentation, les peintures et/ou les revêtements autonettoyants. Les silicates sous forme de dioxyde de silicium sont également très répandus dans différents secteurs (cosmétique, alimentaire, polymères...) et feront donc l'objet de notre sélection. Enfin, nous avons sélectionné le dioxyde de cérium largement utilisées comme additifs pour le carburant, les agents de polissage, les catalyseurs, la microélectronique et la nanomédecine [1][2].

Les échantillons identifiés et sélectionnés comme pertinents pour notre étude réunissent des nano-objets de composition chimique différente, de morphologie et taille variable. Ces échantillons étaient soit sous forme de poudre dans leur état natif, soit recueillis sous forme de poudre après différentes étapes d'extraction qui seront détaillées dans la suite.

Cette sélection prend en compte des NPs dites de références qui seront notamment utilisés pour établir la traçabilité des mesures effectuées avec l'ensemble des techniques expérimentales retenues. Selon le VIM [3], un matériau de référence est défini comme « *un matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives* ». Ces matériaux ne sont pas conçus pour l'étalonnage des instruments de mesure et ne sont pas fournis avec un certificat d'étalonnage. Seuls les matériaux de références certifiés (MRC) peuvent être utilisés pour contrôler la justesse des mesures [3].

Des matières premières sont également choisies dans la sélection. Les matières premières englobent tous les matériaux à l'état brut (sous forme de solide, liquide, suspension colloïdale ou poudre). Ces matériaux sont généralement conçus pour être utilisés comme additifs dans des produits finis.

Enfin, la sélection inclut aussi des produits finis (ou produits manufacturés) contenant des (nano) objets incorporés dans une matrice complexe. Une matrice complexe est définie ici comme un ensemble d'éléments en coexistence avec les particules d'intérêt provenant soit de la mise en forme d'un produit fini contenant les particules d'intérêt, soit de matrice rencontrées et formées autour de la particule d'intérêt pendant son cycle de vie (par exemple enrobage de polymères, milieu biologique, milieu géologique etc.). Le choix des produits finis est effectué en fonction du type d'application, des secteurs d'activités (tels que les cosmétiques, les peintures, les produits pharmaceutiques) et de la complexité du système.

Le Tableau 4 résume les échantillons sélectionnés comme pertinents pour l'étude de l'identification et de la caractérisation des (nano) particules en matrices complexes.

Tableau 4 : Liste des différents échantillons sélectionnés pour les travaux de thèse

N°	Références	Provenance de l'échantillon
<i>Nanoparticules dites de référence ou de synthèse</i>		
1	TiO₂-NM 102	NM 102 – Titanium dioxyde photocatalytic – Poudre JRC*
2	TiO₂-NM 104	NM 104 Titanium dioxyde photocatalytic – Poudre JRC*
3	TiO₂-Lab	Synthèse de laboratoire (LNE)
4	CeO₂-Lab	Synthèse de laboratoire (Mines ParisTech)
<i>Matières premières - Additifs</i>		
5	TiO₂-P25	Aeroxide Evonik P25 – Poudre (non-porous anatase mix rutile phase)
6	TiO₂-E171	Poudre commerciale de dioxyde de titane
7	SiO₂-Tixosil43	Poudre commerciale de silice amorphe synthétique
<i>(Nano) particules extraites d'un produit fini commercialisé</i>		
8	TiO₂-Food	Particules extraites de chewing-gum (dragées blanches)
9	TiO₂-Drug	Particules extraites des gélules de paracétamol
10	TiO₂-Cosm	Nanoparticules extraites de crème solaire SPF 50+
11	TiO₂-Paint	Particules extraites d'une peinture blanche sous forme de pastille

*JRC : Joint Research Centre

1.1. Les échantillons de référence

Pour les particules de référence, deux échantillons de TiO₂ de référence du Joint Research Centre (JRC) ont été choisis, le TiO₂-NM 102 (de structure anatase) et le TiO₂-NM 104 (de structure rutile). Ces deux références, non certifiées, sont considérées comme des NPs dites de références car elles ont fait l'objet de nombreuses caractérisations au sein de plusieurs projets européens (NANOGENOTOX, NANOREG) [4,5] et d'intercomparaisons [6,7] portant sur la caractérisation dimensionnelle et l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux.

1.2. Les échantillons de synthèse

Deux échantillons ont été synthétisés, un dioxyde de titane synthétisé au LNE (noté TiO₂-Lab) et un dioxyde de cérium synthétisé au laboratoire des Mines ParisTech (noté CeO₂-Lab). L'appareil utilisé est un minéraliseur micro-ondes ETHOS Touch Control MILESTONE avec 10 positions (10 réacteurs). Le contrôle de la température est fait à l'aide d'une sonde de température qui est implantée dans le réacteur N°1.

- L'échantillon TiO₂-Lab est synthétisé selon un protocole adapté de Marchetti et al [8]. Une solution de 100 mL de butoxyde de titane (IV) à 0,5 M (17,51 g à 97%) et de triéthanolamine à 1 M (15,38 g à 98%) est préparée et chauffée aux micro-ondes pendant 10 min à 180°C (Tableau 5). La suspension finale est ensuite centrifugée pour récupérer le produit solide et lavé 3 fois à l'eau ultra pure.

Tableau 5 : Paramètre utilisés pour le protocole de synthèse des NPs de TiO₂

Etape	Temps	Température	Puissance du μ-onde
1	10 minutes	De 20°C à 180°C	1000 Watts

- L'échantillon CeO₂-Lab est synthétisé en suivant le protocole publié par Florea et al [9]. Une solution contenant 1,4 mL d'eau et 1,4 mL d'une solution d'ammoniac à 28-30% est ajoutée goutte à goutte à 24 mL de nitrate de cérium (III) hexahydraté à 0,1 M. la solution finale est ensuite chauffée aux micro-ondes avec une montée en température de 10 min jusqu'à 180°C suivie d'un palier de 60 min (Tableau 6). Le produit est enfin centrifugé et lavé 3 fois à l'eau ultra pure.

Tableau 6 : Paramètre utilisés pour le protocole de synthèse des NPs de CeO₂

Etape	Temps	Température	Puissance du μ-onde
1	10 minutes	De 20°C à 180°C	1000 Watts
2	60 minutes	180°C	1000 Watts

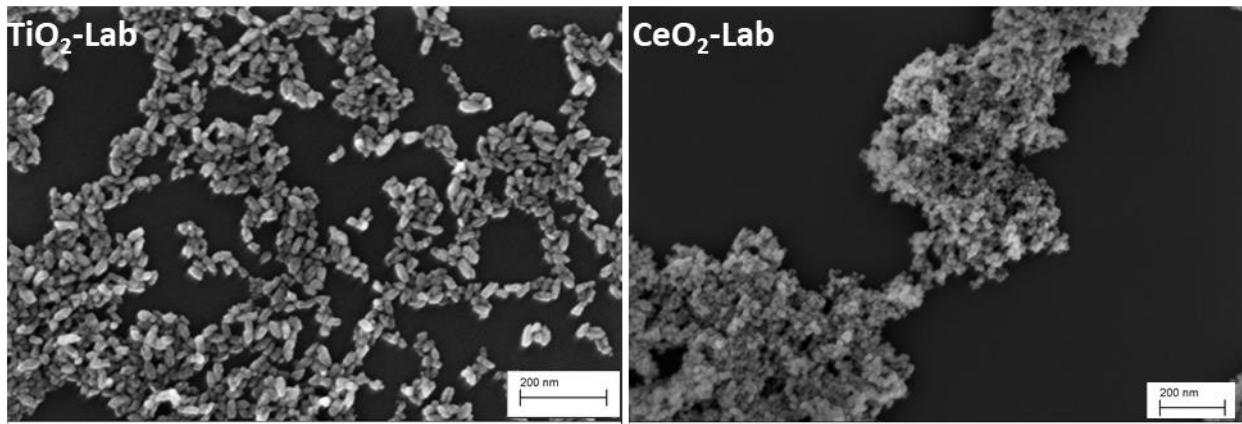


Figure 11 : Images MEB des particules synthétisées

Les particules synthétisées sont ensuite caractérisées par MEB afin de valider le protocole de synthèse. La Figure 11 présente les images MEB des deux échantillons, TiO₂-Lab et CeO₂-Lab. Des nanoparticules sont bien obtenues en accord avec la littérature [8][10], les protocoles sont donc validés.

1.3. Les matières premières

Deux matières premières de dioxyde de titane (notées TiO₂-E171 et TiO₂-P25) et une de dioxyde de silicium (SiO₂-Tixosil43) sont sélectionnés car elles sont couramment utilisées comme additifs dans l'alimentation, dans les peintures ou encore pour des études de toxicologie.

1.4. Les échantillons extraits de produits finis (matrices complexes)

Enfin, quatre échantillons issus de produits finis commercialisés sont choisis TiO₂-Food, TiO₂-Drug, TiO₂-Cosm et TiO₂-Paint provenant respectivement d'un produit alimentaire (dragées chewing-gum), d'un médicament (gélules de paracétamol), d'une crème solaire et d'une peinture pour enfant sous forme de pastilles. Le choix de ces échantillons s'est fait en sélectionnant des produits dont la liste d'ingrédients indiquait du

dioxyde de titane (avec ou sans la mention nano). Ce choix visait à obtenir des particules de TiO₂ de différentes tailles, structures cristallines et morphologies issues de produits divers.

Pour ces quatre échantillons, une étape d'extraction est nécessaire avant toute analyse pour séparer les particules de TiO₂ afin d'identifier les particules utilisées dans les produits finis et en obtenir une caractérisation dimensionnelle. Il est à noter que lorsque le choix de ces échantillons s'est fait (fin 2018), les produits commerciaux alimentaires pouvaient encore contenir du TiO₂, ce qui n'était plus le cas pour certains échantillons à la fin de ces travaux de thèse [11]. Cela a posé certain problème d'approvisionnement pour certains matériaux et limité certaines études complémentaires. Néanmoins, nous avons décidé de garder ces échantillons puisqu'il ne s'agit, pour l'instant, que d'une suspension provisoire (chapitre 1 section 2.2.3).

L'extraction des particules contenues dans les produits finis est mise au point lors de ces travaux. La méthode utilisée est dépendante de la nature des particules d'intérêt (ici des particules de dioxyde de titane) et de la composition du milieu dans lequel les particules sont introduites. Pour les produits commerciaux sélectionnés, à savoir les dragées de chewing-gum, les gélules de paracétamol, les pastilles de peinture blanche et la crème solaire, trois méthodes d'extraction différentes sont utilisées pour séparer les particules de TiO₂ de leur milieu complexe d'origine à l'aide des instruments détaillés dans l'Annexe 2.

- **L'extraction à l'eau ultra-pure** est appliquée pour les dragées de chewing-gum, où typiquement 8 dragées de chewing-gum sont dispersées dans 50 mL d'eau ultra pure MilliQ®, jusqu'à la dissolution totale de la couche externe (blanche) des chewing-gums. La suspension est ensuite placée au bain à ultrasons pendant 20 min afin de bien disperser la suspension pour dissocier les particules de leur matrice et permettre au solvant de dégrader cette dernière. Une première centrifugation de la suspension obtenue est effectuée à 10 000 tours/min, dans un aliquote de 2 mL, pendant 20 minutes afin de récupérer la totalité des particules présentes, notamment les plus petites. Ensuite, 5 lavages successifs sont effectués en répétant les trois étapes suivantes :

- Retrait du liquide surnageant et remplacement par de l'eau Milli-Q,
 - Sonication à l'aide d'une sonde à ultrasons avec une amplitude 40% pendant 1 minute pour bien disperser les particules.
 - Centrifugation à 4500 tours/min, dans un tube de propylène de 15 mL, pendant 20 minutes.
- **L'extraction avec l'utilisation d'un solvant chloré**, le dichlorométhane, est utilisé pour dégrader la matrice organique de la crème solaire. Une masse de 3 g de crème est ajoutée à 20 mL de dichlorométhane et la solution obtenue est placée dans le bain à ultrasons pendant 20 min pour homogénéisation. Puis 5 lavages au dichlorométhane sont réalisés en suivant les mêmes étapes de lavages que pour l'extraction à l'eau ultra pure.
- **L'extraction par digestion acide** est réalisée pour la peinture et les gélules de paracétamol. Pour la peinture, un morceau de masse 1,46 g est mélangée à 20 mL de peroxyde d'hydrogène et 1 mL d'acide nitrique. En effet, l'association de ces deux acides permet une meilleure dégradation de la matrice organique [12]. La suspension obtenue est chauffée à 200°C jusqu'à l'évaporation totale d' H_2O_2 (jusqu'à apparition de fumée jaune et début d'évaporation du HNO_3) [12]. Ensuite 5 mL d'eau ultra pure sont ajoutés jusqu'à ébullition, où s'arrête la digestion.

De la même manière, pour les gélules de paracétamol, 8 gélules vidées de leur principe actif sont nettoyées pour subir l'étape de digestion acide. Enfin les deux suspensions digérées sont lavées 5 fois en suivant les mêmes étapes que les deux échantillons précédents.

Une fois les suspensions de TiO_2 extraites lavées, elles sont congelées (à -22 °C pendant 12h) puis lyophilisés afin d'avoir un panel d'échantillons sous forme de poudre.

2. Techniques de caractérisation dimensionnelles utilisées et mesurandes associés

2.1. Microscope électronique à balayage (MEB)

Les paramètres dimensionnels jouent un rôle important dans l'identification des nanoparticules. Les techniques basées sur la microscopie électronique sont souvent considérées comme les méthodes de références pour caractériser leurs propriétés dimensionnelles [13]. Néanmoins les mesures MEB nécessitent une population de particules bien dispersée pour faciliter le traitement des données et pour que les mesures soient représentatives de l'échantillon étudié. Nous avons donc développé un protocole optimisé de préparation d'échantillon dédié au MEB qui sera détaillé dans le chapitre suivant (cf. section 5 du chapitre 3).

2.1.1. Description de la technique

Le microscope électronique à balayage MEB (ou SEM pour « Scanning Electron Microscopy ») est une technique directe et qui permet l'observation de la topographie des surfaces à l'échelle nanométrique. Le principe est fondé sur la détection des électrons secondaires émis par la surface sous l'impact d'un très fin faisceau d'électrons primaires (ou incidents) qui balaye la surface de l'échantillon et permet d'obtenir des images avec une très bonne résolution (jusqu'à 1 nm).

Du canon allant de la colonne électronique jusqu'à la chambre, le faisceau incident subit différents alignements via les lentilles électromagnétiques (appelées condensateurs) afin de réduire sa taille (jusqu'à quelques nm) et de le focaliser sur l'échantillon. L'ensemble de ces éléments est maintenu sous un vide secondaire. Les interactions entre les électrons incidents et les atomes de la matière entraînent divers types d'émissions : des électrons secondaires, des électrons rétrodiffusés, des électrons Auger ou encore des rayons X [14], comme nous pouvons le voir sur la Figure 12. Ces émissions sont le résultat d'interactions

inelastiques (électrons secondaires, électrons Auger et Rayons-X) ou d'interactions élastiques (électrons rétrodiffusés). Chacune de ces émissions, électroniques ou électromagnétiques, permet l'obtention d'une image différente en microscopie électronique selon les informations spécifiques recherchées. En effet, les électrons rétrodiffusés sont utilisés pour des images en contraste de numéro atomique et permettent la distinction des éléments de composition chimique différente. Les rayons X sont caractéristiques des éléments chimiques présents dans l'échantillon étudié. Les électrons secondaires, quant à eux, sont particulièrement utilisés pour les images de contraste topographique de surface.

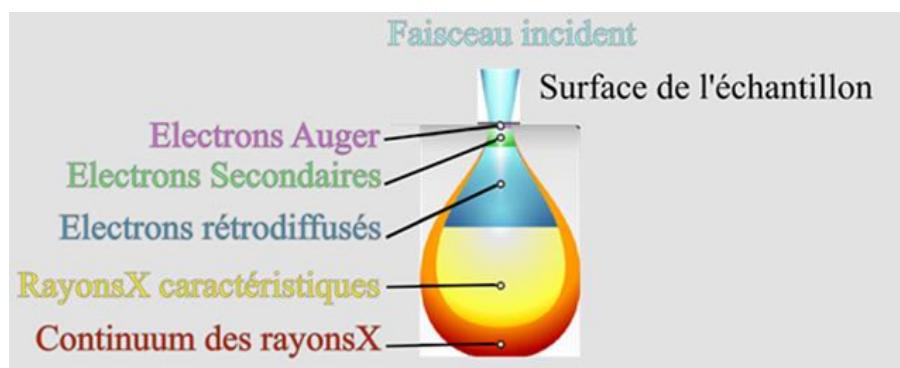


Figure 12 : Les signaux produits suite aux interactions électrons-matière. Figure tirée de [15]

La profondeur de pénétration des électrons dépend de la tension d'accélération appliquée ainsi que de la nature du matériau étudié. Plus la tension est élevée plus les électrons primaires du faisceau incident pénétreront, et plus faibles sont les informations de surface [15]. Ces signaux produits, notamment les électrons secondaires, sont collectés sur un détecteur (Everhart-Thornley ou In-Lens) constitué d'un scintillateur, qui permet la conversion des électrons en photons, et d'un photomultiplicateur, qui reconvertit ces photons en électrons tout en les multipliant. À la sortie du détecteur, un signal électrique est obtenu et mesuré via un amplificateur permettant la constitution de l'image MEB en électrons secondaires (en niveaux de gris par pixel) de la zone balayée. Grâce à ce type d'images, des mesures de taille latérales (selon les axes X et Y) très résolues peuvent être réalisées via les microscopes électroniques de dernière génération. Il est également à noter

que selon l'axe Z, aucune information n'est quantifiable : le signal récupéré correspond à un niveau de gris.

2.1.2. Zeiss Ultra Plus du LNE

Les mesures de microscopie électronique à balayage (MEB) sont réalisées avec un MEB Zeiss Ultra-plus équipé d'un canon à émission de champ (FEG) et d'une colonne Gemini, dans la plateforme CARMEN du LNE. Le détecteur In-Lens est intégré dans la colonne Gemini perpendiculairement à l'échantillon. La résolution donnée par le fabricant est de 1,5 nm à 1 kV et de 1 nm à 10 kV. Le microscope est piloté par SmartSEM, un logiciel qui permet le contrôle des paramètres essentiels à l'acquisition des images électroniques.

De plus, afin d'obtenir des résultats fiables et traçables, nous nous sommes assurés que le MEB était étalonné. Pour ce faire, un étalon de transfert développé par le LNE en collaboration avec le C2N P₉₀₀H₆₀ est utilisé [16][17]. Ce réseau, dont le pas moyen est évalué par l'AFM métrologique du LNE [18], permet l'étalonnage du MEB selon les axes X et Y.

2.1.3. Paramètres d'acquisition

Les particules considérées doivent être déposées sur un substrat en silicium avant d'être analysées. Toutes les images, obtenues à partir des électrons secondaires et acquises avec le détecteur In-Lens, sont réalisées à 3 KV et avec une distance de travail de 3,0 mm. Ce choix est basé sur les recommandations du constructeur mais aussi sur les travaux de L. Crouzier qui a effectué une étude complète sur l'influence de la tension d'accélération sur la mesure MEB de particules de dioxyde de silicium [19]. La résolution des images est fixée à 2048 × 1536 pixels. La taille des pixels est fixée pour toutes les images acquises dans ces travaux afin de respecter la norme ISO 9276-6 [20] qui préconise que chacune des particules mesurées soit au minimum représentée par 100 à 200 pixels. Les autres paramètres fixés pour l'acquisition des images sont : l'ouverture du diaphragme (30 µm), le type d'intégration (ligne à ligne), le nombre de répétition par ligne (21 répétitions) avec une vitesse de balayage

d'index 3 et enfin le temps d'acquisition d'une image (27,8 s). De plus, les paramètres d'alignement de faisceau, d'astigmatisme, de luminosité et de contraste sont ajustés pour distinguer sans effort les particules du fond du substrat, tout en s'assurant de ne pas saturer les images en niveau de gris.

Il est également important de souligner les phénomènes de contamination [21–23] liés à l'exposition de l'échantillon au faisceau électronique. Ceux-ci sont dus au dépôt de molécules organiques lors la focalisation continue du faisceau sur une partie de l'échantillon. Pour prévenir ce problème, l'échantillon est laissé sous vide dans la chambre pendant plusieurs heures et les paramètres d'ajustement de l'image doivent être faits en dehors de la zone d'intérêt.

2.1.4. Définition des mesurandes

De manière générale, la taille des nano-objets est représentée par un diamètre équivalent. Le diamètre équivalent est le diamètre d'une sphère hypothétique (équivalente) qui présente soit une même caractéristique (surface, volume, masse ou surface spécifique...) soit un même comportement (sédimentation) que la particule considérée [24]. La notion de diamètre équivalent est adaptée par la plupart des techniques de caractérisation (MEB, MET, BET, SAXS, sp-ICP-MS etc.). En ce qui concerne les microscopes électroniques, plusieurs mesurandes peuvent être associées à la taille des particules imagées par MEB. Un diamètre équivalent peut être déterminé en considérant le diamètre d'un disque ayant la même surface projetée que l'objet étudié (noté par la suite $D_{SEM\ average\ area-eq}$) [25]. Ainsi, l'aire A , de l'objet observé (en 2D) est reliée au $D_{SEM\ average\ area-eq}$ par la relation suivante :

Équation : 1

$$D_{SEM\ average\ area-eq} = 2 \sqrt{\frac{A}{\pi}}$$

D'autres dimensions caractéristiques sont accessibles au MEB, notamment les diamètres de Féret. Il existe une infinité de diamètres de Féret mais les plus utilisés sont les $Féret_{min}$ et $Féret_{max}$ (notés respectivement $D_{Féret\ min}$ et $D_{Féret\ max}$). Les diamètres de Feret min

et max correspondent à la distance (minimale ou maximale) entre deux tangentes parallèles, selon une direction donnée, et qui contiennent la totalité de l'image de la particule [26]. Le rapport des diamètres $D_{\text{Feret}}^{\text{min}}$ sur $D_{\text{Feret}}^{\text{max}}$ permet la détermination du rapport d'aspect de l'objet sur le plan (XY). La Figure 13 représente ces deux grandeurs, à savoir les $D_{\text{Feret}}^{\text{min}}$ et $D_{\text{Feret}}^{\text{max}}$, dans le plan pour une particule de forme complexe.

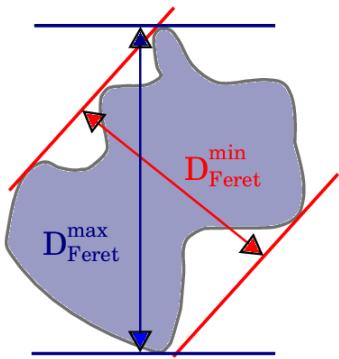


Figure 13 : Représentation des diamètres de Féret minimum et maximum (Figure tirée de [27])

2.1.5. Traitement des données

-
- Mesure et traitement d'images

Plusieurs méthodes de traitement d'images électroniques sont actuellement disponibles. De nombreux logiciels existent pour l'analyse dimensionnelle automatique, semi-automatique ou manuelle des particules imagées par MEB [25] : ImageJ [28] (logiciel open source), MountainsLab® (Digital Surf) [29] ou Platypus® (de Pollen Metrology) [30]. Le choix et la maîtrise de ces méthodes sont essentiels pour l'obtention d'une mesure de taille de particules fiable et correcte par MEB [28]. Une méthode, largement utilisée, consiste en la transformation de l'image MEB (en niveaux de gris) en une image binaire, également appelée méthode de segmentation par seuillage. En effet, un seuil est fixé sur l'intensité en niveaux de gris au-dessus duquel le pixel est égal à 1 et en dessous duquel le pixel vaut 0 (Figure 14). Une image binaire est donc constituée permettant l'accès à l'aire de l'objet observé. Certaines images, notamment celles avec un arrière-plan non uniforme, nécessitent la sélection manuelle de différents seuils dans différentes régions de l'image [31].

Cependant, la taille de l'objet considéré est dépendante du seuil fixé, comme illustré par la Figure 14.

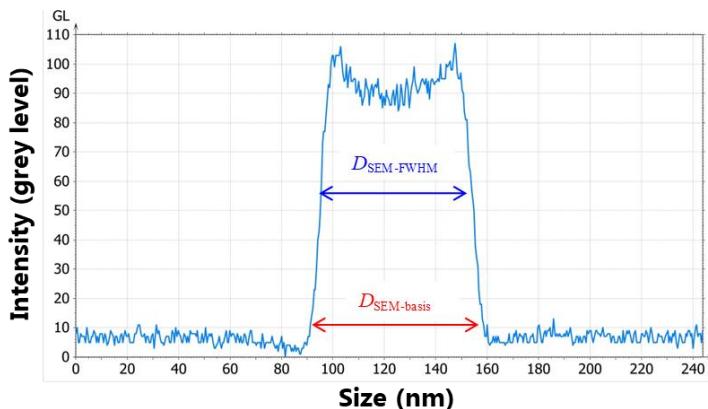


Figure 14 : Impact du positionnement du seuil sur un profil en niveaux de gris d'une nanoparticule mesurée par MEB, Figure tirée de [32]

De la même manière, la détermination des paramètres dimensionnels des NPs peut être effectuée en détectant le contour de l'objet représenté par l'image binaire [33]. Cette méthode dite de « active contour » (Ou Snake) a fait l'objet de plusieurs études de caractérisation de taille de NPs [34][32]. Delvallée et al [32] et Varenne et al [35] ont utilisé cet outil pour la caractérisation dimensionnelle de différentes populations de NPs. D'après leurs travaux, cette technique permet certes la détermination de la taille d'un nano-objet, mais présente cependant des limites. Pour des résultats fiables, les mesures doivent être réalisées sur des particules isolées afin d'éviter le chevauchement des particules empêchant la détermination des bords des NPs. Une sélection manuelle des particules est donc nécessaire lorsqu'il s'agit de particules constitutives d'agglomérats.

Pour un traitement d'images aisé, il faut bien préparer l'échantillon afin d'obtenir un dépôt de particules optimal. Un dépôt optimal est un dépôt où les particules étudiées sont dispersées de manière homogène sur la totalité de la surface du substrat de silicium. Peu importe la zone choisie, le nombre moyen de particules isolées sur une image MEB doit être similaire. Ce type de dépôt permet l'acquisition d'images MEB plus résolues permettant d'identifier plus facilement les bords des particules observées. La Figure 15 illustre un dépôt optimal, homogène et bien dispersé de particules de Référence certifiées (SiO_2 -FD101b) sur un substrat de silicium [32][17].

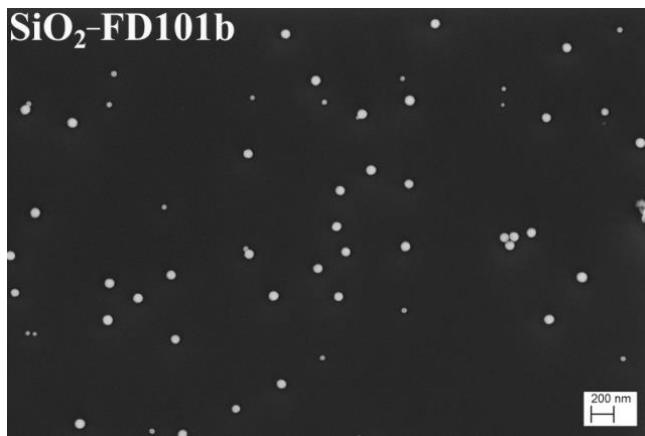


Figure 15 : Exemple d'un dépôt homogène et bien dispersé de particules de référence SiO₂-FD101b sur substrat de silicium

En plus de la distinction aisée des bords des particules, un traitement d'image automatique (à l'aide du logiciel Platypus) peut être réalisé sur ce type d'image MEB. Plusieurs avantages peuvent donc être tirés, comme un gain de temps au niveau de la phase de traitement d'images et surtout un biais de mesure beaucoup plus faible que lors du traitement d'images de particules agglomérées.

Dans le cadre de la thèse, l'outil utilisé pour mesurer la taille des particules est Platypus®, un logiciel développé par Pollen Metrology® [30]. Ce logiciel permet, grâce à la méthode de « partage des eaux » (watershed), de mesurer et de compter les particules isolées et/ou les particules constitutives d'agglomérats via une interface de contrôle (Figure 16). Les particules isolées peuvent être analysées et comptées automatiquement. Les particules constitutives d'agglomérats requièrent, quant à elles, un traitement manuel. Elles sont mesurées une par une en ajustant manuellement une ellipse à l'intérieur de la particule considérée. Ensuite, l'outil détermine automatiquement le contour des particules et calcule la surface de cette zone en utilisant le nombre et la taille des pixels à l'intérieur de ce contour. A partir de cette aire, un diamètre équivalent est déterminé.

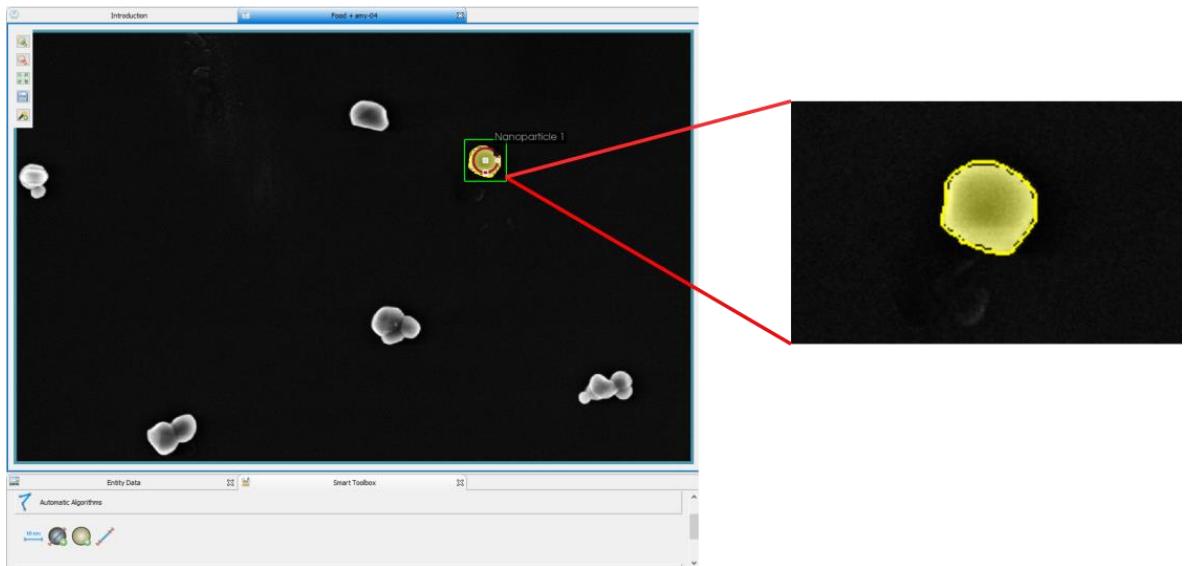


Figure 16 : Interface du logiciel Platypus utilisé pour le traitement des images MEB

Pour chaque échantillon, 3 séries de 300 particules sont mesurées sur un même dépôt pour évaluer la répétabilité des mesures. Le nombre de particules comptées a fait l'objet de quelques études [36][19] et la mesure de 300 particules est considérée comme suffisante pour l'obtention de résultats fiables.

- Analyse statistique

Toutes les mesures expérimentales discrètes sont ajustées pour estimer pour chaque échantillon les paramètres des quatre modèles théoriques considérés : Normale, Log-normale, normale mixte et log-normale mixte. Un algorithme développé au sein du LNE nous permet de sélectionner le meilleur modèle adapté à la distribution. Pour tous les échantillons étudiés dans cette thèse, les distributions sont ajustées avec une loi lognormale.

Tableau 7 : Les paramètres statistiques liés à la distribution log-normale avec μ , l'espérance et σ l'écart-type des données logarithmiques.

Fonction de densité de probabilité	$f_{log\ norm}(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{x\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{\ln(x)-\mu}{\sigma}\right)^2}$
Diamètre moyen	$D_{SEM\ average\ area-eq} = e^{\mu+\frac{\sigma^2}{2}}$
Mode	$D_{modal} = e^{\mu-\sigma^2}$
Médiane	$D_{median} = e^\mu$
Variance	$Var(x) = e^{(\sigma^2-1)}e^{(2\mu+\sigma^2)}$
Ecart-type de la distribution en taille	$SD = \sqrt{e^{(\sigma^2-1)}e^{(2\mu+\sigma^2)}} = \sqrt{Var(x)}$

Le Tableau 7 présente l'expression de la fonction de densité de probabilité (PDF) de la loi log-normale et les paramètres statistiques estimés concernant la taille des particules étudiées (diamètre moyen, mode, médiane, et écarts types). Le diamètre moyen ($D_{SEM\ average\ area-eq}$) est défini comme une taille moyenne pondérée en nombre et calculée à partir de la densité de distribution en taille en nombres. La dispersion d'une distribution en taille peut être représentée par sa variance, qui représente le carré de l'écart-type. L'écart-type de la distribution en taille est donc la racine carrée de la variance. Le mode (D_{modal}) est la taille moyenne de la classe de taille la plus fréquentée. La médiane (D_{median}) est la taille qui divise la distribution en deux parties égales.

Des répétabilités liées aux mesures (u_R) sont calculées et correspondent à l'écart-type calculé sur les diamètres moyens issus des trois séries de mesures effectuées pour chaque échantillon.

2.2. Diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS)

2.2.1. Description de la technique

Parmi les techniques de caractérisation indirectes, la diffusion aux petits angles (ou SAS pour small-angle scattering) est de plus en plus utilisée pour la mesure dimensionnelle des matériaux à l'échelle nanométrique [37]. Entre 1998 et 2020, plus de 47 936 articles scientifiques, liés à la diffusion aux petits angles (ou SAS pour « Small angle scattering ») associée à la caractérisation de nanoparticules, ont été publiés sur la plateforme ScienceDirect (Figure 17). Ces techniques de la diffusion aux petits-angles regroupent la diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS), la diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) utilisés pour la caractérisation structurelle (cristallines et dimensionnelle) des matériaux ou encore la diffusion aux petits angles de la lumière (SALS) [38]. Ces techniques se différencient par la nature de l'interaction entre le rayonnement et la matière, les rayons X interagissent avec les électrons, les neutrons interagissent avec les noyaux. Les techniques de diffusion permettent de sonder les fluctuations de densité électronique (SAXS) ou de densité de longueur de diffusion (SANS) ou de constante diélectrique (SALS) de la matière sur une échelle de 0,1 à plusieurs centaines de nm. Dans cette section seule la méthode SAXS sera détaillée.

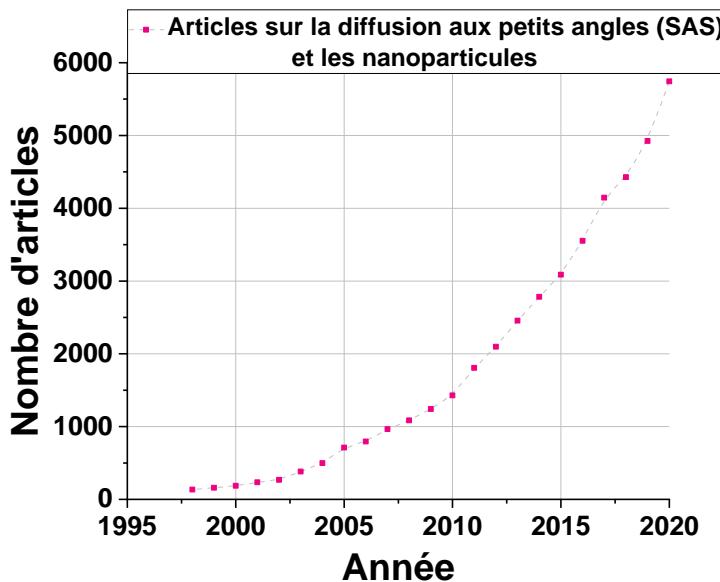


Figure 17 : Nombre d'article en rapport avec la diffusion aux petits angles (Small-angle scattering : SAS) et les nanoparticules, Figure adaptée des résultats de recherche sur la plateforme ScienceDirect (Elsevier)

La première application de la technique SAXS liée aux matériaux est publiée par A. Guinier en 1938 [39], où il a démontré expérimentalement que la présence de nano-agrégats de Cu étaient à l'origine du vieillissement et du durcissement de l'alliage Al-Cu. Ensuite, de 1938 à 1955 A. Guinier et d'autres physiciens (Otto Kratky, Günther Porod etc.) ont développé les principes fondamentaux du SAXS [40][41].

La diffusion des rayons-X est basée sur les interactions photons-électrons, où l'intensité diffusée est fonction de l'angle de diffusion. L'analyse se fait à très petits angles, en général entre $0,1^\circ$ et 10° [42]. Les limites de la gamme d'angle dépendent du montage SAXS utilisé.

Lorsqu'un faisceau collimaté de rayonnement X de longueur d'onde λ et d'énergie E arrive sur un échantillon d'épaisseur e , il est majoritairement transmis par l'échantillon (avec une fraction absorbé) et une faible partie interagit avec l'échantillon pour donner un faisceau diffusé (de même énergie, diffusion élastique) selon l'angle 2θ . Les ondes diffusées interfèrent, ce qui produit des anneaux distincts à des angles spécifiques [42]. Afin d'analyser les flux diffusés, un détecteur 2D est placé à une distance d de l'échantillon, selon la

configuration utilisée (Figure 18). En diffusion de rayons X aux petits angles, l'intensité diffusé est rapportée au vecteur de diffusion \mathbf{q} définie par la norme de la différence entre le vecteur d'onde diffusé (\vec{k}_f) et le vecteur d'onde incident (\vec{k}_i) (Figure 18).

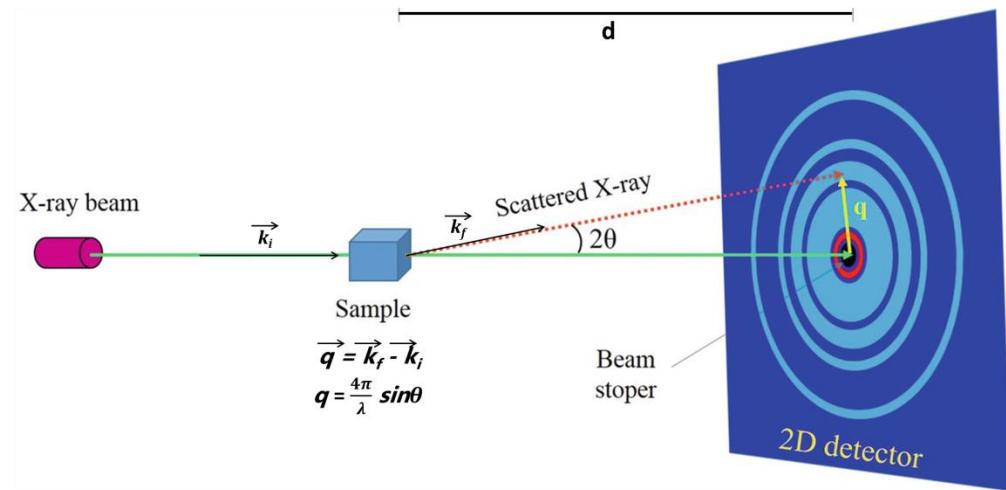


Figure 18 : Principe du SAXS (Small Angle X-ray Scattering) (Figure tirée de [43])

La Figure 19 présente les différentes configurations disponibles ; la diffusion des rayons-X aux grands angles (WAXS), aux petits angles (SAXS), aux ultra-petits angles (USAXS) ainsi qu'un montage développé par le laboratoire LIONS du CEA, le chemSAXS. Le tableau indique les distances détecteur/échantillon pour chaque montage. Ces configurations diffèrent par la distance échantillon/détecteur et/ou l'énergie de leurs sources et correspondent à différentes gammes de q permettant de balayer une large gamme de dimension (de 0,15 nm pour le WAXS à 3000 nm pour l'USAXS).

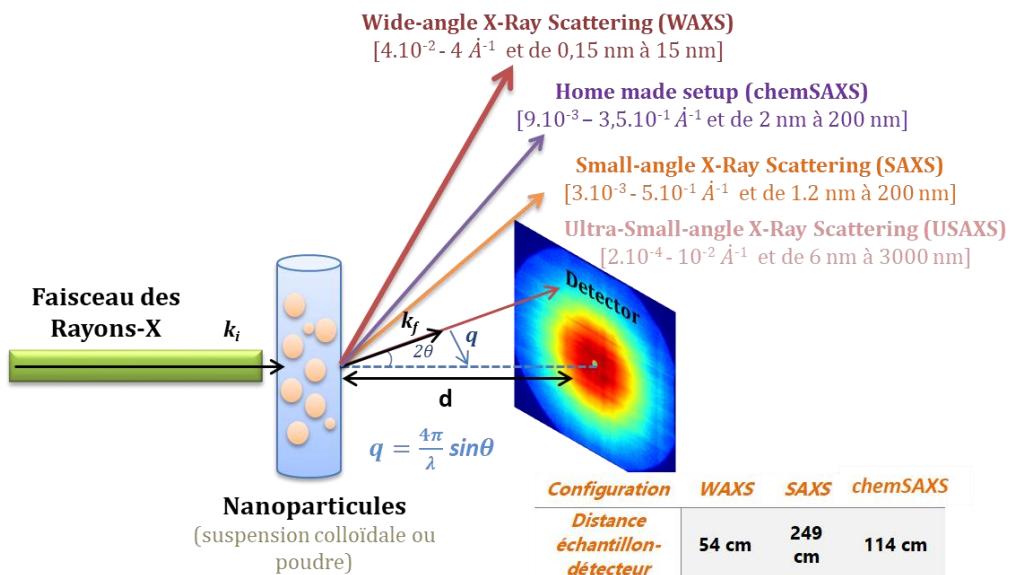


Figure 19 : Les différentes configurations disponibles pour la diffusion des rayons-X (gamme de q et distance associée dans l'espace réel).

Les photons diffusés sont détectés par le détecteur, l'image obtenue traduit le gradient d'impact sur le détecteur. Un regroupement radial est alors effectué afin d'extraire la courbe de l'intensité relative diffusée (nombre de photons) en fonction du vecteur de diffusion q . Les courbes expérimentales représentent la section efficace différentielle de diffusion par unité de volume en fonction du vecteur de diffusion q (Équation : 2).

Équation : 2

$$I(q) = \frac{1d\sigma}{Vd\Omega} = \frac{\eta_1 C}{\eta_2 (\Phi_0 ST) dt} \frac{1}{\Delta\Omega} \frac{1}{e}$$

Avec :

I : intensité absolue en cm^{-1}

σ : section efficace de diffusion en cm^2

$\frac{d\sigma}{d\Omega}$: Section efficace différentielle de diffusion

V : volume de l'échantillon en cm^3

C : nombre de photon détectés dans la direction 2θ durant le temps dt

η_1 : efficacité du détecteur lors de la mesure du faisceau direct

η_2 : efficacité du détecteur lors de la mesure C

$(\Phi_0 ST)$: flux dans le détecteur intégré sur l'ensemble du faisceau transmis par échantillon (nombre d'unités/s)

$\Delta\Omega$: angle solide ayant pour sommet le centre de l'échantillon et recouvrant la surface d'un pixel du détecteur en stéradians (sr)

e : épaisseur de l'échantillon (cm)

dt : temps de comptage en s

L'expression de l'intensité contient des informations sur la structure et les fluctuations de densité électronique du matériau à l'échelle nanométrique. L'intensité diffusée correspond à la transformée de Fourier de la fonction de corrélations spatiales reliée aux variations de densité de longueurs de diffusion (ie. de densité électronique pour le SAXS). L'intensité mesurée en coups par seconde dépend du montage expérimental et doit être normalisée en intensité absolue (cm^{-1}) (section efficace différentielle de diffusion par unité de volume) pour pouvoir remonter aux caractéristiques de l'échantillon [44–46].

Le regroupement radial et la calibration de l'intensité en valeur absolue sont réalisés à l'aide de logiciels de traitement de données SAXS. Le logiciel utilisé ici est « pySAXS », un programme développé par l'équipe LIONS du CEA via Anaconda (Python) [47]. PySAXS, disponible en Open source, permet après regroupement radial et mise en absolue de tracer des courbes exploitables et de comparer les différents modèles lors du traitement des données. La soustraction des signaux correspondant aux fenêtres de la cuve contenant l'échantillon (kapton dans le cas des poudres) est essentielle. En effet, cette étape permet également de supprimer le bruit de fond du montage et d'éliminer le signal induit par la fente du collimateur afin d'avoir le signal du matériau seul.

Les expériences SAXS sont réalisées sur un instrument, nommé chemSAXS, développé par Olivier Tache au laboratoire LIONS du CEA, sur la plateforme SWAXS-Lab (CEA Saclay, France). La source de rayons X (générateur Genix d'énergie 8 keV de Xenocs avec une longueur d'onde $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$) produit un faisceau collimaté, de taille 0,8 mm x 0,8 mm, sur l'échantillon avec un flux incident de photons de 1.10^8 photons/s.

La distance entre l'échantillon et le détecteur est de 114 cm, ce qui donne accès à une gamme de q allant de $0,01 \text{ \AA}^{-1}$ à $0,35 \text{ \AA}^{-1}$ sur le détecteur (Dectris Pilatus 200K).

Un autre montage SAXS est également utilisé dans ces travaux, le montage MOMAC (MOlybdène pour la MAtière Condensée). Cet instrument est équipé d'un générateur à anode tournante avec une source molybdène (avec une énergie de 17 keV et une longueur d'onde $\lambda = 0,709 \text{ \AA}$) à haut flux (1.10^8 photons/s). La taille du faisceau collimaté sur

l'échantillon est de 0,8 mm x 0,8 mm. La distance échantillon-détecteur est de 63,5 cm permettant l'analyse d'une très large gamme de q aux grandeurs q variant de 0,03 \AA^{-1} à 3,2 \AA^{-1} en fonction du détecteur utilisé (MAR345 ou Xpad S70). Le traitement des données détaillé ci-après est identique pour les deux instruments SAXS.

2.2.2. Étalonnage

L'étalonnage du SAXS s'effectue différemment en fonction du montage utilisé. Pour les analyses chemSAXS, l'intensité absolue est obtenue par étalonnage direct par mesure du faisceau direct et pour le montage MOMAC par étalonnage indirect en utilisant une référence dont on connaît le signal de diffusion (le lupolen, un polymère qui donne un signal de diffusion maximum à 6 cm^{-1} pour $q = 0,035 \text{\AA}^{-1}$) [48][49]. La calibration peut également être obtenue à partir du signal de diffusion d'un solvant (typiquement l'eau) correspondant à un signal constant et dépendant de sa compressibilité isotherme ($I_{\text{eau}} = 0,016 \text{ cm}^{-1}$ [44]).

La gamme de q (et donc la distance échantillon-détecteur) est calibrée avec le tétradécanol et/ou le Behenate d'argent dont les positions des pics de Bragg sont connues (0,1581 \AA^{-1} pour le Tétradécanol et 0,1076 \AA^{-1} pour le Behenate d'argent).

2.2.3. Préparation d'échantillons

Pour l'analyse SAXS, les échantillons sous forme de poudre sont déposés entre deux kapton collants séparés par une pastille adaptée au porte-échantillon SAXS. Comme les poudres ne forment pas un film compact, l'épaisseur de l'échantillon est calculée à partir de la transmission optimale de l'échantillon en connaissant sa composition (c'est à dire, la densité et le coefficient d'atténuation linéaire des rayons X du matériau) [44]. La Figure 20 montre qu'à la différence de l'épaisseur macroscopique, l'épaisseur effective correspond à l'épaisseur du matériau pur (sans prise en compte du milieu dans lequel il se trouve). Pour y accéder, la valeur de la transmission est utilisée pour déterminer l'épaisseur de l'échantillon à partir du coefficient d'atténuation linéaire du matériau étudié (Équation : 3).

Équation : 3

$$T = e^{-(\mu e)}$$

Avec T la transmission de l'échantillon mesurée par le rapport entre le faisceau transmis et le faisceau incident, μ est le coefficient d'atténuation linéaire des rayons X en cm^{-1} et e l'épaisseur effective en cm.

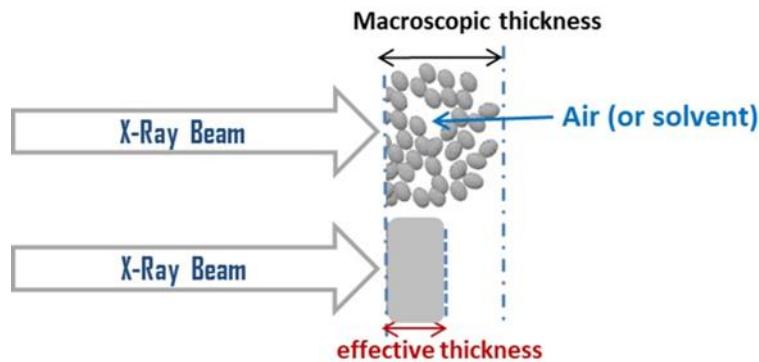


Figure 20 : Différence entre l'épaisseur macroscopique et l'épaisseur effective de l'échantillon sous forme de poudre (Figure adaptée de [44])

2.2.4. Traitement des données

Les courbes d'intensité diffusée peuvent être analysées de différentes façons, soit par une approche indirecte par une transformée de Fourier inverse de l'intensité qui permet d'extraire les formes des objets diffusants [50], soit par une approche directe en présupposant a priori une forme d'objet et en calculant l'intensité diffusée par ces objets pour ajuster la courbe expérimentale. Une approche plus récente basée sur un calcul Monte Carlo, est développé par Brian Pauw [51] pour obtenir une distribution de sphères reproduisant le signal de diffusion mesurée. Ces méthodes nécessitent de mesurer le signal de diffusion sur une large gamme de q donnant accès à une gamme de dimension représentative des distributions de dimensions de l'échantillon.

Les signaux sont souvent constitués de sous-signaux relatifs aux différentes échelles du matériau. La méthode de Beaucage (ou modèle unifié) [52] permet à partir du signal de diffusion sur une très large gamme de q , d'analyser la structure globale de l'échantillon sur plusieurs échelles sans hypothèse de forme. Le signal est divisé en sous-signaux et plusieurs

modèles de type Guinier et Porod sont associés pour exploiter à la courbe expérimentale. Aux petits angles, le signal suit une loi de Guinier (en $\exp(-q^2)$) qui permet de remonter aux dimensions des nano-objets. Aux grands angles, l'intensité diffusée est sensible aux interfaces entre les milieux de différentes densités électroniques. Pour une interface (entre 2 milieux) infiniment fine devant l'échelle d'observation, l'intensité aux grands angles suit une loi dites « de Porod » en q^{-4} (Équation : 4) [41,53].

Équation : 4

$$\lim_{q \rightarrow \infty} \text{Porod} = \lim_{q \rightarrow \infty} I q^4 = 2\pi \times \Delta\rho^2 \times \Sigma_{\text{Porod VSSA}}$$

Avec, I , L'intensité absolue en cm^{-1} , q le vecteur de diffusion en \AA^{-1} , $\Delta\rho$ la différence de densité de longueur de diffusion entre les deux milieux, à définir à partir de la densité électronique des éléments et Σ_{VSSA} , la surface spécifique de l'échantillon (surface par unité de volume) en cm^{-1} .

La densité de longueur de diffusion des poudres est calculée à partir de l'Équation : 5, elle correspond à la densité électronique du matériau multiplié par le facteur de diffusion de Thomson f_T (ou rayon classique de l'électron).

Équation : 5

$$\rho = \frac{d \times N_A \times Z \times r_e}{M}$$

Où d est la densité du matériau, N_A est la constante d'Avogadro avec $N_A = 6,02214 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$. Z , le numéro atomique, r_e est le rayon classique de l'électron ($r_e = 2,81 \times 10^{-13} \text{ cm}$) ou facteur de Thomson. Enfin, M est la masse molaire du matériau en g.mol^{-1} .

Concrètement, l'obtention de la limite de Porod se fait à partir de la courbe $Iq^4=f(q)$ qui donne une constante aux grands angles. La Figure 21 illustre un exemple de courbe d'intensité absolue en fonction du vecteur de diffusion q présentant les deux régimes, Guinier et Porod. Comme présenté par l'Équation : 4 et la Figure 21, une surface spécifique par unité de volume peut être déterminée en extrapolant la valeur de l'asymptote du plateau de Porod en $Iq^4 = f(q)$. Équation : 9

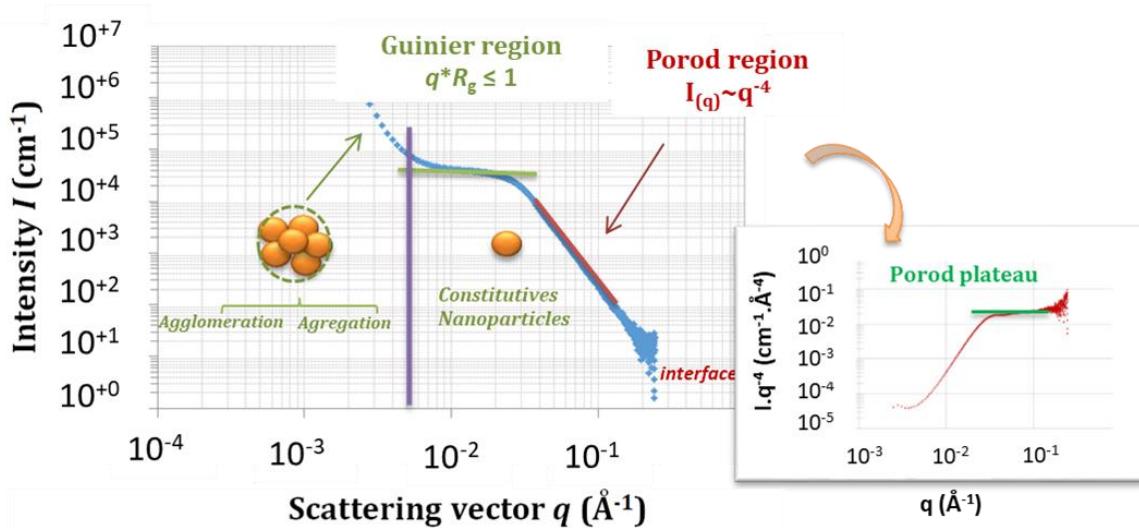


Figure 21 : Allure de la courbe de l'intensité absolue en fonction de q et représentation de la limite de Porod

La loi de Porod permet donc de quantifier les dimensions du système d'intérêt en ayant accès à une gamme restreinte de q .

2.2.5. Définitions des mesurandes

Dans le cadre de cette étude, l'analyse est restreinte à la mesure de la limite de Porod, car dans la gamme de q choisie, seule cette partie du signal est accessible pour certains échantillons. Le mesurande, déterminé à partir des mesures SAXS, est la surface spécifique déterminée par la loi de Porod (noté $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$). Une surface spécifique est définie comme la surface absolue de l'échantillon par unité de masse ($\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ en $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) ou de volume ($\Sigma_{\text{Porod VSSA}}$ en $\text{cm}^2 \cdot \text{cm}^{-3}$) [54]. Ces deux paramètres sont liés par la relation présentée dans l'Équation : 6, d étant la masse volumique ou la densité du matériau étudié en $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$.

Équation : 6

$$\Sigma_{\text{Porod SSA}} = \frac{\Sigma_{\text{Porod VSSA}}}{d}$$

Un diamètre équivalent, $D_{\text{Porod eq SSA}}$, est ensuite calculé à partir de cette surface spécifique comme décrit ci-dessous (Équation : 7).

Équation : 7

$$D_{\text{Porod } eq \text{ SSA}} = \frac{2 \times K \times 10^3}{\Sigma_{\text{Porod SSA}} \times d}$$

Avec $D_{\text{Porod } eq \text{ SSA}}$ est le diamètre équivalent en nm, $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ la surface spécifique par unité de masse mesurée en $\text{m}^2 \cdot \text{g}$ et d la densité du matériau considéré et K est un facteur correctif lié à la forme des nano-objets (correspondant aux nombres de dimensions caractéristiques des particules inférieures à 100 nm) [25].

Le facteur correctif K est un nombre entier, il est égale à 3 lorsque les particules sont sphériques ou quasi-sphériques avec 3 dimensions inférieurs à 100 nm, il est égale à 2 pour les particules allongées (nanotubes avec 2 dimensions nanométriques et une dimension infinie), et K est égale à 1 pour les nano-objets sous forme de plaquettes [55].

2.3. Brunauer, Emmett et Teller (BET)

2.3.1. Principe, mesurande et mesure

La méthode BET est basée sur l'adsorption/désorption physique d'un gaz inerte sur la surface de l'échantillon. A l'instar de la méthode SAXS, cette technique indirecte donne également accès à la surface spécifique de l'échantillon présenté sous forme de poudre. De la même façon que pour les mesures SAXS, il est ainsi possible de remonter au diamètre équivalent, en utilisant l'Équation : 7 (cf. section 2.2.5).

L'analyse d'adsorption de gaz BET- N_2 se scinde en deux parties [54][56] :

- La phase de dégazage, qui vise à éliminer les molécules de gaz et les impuretés initialement adsorbées à la surface des particules. Cette étape est réalisée sous vide avec un premier chauffage à 90°C pendant 1 heure puis à 200°C pendant 12 heures (la température de dégazage doit être adaptée à la nature du matériau considéré).
- La phase d'analyse, qui consiste en la mesure de la quantité de gaz adsorbée à la surface de l'échantillon pour chaque point de pression relative (P/P_0). Cette quantité est déterminée par la différence entre la quantité de gaz initialement

introduite et celle restant dans la cellule après adsorption. Les isothermes d'adsorption/désorption sont ensuite tracées avec la quantité de gaz adsorbé (en cm^3/g) en fonction de la pression relative (P/P_0). La quantité de gaz adsorbée est calculée pour chaque point de pression relative sur un intervalle de 0,01 à 0,99 P/P_0 .

L'appareil utilisé est un analyseur Micromeritics ASAP2020 disponible au LNE. Le gaz choisi pour l'analyse est l'azote, adsorbé à la température de l'azote liquide (77 K). La cellule d'analyse est d'abord pesée vide puis avec la poudre pour déterminer la masse de la poudre avant dégazage. Elle est à nouveau pesée après dégazage afin d'avoir une idée de la masse à analyser.

2.3.2. Traitement des données

Il est possible de distinguer plusieurs types d'isothermes d'absorption classés en famille selon la classification de l'IUPAC [57]. La détermination des caractéristiques recherchées par BET nécessite l'exploitation de ces isothermes. Le choix de la théorie pour l'interprétation des isothermes est dépendant du type de ce dernier ainsi que de l'information recherchée [57]. Plusieurs méthodes d'exploitation (basées sur différentes théories) existent ; La méthode BET (Brunauer, Emmet et Teller) et la méthode t-plot (Harkins-Jura) utilisées pour la détermination de la surface spécifique, les méthodes BJH (Berret, Joyner et Halenda) et HK (Horvath-Kawazoe) pour la détermination de la distribution en taille des pores ou encore la méthode DR (Dubinin-Radushkevitch) pour la détermination du volume poreux [24].

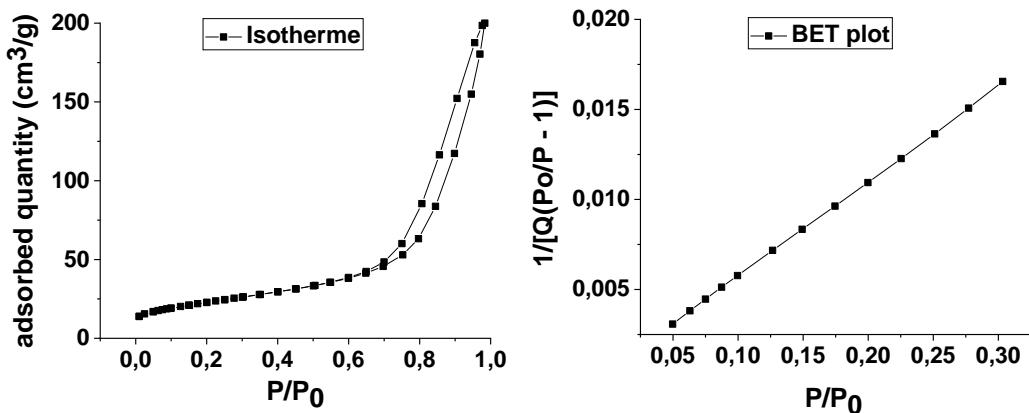


Figure 22 : Exemple d'isotherme (gauche) ainsi que la partie linéaire de la méthode BET (droite)

Dans le cadre de ces travaux, la méthode BET est choisie pour la détermination de la surface spécifique. La Figure 22 illustre un exemple d'isotherme ainsi que de la partie linéaire de la méthode BET. La surface spécifique externe des particules peut être déterminée en traitant uniquement la partie linéaire de l'isotherme pour des valeurs de P/P_0 généralement comprise entre 0,05 et 0,3. Afin de valider la méthode et d'accéder au mesurande désiré, la quantité $\frac{P/P_0}{q(1-\frac{P}{P_0})}$ (q étant la quantité de gaz adsorbée à une pression relative donnée) est tracée en fonction de P/P_0 pour déterminer la pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b) par régression linéaire qui nous permettront d'accéder à la surface spécifique de la poudre via l'Équation : 8 (ISO 9277:2010 [54] et ISO 15901-3:2007 [56]) :

Équation : 8

$$\Sigma_{BET\ SSA} = \frac{a_m \times N_a}{10^{21} (a + b) \times V_m}$$

Avec, $\Sigma_{BET\ SSA}$ la surface spécifique par unité de masse en m^2/g , $a_m = 0,162\text{ nm}^2$ la surface des molécules d'azote à 77K, $N_A = 6,022 \times 10^{23}\text{ mol}^{-1}$ la constante d'Avogadro et $V_m = 22,414\text{ L.mol}^{-1}$ le volume molaire de l'azote dans les conditions normales de température et de pression.

2.4. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

2.4.1. Principe de mesure

La technique DLS est l'une des méthodes d'analyse indirectes les plus répandues dans l'industrie. La DLS est une technique optique basée sur le mouvement constant et aléatoire des particules en suspension colloïdales, résultant des chocs continus avec les molécules du fluide, c'est le mouvement Brownien. Lorsque les particules diffusent la lumière, certains faisceaux diffusés par des particules de différentes tailles à un instant t donné peuvent s'additionner ou s'annuler (phénomènes d'interférences), conduisant ainsi à des fluctuations de l'intensité de la lumière diffusée au cours du temps. L'appareil va donc mesurer ces fluctuations d'intensité et les présenter sous forme de fonction d'autocorrélation (corrélogramme). Ces fonctions, qui peuvent s'écrire sous la forme d'une ou plusieurs exponentielles décroissantes, vont permettre à l'aide d'un algorithme de déterminer le coefficient de diffusion des particules (Figure 23).

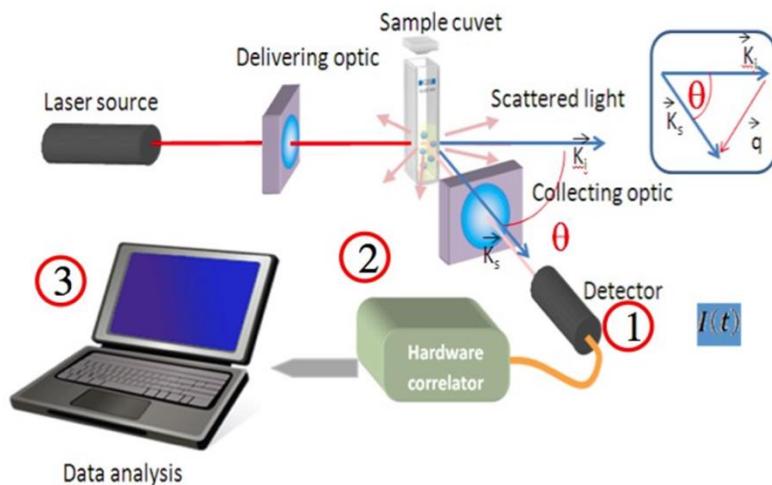


Figure 23 : Schéma de principe de la DLS (Figure tirée de www.cordouan-tech.com)

L'instrument utilisé dans le cadre de cette thèse est un Malvern Zetasizer Nano ZS, il est constitué de plusieurs modules en série : (1) une source laser, émettant une lumière monochrome constante, qui vient frapper l'échantillon contenu dans une cuve d'analyse ; (2) des détecteurs répartis à différents angles autour de l'échantillon, permettant de récupérer les photons diffusés par les particules qu'il contient ; (3) un analyseur d'intensité associé à

une interface informatique, qui effectue le traitement du signal détecté et permet de déterminer la distribution de tailles des particules contenues dans l'échantillon (Figure 23).

2.4.2. Définition du mesurande

La taille des particules peut être calculée à partir du coefficient de diffusion F . L'équation de Stokes-Einstein (Équation : 9) permet alors de relier le coefficient de diffusion au diamètre hydrodynamique D_h des particules.

Équation : 9

$$D_h = \frac{K_B T}{3\pi\eta F}$$

Avec D_h le diamètre hydrodynamique de la particule en m, K_B la constante de Boltzmann en $\text{m}^2.\text{kg}.\text{s}^{-2}.\text{K}^{-1}$, T la température en K, F le coefficient de diffusion en $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$, et η la viscosité de la suspension en Pa.s.

Il est important de préciser que le diamètre hydrodynamique (D_h) est un diamètre équivalent et qu'il ne correspond pas au diamètre physique mesuré au MEB. En effet, une particule chargée en solution est solvatée, entraînant la formation d'une double couche ionique appelée couche de solvatation. La couche la plus proche de la particule est composée d'ions de charge opposée à celle de la surface de la particule. Ces ions sont solidement liés à la particule, c'est pourquoi cette couche dite de Stern est aussi nommée couche liée. Les ions de la couche de Stern attirent à leur tour des ions de charge opposée. Cette seconde couche appelée couche diffuse contient à la fois des anions et des cations (Figure 25). Le diamètre hydrodynamique correspond au diamètre de la particule (ou son équivalent sphérique en volume) plus la couche de solvatation (qui correspond à la couche de Stern plus une partie de la couche diffuse).

2.4.3. Mesures et traitement des données

Pour l'analyse DLS il est primordial que les suspensions étudiées soient stable. La stabilité caractérise la capacité d'une suspension à résister aux variations de propriétés (telles que la sédimentation, agrégation ou agglomération par exemple) dans le temps [58]. La stabilisation électrostatique est un type de stabilisation d'une suspension colloïdale qui a lieu grâce aux forces électrostatiques. Ici, l'ajout d'une espèce ionique telle qu'un cation, un anion ou un zwitterion (espèce chimique possédant des charges opposées au sein de sa structure) permet la répulsion des particules en solution suite à l'adsorption de ces espèces sur leur surface et empêche donc la formation d'agglomérats. L'équilibre des forces présentes est décrit par la théorie DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) traitant des interactions interparticulaires (équilibre entre les forces attractives de Van der Waals et les forces électrostatiques globalement répulsives). Cette théorie permet d'expliquer la stabilité globale de suspensions colloïdales [59,60].

Pour chaque échantillon étudié, 1 ml de la suspension stabilisée est prélevé puis analysé à l'aide d'un rayon laser incident de longueur d'onde 633 nm sur l'échantillon. Un détecteur placé à 173° mesure alors l'intensité rétrodiffusée. Plusieurs méthodes, basées sur des algorithmes, sont disponibles pour déterminer les dimensions des particules en suspension, les plus connus sont :

- La méthode des cumulants, qui nous donne un Z_{average} correspondant à un diamètre hydrodynamique de particule calculé à partir de la moyenne harmonique des intensités [61]. Cette méthode est pertinente pour une population monomodale ou présentant une distribution étroite avec un indice de polydispersité (PDI) inférieur à 0,25 [61].
- La méthode NNLS (Non-negative least squares) qui correspond à une analyse par les moindres carrés sans valeur négative [62]. Cette méthode est très utile et recommandée pour les échantillons multimodaux.

- La méthode CONTIN utilise la méthode de régularisation par probabilité de rejet [63]. Elle est également destinée aux échantillons multimodaux et polydisperses.

La DLS renseigne alors sur : le Z_{average} (pour la méthode des cumulants), et 3 distributions en tailles différentes ; en volume, intensité et nombre (pour les méthodes CONTIN et NNLS). A titre d'exemple, comme présenté sur la Figure 24, la distribution en volume présente un rapport 1000 entre deux populations avec la moitié des particules de taille 10 nm et l'autre moitié de taille 50 nm. Cet écart est dû au rapport entre les volumes de deux sphères ayant des diamètres de 10 nm et 50 nm. La différence est d'autant plus accentuée pour la distribution en intensité. En effet, l'intensité rétrodiffusée calculée à partir de l'approximation de Rayleigh est proportionnel au diamètre à la puissance 6 (Figure 24). A l'instar de ces deux distributions, la distribution en nombre tient compte du nombre de particules et donne deux pics de même intensité à 10 nm et 50 nm. Dans le cadre de la thèse, seule la distribution en nombre de la méthode NNLS est utilisée comme éléments de comparaison entre les échantillons.

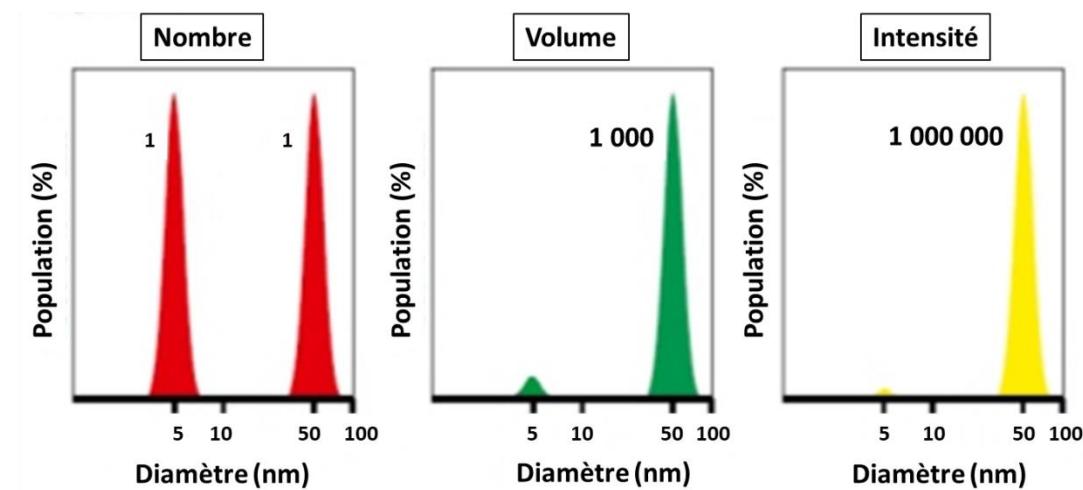


Figure 24 : Distribution en taille en nombre, volume et intensité d'un système bimodal (5nm et 50nm)
(Figure tirée de [64])

3. Techniques de caractérisations physico-chimiques

3.1. Evaluation de la charge de surface (zétamétrie)

Le potentiel zéta (ζ) représente la charge de surface des particules en solution. Il ne correspond cependant pas à la charge réelle de la surface des particules, mais à celle mesurée en solution (en prenant en compte la couche de solvatation évoquée dans le paragraphe précédent). Lors du mouvement de la particule (mouvement brownien ou induit par un champ électrique) il se forme un plan de glissement au niveau de la double couche de solvatation, la couche de Stern et une partie seulement de la couche diffuse suivent la particule. C'est à ce niveau que le potentiel zéta est mesuré (c'est la différence de potentiel entre ce plan de glissement et l'environnement) (Figure 25) [65]. Cette double couche électrique entraîne des forces répulsives qui sont d'autant plus élevées que le potentiel de surface (ou la charge de surface) est grand.

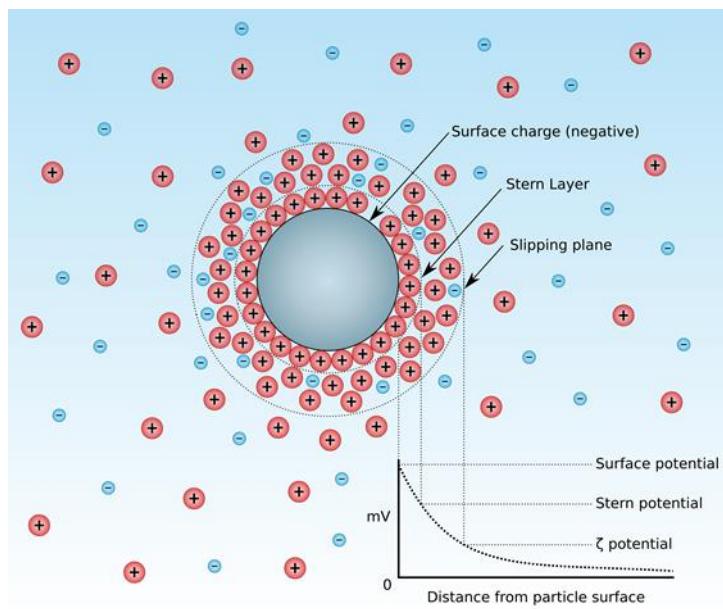


Figure 25 : Représentation d'une particule chargée en suspension (Figure tirée de la référence [66])

L'instrument utilisé au LNE est le Zetasizer Nano ZS (Malvern), le même que pour la DLS. Le champ électrique appliqué sur les particules en suspension permet leur déplacement en fonction de leurs charges soit vers la cathode (si chargées négativement) soit vers l'anode

(si chargées positivement). La vitesse de déplacement des particules est mesurée par un anémomètre doppler laser et convertit en potentiel zêta selon la relation d'Henry (Équation : 10) :

Équation : 10

$$U_E = \frac{2\epsilon\zeta f(Ka)}{3\eta}$$

Avec : U_E la mobilité électrique, ϵ la constante diélectrique en Farad.m⁻¹, ζ le potentiel zêta en V, $f(Ka)$ la fonction d'Henry et η la viscosité de la suspension en Pa.s.

En théorie, on considère que la suspension colloïdale est stable lorsque $|\zeta|$ est supérieur à 30 mV, mais un potentiel zêta en valeur absolue d'au minimum 60 mV est nécessaire pour une excellente stabilité. A l'inverse, un zêta proche de zéro signifie que le système est proche du point isoélectrique, et les particules auront tendance à s'agglomérer et floculer [67].

Afin d'évaluer la charge en surface (de la couche diffuse) des particules et la stabilité de la suspension, une étude de potentiel zêta en fonction du pH de la solution est effectuée pour tous les échantillons.

3.2. Evaluation de la structure cristalline (Diffraction des rayons X (DRX))

3.2.1. Principe et mesurandes

La diffraction des rayons-X (DRX) est une technique polyvalente et non destructive d'analyse des propriétés physiques des matériaux. Lorsqu'un faisceau de rayons-X interagit avec un matériau cristallin, ce faisceau est diffracté et une figure de diffraction est obtenue. La géométrie de la figure de diffraction permet de remonter à la symétrie du réseau cristallin du matériau étudié. Cette méthode permet d'accéder à la structure interne des matériaux au niveau atomique afin d'identifier la composition et la structure des phases des échantillons sous forme de poudre.

La cristallinité des échantillons joue un rôle important sur les propriétés des nanomatériaux. Dans cette étude, il est donc important d'identifier les phases cristallines des échantillons de TiO₂, afin d'appliquer les données relatives à chaque phase (c'est-à-dire la densité de la phase cristalline considérée).

3.2.2. Mesures et traitement des données

Les structures cristallines sont identifiées par DRX. L'instrument utilisé est le PANalytical X'Pert PRO MPD avec une longueur d'onde de radiation K α de cuivre ($\lambda = 0,154$ nm). Chaque échantillon de TiO₂ est analysé selon la configuration $\theta - 2\theta$ avec une gamme d'angles allant de 20° à 100° et un pas de mesure égale à FWHM/10, FWHM étant la largeur à mi-hauteur du pic le plus intense.

Les diagrammes XRD sont traités avec le logiciel HighScore. En effet, chaque pic expérimental représente un plan cristallin qui sera comparé à un motif de référence (matériau cristallin connu) référencié dans la base de données PDF-2 généralement fournie avec le logiciel (source ICDD, International Center for Diffraction Data).

Une fois la structure cristalline connue, une taille de cristallite $d_{cristallites}$ peut être calculée en utilisant l'équation de Scherrer (Équation : 11) [68] :

Équation : 11

$$fwhm = \frac{k\lambda}{d_{cristallites} \cos(\theta)}$$

Où, fwhm est la largeur à mi-hauteur du pic le plus intense en radians, k, le facteur de forme ($k = 0,89$ pour une sphère), λ , la longueur d'onde ($\lambda = 0,154$ nm pour la source en cuivre), 2θ la position angulaire du pic en radians, et $d_{cristallites}$ la taille de cristallite en nm.

Par ailleurs dans le cas de matériaux de structure cristalline mixte, il est possible de calculer les proportions correspondantes à chaque phase. Le rapport des intensités des pics les plus intenses de chaque phase permet ainsi l'accès aux fractions de ces dernières [69][70].

3.3. Composition chimique élémentaire par Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDS, couplé au MEB)

3.3.1. Principe

Le spectromètre à dispersion d'énergie exploite l'émission des rayons X générés par le faisceau électronique incident sur l'échantillon. Comme nous l'avons évoqué dans la section 2.1.1, l'interaction du faisceau électronique avec la matière entraîne la production de différents signaux, dont les rayons-X. Lorsqu'une interaction inélastique se produit entre le faisceau d'électrons et la surface de l'échantillon, l'électron émis conduit à l'ionisation d'un atome qui se désexcite en émettant des rayons X caractéristiques de cet atome (leur énergie augmente avec le numéro atomique Z). Ces rayons X sont détectés et utilisés lors de la microanalyse chimique (EDS) afin de nous renseigner sur la composition atomique des échantillons.

3.3.2. Mesures et Traitement des données

La composition élémentaire des échantillons peut être identifiée par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDS). Un détecteur EDS est donc couplé au MEB afin d'analyser les particules souhaitées. Le détecteur utilisé dans cette étude est l'Ultim® Extreme Windowless 100 mm² SDD d'OXFORD Instruments. Ce détecteur permet de travailler à de très basse tension d'accélération permettant ainsi de travailler avec un volume d'interaction faible et d'obtenir des informations très locales. Ainsi des résolutions spatiales d'une dizaine de nanomètres peuvent être atteintes (selon le matériau étudié).

La cartographie des éléments EDS est réalisée à une tension d'accélération de 5 kV et une distance de travail de 8,5 mm (distance de travail optimale). L'identification des éléments ainsi que les cartographies X sont réalisées à l'aide du logiciel Aztec.

3.4. Analyse élémentaire par Spectroscopie d'émission optique de plasma à couplage inductif (ICP-OES)

3.4.1. Principe

La spectroscopie d'émission optique de plasma à couplage inductif (Ou ICP-OES pour Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy) est basée sur l'analyse par spectrométrie optique de photons générés par un plasma induit par haute fréquence. Le plasma d'argon ionisé généré est entretenu par le champ magnétique induit par une bobine. La suspension colloïdale à analyser est véhiculée dans un nébuliseur traversé par un courant d'argon où elle est transformée en aérosol (mélange de gaz, de gouttelettes et de particules). Ensuite, les plus petites gouttes sont amenées vers la torche pour être introduites dans le plasma d'argon. Les ions d'argon excités vont transmettre leurs énergies aux atomes de l'échantillon étudié. Ainsi pour revenir à un état plus stable, les atomes émettent des photons caractéristiques [71]. Ces derniers sont recueillis sur un détecteur qui transforme l'énergie lumineuse en signal électrique. Enfin, les intensités mesurées sont converties en concentration des éléments recherchés par rapport aux étalons utilisés.

3.4.2. Mesures et traitement des données

Les échantillons sont minéralisés, en présence d'un mélange d'acides appropriés ($\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{HF}$), dans un récipient fermé en tétrafluorométhoxyle placé dans un four à micro-ondes. Ensuite, après dilutions, l'élément titane est déterminé quantitativement par spectrométrie d'émission à plasma (ICP-OES, HORIBA, Activa M) en utilisant un étalonnage linéaire. La teneur en Ti est donnée en gramme par 100 gramme de poudre, la conversion en teneur massique de dioxyde de titane (TiO_2) est ensuite déterminée par un calcul de base stœchiométrique.

3.5. Spectrométrie photoélectronique X (XPS)

3.5.1. Principe

La Spectroscopie photo-électronique à rayons X (XPS, X-ray photoelectron spectroscopy) fait partie des techniques spectroscopiques largement utilisées pour l'identification de la composition élémentaire ainsi que les liaisons atomiques en surface des matériaux étudiés. La spectrométrie photoélectronique à rayons X identifie la composition chimique des éléments présents sur la surface via les positions des pics témoignant de l'émission de photoélectrons induite par les interactions entre les rayons X et l'échantillon [72]. Chaque photoélectron détecté a une énergie correspondant à un élément spécifique.

3.5.2. Mesures et traitement des données

La spectrométrie photoélectronique X est réalisée à l'aide d'un spectromètre DLD Kratos Axis Ultra avec une source monochromatique de rayons X Al K_α (1486,6 eV) et un système de compensation de charge. L'angle de décollage était fixé à 90° par rapport à la surface de l'échantillon. Les spectres sont collectés en utilisant une énergie de passage de 160 eV pour l'étude et de 40 eV pour la haute résolution. L'échelle d'énergie de liaison (BE) est calibrée en utilisant la ligne Ti 2p^{3/2} à 458,5 eV. Les données sont analysées à l'aide du logiciel CasaXPS. L'ajustement des pics est effectué après soustraction d'un fond mixte Shirley-Tougaard (ou Shirley) [73][74]. La composition chimique (en pourcentage atomique) est estimée en utilisant les aires des pics des spectres à haute résolution. Les surfaces des pics sont corrigées en tenant compte des facteurs de sensibilité de Scofield.

Références

- [1] S. Das, J.M. Dowding, K.E. Klump, J.F. McGinnis, W. Self, S. Seal, Cerium oxide nanoparticles: Applications and prospects in nanomedicine, *Nanomedicine*. 8 (2013) 1483–1508. doi:10.2217/nnm.13.133.
- [2] V. Sajith, C.B. Sobhan, G.P. Peterson, Experimental investigations on the effects of cerium oxide nanoparticle fuel additives on biodiesel, *Adv. Mech. Eng.* 2010 (2010). doi:10.1155/2010/581407.
- [3] JCGM, International vocabulary of metrology: Basic and general concepts and associated terms (VIM), 2008. http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf.
- [4] K. Rasmussen, J. Mast, P.-J. De Temmerman, E. Verleysen, N. Waegeneers, F. Van Steen, J.C. Pizzolon, L. De Temmerman, E. Van Doren, K.A. Jensen, R. Birkedal, M. Levin, S.H. Nielsen, I.K. Koponen, P.A. Clausen, V. Kofoed-Sørensen, Y. Kembouche, N. Thieriet, O. Spalla, C. Guiot, D. Rousset, O. Witschger, S. Bau, B. Bianchi, C. Motzkus, B. Shivachev, L. Dimowa, R. Nikolova, D. Nihtianova, M. Tarassov, O. Petrov, S. Bakardjieva, D. Gilliland, F. Pianella, G. Ceccone, V. Spampinato, G. Cotogno, N. Gibson, C. Gaillard, A. Mech, Titanium Dioxide, NM-100, NM-101, NM-102, NM-103, NM-104, NM-105: Characterisation and Physico-Chemical Properties, 2014. doi:10.2788/79554.
- [5] K.A. Jensen, H. Crutzen, A. Dijkzeul, P. Office, NANoREG Guidance Document, 2015.
- [6] F. Babick, J. Mielke, W. Wohlleben, S. Weigel, V.D. Hodoroaba, How reliably can a material be classified as a nanomaterial? Available particle-sizing techniques at work, *J. Nanoparticle Res.* 18 (2016) 1–40. doi:10.1007/s11051-016-3461-7.
- [7] C. Motzkus, F. Gaie-Levrel, P. Ausset, M. Maillé, N. Baccile, S. Vaslin-Reimann, J. Idrac, D. Oster, N. Fischer, T. Macé, Impact of batch variability on physicochemical properties of manufactured TiO₂ and SiO₂ nanopowders, *Powder Technol.* 267 (2014) 39–53. doi:10.1016/j.powtec.2014.06.055.
- [8] Dott. Marco Marchetti, Synthesis and chemical-physical characterization of photocatalytic inorganic nanocrystals for innovative technological applications, Università degli Studi di Bologna, 2013. http://amsdottorato.unibo.it/5737/2/marchetti_marco_tesi.pdf.
- [9] I. Florea, D. Ihiaakrim, C. Hirlimann, O. Ersen, Three-Dimensional Tomographic Analyses of CeO₂ Nanoparticles, (2013).
- [10] O.E. I. Florea, C. Feral-Martin, J. Majimel, D. Ihiaakrim, C. Hirlimann, Three-dimensional tomographic analyses of CeO₂ nanoparticles, *Cryst. Growth Des.*, 13 (2013), Pp. 1110-1121, 10.1021/Cg301445he. (n.d.).
- [11] French Government Decree - Order of 21 December 2020 suspending the placing on the market of foodstuffs containing the additive E 171 (titanium dioxide - TiO₂), J. Off. La République Française. (2020). <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000042739505>.
- [12] A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. von Goetz, Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 2242–2250. doi:doi:10.1021/es204168d.
- [13] H. Rauscher, A. Mech, V. Kestens, R. Koeber, T.P.J. Linsinger, E.A. Stefaniak,

- Identification of nanomaterials through measurements (JRC science for policy report), 2019. doi:10.2760/053982.
- [14] N.-F. Mott, The Scattering of Fast Electrons by Atomic Nuclei, *R. Soc.* 124 (1929) 425–442. doi:<https://doi.org/10.1098/rspa.1929.0127>.
 - [15] M.L. Hjuler, V.F. Hansen, I.L. Fabricius, Interpretational challenges related to studies of chalk particle surfaces in scanning and transmission electron microscopy, *Bull. Geol. Soc. Denmark.* 66 (2019) 151–166. doi:10.37570/bgsd-2018-66-07.
 - [16] L. Crouzier, N. Feltin, Métrologie hybride AFM / SEM pour mesurer la dimension de nanoparticules Métrologie hybride AFM / SEM pour mesurer la dimension de nanoparticules, 33 (2020).
 - [17] L. Crouzier, A. Delvallée, S. Ducourtieux, L. Devoille, G. Noircler, C. Ulysse, O. Taché, E. Barruet, C. Tromas, N. Feltin, Development of a new hybrid approach combining AFM and SEM for the nanoparticle dimensional metrology, *Beilstein J. Nanotechnol.* 10 (2019) 1523–1536. doi:10.3762/bjnano.10.150.
 - [18] S. Ducourtieux, B. Poyet, Development of a metrological atomic force microscope with minimized Abbe error and differential interferometer-based real-time position control, *Meas. Sci. Technol.* 22 (2011). doi:10.1088/0957-0233/22/9/094010.
 - [19] L. CROUZIER, Développement d'une nouvelle approche hybride combinant AFM et MEB pour la métrologie dimensionnelle des nanoparticules. Thèse Milieux denses et matériaux. Poitiers : Université de Poitiers, UNIVERSITÉ DE POITIERS, UFR des sciences fondamentales et appliquées Pôle, 2020.
 - [20] ISO9276-6:2008, Representation of results of particle size analysis, Part 6: Descriptive and quantitative representation of particle shape and morphology, 2008.
 - [21] A. Vladar, M. Postek, Electron Beam-Induced Sample Contamination in the SEM, *Microsc. Microanal.* 11 (2005) 764–765. doi:10.1017/s1431927605507785.
 - [22] A.E. Vladár, K.P. Purushotham, M.T. Postek, Contamination specification for dimensional metrology SEMs, *Metrol. Insp. Process Control Microlithogr.* XXII. 6922 (2008) 692217. doi:10.1117/12.774015.
 - [23] A.I.P. A. E. ENNOS, M Sc, The origin of specimen contamination in the electron microscope *, *Br. J. Appl. Phys.* 4 (1953) 101–106.
 - [24] K. Saleh, P. Guigon, Caractérisation et analyse des poudres - Propriétés physiques des solides divisés Caractérisation et analyse des poudres Propriétés physiques des solides divisés, *Tech. l'ingénieur.* 33 (2009).
 - [25] ISO/DIS 19749, Nanotechnologies — Détermination de la distribution de taille et de forme des particules par microscopie électronique à balayage, (2018).
 - [26] W.H. WALTON, Feret's Statistical Diameter as a Measure of Particle Size, *Nature.* 162 (1948) 329–330. doi:10.1038/162329b0.
 - [27] J. Hosdez, Fissuration par fatigue de fontes à graphite sphéroïdal et vermiculaire, *Cent. LILLE.* 072 (2017).
 - [28] A. Hughes, Z. Liu, M. Raftari, M. Reeves, A workflow for characterizing nanoparticle monolayers for biosensors: Machine learning on real and artificial SEM images, (2014) 1–20. doi:10.7287/peerj.preprints.671.
 - [29] DigitalSurf, Data confluence & all the surface analysis tools you'll ever need: MountainsLab, (n.d.). <https://www.digitalsurf.com/software-solutions/multi-purpose/>.

- [30] J. Foucher, A. Labrosse, A. Dervillé, Y. Zimmermann, G. Bernard, S. Martinez, H. Grönqvist, J. Baderot, F. Pinzan, The coming of age of the first hybrid metrology software platform dedicated to nanotechnologies (Conference Presentation), in: Soc. Photo-Optical Instrum. Eng., 2017. doi:10.1117/12.2258093.
- [31] R. Theissmann, M. Kluwig, T. Koch, A reproducible number-based sizing method for pigment-grade titanium dioxide, *Beilstein J. Nanotechnol.* 5 (2014) 1815–1822. doi:10.3762/bjnano.5.192.
- [32] A. Delvallée, N. Feltin, S. Ducourtieux, M. Trabelsi, J.F. Hochepied, Direct comparison of AFM and SEM measurements on the same set of nanoparticles, *Meas. Sci. Technol.* 26 (2015) 1–15. doi:10.1088/0957-0233/26/8/085601.
- [33] M. Kass, A. Witkin, D. Terzopoulos, Snakes: Active contour models, *Int. J. Comput. Vis.* 1 (1988) 321–331. doi:10.1007/BF00133570.
- [34] P.J. Lu, W.E. Fu, S.C. Huang, C.Y. Lin, M.L. Ho, Y.P. Chen, H.F. Cheng, Methodology for sample preparation and size measurement of commercial ZnO nanoparticles, *J. Food Drug Anal.* 26 (2018) 628–636. doi:10.1016/j.jfda.2017.07.004.
- [35] F. Varenne, L. Devoille, A. Makky, N. Feltin, F. Violleau, G. Barratt, C. Vauthier, Evaluation of the size distribution of a multimodal dispersion of polymer nanoparticles by microscopy after different methods of deposition, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 60 (2020) 1–11. doi:10.1016/j.jddst.2020.102047.
- [36] S. Bau, C. Dazon, O. Rastoix, N. Bardin-monnier, Effect of constituent particle polydispersion on VSSA-based equivalent particle diameter : Theoretical rationale and application to a set of eight powders with constituent particle median diameters ranging from 9 to 130 nm, (2021). doi:10.1016/j.apt.2021.02.039.
- [37] H. Fischer, A. Craievich, Scientific literature of small-angle X-Ray and neutron scattering applied to the characterization of materials at the nanometer scale, *Mater. Res.* 22 (2019). doi:10.1590/1980-5373-MR-2019-0327.
- [38] T. Li, A.J. Senesi, B. Lee, Small Angle X-ray Scattering for Nanoparticle Research, *Chem. Rev.* 116 (2016) 11128–11180. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00690.
- [39] A. GUINIER, Structure of Age-Hardened Aluminium-Copper Alloys, *Nature*. 142 (1938) 569–570.
- [40] O. Kratky, G. Porod, scattering of X-rays under very low angles, as far as it is, *J. Colloid Sci.* 4 (1948) 35–70. doi:10.1016/0095-8522(49)90032-x.
- [41] André Guinier, Gérard Fournet, and C. B. Walker, Small-angle scattering of X-rays, 1955. doi:10.1063/1.3060069.
- [42] A. Craievich, Handbook of Sol-Gel Science and Technology, Chapter 8 : Small-Angle X-ray Scattering by nanostructured materials, Kluwer Academic Publishers, 2005.
- [43] O.M. Londoño, P. Tancredi, P. Rivas, D. Muraca, L.M. Socolovsky, M. Knobel, Small-angle X-ray scattering to analyze the morphological properties of nanoparticulated systems, 2018. doi:10.1007/978-3-319-92955-2_2.
- [44] O. Spalla, S. Lyonnard, F. Testard, Analysis of the small-angle intensity scattered by a porous and granular medium, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 338–347. doi:10.1107/s0021889803002279.
- [45] B.R. Pauw, C. Kästner, A.F. Thünemann, Nanoparticle size distribution quantification: Results of a small-angle X-ray scattering inter-laboratory comparison, *J. Appl.*

- Crystallogr. 50 (2017) 1280–1288. doi:10.1107/S160057671701010X.
- [46] T. Zemb, O. Taché, F. Né, O. Spalla, Improving sensitivity of a small angle x-ray scattering camera with pinhole collimation using separated optical elements, Rev. Sci. Instrum. 74 (2003) 2456–2462. doi:10.1063/1.1556954.
- [47] CEA-IRAMIS-LIONS, Python for Small Angle X-ray Scattering data acquisition, treatment and computation of model SAXS intensities, (n.d.). <https://pypi.org/project/pySAXS/>.
- [48] O. Taché, S. Rouzière, P. Joly, M. Amara, B. Fleury, A. Thill, P. Launois, O. Spalla, B. Abécassis, MOMAC: A SAXS/WAXS laboratory instrument dedicated to nanomaterials, J. Appl. Crystallogr. 49 (2016) 1624–1631. doi:10.1107/S1600576716012127.
- [49] V. Geertsen, E. Barruet, F. Gobeaux, J.L. Lacour, O. Taché, Contribution to Accurate Spherical Gold Nanoparticle Size Determination by Single-Particle Inductively Coupled Mass Spectrometry: A Comparison with Small-Angle X-ray Scattering, Anal. Chem. 90 (2018) 9742–9750. doi:10.1021/acs.analchem.8b01167.
- [50] O. Glatter, Determination of particle-size distribution functions from small-angle scattering data by means of the indirect transformation method, J. Appl. Crystallogr. 13 (1980) 7–11. doi:10.1107/s0021889880011429.
- [51] I. Bressler, B.R. Pauw, A.F. Thünemann, McSAS: Software for the retrieval of model parameter distributions from scattering patterns, J. Appl. Crystallogr. 48 (2015) 962–969. doi:10.1107/S1600576715007347.
- [52] G. Beaucage, D.W. Schaefer, Structural studies of complex systems using small-angle scattering: a unified Guinier/power-law approach, J. Non. Cryst. Solids. 172–174 (1994) 797–805. doi:10.1016/0022-3093(94)90581-9.
- [53] T. Zemb, P. Lindner, Neutrons, X-rays, and light : scattering methods applied to soft condensed matter, 1st ed., Elsevier, 2002.
- [54] ISO 9277:2010, Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption — BET method, 2010. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9277:ed-2:v1:en>.
- [55] W. Wohlleben, J. Mielke, A. Bianchin, A. Ghanem, H. Freiberger, H. Rauscher, M. Gemeinert, V.D. Hodoroaba, Reliable nanomaterial classification of powders using the volume-specific surface area method, J. Nanoparticle Res. 19 (2017) 1–16. doi:10.1007/s11051-017-3741-x.
- [56] ISO 15901-3:2007 Pore size distribution and porosity of solid materials by mercury porosimetry and gas adsorption — Part 3: Analysis of micropores by gas adsorption, 2007. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15901:-3:ed-1:v1:en>.
- [57] T.S. K.S.W. Sing, D.H. Everett, R.A.W. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotti, J. Rouquerol, Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity, Pure Appl. Chem. 57 (1985) 603–619. doi:10.1351/pac198254112201.
- [58] ISO/TR13097:2013, Lignes directrices pour la caractérisation de la stabilité des dispersions, 2013. <https://www.iso.org/fr/standard/52802.html>.
- [59] D.H. Napper, Colloid Stability, Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev. 9 (1970) 467–477. doi:10.1021/i360036a005.
- [60] J. Hierrezuelo, A. Sadeghpour, I. Szilagyi, A. Vaccaro, M. Borkovec, Electrostatic stabilization of charged colloidal particles with adsorbed polyelectrolytes of opposite

- charge, *Langmuir*. 26 (2010) 15109–15111. doi:10.1021/la102912u.
- [61] D.E. Koppel, Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: The method of cumulants, *J. Chem. Phys.* 57 (1972) 4814–4820. doi:10.1063/1.1678153.
- [62] I.D. Morrison, E.F. Grabowski, C.A. Herb, Improved Techniques for Particle Size Determination by Quasi-Elastic Light Scattering, *Langmuir*. 1 (1985) 496–501. doi:10.1021/la00064a016.
- [63] A. Scotti, W. Liu, J.S. Hyatt, E.S. Herman, H.S. Choi, J.W. Kim, L.A. Lyon, U. Gasser, A. Fernandez-Nieves, The CONTIN algorithm and its application to determine the size distribution of microgel suspensions, *J. Chem. Phys.* 142 (2015) 234905. doi:10.1063/1.4921686.
- [64] Malvern, A basic guide to particle characterization, Malvern Whitepaper. (2015) 1–24. https://www.cif.iastate.edu/sites/default/files/uploads/Other_Inst/Particle%20Size/Particle%20Characterization%20Guide.pdf.
- [65] S. Bhattacharjee, DLS and zeta potential - What they are and what they are not?, *J. Control. Release*. 235 (2016) 337–351. doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.017.
- [66] Zeta Potential for a particle in dispersion medium, (2011). https://en.wikipedia.org/wiki/File:Zeta_Potential_for_a_particle_in_dispersion_medium.png.
- [67] C. Freitas, R.H. Müller, Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN®) dispersions, *Int. J. Pharm.* 168 (1998) 221–229. doi:10.1016/S0378-5173(98)00092-1.
- [68] F.T.L. Muniz, M.A.R. Miranda, C. Morilla Dos Santos, J.M. Sasaki, The Scherrer equation and the dynamical theory of X-ray diffraction, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Adv.* 72 (2016) 385–390. doi:10.1107/S205327331600365X.
- [69] R.A. Spurr, H. Myers, Quantitative Analysis of Anatase-Rutile Mixtures with an X-Ray Diffractometer, *Anal. Chem.* 29 (1957) 760–762. doi:10.1021/ac60125a006.
- [70] Y.A. Shaban, A.A. El Maradny, R.K. Al Farawati, Photocatalytic reduction of nitrate in seawater using C/TiO₂ nanoparticles, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 328 (2016) 114–121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.05.018>.
- [71] H.P. Jérôme FRAYRET, Jean-Michel MERMET, ICP-OES : couplage plasma induit par haute fréquence – spectrométrie optique, *Tech. l'ingénieur*. 33 (2012) 2015.
- [72] Guy Hollinger, Spectroscopies de photoélectrons: XPS ou ESCA et UPS, *Tech. l'Ingénieur*. 33 (1986).
- [73] D.A. Shirley, High-resolution x-ray photoemission spectrum of the valence bands of gold, *Phys. Rev. B*. 5 (1972) 4709–4714. doi:10.1103/PhysRevB.5.4709.
- [74] S. Tougaard, Universality classes of inelastic electron scattering cross-sections, *Surf. Interface Anal.* 25 (1997) 137–154. doi:10.1002/(SICI)1096-9918(199703)25:3<137::AID-SIA230>3.0.CO;2-L.
- [75] J.N. Betts, M.G. Johnson, P.T. Rygiewicz, G.A. King, C.P. Andersen, Potential for metal contamination by direct sonication of nanoparticle suspensions, *Environ. Toxicol. Chem.* 32 (2013) 889–893. doi:10.1002/etc.2123.

Chapitre 3 : Les défis liés à la préparation des échantillons pour la mesure dimensionnelle des (nano)-objets par microscopie électronique à balayage

La mesure d'une population de (nano)-particules sous forme de poudre est difficile en raison d'un très important état d'agglomération. Par conséquent, la première étape cruciale est d'obtenir une suspension stable de ces particules. Ce chapitre propose l'amélioration de la préparation des échantillons pour la caractérisation dimensionnelle des (nano) particules, issues de matière première ou de particules extraites de matrices complexes, par MEB. En effet, afin de simplifier l'acquisition, le traitement des images électroniques et l'accès au mesurande du MEB ($D_{SEM\ average\ area-eq}$), il est nécessaire d'obtenir des dépôts où la dispersion est optimale et homogène. Sur la base d'une approche combinant différents facteurs tels que la concentration, le pH, le potentiel zéta, la durée et la puissance d'ultrasonication ainsi que les paramètres de dépôt, notre objectif est d'établir une mesure fiable de la distribution en taille par MEB de ces particules provenant de sources diverses afin de pouvoir répondre aux exigences réglementaires concernant l'identification et la classification des nanomatériaux.

1. Echantillons sélectionnés

Pour cette étude, quatre types d'échantillons, de nature chimique et d'origine différente, sont sélectionnés (Le Tableau 8 et Tableau 8).

Tableau 8 : Liste des échantillons sélectionnés

N°	Echantillon	Origine
1	TiO₂-Lab	Synthèse de laboratoire (LNE)
2	TiO₂-Food	Particules extraites de chewing-gum (dragées blanches)
3	CeO₂-Lab	Synthèse de laboratoire (Mines ParisTech)
4	SiO₂-Tixosil43	Poudre commerciale de silice amorphe synthétique

Les particules étudiées possèdent des tailles et des formes différentes, et se présentent toutes sous forme de poudre. Deux échantillons de TiO₂ sont sélectionnés car ils sont utilisés dans une grande variété de produits alimentaires et pharmaceutiques [1]. Le premier échantillon (noté TiO₂-Lab), synthétisé au laboratoire (LNE), présente une taille de particule beaucoup plus petite (avec une taille visée autour de 20 nm) que le second échantillon qui correspond à l'additif extrait d'un produit alimentaire (noté TiO₂-Food). Les nanoparticules de silice amorphe (notées SiO₂-Tixosil43) sont utilisées dans divers domaines tels que les produits cosmétiques, les produits alimentaires (comme l'additif E551) [2]. Enfin des nanoparticules d'oxyde de cérium (notées CeO₂-Lab), qui sont largement utilisées dans les additifs pour carburants, les catalyseurs ou en nanomédecine [3,4], sont également synthétisées au laboratoire (Mines Paris tech).

2. Préparation d'échantillons

Sur la base des éléments issus de la littérature (chapitre 1 section 5.2), le protocole de préparation des échantillons pour la caractérisation dimensionnelle des particules par MEB est basé sur la mise en suspension de la poudre dans de l'eau ultra pure MilliQ® préalablement au dépôt de la suspension et donc des particules sur un substrat en Silicium. Il est possible de rencontrer quelques phénomènes, très fréquents pour les suspensions colloïdales, comme la sédimentation ou l'agglomération lors de la mise en suspension [5]. L'objectif de cette étape est de déposer une goutte d'une suspension stable et bien

dispersée de particules sur un substrat de silicium, préalablement nettoyé à l'acétone puis à l'éthanol pendant 20 min dans un bain à ultrasons.

2.1. Stabilité colloïdale par interaction électrostatique

Pour obtenir un dépôt de particules bien dispersées (voir dépôt optimal comme présenté dans la Figure 15 du SiO₂ FD102b), la stabilité des suspensions et l'état de dispersion des (nano)-objets en suspension sont primordiales. Les ultrasons sont très utilisés pour disperser et briser les liaisons faibles entre les particules agglomérées présentes en suspension [6–9]. Cependant, cette technique est efficace uniquement si les forces d'interaction répulsives entre les (nano)-objets sont suffisamment fortes pour empêcher la ré-agglomération [10]. Il est donc important d'optimiser le pH de la suspension colloïdale pour augmenter la charge de surface des particules avant l'étape d'ultrasonication.

La chimie de surface ainsi que la charge de surface des particules peuvent varier d'un échantillon à l'autre, en fonction de la force ionique, du pH et des éléments présents à la surface. Afin d'estimer cette charge à la surface des particules considérées, l'évolution du potentiel zéta en fonction du pH de la solution est évaluée et est présentée sur la Figure 26 pour les quatre échantillons choisis. Plusieurs suspensions sont préparées pour chaque échantillon afin de balayer la gamme de pH souhaitée (de 1 à 12). Les pH sont ajustés en ajoutant entre 1 µL et 1 mL de solution d'acide perchlorique à 0,1 M pour acidifier le milieu ou de solution de NaOH à 1 M pour le rendre basique. Une solution de contre-ion (NaClO₄) est également préparée (0,3g dans 20mL H₂O) et est ajoutée en fonction de la quantité d'acide ou de base ajoutée afin de travailler à force ionique constante.

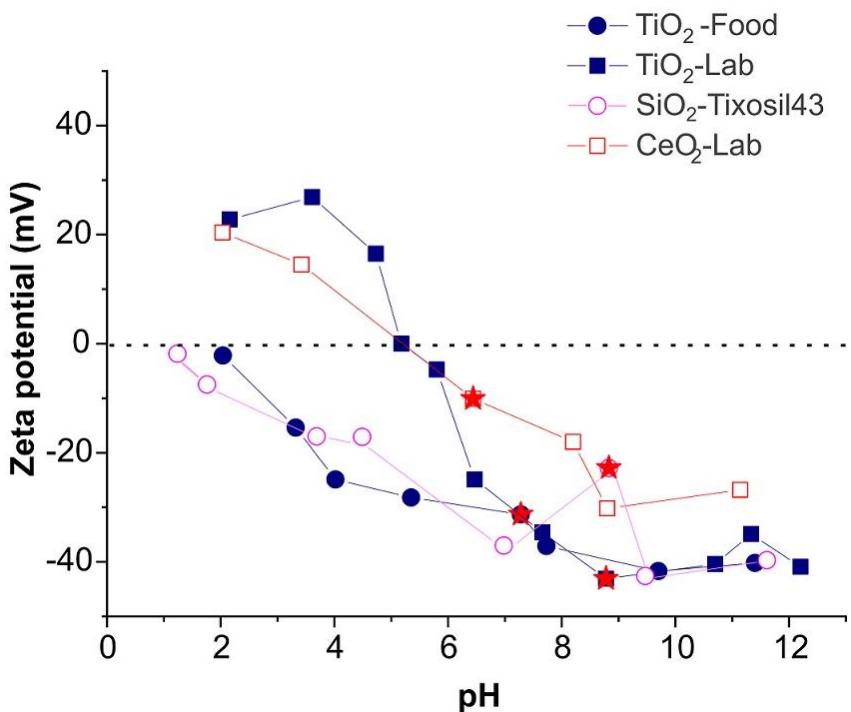


Figure 26 : Evolution du potentiel zéta (en mV) en fonction du pH de la suspension colloïdale à déposer (les étoiles en rouge représentent les pH initiaux des échantillons)

Pour une dispersion optimale sur substrat, un équilibre doit être atteint entre la stabilité de la suspension et l'adhésion maximale des nanoparticules sur le substrat pendant la phase de dépôt. La charge en surface du substrat de silicium étant négative, il est important d'adopter la charge en surface des particules pour une adhésion optimale. Ainsi, pour les échantillons TiO₂-Lab et CeO₂-Lab, les suspensions à pH = 2 sont optimale, elles correspondent à la valeur maximale du potentiel zéta positif (+20 mV). A ce pH, les particules sont chargées positivement et adhèrent bien au substrat par interactions électrostatiques et la charge en surface élevée des particules conduit à une bonne stabilité colloïdale. Pour les deux autres échantillons (le SiO₂-Tixosil43 et le TiO₂-Food), qui présentent un PIE aux alentours de pH=2, des suspensions avec un pH de 7,0 et 7,3 respectivement sont utilisées afin d'atteindre une importante charge en surface des particules (avec un potentiel zéta négatif entre -30 mV et -40 mV) (cf. Figure 26) et donc une stabilité colloïdale des suspensions. En effet, lorsque le pH est proche du PIE de l'échantillon, les particules sont moins chargées et ont tendance à former de grands agglomérats. Avec l'augmentation du

pH, la charge des particules reste négative, elles ne peuvent donc pas adhérer à la surface du substrat lui-même chargé négativement. La charge en surface du substrat peut être adaptée en fonction de la charge en surface des particules considérées (TiO_2 -Food et SiO_2 -Tixosil43). Dans ce cas, un polymère chargé positivement est utilisé pour la fonctionnalisation de la surface du substrat (la Poly-L-Lysine (PLL) ou l’Amylamine) [11] (cf. Annexe 5).

Par ailleurs, sur toute la gamme de pH explorée (de 2 à 12), le potentiel zêta de l’échantillon TiO_2 -Food est négatif et le point isoélectrique est inférieur à pH=2. Ce résultat est surprenant car dans la littérature, le point isoélectrique du TiO_2 rapporté est de pH=5-7 [12–14]. Cependant, une explication possible est que les particules de TiO_2 soient recouvertes d’une fine couche de nature chimique différente pour annihiler leurs propriétés photo-catalytiques de surface [15–17]. La nature chimique de ce traitement en surface des particules de TiO_2 sera analysée dans le chapitre suivant.

Le protocole utilisé pour atteindre la stabilité électrostatique est le suivant : une masse de 8 mg de poudre est dispersée dans 10 mL d’eau ultra-pure pour chaque échantillon. Le pH est ensuite ajusté (en ajoutant 1mL ou 1 μL de solution d’acide perchlorique à 0,1 M pour les suspensions à pH = 2 et pour le SiO_2 -Tixosil43 respectivement, le TiO_2 -Food est déposé à pH initial =7,3) pour atteindre la stabilité électrostatique selon le potentiel zêta. Puis, les suspensions sont placées au bain à ultrasons pendant 20 min avant d’être soniquées à l’aide de la sonde à ultrasons en appliquant les paramètres habituels utilisés au laboratoire, avec une densité d’énergie calorimétrique de 378 J.mL^{-1} (soit une amplitude de 20%) et un cycle de pulses de 10 s de sonication (ON) et 30 s de temps de pause (OFF) pendant 20 min pour éviter de surchauffer la solution. La valeur de l’énergie délivrée est calculée par la calibration de la sonde (détaillée dans l’Annexe 3) selon les directives données par le projet NanoREG [18]. Il est important de souligner que pour des raisons de pollution, la sonde a été déportée à l’extérieur de la suspension dans un bécher d’eau, et donc l’énergie appliquée à la suspension est certainement plus faible que l’énergie délivrée.

2.2. Dépôt des particules sur substrat en silicium

Un dispositif spécifique est utilisé pour le dépôt des particules, la tournette (encore appelé Spin-Coater). L'instrument utilisé est le Spin-coater LabSpin6 TT de Süss Microtec. Le protocole de dépôt par spin-coating, développé dans le cadre de la thèse d'Alexandra Delvallée [19], se scinde en deux étapes comme illustré par la Figure 27 :

- La première est la phase d'étalement, où la vitesse de rotation est fixée à 1000 rpm avec une accélération de 500 rpm pendant 60 s, pour un solvant aqueux.
- La seconde étape est la phase de séchage avec une vitesse de rotation fixée à 8000 rpm et une accélération de 4000 rpm pendant 10 s.

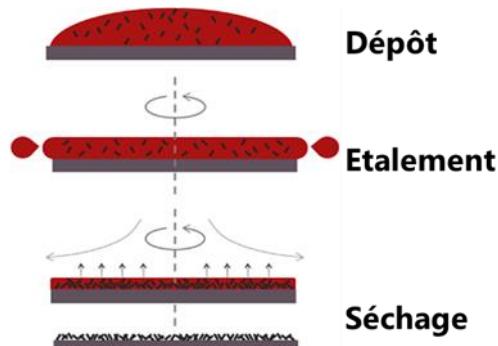


Figure 27 : Principe d'utilisation du Spin-Coater (Figure tirée de [20])

Sur la Figure 28 sont reportés quatre dépôts différents pour le TiO₂-Lab ; à pH initial (pH=6) sans spin-coater (a), à pH initial avec spin-coater (b), à pH=2 sans spin-coater (c) et enfin en utilisant les conditions recommandées à pH=2 avec spin-coater (d).

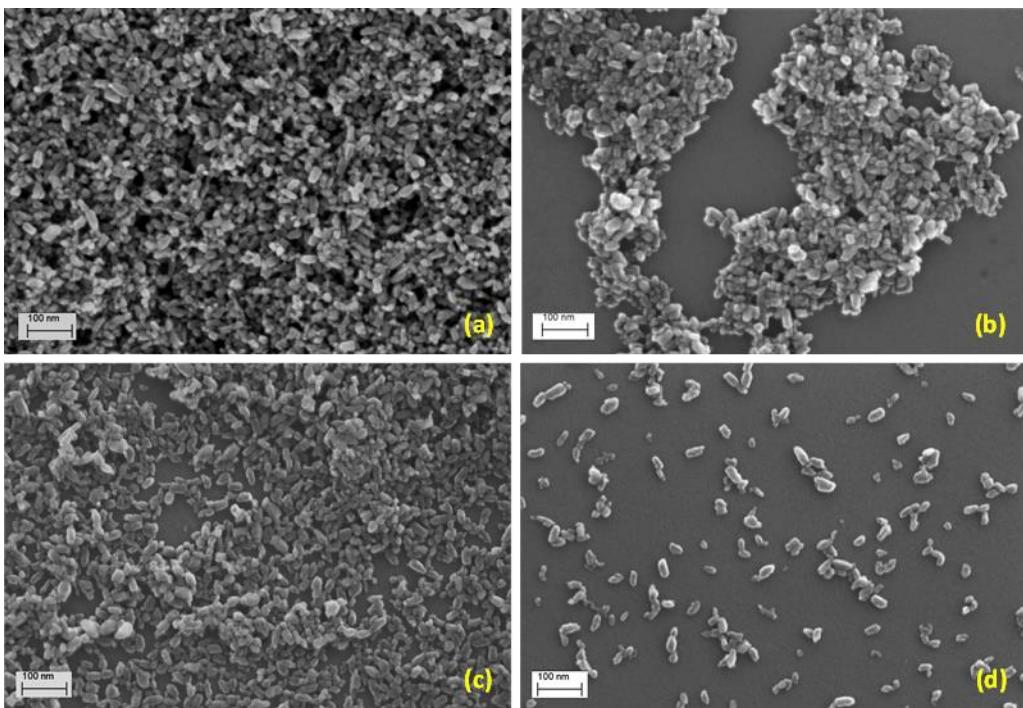


Figure 28 : Images MEB des particules de TiO₂-Lab déposées à a) pH=6 sans spin-coating, b) pH=6 avec spin-coating, c) pH=2 sans spin-coating et d) pH=2 avec spin coating.

L'image (a) montre un important état d'agglomération en 3D. A pH=6, le potentiel zéta est proche du point de charge zéro (PZC) ou du point isoélectrique (PIE). Ainsi un processus de ré-agglomération peut se produire dans la suspension avant le dépôt, malgré l'étape d'ultrasonication. Sur l'image (b), les agglomérats 3D observés à pH= 6 sont toujours présents mais l'avantage de l'utilisation du spin-coater est visible : une meilleure dispersion est atteinte mais de nombreux agglomérats sont encore présents. L'image (c) montre l'effet du changement du pH de la suspension sur le dépôt : les particules semblent moins agglomérées que sur l'image (a). Enfin, l'image (d) illustre le résultat de la combinaison d'un pH adapté et de l'utilisation du spin-coater. Nous pouvons distinguer une nette différence par rapport aux trois autres dépôts, avec une proportion importante de particules isolées et un nombre limité de petits agglomérats.

Lors d'un dépôt statique par évaporation simple (sans spin-coating), les forces de capillarité prédominent et entraîne un état d'agglomération important [19][21]. L'utilisation du spin-coater induit une meilleure dispersion des particules sur la surface du substrat grâce

aux forces centrifuges qui s'opposent aux forces de capillarité. La combinaison de l'utilisation de la tournette avec l'adaptation du pH pour une meilleure adhésion des particules sur le substrat permet d'avoir le dépôt souhaité. Par conséquent, l'image (d) de la Figure 28 est beaucoup plus appropriée pour le comptage et la mesure des particules constitutives et l'obtention de la distribution en taille de la population de particules étudiée.

3. Dépôt avec les paramètres classiques pour l'ultrasonication

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les particules ayant une charge de surface (ou un potentiel zêta) positive sont directement déposées sur le substrat en Si, celles dont la charge en surface est négative nécessitent la fonctionnalisation du substrat avec un polymère cationique (PLL ou Amylamine) pour une meilleure adhésion (cf. Figure 26).

Les paramètres de dépôt, détaillés dans le paragraphe précédent, sont utilisés et les images MEB des quatre échantillons, ainsi déposés, sont reportées sur la Figure 29.

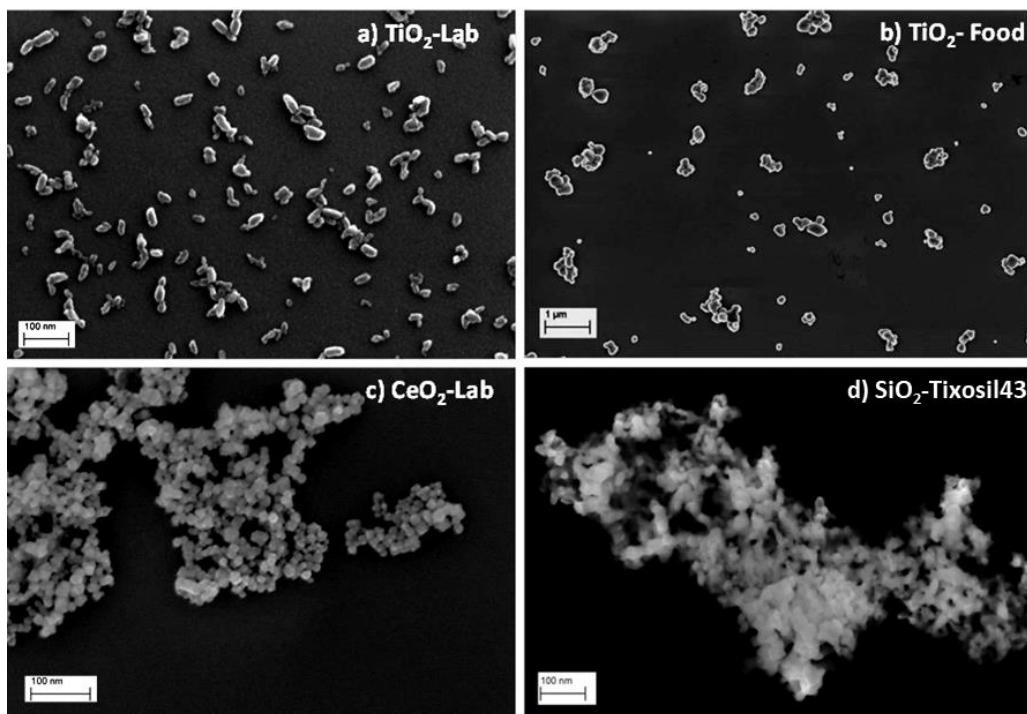


Figure 29 : Images MEB des différents échantillons déposés à l'aide du Spin-coater après stabilisation des suspensions colloïdales par ajustement de pH (a) TiO_2 -Lab à pH = 2, déposé sur un substrat de silicium (b) TiO_2 -Food à pH = 7,3, déposé sur un substrat de silicium fonctionnalisé avec de la PLL, (c) CeO_2 -Lab à pH = 2, déposé sur un substrat de silicium et (d) SiO_2 -Tixosil43 à pH = 7,0, déposé sur un substrat de silicium fonctionnalisé avec de la PLL.

Les résultats présentés sur la Figure 29 indiquent que pour les deux échantillons de TiO₂ (TiO₂-Lab et TiO₂-Food) la dispersion des particules sur le substrat est optimale avec un nombre important de particules isolées. Sur les images MEB, il est possible de distinguer les particules isolées ainsi que quelques petits agglomérats. En revanche, pour les échantillons CeO₂-Lab et SiO₂-Tixosil43 (Figure 29 c) et d)), un état d'agglomération important est observé et aucune particule isolée n'est présente. La différence de charge entre la surface de la particule et le substrat est favorable pour une bonne adhésion des particules, donc le comportement observé est probablement dû à une suspension initialement composée de nombreux agglomérats. Ainsi, il est possible que les paramètres d'ultrasonication utilisés ne fournissent pas assez d'énergie pour briser tous les agglomérats composés de nanoparticules de taille inférieure à 20 nm comme on peut le voir sur la Figure 29.

La différence de comportement observée sur la Figure 29 entre les deux échantillons de TiO₂ et le CeO₂-Lab ou le SiO₂-Tixosil43 peut être expliquée par leurs différentes propriétés physico-chimiques (nature des liaisons chimiques, morphologie des particules etc.). Les agglomérats/agrégats sont originellement présents dans la poudre, c'est la raison pour laquelle, il est souvent difficile d'obtenir une suspension avec des particules isolées lorsqu'une poudre est mise en suspension dans un solvant. Dans le cas de CeO₂-Lab et SiO₂-Tixosil43, même après une phase d'ultrasonication classique, les particules constitutives de taille nanométrique ne sont pas facilement dispersables. Une étude systématique sur la dispersion de ces nanoparticules en phase aqueuse est donc réalisée.

Afin de suivre l'état d'agglomération de ces suspensions colloïdales, un suivi du diamètre hydrodynamique (D_h) est réalisé par DLS au cours du temps pour différents paramètres d'ultrasonication.

4. Evaluation des paramètres d’ultrasonication avec un suivi DLS

4.1. Optimisation des conditions d’analyse pour la DLS

Le suivi de l’évolution de la taille des agglomérats en suspension est réalisé par DLS. La valeur du D_h mesurée correspond au diamètre moyen pondéré en nombre des nanoparticules entourées d’une couche ionique de solvatation, déterminé par la méthode NNLS (section 2.4 chapitre 2).

L’analyse DLS varie en fonction des paramètres physico-chimiques de la suspension étudiée : la concentration, le pH, la force ionique ou la viscosité de la suspension [9][22]. Les trois derniers paramètres étant fixés, il reste à évaluer l’influence de la concentration des suspensions sur les mesures DLS. En effet, si la suspension est trop concentrée, le signal est affecté par le phénomène de diffusion multiple dans lequel les photons sont diffusés plusieurs fois par l’échantillon avant d’être collectés par le détecteur. En conséquence, la valeur du D_h mesurée sera biaisée. En revanche, si la suspension est trop diluée, le rapport signal/bruit devient trop faible et les valeurs du D_h mesurées seront biaisées. Entre ces deux situations extrême, les mesures présentent généralement un plateau avec des valeur de D_h minimales [23].

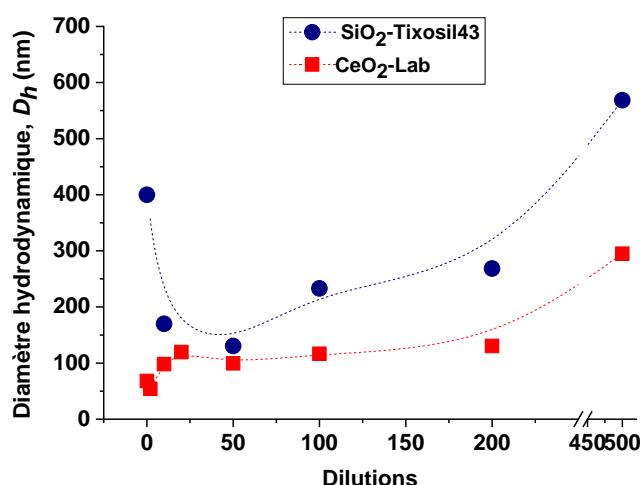


Figure 30 : Evolution du D_h en fonction des différents facteurs de dilutions

Six suspensions par échantillon sont préparées avec des facteurs de dilution différents (x10, x20, x50, x100, x200 et x500). La Figure 30 illustre les résultats du D_h en fonction du rapport des dilutions. Au vu des résultats, nous avons choisi de travailler avec une suspension diluée 50 fois pour les deux échantillons, une valeur qui se situe au niveau du plateau présentant une bonne stabilité (sur une gamme de dilution de 1/20 à 1/100) avec un D_h minimal.

4.2. Impact de l'énergie de l'ultrasonication sur la taille des agglomérats

Pour les deux échantillons CeO₂-Lab et SiO₂-Tixosil43, le protocole de préparation de l'échantillon doit être ajusté en faisant d'abord varier l'énergie délivrée par la sonde d'ultrasons.

L'efficacité des conditions d'ultrasonication appliquées (énergie et cycles) est évaluée en mesurant la variation du D_h en fonction du temps (sur une durée d'une heure) après ultrasonication. Trois amplitudes différentes sont sélectionnées 20%, 30% et 40%. En principe, la diminution du D_h indique une réduction de la taille des agglomérats et une meilleure dispersion effective. La Figure 31 présente l'évolution du D_h en fonction du temps après 3 cycles d'ultrasonication différents (à 20%, 30% et 40% en amplitude) avec des cycles de pulses de 10s ON et 30s OFF pour limiter l'élévation de la température de l'échantillon. Les résultats sont résumés dans le Tableau 9 et sont détaillés dans l'Annexe 4.

Tableau 9 : Influence de l'amplitude d'ultrasonication appliquée sur le D_h moyen mesuré par DLS sur 25 mesures (pour une durée d'une heure) et l'écart-type correspondant.

<i>Echantillon</i>		<i>20% (10s ON-30s OFF)</i>	<i>30% (10s ON-30s OFF)</i>	<i>40% (10s ON-30s OFF)</i>
<i>SiO₂-Tixosil43</i>	Moyenne D_h (nm)	621,2	440,8	266,0
	Ecart-type (nm)	69,2	63,5	39,9
<i>CeO₂-Lab</i>	Moyenne D_h (nm)	109,3	82,1	74,7
	Ecart-type (nm)	26,2	21,8	19,7

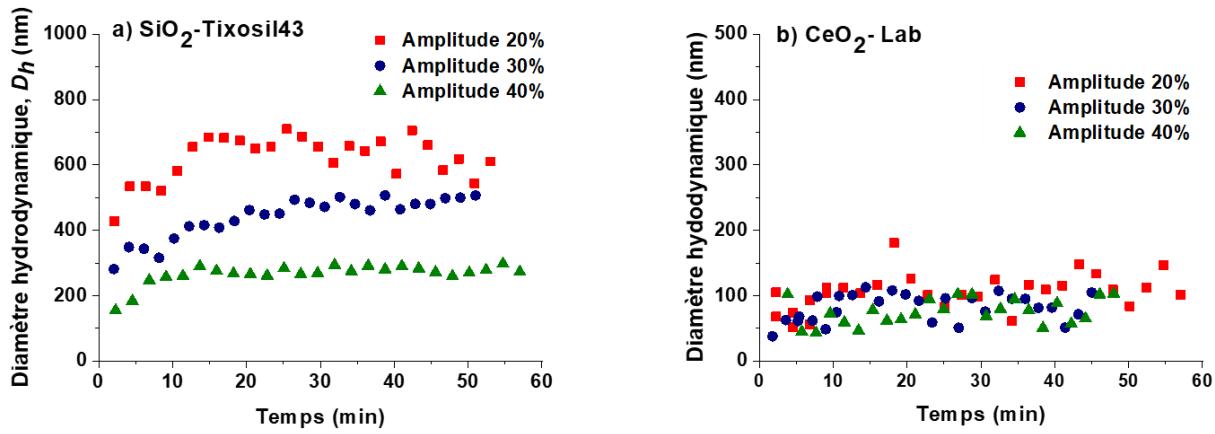


Figure 31 : Evolution caractéristique du diamètre hydrodynamique moyen (D_h) en fonction du temps après 20 min d'ultrasonication avec des cycles de 10 s ON et 30 s OFF pour différentes amplitudes (20%, 30% ou 40%) et donc différentes densités d'énergie calorimétrique (378, 766 et 1667 J/mL), pour (a) SiO₂-Tixosil43 (pH= 8) et (b) CeO₂-Lab (pH= 2).

Nous constatons que le D_h est directement impacté par l'énergie délivrée par la sonde d'ultrasons, notamment pour les particules SiO₂. En effet, pour le SiO₂-Tixosil43, le diamètre hydrodynamique le plus faible est obtenu avec une énergie d'ultrasonication de 1667 J/mL, soit 40% de l'amplitude maximale. Le D_h diminue significativement et atteint 266,0 (\pm 39,9) nm pour le SiO₂-Tixosil43. Cette valeur reste stable pendant toute la durée de la mesure DLS (60 min), ce qui n'est pas le cas pour les valeurs d'amplitude inférieures (20 % et 30 %) (Figure 31).

Pour l'échantillon CeO₂-Lab, la réduction de la taille en fonction de l'énergie délivrée est moins significative et les mesures montrent un comportement plus fluctuant que dans le cas des particules du SiO₂-Tixosil43. En effet, le D_h moyen obtenu pour le CeO₂-Lab ne varie pas de manière significative pour les trois amplitudes appliquées (en considérant les écarts-types). De plus, ces valeurs de D_h moyen ne correspondent pas à la taille de l'agglomérat observé sur l'image MEB de la Figure 29 (qui semble mesurer plusieurs centaines de nanomètres). A ce stade, contrairement à l'échantillon SiO₂-Tixosil43, nous ne pouvons pas conclure sur la fiabilité des mesures réalisées par DLS pour cet échantillon.

La même expérience est réalisée mais en faisant varier le cycle d'impulsion (notamment le temps de pause, OFF) et en fixant l'amplitude à 40%.

4.3. Influence des cycles lors du processus d'ultrasonication

La valeur d'énergie définie comme optimale pour chaque type de particules est fixée à 1667 J/mL (soit 40% en amplitude). Ensuite, les cycles d'ultrasonication sont modifiés pour dissocier davantage d'agglomérats. La Figure 32 présente les effets de l'application de l'ultrasonication pulsée sur la cinétique d'agglomération des particules (SiO_2 -Tixosil43 et CeO_2 -Lab) et sur la diminution de la taille des agglomérats. Le Tableau 10 résume les résultats ainsi obtenus.

Tableau 10 : Influence du cycle de pulsation appliquée sur le D_h moyen mesuré par DLS sur 25 mesures (pour une durée d'une heure) et l'écart-type correspondant.

<i>Echantillon</i>	<i>Moyenne D_h (nm)</i>	40% (10s ON-30s OFF)	40% (10s ON-20s OFF)	40% (10s ON-10s OFF)
SiO_2 -Tixosil43	Moyenne D_h (nm)	408,9	172,2	145,6
	Ecart-type (nm)	52,7	25,6	12,9
CeO_2 -Lab	Moyenne D_h (nm)	74,7	93,3	72,8
	Ecart-type (nm)	19,7	59,1	22,4

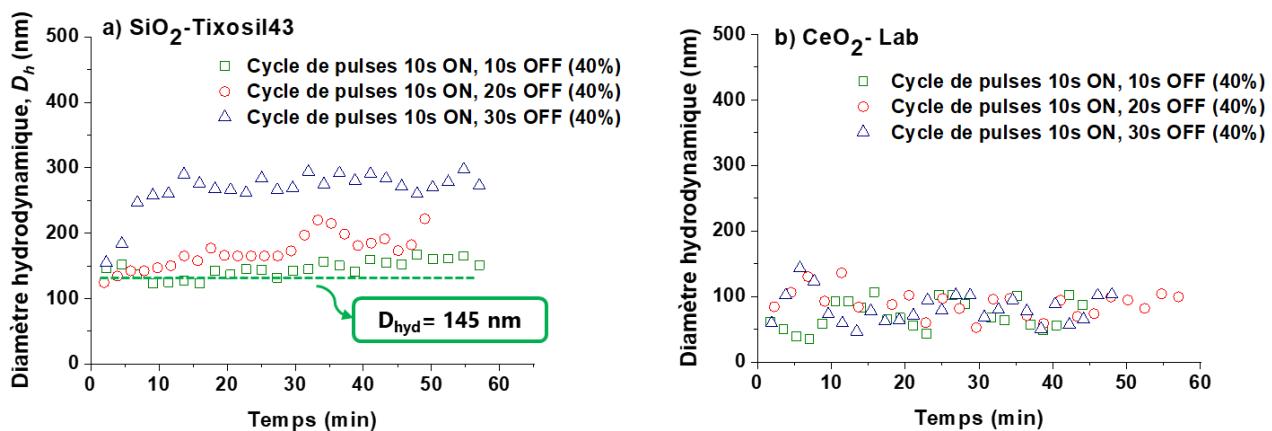


Figure 32 : Évolution du diamètre hydrodynamique moyen (D_h) en fonction du temps après 20 minutes d'ultrasonication avec des cycles de 10 s ON et 10, 20 ou 30 s OFF, pour (a) SiO_2 (pH= 8) et (b) CeO_2 -Lab (pH= 2) avec une amplitude fixée à 40% dans les deux cas.

La diminution du temps de pause et l'augmentation de la fréquence des impulsions d'énergie (10 s ON et 10 s OFF) favorisent nettement la désagglomération des particules de

silice (Figure 32 a). Les effets de l'ultrasonication, avec une amplitude fixée à 40% combiné à une réduction du temps de pause, sur les agglomérats de SiO_2 -Tixosil43 ont permis une meilleure dispersion de la suspension et donc un état d'agglomération beaucoup moins important que pour la suspension initiale. En effet les diamètres hydrodynamiques pour cet échantillon passent de 408,9 ($\pm 52,7$) nm (avec une amplitude de 40% et 10 s ON – 30 s OFF) à 145,6 ($\pm 12,9$) nm (avec une amplitude de 40% et 10 s ON – 10 s OFF). En revanche, pour les particules de CeO_2 -Lab, aucune différence significative n'est notée en changeant le couple d'impulsions (Figure 32 b). Le D_h reste quasiment inchangé avec des valeurs entre 72,8 ($\pm 22,4$) nm et 93,3 ($\pm 59,1$) nm. Ce phénomène peut être lié à un processus d'agglomération/sédimentation plus important favorisée par la densité des particules de CeO_2 ($7,22 \text{ g.cm}^{-3}$) plus élevée que celle du SiO_2 ($2,65 \text{ g.cm}^{-3}$). Dans ce cas, la DLS ne permet donc pas de comprendre la différence de l'état de dispersion pour ces trois mesures.

4.4. Influence de la durée d'ultrasonication sur la taille des agglomérats

La durée de l'ultrasonication doit également avoir un impact sur la réduction du phénomène d'agglomération des particules [9][24]. Ce paramètre est modifié et les résultats sont présentés dans la Figure 33. Deux durées sont évaluées pour les deux échantillons, 20 min et 60 min (à 20% et 40%).

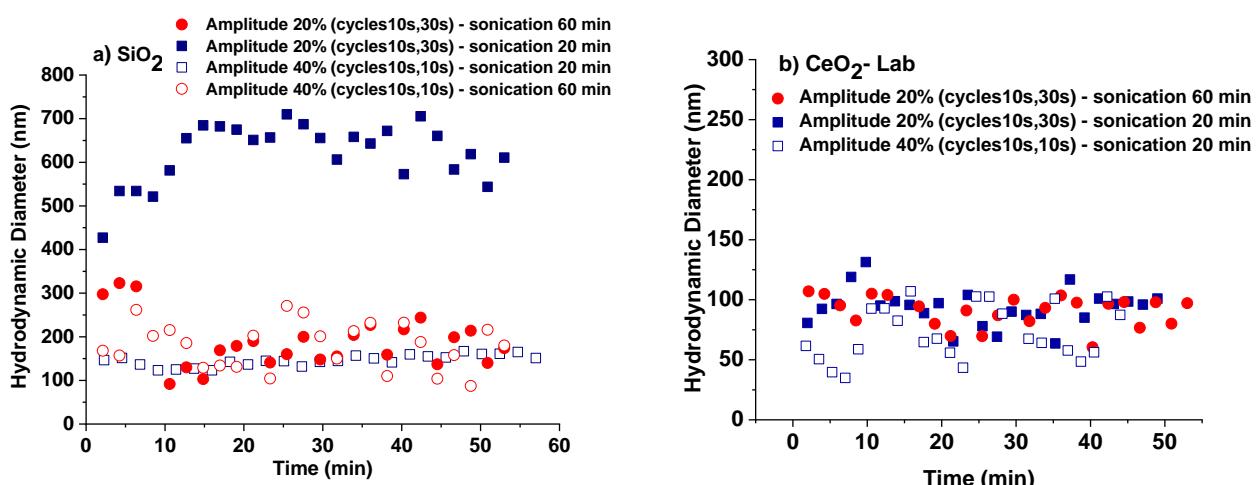


Figure 33 : Évolution du diamètre hydrodynamique moyen (D_h) en fonction du temps en faisant varier le temps d'ultrasonication total entre 20 min et 60 min avec des cycles de 10 s ON et 10s OFF à 40% d'amplitude ou 10s ON et 30 s OFF à 20% d'amplitude, pour (a) SiO_2 -Tixosil43 ($\text{pH}=7$) et (b) CeO_2 -Lab ($\text{pH}=2$).

La combinaison de la durée et des impulsions d'ultrasonication montre une tendance claire dans la rupture des liaisons des particules agglomérées, uniquement pour l'échantillon SiO₂-Tixosil43. En effet, il faudra soniquer 3 fois plus longtemps à 20% (10s ON et 30s OFF) pour se rapprocher des résultats obtenus après seulement 20 min d'ultrasonication à 40% (10s ON et 10s OFF).

D'autre part, la suspension soniquée à 40% pendant 20 min semble plus stable que celle soniquée dans les mêmes conditions mais pendant 60 min (Figure 33 a). Cela est probablement dû à une éventuelle surchauffe de la suspension liée à l'amplitude élevée appliquée pendant une durée assez longue [25].

L'échantillon CeO₂-Lab, quant à lui, présente des résultats analogues aux précédents avec une taille d'agglomérats stable.

En résumé, des cycles d'impulsions plus rapides (10 s ON et 10 s OFF) couplés avec une amplitude plus importante de 40% et un temps d'ultrasonication total de 20 min, conduisent à une suspension colloïdale dispersée et homogène sans processus de ré-agglomération. Malgré la variation des paramètres d'ultrasonication, la taille des agglomérats analysés par DLS pour le CeO₂-Lab reste inchangée et inférieure à 150 nm.

5. Mesure dimensionnelle par MEB des (nano)-particules après l'optimisation des paramètres d'ultrasonication

5.1. Dépôt et acquisition des images MEB

Les deux suspensions sont préparées en suivant le protocole de redispersion développé. Les suspensions de CeO₂-Lab (pH = 2) et de SiO₂ (pH = 8) sont soniquées avec les nouveaux paramètres à savoir une amplitude de 40% et un cycle de pulses de 10s ON et 10s OFF pendant 20 min. Une goutte de la suspension soniquée est déposée sur un substrat en silicium à l'aide du spin-coater. Il est important de souligner que les dépôts ont été

réalisés directement après l'étape d'ultrasonication. Le substrat en silicium est fonctionnalisé avec de la PLL avant de déposer les particules de SiO₂-Tixosil43.

Des images MEB, réalisées pour visualiser les caractéristiques morphologiques des particules et déterminer leur taille, sont reportées sur les Figure 34 et Figure 35. De plus, les images MEB obtenues avec les paramètres initiaux sont reportées dans les Figure 34 a) et Figure 35 a) afin de démontrer l'impact du protocole de redispersion optimisé sur la taille des agglomérats.

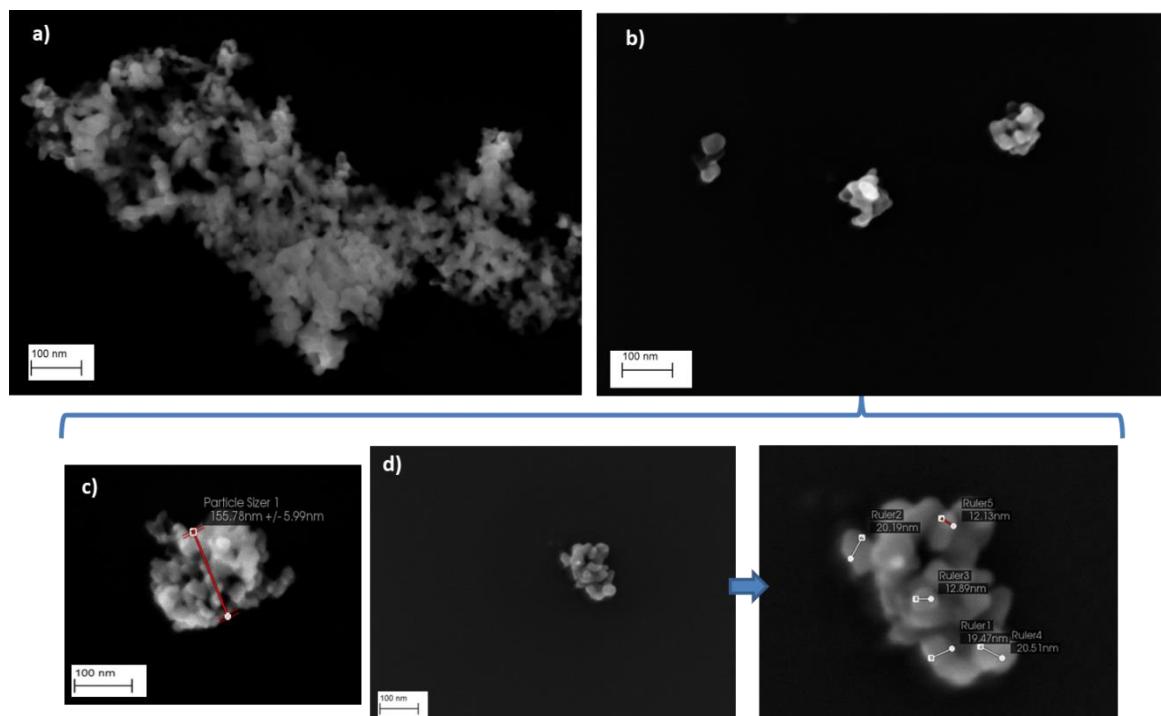


Figure 34 : Impact des paramètres d'ultrasonication pour le SiO₂-Tixosil43, a) image MEB avec les paramètres habituels d'ultrasonication (20%, 10s ON et 30s OFF, 20 min), b) image MEB obtenue après optimisation des paramètre d'ultrasonication (40%, 10s ON et 10s OFF, 20 min), c) image MEB de la mesure de la taille d'un agglomérat/agrégat avec les paramètres optimisés et d) un exemple de mesure de taille de nanoparticules constitutive d'agglomérats à l'aide du logiciel Platypus.

En appliquant les nouveaux paramètres d'ultrasonication, les images MEB de la Figure 34 montrent des agrégats de nanoparticules de silice avec une taille moyenne d'environ 150 nm. Ces agrégats compacts sont composés de nanoparticules constitutives de SiO₂-Tixosil43, visibles sur les images MEB (de dimensions inférieures à 24 nm). Les agrégats mesurés par DLS présentent un D_h moyen égal à 145,6 (\pm 12,9) nm correspondant à la taille

des agrégats observée par MEB après le cycle optimal d'ultrasonication. Il est donc important de noter que les images MEB sont bien représentatives de l'échantillon. Enfin, comme montré sur la Figure 34 il est facile de mesurer la taille des particules constitutive d'agglomérats, même si l'utilisation de logiciel automatique est impossible (cf. section 2.1.5. du chapitre 2).

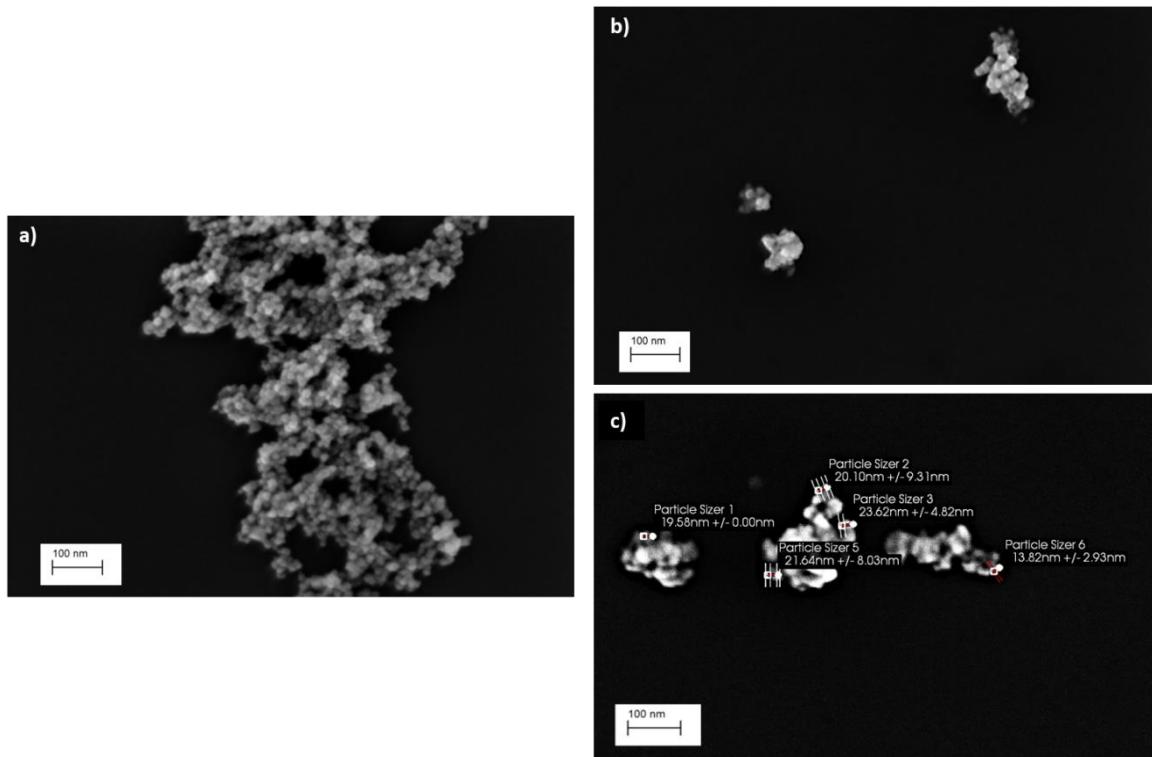


Figure 35 : Impact des paramètres d'ultrasonication pour le CeO₂-Lab, a) image MEB avec les paramètres habituels d'ultrasonication (20%, 10s ON et 30s OFF, 20 min), b) image MEB après optimisation des paramètres d'ultrasonication (40%, 10s ON et 10s OFF, 20 min) et c) un exemple de mesure de taille de nanoparticules constitutives d'agglomérats à l'aide du logiciel Platypus.

De la même manière, les images MEB des agrégats de nanoparticules de CeO₂-Lab préparés selon le nouveau protocole sont présentées dans Figure 35 b) et c). Ici encore, la taille des agrégats évaluée par MEB est significativement réduite par rapport à l'image réalisée avec les paramètres usuels (Figure 35 a). Comme montré sur la Figure 35 (b et c), il est également facile de mesurer la taille des particules constitutives d'agglomérats après les avoir sélectionnées manuellement.

Pour conclure, bien que le contrôle de l'évolution de la taille d'agglomérats par DLS n'a pas été efficace pour l'échantillon CeO₂-Lab, l'adaptation et l'optimisation de l'étape d'ultrasonication a permis une réduction significative de la taille des agglomérats présents en suspension et une meilleure distinction des nanoparticules constitutives observées sur les images MEB.

5.2. Mesure des distributions en taille en nombre

Afin d'obtenir des données quantitatives et accéder au mesurande du MEB ($D_{SEM\ average\ area-eq}$), les images MEB réalisées (selon les conditions détaillées dans la section 2.1.3 du chapitre 2) sont analysées pour déterminer la distribution en taille des particules isolées et/ou constitutives d'agglomérats. Les résultats sont détaillés dans l'Annexe 6.

Les différentes images obtenues par MEB ont permis la construction d'un histogramme de distribution en taille en nombre des populations de (nano) particules étudiées. Trois séries de 300 particules sont mesurées à l'aide du logiciel Platypus (cf. section 2.1.5 du chapitre 2). Un exemple d'histogrammes de la distribution de taille établi pour chaque échantillon est présenté sur la Figure 36. Seules les (nano) particules isolées ou constitutives d'agrégats sont prises en compte. Le Tableau 11 résume les paramètres fixés pour atteindre une dispersion optimale ainsi que les résultats obtenus par MEB et DLS.

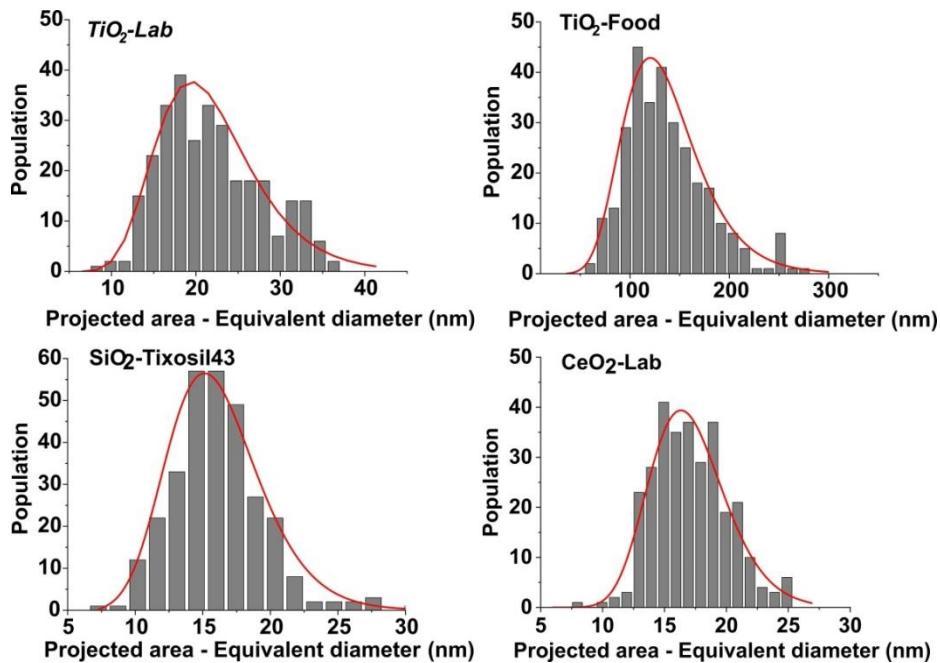


Figure 36 : Histogrammes de distribution en taille en nombre des quatre échantillons étudiés (1 exemple sur 3 par échantillon)

Tous les échantillons sont ajustés avec une distribution lognormale. Pour les deux échantillons de TiO₂, les particules présentent des distributions en taille complètement différentes. Il s'agit en effet de deux échantillons avec des particules de tailles et de formes distinctes. Le TiO₂-Lab possède un $D_{SEM-average-area-eq}$ de 21,1 ($\pm 0,9$) nm et l'écart-type de la distribution (σ) est de 5,8 \pm 0,6 nm. En revanche, pour le TiO₂-Food, le $D_{SEM-average-area-eq}$ est de 133,2 \pm 3,9 nm et la distribution est plus large avec un écart-type de 43,6 ($\pm 2,6$) nm. Le SiO₂-Tixosil43 présente, quant à lui, un $D_{SEM-average-area-eq}$ égal à 16,3 ($\pm 1,1$) nm et l'écart-type de la distribution en taille est $\sigma = 4,7$ ($\pm 1,3$) nm. Enfin, le diamètre moyen pour le CeO₂-Lab est $D_{SEM-average-area-eq} = 15,9$ ($\pm 0,8$) nm et l'écart-type de la distribution en taille est $\sigma = 3,5$ ($\pm 0,4$) nm.

Les différences observées entre les $D_{SEM-average-area-eq}$ et les D_h sont souvent rencontrées lors de la comparaison des mesures DLS avec celles des microscopes électroniques [26,27]. De plus, dans notre cas, nous présentons un diamètre équivalent moyen des particules constitutives d'agglomérat ou isolées pour le MEB et un diamètre hydrodynamique pour la

DLS, qui correspond souvent à la taille des petits agglomérats/agrégats (comme ceux observés sur la Figure 35 b) en plus de la couche de solvatation.

Tableau 11 : Récapitulatif des paramètres d'ultrasonication ainsi que la mesure dimensionnelle des (nano)-particules par DLS et MEB (avec $\pm u_R$ les répétabilités sur les mesures)

	<i>Echantillon</i>	<i>TiO₂-Lab</i>	<i>TiO₂-Food</i>	<i>CeO₂-Lab</i>	<i>SiO₂-Tixosil43</i>
Paramètres d'ultrasonication	Densité d'énergie calorimétrique ($J.mL^{-1}$)	378			1667
	Amplitude (%)	20			40
	Cycle de pulses	10s ON et 30s OFF		10s ON et 10s OFF	
Résultats du zétasizer	Temps d'ultrasonication total (sans pauses)	300s		600s	
	Potentiel zéta avant dépôt (mV)	+22,8	-31,3	+20,4	-37,0
Résultats du MEB	D_h en nombre (avec l'algorithme NNLS de la DLS) $\pm u_R$ (nm)	177,7 \pm 26,2	376,4 \pm 26,2	72,8 \pm 22,4	145,6 \pm 12,9
	$D_{SEM-average-eq-area} \pm u_R$ (nm)	21,1 \pm 0,9	133,2 \pm 3,9	15,9 \pm 0,8	16,3 \pm 1,1
	$D_{median} \pm u_R$ (nm)	20,3 \pm 0,9	126,6 \pm 3,6	14,6 \pm 2,9	15,6 \pm 0,9
	$D_{modal} \pm u_R$ (nm)	18,9 \pm 0,7	114,3 \pm 3,3	14,0 \pm 2,7	14,4 \pm 0,4

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons examiné la possibilité de faire varier plusieurs facteurs tels que le pH, le potentiel zêta, la durée et l'énergie d'ultrasonication et la concentration, qui peuvent influencer les interactions électrostatiques et l'agglomération des nanoparticules. Comme attendu, l'état d'agglomération/agrégation des particules en suspension colloïdale semble dépendre de leurs propriétés physico-chimiques et de leur comportement en suspension colloïdale. Le nombre d'agglomérats, présents à l'origine dans les échantillons sous forme de poudre, semble plus important une fois mise en suspension, notamment lorsqu'il s'agit de nanoparticules de taille inférieure à 20 nm.

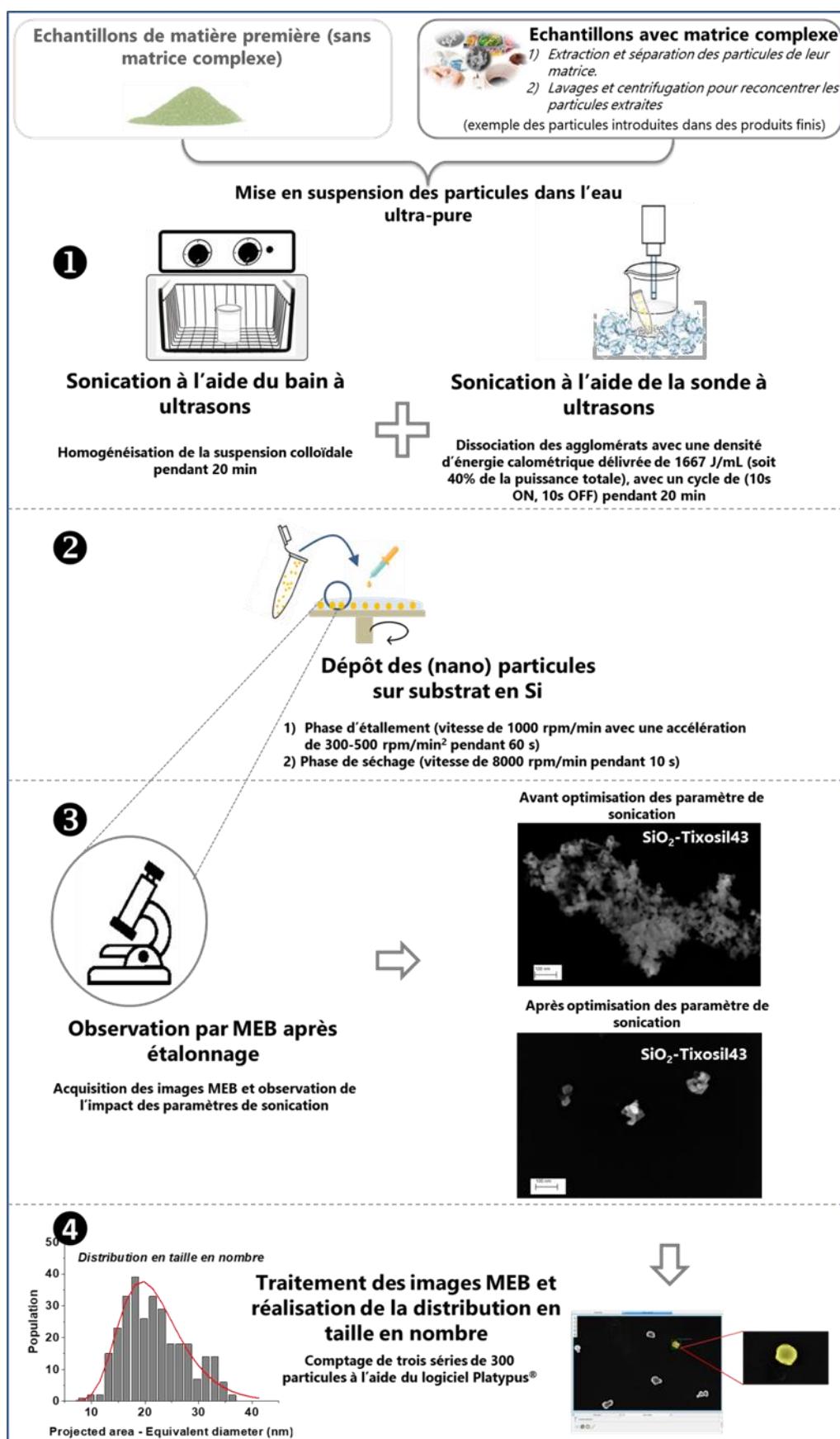
Cette étude a montré que le procédé d'ultrasonication de suspensions de nanoparticules de TiO₂ (synthétisées ou extraites de produits alimentaires) avec un faible état d'agglomération initial est amélioré en appliquant une amplitude d'ultrasonication fixée à 20% avec des cycles de pulsations (10s ON, 30s OFF, pour 20 min au total) correspondant à une valeur d'énergie de dispersion ultrasonique de 378 J/mL. Ce processus optimisé conduit à une meilleure dispersion avec un maximum de particules isolées. Pour les autres échantillons étudiés (le SiO₂-Tixosil43 et le CeO₂-Lab), le niveau de dispersion optimal est atteint lorsque la valeur d'énergie de dispersion appliquée est plus élevée (1667 J/mL). La modification de l'énergie délivrée est combinée à des cycles d'impulsions plus rapides (10s ON, 10s OFF). Cette optimisation des paramètres d'ultrasonication est réalisée en contrôlant la réduction de la taille des agglomérats par DLS.

L'étape de sonication est donc un point crucial pour obtenir un maximum de petits agrégats et de particules isolées et bien dispersées. Nos résultats mettent en évidence l'efficacité du protocole d'ultrasonication conduisant à des diminutions significatives de la taille des agglomérats. Le suivi de l'évolution du diamètre hydrodynamique par DLS a permis d'ajuster les paramètres pour préparer une suspension colloïdale stable et bien dispersée pour l'analyse MEB. Le défi consistant à évaluer la mesure de la taille des particules

constitutives conformément à la réglementation a été mené à bien et ces résultats ont été publiés.

En adaptant ce protocole pour toutes les mesures MEB, une approche multi-techniques, combinant des techniques directes et indirectes, est présentée dans le chapitre suivant pour la caractérisation dimensionnelle de (nano) particules de TiO₂.

Protocole complet pour la caractérisation dimensionnelle des (nano) particules par MEB



Références

- [1] R. Peters, P. Brandhoff, S. Weigel, H. Marvin, H. Bouwmeester, K. Aschberger, H. Rauscher, V. Amenta, M. Arena, F. Botelho Moniz, S. Gottardo, A. Mech, Inventory of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector, EFSA Support. Publ. 11 (2017). doi:10.2903/sp.efsa.2014.en-621.
- [2] C. Contado, Nanomaterials in consumer products: A challenging analytical problem, *Front. Chem.* 3 (2015) 1–20. doi:10.3389/fchem.2015.00048.
- [3] S. Das, J.M. Dowding, K.E. Klump, J.F. McGinnis, W. Self, S. Seal, Cerium oxide nanoparticles: Applications and prospects in nanomedicine, *Nanomedicine*. 8 (2013) 1483–1508. doi:10.2217/nnm.13.133.
- [4] V. Sajith, C.B. Sobhan, G.P. Peterson, Experimental investigations on the effects of cerium oxide nanoparticle fuel additives on biodiesel, *Adv. Mech. Eng.* 2010 (2010). doi:10.1155/2010/581407.
- [5] ISO/TR13097:2013, Lignes directrices pour la caractérisation de la stabilité des dispersions, 2013. <https://www.iso.org/fr/standard/52802.html>.
- [6] S. Pradhan, J. Hedberg, E. Blomberg, S. Wold, I. Odnevall Wallinder, Effect of sonication on particle dispersion, administered dose and metal release of non-functionalized, non-inert metal nanoparticles, *J. Nanoparticle Res.* 18 (2016). doi:10.1007/s11051-016-3597-5.
- [7] R.R. Retamal Marín, F. Babick, M. Stintz, Ultrasonic dispersion of nanostructured materials with probe sonication – practical aspects of sample preparation, *Powder Technol.* 318 (2017) 451–458. doi:10.1016/j.powtec.2017.05.049.
- [8] R. Retamal Marín, F. Babick, G.-G. Lindner, M. Wiemann, M. Stintz, Effects of Sample Preparation on Particle Size Distributions of Different Types of Silica in Suspensions, *Nanomaterials*. 8 (2018) 454. doi:10.3390/nano8070454.
- [9] I. Kaur, L.J. Ellis, I. Romer, R. Tantra, M. Carriere, S. Allard, M. Mayne-L'hermite, C. Minelli, W. Unger, A. Potthoff, S. Rades, E. Valsami-Jones, Dispersion of nanomaterials in aqueous media: Towards protocol optimization, *J. Vis. Exp.* 130 (2017). doi:10.3791/56074.
- [10] K. Sato, J.G. Li, H. Kamiya, T. Ishigaki, Ultrasonic dispersion of TiO₂ nanoparticles in aqueous suspension, *J. Am. Ceram. Soc.* 91 (2008) 2481–2487. doi:10.1111/j.1551-2916.2008.02493.x.
- [11] M. Bussiek, N. Mücke, J. Langowski, Polylysine-coated mica can be used to observe systematic changes in the supercoiled DNA conformation by scanning force microscopy in solution., *Nucleic Acids Res.* 31 (2003). doi:10.1093/nar/gng137.
- [12] M. Kosmulski, Compilation of PZC and IEP of sparingly soluble metal oxides and hydroxides from literature, *Adv. Colloid Interface Sci.* 152 (2009) 14–25. doi:10.1016/j.cis.2009.08.003.
- [13] C. Guiot, O. Spalla, Stabilization of TiO₂ Nanoparticles in Complex Medium through a pH Adjustment Protocol, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 1057–1064. doi:10.1021/es3040736.

- [14] W. Dudefoi, H. Terrisse, M. Richard-Plouet, E. Gautron, F. Popa, B. Humbert, M.H. Ropers, Criteria to define a more relevant reference sample of titanium dioxide in the context of food: a multiscale approach, *Food Addit. Contam. - Part A*. (2017) 1–13. doi:10.1080/19440049.2017.1284346.
- [15] R.J.B. Peters, G. Van Bemmel, Z. Herrera-Rivera, H.P.F.G. Helsper, H.J.P. Marvin, S. Weigel, P.C. Tromp, A.G. Oomen, A.G. Rietveld, H. Bouwmeester, Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: Analytical methods to define nanoparticles, *J. Agric. Food Chem.* 62 (2014) 6285–6293. doi:10.1021/jf5011885.
- [16] W. Dudefoi, Thesis, Titanium dioxide particles in food: characterization, fate in digestive fluids and impact on human gut microbiota, l'Université de Nantes sous le sceau de l'Université Bretagne Loir, 2017.
- [17] Y. Yang, D. Kyle, X. Bi, K. Hristovski, P. Herckes, P. Westerhoff, R. Kaegi, Characterization of Food-Grade Titanium Dioxide: The Presence of Nanosized Particles, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 6391–6400. doi:10.1021/es500436x.
- [18] A. Booth, K. Alstrup Jensen, SOP for probe sonicator calibration of delivered acoustic power and de-agglomeration efficiency for ecotoxicological testing, NANoREG. (2015).
http://rivm.nl/en/About_RIVM/Mission_and_strategy/International_Affairs/International_Projects/Completed/NANoREG/deliverables:s_ezJOgJTEaL0ICqO1cAJQ/NANoREG_D4_12_SOP_Probe_Sonicator_Calibration_for_ecotoxicological_testing.org.
- [19] A. Delvallée, N. Feltin, S. Ducourtieux, M. Trabelsi, J.F. Hochepied, Direct comparison of AFM and SEM measurements on the same set of nanoparticles, *Meas. Sci. Technol.* 26 (2015) 1–15. doi:10.1088/0957-0233/26/8/085601.
- [20] J. Griffin, H. Hassan, E. Spooner, Spin Coating: Complete Guide to Theory and Techniques, (n.d.). <https://www.ossila.com/pages/spin-coating>.
- [21] A. Thill, O. Spalla, Aggregation due to capillary forces during drying of particle submonolayers, 2003. doi:10.1016/S0927-7757(02)00569-1.
- [22] R.R. Retamal Marín, F. Babick, L. Hillemann, Zeta potential measurements for non-spherical colloidal particles – Practical issues of characterisation of interfacial properties of nanoparticles, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 532 (2017) 516–521. doi:10.1016/j.colsurfa.2017.04.010.
- [23] F. Varenne, J. Botton, C. Merlet, M. Beck-Broichsitter, F.X. Legrand, C. Vauthier, Standardization and validation of a protocol of size measurements by dynamic light scattering for monodispersed stable nanomaterial characterization, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 486 (2015) 124–138. doi:10.1016/j.colsurfa.2015.08.043.
- [24] I.M. Mahbubul, T.H. Chong, S.S. Khaleduzzaman, I.M. Shahrul, R. Saidur, B.D. Long, M.A. Amalina, Effect of ultrasonication duration on colloidal structure and viscosity of alumina-water nanofluid, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 6677–6684. doi:10.1021/ie500705j.
- [25] J.S. Taurozzi, V.A. Hackley, M.R. Wiesner, Ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment – issues and recommendations, *Nanotoxicology*. 5 (2011) 711–729. doi:10.3109/17435390.2010.528846.
- [26] A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. von Goetz, Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 2242–2250.

- doi:doi:10.1021/es204168d.
- [27] Z.H. Chen, C. Kim, X.B. Zeng, S.H. Hwang, J. Jang, G. Ungar, Characterizing size and porosity of hollow nanoparticles: SAXS, SANS, TEM, DLS, and adsorption isotherms compared, *Langmuir*. 28 (2012) 15350–15361. doi:10.1021/la302236u.
- [28] J. Foucher, A. Labrosse, A. Derville, Y. Zimmermann, G. Bernard, S. Martinez, H. Grönqvist, J. Baderot, F. Pinzan, The coming of age of the first hybrid metrology software platform dedicated to nanotechnologies (Conference Presentation), in: Soc. Photo-Optical Instrum. Eng., 2017. doi:10.1117/12.2258093.
- [29] RStudio | Open source & professional software for data science teams - RStudio, (2019). <https://rstudio.com>.

Chapitre 4 : L'approche multi-techniques pour la mesure dimensionnelle des (nano)-particules de dioxyde de titane (TiO_2)

Dans ce chapitre, une approche multi-technique est mise en œuvre afin d'obtenir une caractérisation dimensionnelle fine de particules de dioxyde de titane incluses dans des matrices complexes des produits de grande consommation. Cette approche vise à comparer des mesurandes obtenus par différents instruments dans le but d'accéder à la même grandeur physique, la taille, et de déterminer les limites de ces techniques. Ici, deux grandeurs physiques de nanoparticules de poudre de TiO_2 sont comparées :

- Les surfaces spécifiques obtenues par diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS pour Small Angle X-ray Scattering) et par mesure d'adsorption BET (Brunauer–Emmett–Teller)
- Les diamètres équivalents des particules de TiO_2 , mesurés par MEB ou issus des mesures de surface spécifique par SAXS et BET

Au vu de la littérature, les particules de TiO_2 sont largement utilisées dans les produits finis pour différentes applications (cf. chapitre 1). Il est donc primordial de les caractériser pour pouvoir les classer selon les réglementations en vigueur et évaluer le risque engendré sur les consommateurs. Plusieurs échantillons de TiO_2 issus de matériaux de références, de matériaux de synthèse, de matières premières (additifs) et extraits de produits manufacturés sous forme de poudre sont sélectionnés afin d'avoir une large représentativité en termes de tailles et de formes de particules, de structures cristallines, de densité et d'origines. Pour les produits manufacturés, l'analyse dimensionnelle passe par une étape indispensable de préparation d'échantillons préalable à chaque analyse : une extraction et un séchage des particules à analyser. Cette étape importante est un point délicat pour la mesure dimensionnelle de particules issues de produits manufacturés. L'influence de différents paramètres tels que la distribution en taille (ou polydispersité), la pureté des échantillons,

l'interaction entre les particules et l'anisotropie des particules sont discutées pour illustrer leur impact sur les valeurs de diamètre issus des différents mesurandes.

Tout d'abord, une étape d'identification directe de la forme et de la nature chimique des (nano)-objets observés par MEB-EDS est réalisée. Ensuite, des analyses élémentaires quantitatives de l'élément Ti ainsi que d'autres éléments composants les échantillons étudiés sont effectuées par ICP-OES et XPS. La phase cristalline de chaque échantillon est déterminée par DRX. Cette étape est nécessaire pour le traitement des données et la compréhension des mesures dimensionnelles. Ensuite un protocole spécifique à l'analyse de poudre par SAXS est mis en place. Enfin une comparaison des deux mesurandes obtenus par SAXS et BET et MEB est présentée.

1. Echantillons sélectionnés

Dans le cadre de cette étude, plusieurs échantillons de TiO_2 de sources différentes ont été sélectionnés. Une série de 9 échantillons choisis avec des tailles, des formes et des phases cristallines distinctes est présentée dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Sélection des échantions de TiO₂

<i>N°</i>	<i>Echantillon</i>	<i>Sources</i>
<i>Matériaux de référence ou de synthèse</i>		
1	TiO₂-Lab	Synthèse (méthode Stöeber)
2	TiO₂-NM 102	NM 102 – Titanium dioxide photocatalytic – Poudre JRC*
3	TiO₂-NM 104	NM 104 Titanium dioxide photocatalytic – Poudre JRC*
<i>Matières premières (additifs)</i>		
4	TiO₂-P25	Aeroxide Evonik P25 – Poudre non poreuse (mixte anatase et rutile) (Evonik Industries)
5	TiO₂-E171	Poudre commerciale
<i>Particules extraites de produits manufacturés</i>		
6	TiO₂-Food	Aliment (dragées de chewing-gum) contenant des particules de TiO ₂ (E171) (extraction à l'eau ultra-pure)
7	TiO₂-Drug	Des gélules de paracétamol contenant des particules de TiO ₂ (extraction par digestion acide)
8	TiO₂-Cosm	Une crème solaire contenant des particules de TiO ₂ (extraction au dichlorométhane)
9	TiO₂-Paint	Une peinture pour enfant contenant des particules de TiO ₂ (extraction par digestion acide)

* Joint Research Centre [1]

Nous avons décidé de travailler avec cette sélection dans le but de balayer une large gamme de TiO₂ afin d'évaluer l'impact de la nature de l'échantillon sur les mesures dimensionnelles. Les échantillons choisis sont tous sous forme de poudre. Ils sont soit directement fournis par les fournisseurs (référence, matière première), soit séchés après une étape de synthèse ou séchés après une étape d'extraction pour les produits issus de produits finis (Tableau 12). Les résultats des analyses présentées dans ce chapitre ont été réalisés suivant les protocoles détaillés dans le chapitre 2 (sections 2 et 3).

2. Caractérisation physico-chimique des échantillons : Analyse élémentaire et identification des phases cristallines des poudres de TiO₂

Pour comparer l'analyse dimensionnelle de TiO₂ issus de différentes sources, il est nécessaire d'identifier la composition chimique et la structure cristallographique des échantillons sélectionnés, en particulier pour le TiO₂ extrait de produits finis. Ces informations nous permettent d'avoir les informations essentielles pour la suite de l'étude, notamment la pureté des échantillons.

Pour les produits finis, la difficulté de l'étape d'extraction est d'extraire le TiO₂ sans résidu ou impuretés associés. Pour les matières premières, produits de références et produits de synthèse, le TiO₂ analysé peut contenir d'autres éléments provenant d'impuretés ou de produit d'enrobage. En fonction de la technique utilisée pour la caractérisation dimensionnelle, ces informations sont importantes et essentielles pour le traitement des données. La première étape de l'analyse dimensionnelle est donc de déterminer la composition chimique des matériaux choisis. Dans un premier temps, Une analyse EDS est réalisée afin d'identifier la nature chimique des (nano)-objets observés par MEB. Puis, la spectroscopie quantitative par plasma inductif avec spectroscopie d'émission optique (ICP-OES) est utilisée pour quantifier le pourcentage atomique (massique) de Ti dans les différents matériaux. Dans un second temps, une analyse XPS est effectuée afin d'obtenir des informations directes sur les propriétés atomiques et électroniques locales de la surface des particules. Enfin, la détermination des structures cristallines des différents échantillons est réalisée à l'aide de la DRX. Ces informations permettent d'évaluer le taux d'impuretés des matériaux et l'origine de ces impuretés (revêtement de surface, impuretés en volume). Plus particulièrement, ces analyses sont indispensables pour vérifier l'efficacité du protocole d'extraction après l'optimisation de la procédure d'extraction des particules des produits manufacturés (cf. section 1.4 du chapitre 2).

2.1. Evaluation de la pureté des échantillons et quantification de l'élément Ti par ICP-OES

Une première analyse chimique par ICP-OES a été réalisée afin de quantifier l'élément titane (Ti) et calculer ainsi une teneur en TiO_2 . La teneur en Ti des échantillons est présentée dans le Tableau 13. Les résultats ont mis en évidence des degrés de pureté variables avec un pourcentage massique de TiO_2 allant de 73 à 97 % pour tous les échantillons, à l'exception du TiO_2 -Food qui a une faible teneur en TiO_2 (25 % en masse).

Tableau 13 : Résultats de la quantification de l'élément Ti et du TiO_2 en supposant que tout le Ti détecté est sous forme TiO_2 (avec u les incertitudes sur les mesures)

Echantillon	[Ti] (en g par 100g de poudre) $\pm u$	[TiO_2] (en g par 100g de poudre, %wt.) $\pm u$
TiO_2 -NM102	57,33 \pm 2,20	95,64 \pm 3,67
TiO_2 -NM104	51,77 \pm 1,98	86,35 \pm 3,31
TiO_2 -Lab	46,90 \pm 1,80	78,24 \pm 3,00
TiO_2 -P25	56,97 \pm 2,18	95,03 \pm 3,64
TiO_2 -E171	58,08 \pm 2,23	96,88 \pm 3,71
TiO_2 -Paint	55,55 \pm 2,13	92,66 \pm 3,55
TiO_2 -Cosm	44,36 \pm 1,70	73,99 \pm 2,84
TiO_2 -Food	15,35 \pm 1,00	25,60 \pm 1,67
TiO_2 -Drug	58,16 \pm 2,45	97,02 \pm 4,08

Les matériaux de référence, TiO_2 -NM102 et TiO_2 -NM104, contiennent respectivement 96 % et 86 % en masse de TiO_2 . Dans l'étude réalisée par le JRC, des analyses ICP-OES ont été effectuées et seules les impuretés sont présentées. Des traces de soufre (S) ($>0,01$ % en masse) et de calcium (Ca) ont été détectées dans l'échantillon TiO_2 -NM102. En revanche, pour le TiO_2 -NM104, les impuretés les plus abondantes sont l'aluminium (Al) ($>0,1$ % en masse), le sodium (Na) ($>0,01$ % en masse) et le soufre (S) ($>0,01$ % en masse). Dans ce

même rapport, des résultats de l'ATG ont également montré la présence d'un revêtement organique sur le TiO₂-NM104 qui peut expliquer la plus faible teneur en TiO₂ trouvée pour le TiO₂-NM104 par rapport au TiO₂-NM102.

La proportion en TiO₂ pour l'échantillon TiO₂-Lab, est à seulement 78 % en masse. Ce résultat met en évidence la quantité non négligeable des impuretés provenant de la synthèse. Pour les matières premières commerciales (TiO₂-P25 et TiO₂-E171), les poudres analysées sont quasi-pures en TiO₂ (avec respectivement 95% et 97% en masse). Des résultats similaires ont été obtenus pour les mesures ICP-OES publiées par Dudefoi et al, sur sept lots différents de TiO₂-E171 (avec une teneur en TiO₂ comprise entre 97-99 % en masse) et un lot de TiO₂-P25 (avec 98 % en masse de TiO₂) [2]. Pour les particules extraites de produits manufacturés, d'autres composés incorporés dans le produit final peuvent résister à l'étape d'extraction et se retrouver dans la poudre extraite. Trois des quatre échantillons extraits de produits commerciaux (TiO₂-Paint, TiO₂-Cosm et TiO₂-Drug) présentent une teneur en TiO₂ relativement élevée (entre 74 et 97 % en poids). Cela nous indique que l'étape d'extraction des nanoparticules de TiO₂ est efficace pour extraire majoritairement le TiO₂.

Le TiO₂-Food présente une quantité de TiO₂ très faible par rapport aux autres échantillons (seulement 25 % en masse). Dudefoi et al ont également évalué la quantité de TiO₂ dans la couche externe de quatre marques de chewing-gum (avec un protocole d'extraction similaire) [5]. Leurs analyses montrent une variation aléatoire de la teneur en TiO₂ dans les produits obtenus après extractions (allant de 5 % à 99 % en masse). Dans notre cas, il semble que la méthode d'extraction utilisée n'ait pas conduit à la séparation efficace des particules de TiO₂ de la matrice.

Finalement, ces analyses chimiques ont permis de souligner la présence de quantités variables de TiO₂ dans les échantillons étudiés ce qui confirme la présence d'autres éléments.

2.2. Analyse de la composition chimique des échantillons par EDS

Afin d'identifier les autres composants des poudres analysées. Les (nano)-objets ont été déposés et observées par microscopie électronique et une cartographie EDS a été réalisée sur des agglomérats/agrégats de particules. Les Figure 37 et 2 présentent les cartographies EDS de tous les échantillons étudiés. La présence de titane (Ti) et d'oxygène (O) correspond exactement à la localisation des particules, ce qui confirme qu'il s'agit bien de particules de dioxyde de titane.

Seuls les éléments Ti et O sont détectés pour les échantillons $\text{TiO}_2\text{-NM102}$ et $\text{TiO}_2\text{-P25}$ (Figure 37 a) et d)), il s'agit bien d'échantillons purs qui ne possèdent pas de revêtements. Les analyses EDS réalisées par le JRC [1], concernant le $\text{TiO}_2\text{-NM102}$, révèlent une très faible quantité d'Al, Si et Fe en plus du TiO_2 . Ces éléments n'ont pas été observés lors de nos expériences. Cette absence sera confirmée par l'analyse XPS (paragraphe 2.3).

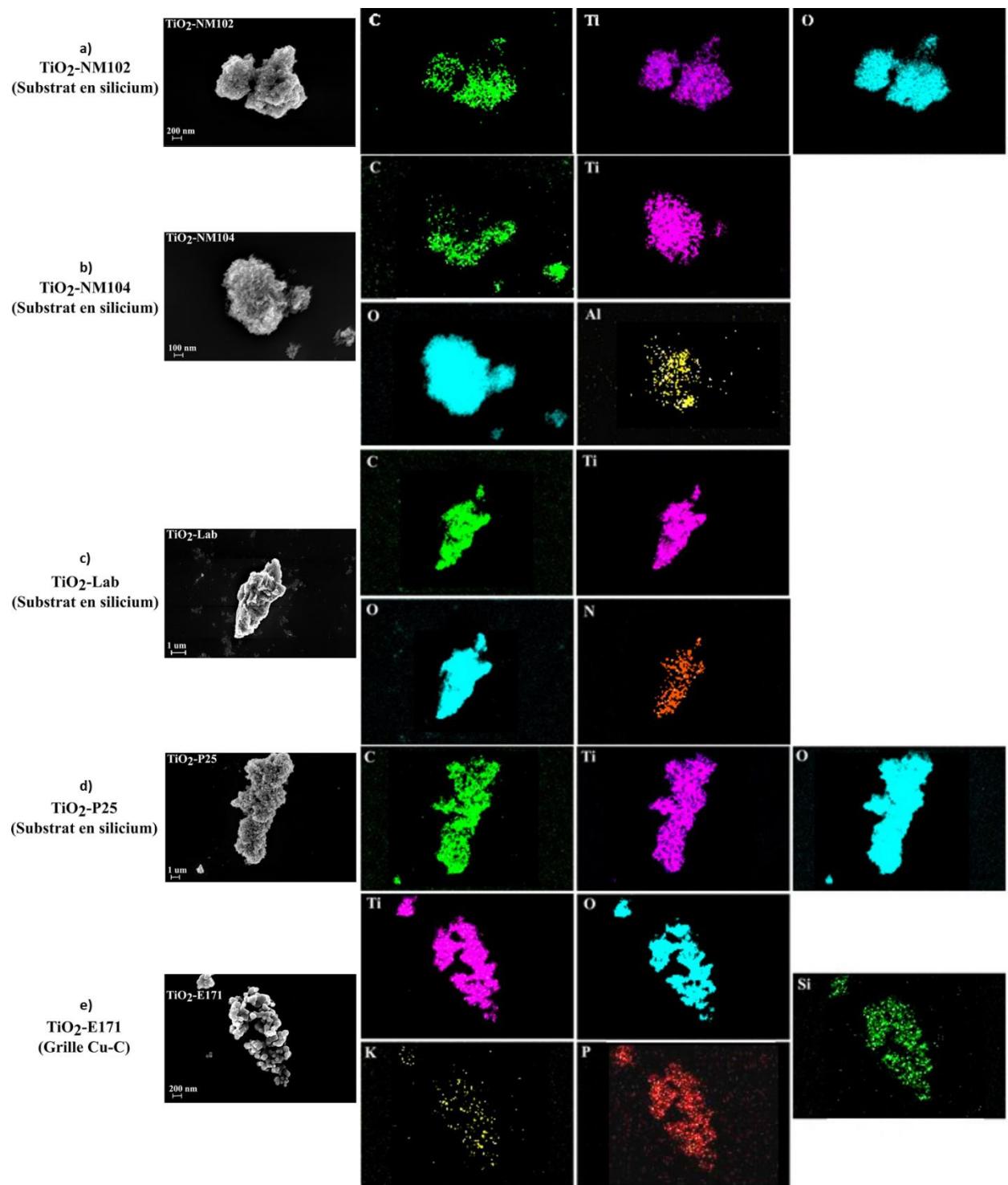


Figure 37 : Les cartographies EDS des échantillons de TiO_2 de référence et de matières premières, réalisées sur un substrat en silicium ou une grille Cu-C

Pour le $\text{TiO}_2\text{-NM104}$, (Figure 37 b)) l'élément aluminium (Al) est également localisé sur les particules. Cela peut être attribué à la présence d'un revêtement d' Al_2O_3 . De la même manière, les résultats du JRC ont mis en évidence la présence de l'élément Al pour l'échantillon $\text{TiO}_2\text{-NM104}$ [1].

Pour le TiO₂-Lab (Figure 37 c)), des traces d'azote (N) sont visibles sur la Figure 37 c) provenant du réactif azoté résiduel (Triethanolamine).

D'autres éléments sont observés en plus du TiO₂ dans l'additif alimentaire TiO₂ – E171 tels que, le silicium (Si), le potassium (K) et le phosphore (P) comme l'indique la cartographie EDS (Figure 37 e)). Des travaux précédents sur l'additif E171 ont rapporté l'identification de ces mêmes éléments par EDS [2][3].

Pour le TiO₂-Drug et le TiO₂-Paint (Figure 38 h) et i)), les éléments Si et P sont détectés à la même localisation que les particules de TiO₂. Pour l'échantillon TiO₂-Food, le couplage SEM-EDS a permis de localiser les impuretés (Ca et Mg) sur des particules de morphologies différentes de celles du TiO₂ (Figure 38 f)). Ces impuretés sont des particules de nature différente et peuvent être liées aux cires couramment ajoutées à la surface des bonbons comme agent de glaçage [4]. De plus, le dépôt de l'échantillon TiO₂-Food sur une grille de Cu-C (Figure 38 g)) a également conduit à l'identification de Si à l'endroit où sont localisées les particules. Cela peut être expliqué soit par la présence de résidus de matrice, ou par un revêtement de surface. Ces analyses sont confrontées aux résultats XPS présentés dans la suite.

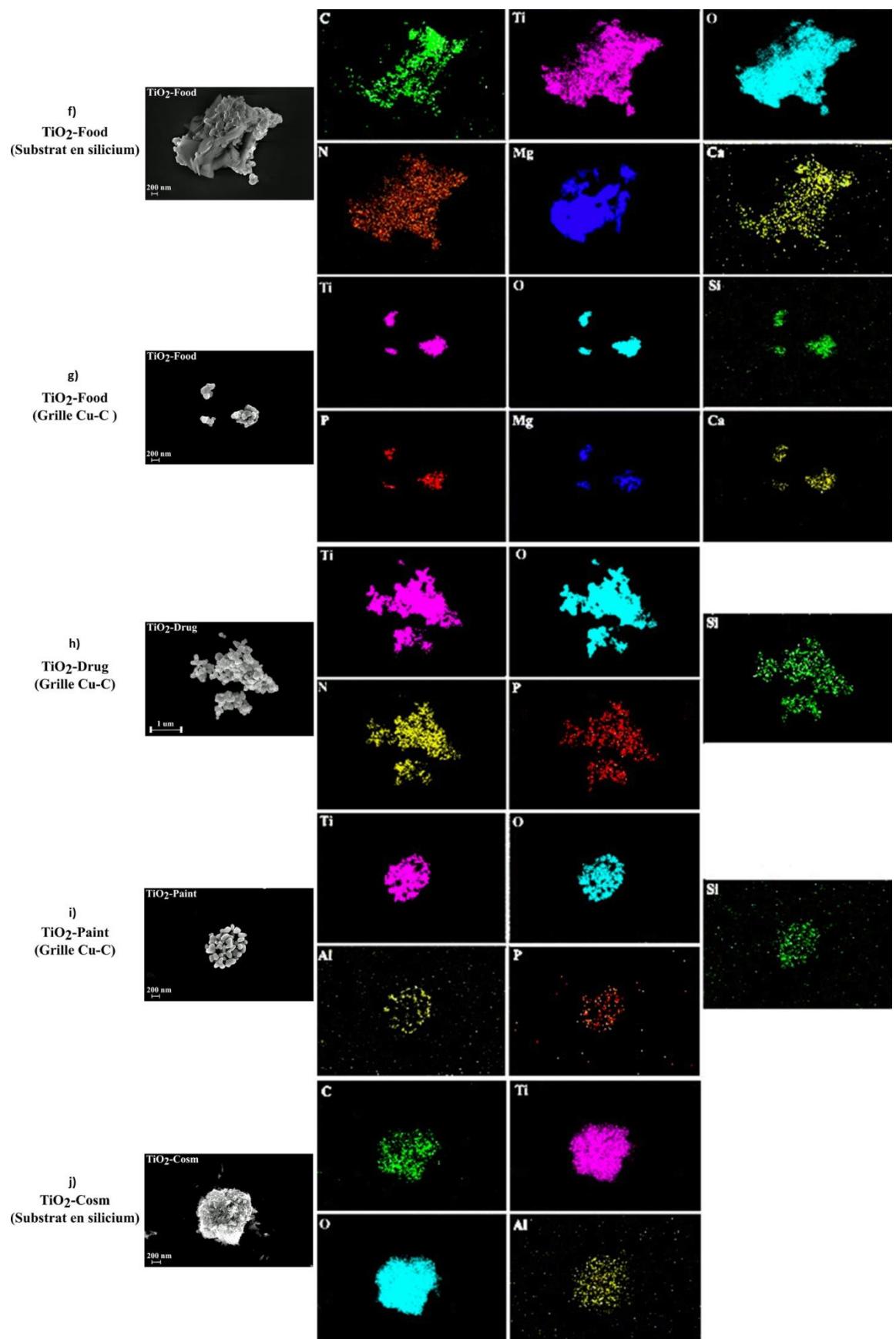


Figure 38 : Les cartographies EDS des échantillons de TiO₂ extraits de produits manufacturés, réalisées sur un substrat en silicium ou une grille Cu-C

Enfin, la cartographie du TiO₂-Cosm (Figure 38 j)) met en évidence l'élément Al localisé sur les particules de TiO₂, comme pour le TiO₂-NM104, probablement lié à la présence d'un revêtement de surface.

Les résultats EDS obtenus ont permis l'identification des éléments composant les échantillons et la localisation de certaines impuretés résiduelles. Pour mieux localiser les éléments identifiés et valider ces résultats, une analyse élémentaire complémentaire par XPS a été effectuée.

2.3. Analyse de la composition chimique en surface des particules par XPS

La composition chimique surfacique peut être déterminée au moyen de l'XPS qui sonde jusqu'à environ 10 nm de profondeur. Les spectres de l'intensité en fonction des énergies de liaison, caractéristiques des différents éléments présents en surface des particules de TiO₂, sont présentés dans l'Annexe 7. Les éléments détectés et quantifiés (en % atomique) sont résumés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Analyse chimique en surface des particules de TiO₂

Echantillon	Eléments (%at.)
TiO₂ - Lab	O (52,9), Ti (19,2), C (23,7), Cl (1,3), N (2,9)
TiO₂ - NM 102	O (50,9), Ti (19,9), C (28,8), S (0,4)
TiO₂ - NM 104	O (45,9), Ti (9,8), C (35,1), Si (0,4), Al (8,8)
TiO₂ - P25	O (39,1), Ti (12,8), C (47,9), Cl (0,3)
TiO₂-E171	O (44,2), Ti (14,1), C (37,2), K (1,7), P (2,2), Si (0,6)
TiO₂-Food	O (33,6), Ti (2,1), C (53,0), Si (2,4), Mg (0,4), Ca (8,5)
TiO₂-Drug	O (33,1), Ti (10,1), C (54,3), Si (0,7), N (0,9), P (1,1)
TiO₂-Cosm	O (38,9), Ti (9,1), C (43,7), Cl (0,7), Al (7,7)
TiO₂-Paint	O (38,1), Ti (9,3), C (48,0), Si (1,4), P (0,8), Al (2,5)

La composition atomique du Ti autour de la surface des particules varie de 2,1 %at. pour le TiO₂-Food à 19,2 %at. pour le TiO₂-Lab. Des quantités résiduelles de carbone (C) sont détectées en quantités non négligeables en raison de leur exposition à l'air ou de leur contamination (également détecté par EDS). En effet, dès que l'échantillon n'est pas stocké dans une atmosphère inerte, des interactions possibles avec le CO₂ présent dans l'air ambiant peuvent avoir lieu. Cependant, cette impureté pourrait également traduire la présence de ligands de surface ou des composés organiques associés.

Outre le Ti, O et C, d'autres éléments ont été détectés sur la surface des TiO₂ NM du JRC. Pour le TiO₂-NM102, des traces de soufre (0,4 %at.) sont détectées. L'élément Ti est présent en proportion atomique de 19,9% comparée à 18,6% publié dans le rapport du JRC pour cette même référence [1]. Concernant le TiO₂-NM104, des traces de Si sont également détectées mais restent négligeables (0,4 %at.) alors qu'une quantité considérable d'Al (8,8.%at.) a été détectée (mesuré à 7,1 %at. dans le rapport JRC [1]). La présence d'Al à la surface de NM-104 s'explique par une couche de revêtement en Al₂O₃ classiquement utilisé pour les particules de TiO₂ [1][6]. En effet, plusieurs oxydes sont utilisés (SiO₂, Al₂O₃ ou Al₂(OH)₃ etc.) pour l'enrobage des particules de TiO₂, capables de capturer les radicaux hydroxyles issus de la photocatalyse [7]. De plus, ce type de traitement de surface est également utilisé pour améliorer les propriétés de surface de ces NPs (meilleur dispersion dans un solvant donné, en rendant la surface hydrophile ou hydrophobe) [8].

Pour le TiO₂-Lab, l'azote (2,9 %at.) et le chlorure (1,3 %at.) peuvent provenir de résidu de réactifs. Les résultats des analyses du TiO₂-P25, avec un pourcentage atomique de Ti de 12,8 %at., sont légèrement inférieurs à ceux rapportés dans la littérature (19-20 %at.) [2,9,10]. Pour la matière première TiO₂-E171, la teneur en Ti autour de 14 %at. est du même ordre de grandeur que les valeurs trouvées par Yang et al. sur cinq échantillons de TiO₂-E171 (entre 12 %at. et 23 %at.) [10], ou les valeurs publiées par Dudefoi et al pour plusieurs lots d'additifs alimentaires (14,5 %at. et 23,8 %at.) [2]. De plus, du potassium (K) et du phosphore (P) ont été identifiés en surface des particules du TiO₂-E171 avec des traces de silicium (Si). La présence de Si et/ou de P est communément liée à un traitement de surface des nanoparticules de TiO₂, souvent réalisé pour les additifs alimentaires [2][5].

Dans les échantillons extraits de produits manufacturés, un total de 11,3 %at. en Si, Mg et Ca pour le TiO₂-Food, 2,7 %at. en Si, P et N pour le TiO₂-Drug, 4,7 %at. en Si, P et Al pour le TiO₂-Paint et 8,4 %at. en Cl, Al pour le TiO₂-Cosm a été déterminé. Des impuretés, des résidus de matrice ou un revêtement spécifique sur les particules de TiO₂ extraites peuvent expliquer la présence d'un si grand nombre d'autres éléments en coexistence avec le TiO₂. Dudefoi et al [5] et I. De la Calle et al [11] ont également identifié d'autres composés sur des revêtements de chewing-gum (résidus de matrice, par exemple du MgO, du talc, et du CaCO₃ etc.). La présence du phosphore dans certains échantillons peut résulter de l'utilisation de tensioactifs anioniques (contenant des polyphosphates) lors de leur préparation [12]. Dans le cas du TiO₂-Cosm, le Cl peut provenir du dicholorométhane résiduel utilisé pour l'extraction des nanoparticules. L'élément Al est fréquemment détecté en surface des nanoparticules de TiO₂ extraites de crèmes solaires utilisé pour atténuer l'effet catalytique de ces dernières [6,13,14].

De manière générale, les analyses de la composition chimique des échantillons ont identifié la présence d'autres éléments en coexistence avec les particules de TiO₂. Les résultats XPS sont en accord avec ceux obtenus par EDS, ce qui confirme que pour la majorité des échantillons, les éléments détectés (comme le C, l'Al ou encore le Si) peuvent être liés à des revêtements de surface sur les poudres de matières premières ou des résidus de

synthèses issus des procédés de traitement de surface. Les échantillons extraits de produits finis commerciaux présentent un taux d'impuretés plus élevé, le plus souvent liées à des résidus de matrice ayant résisté aux différentes étapes d'extraction.

2.4. Analyse de la cristallinité des échantillons par DRX

Outre la nature chimique des matériaux analysés, la détermination de leur structure cristalline permet d'identifier la classe du TiO₂. Le dioxyde de titane existe en effet sous trois structures cristallographiques différentes : anatase, rutile et brookite. Ces structures sont constituées d'octaèdres légèrement déformés et liés de différentes manières (cf. chapitre 1 section 1.3.1) [15].

Les diffractogrammes issus de l'analyse DRX sont présentés sur la Figure 39, où les spectres expérimentaux sont comparés aux références enregistrées dans la base de données du logiciel HighScore.

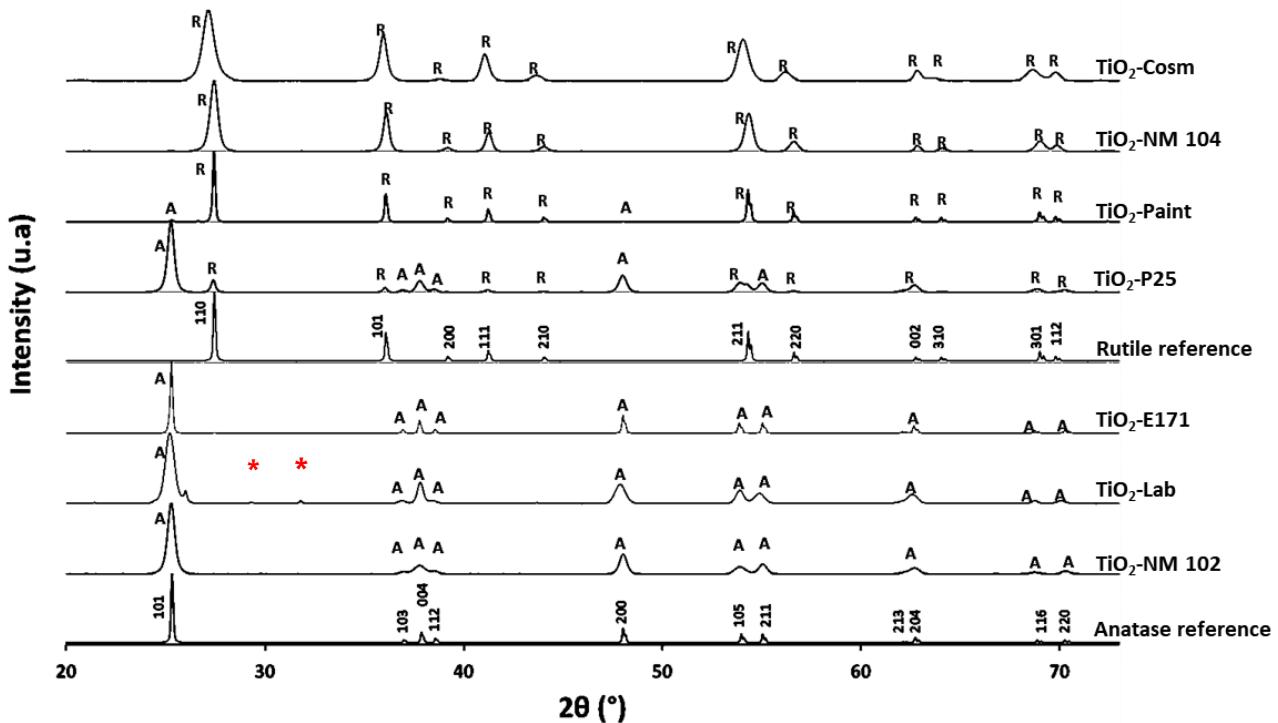


Figure 39 : Diffractogrammes DRX des échantillons de TiO₂ (avec les spectres de références (A) anatase et (R) rutile). Les (*) identifie des impuretés autre que le TiO₂.

Nous pouvons distinguer sur la Figure 39 des pics assez bien définis, caractéristiques des phases cristallines du TiO₂ (rutile et/ou anatase). Les échantillons analysés présentent une variété dans leurs structures cristallines. Trois structures de type « anatase » sont observées correspondants au TiO₂-NM102, TiO₂-Lab et TiO₂-E171. Trois structures de type « rutile » sont également obtenues : le TiO₂-NM104, le TiO₂-Paint et le TiO₂-Cosm. Enfin un échantillon mixte « rutile/anatase », correspondant au TiO₂-P25 est observé.

Le TiO₂-P25 est un échantillon mixte avec deux phases cristallines (rutile et anatase), les proportions de chaque phase ont été calculées avec le rapport des intensités des pics les plus intenses [16,17]. La fraction massique des deux phases calculée est d'environ 82% en masse pour la structure anatase et 18% en masse pour la structure rutile. Ces valeurs sont cohérentes avec la littérature [18–21].

Le TiO₂-Lab, possédant une structure anatase, présente des pics supplémentaires (*) à $2\theta = 26, 29$ et 33° , qui sont probablement dus à des résidus de réactifs utilisés pour la synthèse.

En raison des quantités insuffisantes de poudre extraite, le TiO₂-Food et le TiO₂-Drug, n'ont pas fait l'objet de l'analyse DRX. Ces deux échantillons, ont comme origine un additif alimentaire introduit dans des produits de consommations. Ils seront donc supposés, dans notre étude, de structure anatase, comme le TiO₂-E171.

Les valeurs de la densité (d) (ou de masses volumiques) des matériaux, dépendent de leur structure cristalline : Une densité de 3,93 g.cm⁻³ pour les échantillons sous forme anatase, de 4,23 g.cm⁻³ pour les échantillons sous forme rutile et enfin une densité de 3,99 g.cm⁻³ pour l'échantillon mixte de TiO₂-P25. Les densités utilisées pour les différentes structures cristallines sont résumées dans le Tableau 15. Ces valeurs de densité sont indispensables pour l'analyse des données issues de SAXS ou de BET comme nous le verrons dans la suite.

Tableau 15 : Densités des différentes phases cristallines du TiO₂ en g.cm⁻³

Structure cristalline	Anatase (A)	Rutile (R)	Mixte (82 % A / 18 % R)
Densité (g.cm⁻³)	3,93	4,23	3,99

3. Comparaison des grandeurs physiques des particules de TiO₂ obtenus par MEB, SAXS et BET

3.1. Caractérisation dimensionnelle des particules de TiO₂ par MEB

3.1.1. Diamètres équivalents mesurés par MEB ($D_{SEM\ average\ area-eq}$)

Le MEB est une méthode d'imagerie directe donnant accès à la distribution en taille en nombre de la population étudiée. Néanmoins pour les milieux complexes, une étape d'extraction et de préparation d'échantillon préliminaire des nanoparticules est primordiale avant l'analyse (cf. détails dans le paragraphe 5.2 du chapitre 1). En utilisant la méthodologie développée (cf. section 5 du chapitre 3), des distributions en taille des particules constitutives ont été déterminées pour tous les échantillons de TiO₂. La Figure 40 illustre les images MEB caractéristiques des échantillons, ainsi que les histogrammes correspondants, construit à

partir de l'analyse de 300 particules. Les particules présentent une polydispersité en taille et en forme. Cependant comme pour la plupart des techniques de caractérisation, une approximation de sphéricité est faite pour estimer un diamètre moyen équivalent ($D_{SEM_average_area-eq}$) de particule (cf. paragraphe 2.1.4 du chapitre 2). En parallèle, pour évaluer l'anisotropie des particules, les rapports d'aspects sont calculés à partir des diamètres Feret min et Feret max (D_{Fmin} et D_{Fmax}).

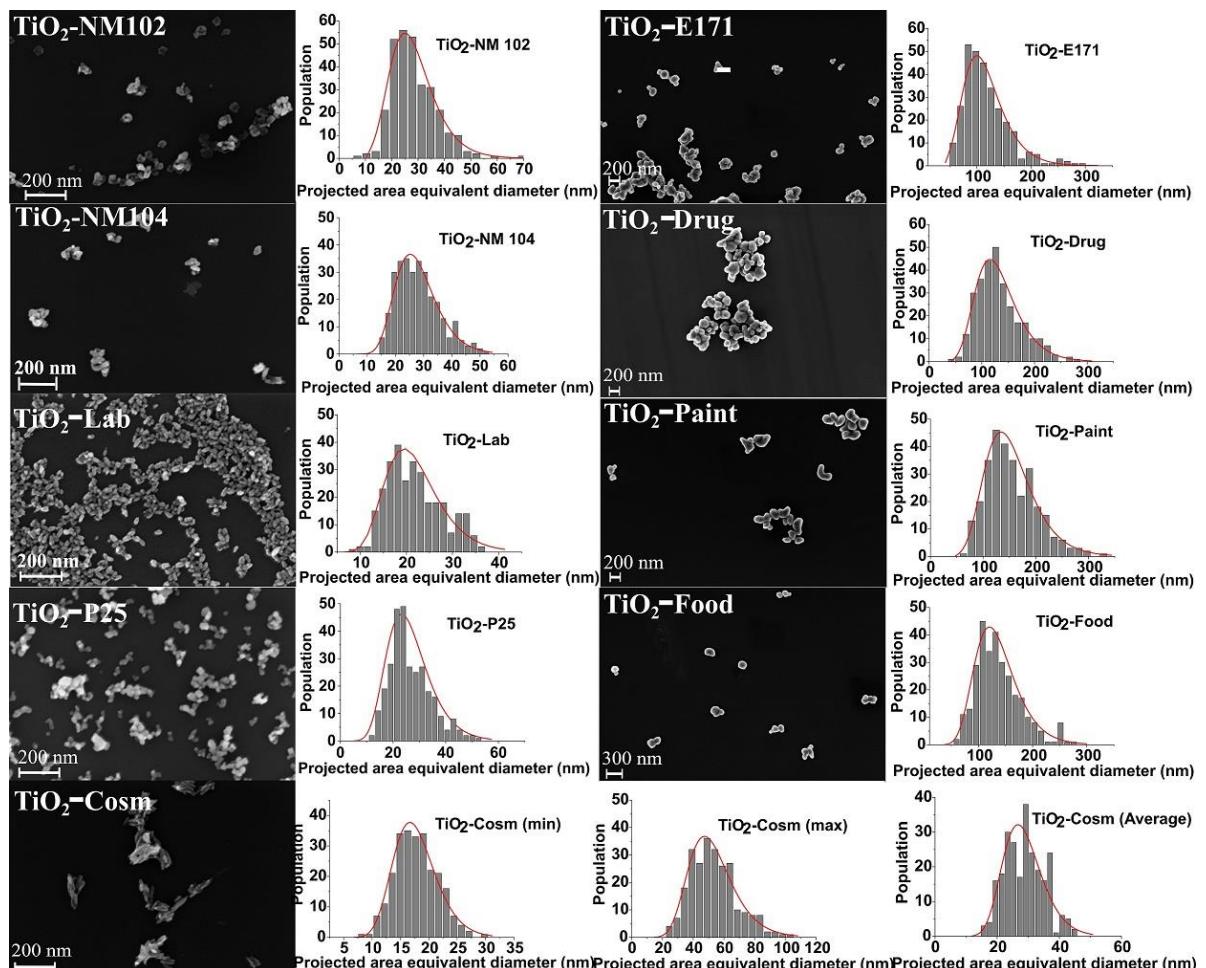


Figure 40 : Images MEB caractéristique et distributions en tailles correspondantes (issus de 300 particules) des échantillons de TiO_2 (représentant une des trois distributions obtenues avec en rouge le fit du modèle statistique utilisé, cf. Annexe 6)

Trois séries de mesures ont été réalisées pour tous les échantillons. Les diamètres équivalents issus de la distribution en taille en nombre (notés $D_{SEM\ average\ area-eq}$, D_{Modal} ,

D_{Median}), et les écarts types correspondants sont présentés dans le Tableau 16. Les répétabilités (u_R) liées aux trois mesures correspondent à l'écart-type calculé sur les diamètres moyens des trois séries. Le rapport d'aspect ($D_{\text{Feret min}} / D_{\text{Feret max}}$) a été calculé afin d'évaluer l'écart à la sphéricité des particules.

Tableau 16 : Mesurandes du MEB avec ; le diamètre moyen ($D_{\text{SEM average area-eq}}$), le mode (D_{modal}), la médiane (D_{median}) et les diamètres de Feret min et max (D_{Fmin} et D_{Fmax}) suivis des répétabilités ($\pm u_R$).

L'écart-type de la distribution ainsi que le rapport d'aspect sont également présentés. μ et σ représentent respectivement l'espérance et l'écart-type des valeurs lognormales.

<i>Mesurande</i>	$D_{\text{SEM average}}$	<i>Ecart-type de la distribution en taille</i>	D_{Modal}	D_{Median}	<i>Rapport d'aspect</i>		
<i>Echantillon</i>	μ	σ	$\pm u_R-D_{\text{SEM}}$	$\pm u_R-D_{\text{median}}$	$(D_{\text{Feret min}} / D_{\text{Feret max}})$		
			<i>area-eq average (nm)</i>	<i>area-eq (nm)</i>	$\pm u_R-R_A$		
<i>TiO₂-NM 102</i>	3,2	0,4	$26,8 \pm 3,1$	$9,7 \pm 1,7$	$22,2 \pm 2,4$	$25,1 \pm 2,8$	$0,7 \pm 0,02$
<i>TiO₂-NM 104</i>	3,3	0,3	$27,3 \pm 0,5$	$7,7 \pm 0,8$	$24,3 \pm 1,0$	$26,2 \pm 0,7$	$0,7 \pm 0,03$
<i>TiO₂-Lab</i>	3,0	0,3	$21,1 \pm 0,9$	$5,8 \pm 0,6$	$18,9 \pm 0,7$	$20,3 \pm 0,9$	$0,8 \pm 0,03$
<i>TiO₂-P25</i>	3,2	0,3	$25,8 \pm 1,2$	$7,4 \pm 1,4$	$22,8 \pm 0,7$	$24,7 \pm 1,0$	$0,9 \pm 0,01$
<i>TiO₂-E171</i>	4,6	0,3	$110,2 \pm 4,4$	$37,2 \pm 2,2$	$93,7 \pm 4,4$	$104,4 \pm 4,4$	$0,8 \pm 0,01$
<i>TiO₂-Drug</i>	4,8	0,4	$128,4 \pm 2,1$	$46,8 \pm 7,7$	$106,5 \pm 4,9$	$120,7 \pm 1,8$	$0,9 \pm 0,01$
<i>TiO₂-Food</i>	4,8	0,3	$133,2 \pm 3,9$	$43,6 \pm 2,6$	$114,3 \pm 3,3$	$126,6 \pm 3,6$	$0,9 \pm 0,003$
<i>TiO₂-Paint</i>	4,9	0,4	$146,6 \pm 2,5$	$55,3 \pm 5,9$	$120,1 \pm 4,8$	$137,2 \pm 2,8$	$0,8 \pm 0,03$
<i>TiO₂-Cosm</i>	3,3	0,2	$27,9 \pm 0,9$	$6,6 \pm 0,4$	$25,7 \pm 1,2$	$27,2 \pm 1,0$	
<i>TiO₂-Cosm (D_{SEM Fmax})</i>	3,9	0,3	$51,9 \pm 1,0$	$14,9 \pm 0,4$	$46,1 \pm 1,3$	$49,9 \pm 1,1$	$0,3 \pm 0,08$
<i>TiO₂-Cosm (D_{SEM Fmin})</i>	2,7	0,2	$15,8 \pm 2,8$	$3,9 \pm 0,1$	$14,5 \pm 3,0$	$15,4 \pm 2,8$	

Les mesures MEB effectuées sur les matériaux de référence, TiO₂-NM102 et TiO₂-NM104, ont été comparées à ceux fournis par le JRC [1]. Les $D_{\text{SEM-average-area-eq}}$ du TiO₂-NM-102 et le TiO₂-NM-104 sont respectivement $26,8 \pm 3,1$ nm et $27,3 \pm 0,5$ nm. Ces valeurs se situent dans la fourchette d'incertitudes donnée pour les mesures MET, publiées dans le rapport du JRC concernant ces deux références ((21 ± 10) nm pour le TiO₂-NM-102 et (26 ± 10) nm pour le TiO₂-NM-104).

Par ailleurs, le TiO₂-Lab synthétisé possède un $D_{\text{SEM_average_area-eq}}$ de $21,1 \pm 0,9$ nm, très proche de la valeur de $21,4 \pm 6,4$ nm obtenue lors de la première synthèse suivant le même procédé [22]. Ce résultat témoigne de la reproductibilité du protocole de synthèse ainsi que

de la méthodologie et de l'instrument de mesure utilisé. En accord avec des travaux précédents [2,23], la taille moyenne mesurée par microscopie électronique pour l'échantillon TiO₂-P25 est égale à 25,8 ± 1,2 nm.

L'échantillon TiO₂-E171 présente un D_{SEM_average_area-eq} égal à 110,2 ± 4,4 nm avec un écart-type de la distribution en nombre de 37,2 nm attestant l'étendue de la distribution. Les particules extraites des produits manufacturés, à savoir le TiO₂-Food, TiO₂-Drug et TiO₂-Paint, ont la même morphologie que l'additif alimentaire TiO₂-E171 (voir Figure 40). Après la procédure d'extraction, les diamètres moyens équivalents, D_{SEM_average_area-eq}, déterminés pour le TiO₂-Food, le TiO₂-Paint, le TiO₂-Drug, sont respectivement de 133,2 ± 3,9 nm ; 146,6 ± 2,5 nm et 128,4 ± 2,1 nm.

Pour l'échantillon TiO₂-Cosm, le D_{SEM average area-eq} est égal à 27,9 ± 0,9 nm. Cependant, la forme des particules du TiO₂-Cosm est différente, puisqu'il s'agit de nanoparticules anisotropes (bâtonnets, avec un très faible rapport d'aspect égal à 0,3). De ce fait, les diamètres D_{Feret min} et D_{Feret max} ont également été mesurés. Les valeurs obtenues pour les dimensions minimum et maximum sont respectivement de 15,8 ± 2,8 nm et de 51,9 ± 1,0 nm.

3.1.2. Discussions sur les mesures dimensionnelles des particules de TiO₂ obtenues par MEB

Plusieurs travaux ont traité de la caractérisation dimensionnelle de (nano) particules de TiO₂ par microscopie électronique. L'additif alimentaire TiO₂-E171 a fait l'objet de nombreuses études de caractérisation, notamment celle de W. Dudefoi et al, où les auteurs ont caractérisé, par microscopie électronique (MET), sept lots différents de TiO₂-E171 achetés auprès de différents fournisseurs [2]. Les diamètres équivalents moyens, issus des distributions en taille du MET, vont de 115 nm (avec un écart-type de distribution de taille de 31 nm) à 145 nm (avec un écart-type de distribution de taille de 52 nm), ce qui est en accord avec le D_{SEM average area-eq} (110,2 ± 4,4 nm) mesurée dans notre étude. Weir et al. [23] soulignent une très large distribution en taille obtenue pour l'additif E171 (de 30 à 400 nm) avec un diamètre moyen des particules autour de 110 nm. De manière générale, les tailles

moyennes obtenues pour cette matière première varient d'un lot d'additif à un autre, comme l'ont démontré E. Verleysen et al. dans leurs travaux, où 15 matières premières d'E171 ont été étudiées [3]. Les diamètres moyens mesurés par MET sont compris entre 79 nm et 149 nm. La variabilité de ces résultats nous confirme l'importance de la maîtrise de la mesure dimensionnelle, notamment dans le cas des (nano)-objets utilisées comme additifs dans des produits de consommation.

Des travaux récents réalisés par Dudefoi et al traitent de l'extraction de l'additif E171 de produits alimentaires (ex. chewing-gum) et de sa caractérisation dimensionnelle [5]. La taille moyenne TEM est d'environ 135 nm, ce qui correspond à un diamètre moyen équivalent similaire à celui du TiO₂-Food extrait du chewing-gum ($133,2 \pm 3,9$ nm). Geiss et al. [4] ont également mené une étude dans laquelle ils ont analysé des additifs E171 bruts, et des particules de TiO₂ de ce même additif extrait de produits alimentaires. Les matériaux E171 bruts étudiés présentent des tailles moyennes allant de 83 nm à 139 nm. Ils ont également constaté des diamètres moyens similaires pour tous les échantillons extraits allant de 83 à 122 nm.

D'autres parts, le groupe de recherche de Faust et al [24] a analysé un échantillon de TiO₂-E171 et des particules de TiO₂ extraites de produits pharmaceutiques. L'analyse TEM a révélé que les échantillons extraits ont des tailles de particules primaires comprises entre (94 ± 25) nm et (119 ± 39) nm, en bon accord avec le $D_{SEM_average_area-eq}$ obtenu pour le TiO₂-Drug ($128,4 \pm 2,1$ nm).

Pour conclure, le MEB permet pour une large gamme d'échantillons (différentes tailles, différentes formes, différents structures cristallines, issus de différents traitements) de quantifier les dimensions des particules constitutives avec une bonne répétabilité dans les mesures. La majorité des échantillons étudiés sont polydispersés et/ou polymorphes. En MEB, des diamètres moyens équivalents à une surface projetée ont été déterminés à partir des distributions en tailles. Cette méthode nécessite un traitement particulier préalable à l'analyse et correspond à une analyse sur un nombre de particules restreint mais considéré comme représentatif de l'échantillon [25]. C'est la méthode de référence pour les mesures

dimensionnelles [26]. Afin de mieux comprendre les disparités décrites dans la littérature [27,28] sur les analyses dimensionnelles d'échantillons complexes, des techniques d'ensemble telles que le SAXS et le BET ont été utilisées pour accéder aux dimensions des particules et les comparer à celle obtenues par MEB.

3.2. Caractérisation dimensionnelle des particules de TiO₂ par SAXS

3.2.1. Protocole expérimental pour l'analyse SAXS et impact de la compacité sur l'intensité absolue

Les mesures SAXS ont été effectuées à l'aide de l'instrument chemSAXS (cf. section 0 du chapitre 2). Il est important de souligner qu'en SAXS, l'épaisseur effective de l'échantillon, liée à la transmission de ce dernier, est un paramètre important pour normaliser l'intensité et extraire le mesurande de surface spécifique.

Afin d'évaluer l'impact de cette épaisseur effective sur l'intensité du signal, deux pastilles de TiO₂-NM102 d'épaisseurs différentes ont été préparées de la façon suivante :

- Echantillon a) : La poudre a été déposée dans la pastille, dédiée à la mesure SAXS, sans compactage. Cet échantillon est considéré comme non-compact.
- Echantillon b) : La poudre a été compactée dans le but d'obtenir une épaisseur effective d'échantillon d'environ 100 µm sur la totalité du support. Cet échantillon est considéré comme étant compact.

Il est important de noter que le fait de compacter la poudre a une influence sur l'épaisseur mais également sur l'homogénéité de l'épaisseur. L'échantillon a) est donc inhomogène en épaisseur contrairement à l'échantillon b. La photographie des échantillons est présentée sur la Figure 41.

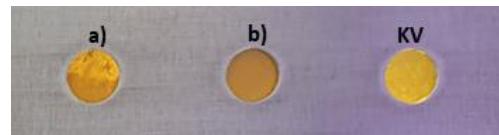


Figure 41 : Photographie des deux échantillons de TiO_2 -NM102 avec, a) la pastille inhomogène, b) la pastille homogène et compacte et KV le scotch en kapton vide « ligne de base »

Pour analyser l'homogénéité de l'épaisseur des échantillons, des mesures de transmission sur toute la hauteur de la pastille de TiO_2 ont été effectuée. L'expérience consiste à faire varier la hauteur Z de l'échantillon par rapport au faisceau et à mesurer l'intensité transmise par ce dernier.

La Figure 42 montre l'intensité transmise en fonction de la position en Z de la pastille (gauche) ainsi que les courbes SAXS de l'intensité absolue en fonction du vecteur de diffusion, q (droite) pour différentes positions en Z.

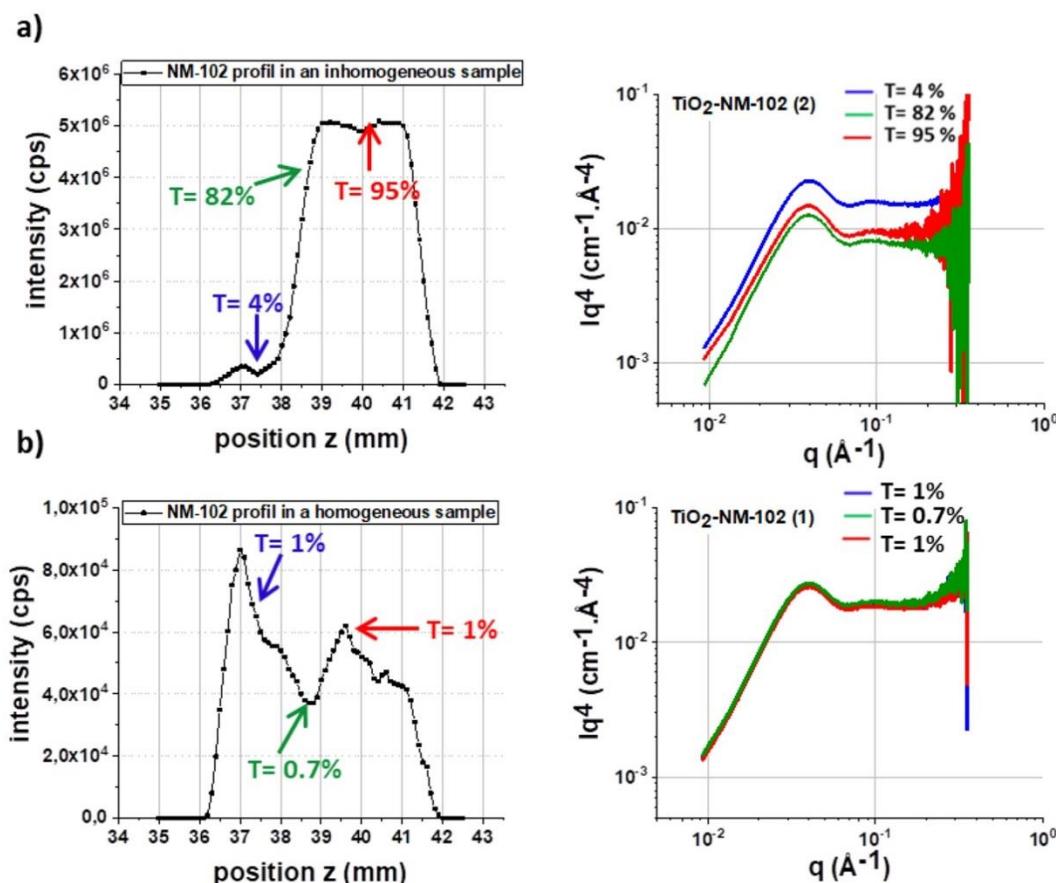


Figure 42 : Impact de l'homogénéité et de la transmission de l'échantillon sur les mesures SAXS, avec à gauche les profils d'intensité et à droite les courbes obtenues pour différentes valeurs de transmission. Ces mesures ont été réalisées sur deux patilles de TiO_2 -NM102 a) une pastille inhomogène, et b) une pastille homogène.

Une variation importante de l'intensité transmise en fonction de la hauteur Z de l'échantillon a été observée pour l'échantillon a). En effet entre 36 mm et 38 mm, seul 4% du signal est transmis traduisant à cette position une épaisseur plus importante. Au-delà de 38 mm quasiment tout le signal est transmis. Cela peut s'expliquer par la sédimentation de la poudre au fond de la pastille.

Concernant l'échantillon b), une faible variation, de 0,7 % à 1,0 %, a été observée pour l'intensité transmise sur toute la hauteur de l'échantillon. Nous pouvons en conclure que cet échantillon est bien homogène et compact.

Sur les courbes SAXS prises en différentes positions de la pastille nous observons une nette différence entre les résultats de la pastille non homogène (échantillon a) et ceux de la pastille homogène (échantillon b). En effet, pour la pastille non-homogène, les spectres obtenus à trois positions différentes sont identiques mais ne se superposent pas alors qu'ils sont en intensité absolue et donc normalisés par l'épaisseur de l'échantillon. Ces variations de courbes induisent une dispersion des valeurs des limites de Porod et donc de la surface spécifique. A l'inverse, pour l'échantillon b compact, les courbes se superposent parfaitement.

Nous pouvons conclure qu'il est important de préparer l'échantillon de façon homogène afin d'avoir des mesures reproductibles et représentatives de l'échantillon.

Bien qu'homogène sur toute l'épaisseur de l'échantillon, les mesures réalisées avec le montage ChemSAXS montrent une transmission faible ($T=1\%$ environ), puisqu'ils sont trop épais pour une telle énergie (8kV). La valeur optimale de la transmission est de 30 % pour obtenir une mesure fiable [29]. Pour valider les résultats chemSAXS avec 1% de transmission, un faisceau de rayons-X plus énergétique (17keV) et plus pénétrant a été utilisé pour analyser la pastille compacte de TiO₂-NM102 (échantillon b).

La surface spécifique $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ est déterminée à partir de la limite asymptotique de Porod (cf. le chapitre 2 section 2.2.5). Le diamètre équivalent $D_{\text{Porod_eq SSA}}$ est également

déterminé. Les résultats des mesures effectuées sur les deux pastilles de TiO₂-NM102 réalisés avec les deux instruments (chemSAXS et MOMAC) sont présentés dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Mesures SAXS réalisées pour différentes valeurs de transmission sur deux pastilles de TiO₂-NM102 (inhomogène et homogène). Les résultats présentés correspondent aux mesures de deux montages différents (chemSAXS et MOMAC) avec $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ la surface spécifique issue de la limite de Porod et $D_{\text{Porod eq SSA}}$ le diamètre équivalent associé.

Instrument	Echantillon	Transmission (%)	Epaisseur (μm)	Limite de Porod ($\text{cm}^{-1}\cdot\text{\AA}^4$)	$\Sigma_{\text{Porod SSA}} (\text{m}^2/\text{g})$	$D_{\text{Porod eq SSA}} (\text{nm})$
chemSAXS 8keV	échantillon a inhomogène	95	1,4	0,0093	37,5	40,7
		82	4,6	0,0079	31,7	48,1
		4	72,0	0,015	61,7	24,7
	échantillon b homogène	1	100,0	0,018	72,8	21,0
		1	120,0	0,019	78,5	19,4
		1	100,0	0,019	76,9	19,9
MOMAC 17keV	échantillon b homogène	62	86,0	0,019	76,4	20,0

Comme attendu, l'échantillon b, a une transmission bien plus importante à 17 keV qu'à 8 keV, 62 % contre 1 % respectivement. Les mesures MOMAC sur cet échantillon sont donc fiables et peuvent être utilisées comme mesure de référence.

Dans le Tableau 17, sont présentés les résultats des surfaces spécifiques $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ et des diamètres équivalents $D_{\text{Porod eq SSA}}$ calculés pour cette étude à partir des limites de Porod (

Équation : 13). Les mesures de surfaces spécifiques et de diamètres équivalents de l'échantillon a) et de l'échantillon b) obtenus avec le ChemSAXS sont, comme pour la transmission, très différents. Elles sont très variables pour l'échantillon a), variant de 31,7 m²/g à 61,7 m²/g pour la surface spécifique et de 24,7 nm à 41,1 nm pour le diamètre équivalent $D_{\text{Porod eq SSA}}$ en fonction de la position Z et de la transmission. Cela s'explique par l'inhomogénéité de cet échantillon.

Les valeurs de surfaces spécifiques et de diamètres équivalents sont nettement moins dispersées pour l'échantillon b), variant de 72,8 m²/g à 78,5 m²/g et de 19,4 nm à 21,0 nm. Cela montre une nouvelle fois l'homogénéité de cet échantillon.

Les valeurs de surfaces spécifiques et de diamètres équivalents mesurées sur l'échantillon a) varient en fonction de la position de mesure, mais sont également très différentes des valeurs obtenus pour l'échantillon b) compact et homogène.

En revanche, les valeurs obtenues sur les 2 montages (à 2 énergies) et pour différentes positions de l'échantillon b), sont comparables avec une faible dispersion. Ainsi, en moyenne, nous obtenons pour la surface spécifique 76,1 m²/g avec le montage ChemSAXS et 76,4 m²/g avec le montage MOMAC. Pour le diamètre équivalent, 20,1 nm pour le montage ChemSAXS et 20,0 nm pour la mesure de référence MOMAC.

Ainsi, nous pouvons conclure que sous réserve d'une préparation adaptée d'échantillon, il est possible d'utiliser les résultats issus du montage ChemSAXS, bien que l'énergie utilisée soit faible pour des échantillons compacts et associée à des valeurs de transmission faibles. Dans la suite du chapitre, trois positions minimum sont sondées par le faisceau pour chaque pastille analysée.

3.2.2. Surfaces spécifiques et diamètres équivalents obtenus par SAXS

Pour la caractérisation dimensionnelle des nanoparticules, nous avons fait le choix d'extraire la surface spécifique des données SAXS via la loi de Porod (Équation : 12), puis d'en déduire le diamètre équivalent. Ce choix nous permet d'avoir une analyse globale et totalement représentative de l'échantillon tout en utilisant un processus de mesure simple.

Équation : 12

$$\lim_{q \rightarrow \infty} I q^4 = 2\pi \times \Delta\rho^2 \times \Sigma_{Porod} VSSA$$

Avec, I , L'intensité absolue en cm⁻¹, q le vecteur de diffusion en Å⁻¹, $\Delta\rho$ la différence de densité de longueur de diffusion entre les deux milieux, à définir à partir de la densité électronique des éléments et Σ_{VSSA} , la surface spécifique de l'échantillon (surface par unité de volume) en cm⁻¹.

La même méthodologie de préparation d'échantillon pour l'analyse SAXS (détaillée dans la section 3.2.1) est appliquée pour les neuf échantillons de TiO₂.

La Figure 43 illustre les courbes ChemSAXS et les plateaux de Porod obtenus pour les différents échantillons de TiO₂ étudiés. La limite de Porod utilisée pour déterminer les surfaces spécifiques est indiquée en pointillés sur la Figure 43.

Tout d'abord, nous pouvons constater que tous les échantillons présentent l'allure caractéristique de Porod dans la gamme de q choisie (entre 9.10⁻³ Å⁻¹ et 6.10⁻¹ Å⁻¹). La limite de Porod est clairement définie sur une large gamme de q pour les références et l'échantillon de synthèse. En revanche, pour l'additif E171 et les poudres extraites (TiO₂-Drug, TiO₂-Food et TiO₂-Paint) le plateau de Porod s'étend sur une gamme de q limitée par une diminution du rapport signal/bruit au-delà de (q > 1.10⁻¹ Å⁻¹). Cela peut être lié à la plus grande taille des particules extraites (évaluée par MEB dans la section 3.1) qui donne une surface spécifique plus faible et donc une intensité diffusée plus faible aux grandes valeurs de q.

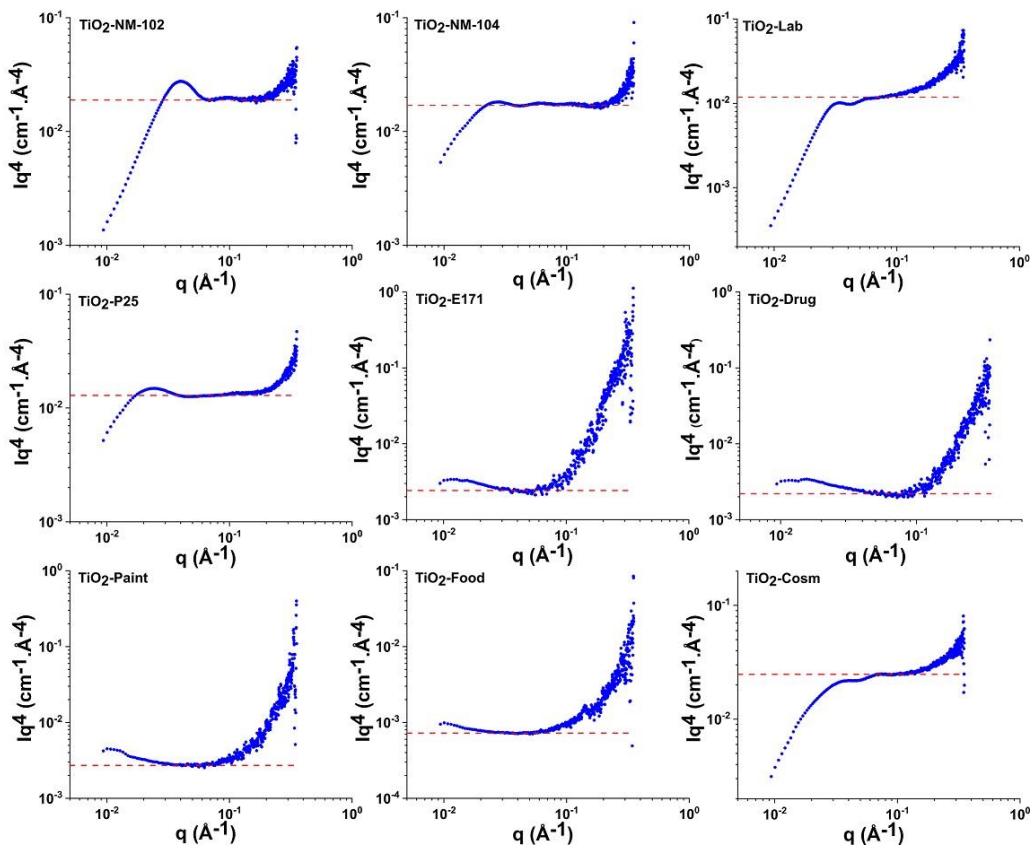


Figure 43 : Les courbes chemSAXS obtenues pour les échantillons de TiO_2 avec une transmission <10% et selon la représentation $Iq^4=f(q)$ (pour faire apparaître le plateau de Porod illustré en pointillés rouges).

De la même manière, les échantillons ont été analysés par l'instrument MOMAC ($E = 17 \text{ keV}$) afin d'étendre l'analyse sur une plus grande gamme de q et obtenir un meilleur rapport signal sur bruit dans cette même gamme de q (Figure 44).

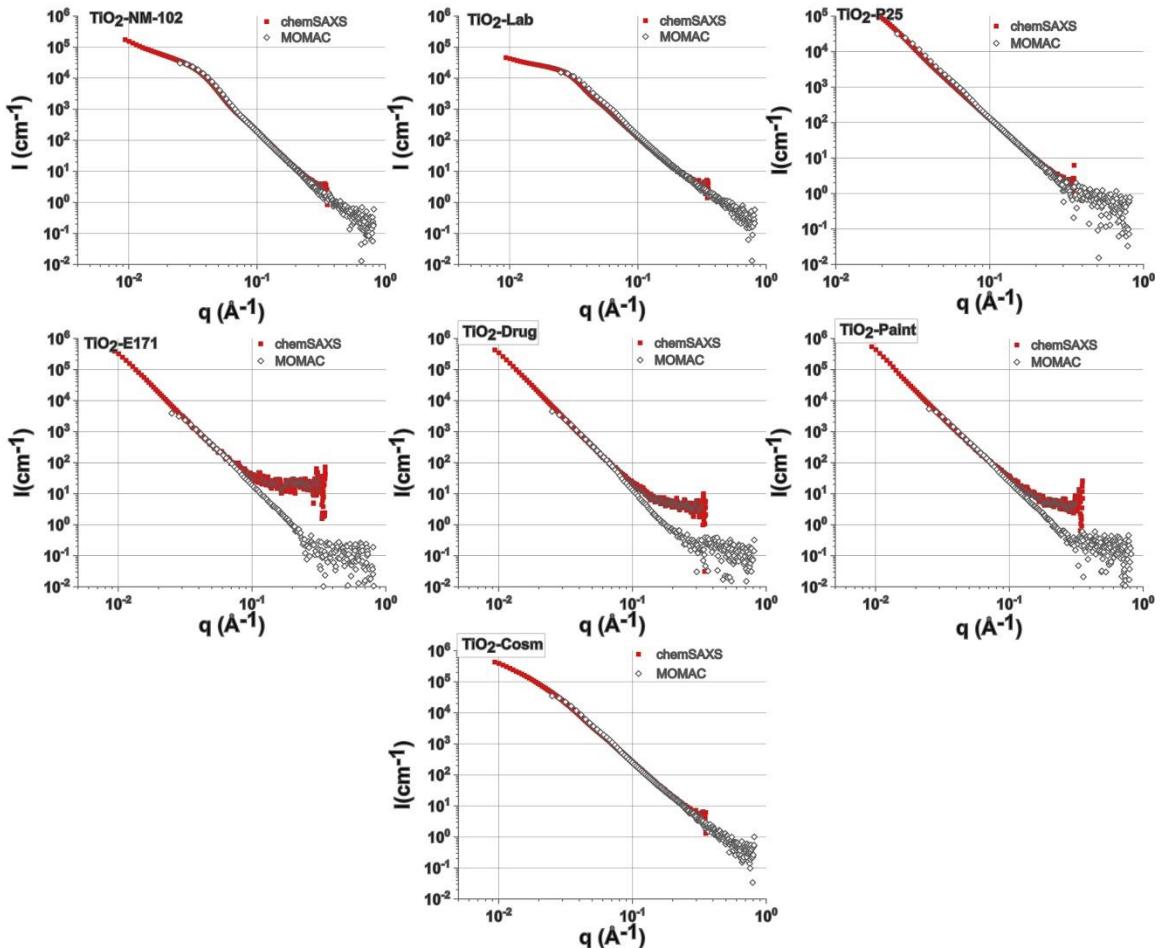


Figure 44 : Courbes de diffusion des échantillons de TiO_2 obtenus par deux instruments différents (chemSAXS en rouge et MOMAC en vert) selon la représentation $I=f(q)$

La Figure 44 présente les courbes de diffusions sur les échantillons d'études obtenus par les deux montages différents (ChemSAXS et MOMAC). Elle met en évidence l'accord entre les deux montages (chemSAXS et MOMAC) et la continuité de la limite de Porod vers des valeurs plus grandes du vecteur q . Un écart plus important est observé pour les particules de grandes tailles ($> 100 \text{ nm}$), où le rapport signal/bruit décroît rapidement pour l'instrument chemSAXS, (vers 10^{-1} Å^{-1}) réduisant ainsi la zone du plateau de Porod. L'analyse sur le montage MOMAC ($E= 17 \text{ keV}$) permet donc de montrer que la limite de Porod s'étend sur une large gamme de q (jusqu'à $2 \cdot 10^{-1} \text{ Å}^{-1}$ pour les grosses particules ($\text{TiO}_2\text{-E171}$, le $\text{TiO}_2\text{-Drug}$ et le $\text{TiO}_2\text{-Paint}$) et $8 \cdot 10^{-1} \text{ Å}^{-1}$ pour les plus petites). Les résultats MOMAC sont présentés dans l'Annexe 8.

Pour l'analyse de la limite de Porod et l'extraction de la surface spécifique, la valeur des contrastes de densité de longueur de diffusion est importante. Pour les poudres de TiO₂, le contraste des densités de longueur de diffusion (SLD pour scattering length density en anglais) entre le TiO₂ pur et l'air est égal à $3,18 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ et $3,42 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ pour les phases anatase et rutile respectivement et $3,22 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ pour le TiO₂-P25 qui contient un mélange d'anatase (82%) et de rutile (18%). Cette approximation de pureté du matériau établie pour le calcul de la SLD n'est certainement pas valable pour tous les échantillons, notamment pour le TiO₂-Food. En effet, les analyses chimiques préliminaires ont montré la présence de 25% de TiO₂ dans cet échantillon et 75% d'autres éléments (C, Si, Mg et Ca) avec en particulier une majorité de cire résiduelle (cf. paragraphe 2.3). Pour cet échantillon, l'intensité a été normalisée en considérant la composition obtenue par ICP-OES (25 % de TiO₂ et 75% de cire) et la surface spécifique a été calculée en prenant en compte le contraste des SLD entre le TiO₂ et la cire (présenté comme TiO₂-Food (**)) avec une SLD = $2,4 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ dans le Tableau 18). Les résultats obtenus à l'aide de l'instrument chemSAXS pour les échantillons de TiO₂ sont résumés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Les surfaces spécifiques moyennes et les diamètres équivalents moyens de Porod obtenus pour plusieurs mesures sur les 9 échantillons de TiO₂ en poudre. Des écart-types de répétabilité (u_R) ont été estimées en fonction du nombre de mesures réalisées pour chaque échantillon.

Echantillon	Transmission (%)	Limite de Porod ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{\AA}^4$)	Nombre de mesures	$\Sigma_{\text{Porod SSA}} \pm u_{R-\Sigma \text{Porod SSA}}$ (m^2/g)	$D_{\text{Porod eq SSA}} \pm u_{R-D_{\text{Porod eq SSA}}$ (nm)
TiO₂-NM 102	1,0	0,0185	13	$74,5 \pm 5,3$	$20,6 \pm 1,7$
TiO₂-NM 104	1,6	0,0174	4	$56,0 \pm 6,2$	$25,6 \pm 2,9$
TiO₂-Lab	0,7	0,0123	8	$49,6 \pm 4,9$	$31,1 \pm 3,3$
TiO₂-P25	7,2	0,0130	4	$48,4 \pm 2,2$	$31,1 \pm 1,4$
TiO₂-E171	0,01	0,0025	11	$10,3 \pm 1,3$	$151,1 \pm 18,8$
TiO₂-Drug	0,07	0,0023	8	$9,1 \pm 0,2$	$167,0 \pm 4,0$
TiO₂-Paint	0,1	0,0028	2	$9,0 \pm 0,2$ (*)	$156,9 \pm 3,2$
TiO₂-Food	1,3	0,0007	4	$2,8 \pm 0,2$	$549,5 \pm 41,6$
TiO₂-Food(**)	1,3	0,0007	4	$4,9 \pm 0,4$	$313,3 \pm 23,7$
TiO₂-Cosm	0,7	0,0251	8	$81,3 \pm 3,6$	$17,5 \pm 0,7$

(*) Le nombre de mesures étant réduit l' u_R correspond ici à l'écart entre les deux valeurs.

(**) Calcul de surface spécifique effectué en considérant 25% de TiO₂ et 75% de cire dans la poudre extraite.

(***) Calculé avec une hypothèse de sphéricité des particules, où K=3

Comme pour les autres techniques, détaillées dans les sections précédentes, les deux références de TiO₂-NM102 et NM104 ont été analysées par SAXS dans le cadre du projet Nanogenotox [1]. Dans le rapport du JRC, les tailles des particules des deux échantillons ont été extraites de deux manières différentes ; d'abord via un modèle unifié de Beaucage donnant accès aux diamètres de giration des particules primaires, puis en évaluant la quantité totale d'interface entre les deux phases (l'air et le TiO₂) à partir de laquelle une surface spécifique et un diamètre équivalent de Porod peuvent être déterminés. Pour comparer les mesures SAXS avec nos résultats, seuls les diamètres équivalents et la surface spécifique déterminés par la loi de Porod sont considérés. Dans notre cas, des D_{Porod_eq SSA} de 20,6 nm (avec une surface spécifique de 74,5 m²/g) et 25,6 nm (avec une surface spécifique de 56,0 m²/g) ont été obtenus pour le TiO₂-NM102 et TiO₂-NM104 respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par le JRC pour le TiO₂-NM-104 (diamètre de 27 nm avec une surface spécifique de 52,4 ± 2,1 m²/g). En revanche, une surface spécifique de 12% supérieure aux valeurs du JRC est observée pour le TiO₂-NM102 (diamètre de 22 nm avec une surface spécifique de 65,6 ± 3,3 m²/g pour le JRC). Cette différence peut être expliquée par le fait qu'ils ont utilisé la même densité (4,23 g.cm⁻³) et donc la même densité de longueur de diffusion (SLD) pour tous les échantillons alors qu'il s'agit de deux phases différentes (anatase pour le TiO₂-NM102 et rutile pour le TiO₂-NM104) [1]. En retraitant la valeur de la limite de Porod, publiée par le JRC pour le TiO₂-NM102, avec la densité (et la SLD) de la phase anatase, la surface spécifique passe de 65,6 m²/g à 81,9 m²/g). Une valeur plus proche de nos mesures (74,5 ± 5,3 m²/g).

Des diamètres D_{Porod eq SSA} comparables ont été trouvés pour les échantillons TiO₂-P25 ((31,1 ± 1,4) nm) et TiO₂-Lab ((31,1 ± 3,3) nm). Pour le TiO₂-P25, ce résultat est en accord avec le diamètre de 29,6 nm mesuré à partir de l'approche de la loi de Guinier par Guo et al [30].

Les résultats chemSAXS de l'additif TiO₂-E171 et des particules extraites TiO₂-Drug et TiO₂-Paint présentent des valeurs D_{Porod eq SSA} similaires (avec 151,1 ± 18,8 nm, 167,0 ± 4,0 nm et 156,9 ± 2,4 nm, respectivement).

Par ailleurs, un $D_{\text{Porod eq SSA}}$ beaucoup plus élevé a été mesuré pour le TiO₂-Food, alors que les images MEB ont montré que ces particules sont similaires aux trois précédentes (Figure 40). Cette divergence peut s'expliquer par la faible teneur en TiO₂ dans la poudre extraite du TiO₂-Food (25 %). Ce paramètre induit un fort biais dans l'analyse SAXS. Il est possible de corriger la valeur $D_{\text{Porod eq SSA}}$ pour le TiO₂-Food en considérant une proportion de cire à 75% avec 25% de TiO₂. La valeur $D_{\text{Porod eq}}$ ainsi obtenue est plus faible ($313,3 \pm 23,7$ nm) que la première valeur ($549,5 \pm 41,6$ nm) mais reste éloignée de celles des particules de la même famille (à savoir, TiO₂-E171, TiO₂-Drug et TiO₂-Paint). Nous n'avons considéré que la cire pour le traitement des données, cependant d'autres impuretés ont été identifiées dans cet échantillon selon les données ICP-OES et XPS. Il faudrait une méthode d'extraction plus efficace pour atteindre un pourcentage de TiO₂ plus important dans la poudre finale.

L'échantillon TiO₂-Cosm présente une surface spécifique plus élevée que les autres échantillons extraits de produits finis avec une $\Sigma_{\text{Porod SSA}}$ de $81,3 \pm 3,6$ m²/g. Cette valeur montre que ce cet échantillon extrait contient des particules de TiO₂ plus petites que les autres échantillons. Ceci souligne la variété du TiO₂ incorporés dans les produits manufacturés.

Ces résultats montrent que la limite de Porod permet d'accéder aux surfaces spécifiques de poudre de TiO₂ de différentes tailles et structures cristallines. Cependant, pour explorer cette méthode d'extraction de la surface spécifique sur une large gamme de taille de particules, il est nécessaire de bien connaître la composition des échantillons. En effet, pour s'affranchir de la connaissance de la composition, il faudrait pouvoir exploiter toute la gamme de q et extraire l'invariant de la courbe expérimentale [29], ce qui n'est pas possible pour les particules de grandes tailles. En effet pour les particules dont la taille est supérieure à 150 nm, il faudrait atteindre le régime de Guinier à $q < 0,0013 \text{ \AA}^{-1}$ non accessible avec nos outils de laboratoire.

En première approximation, pour ces différents matériaux, le diamètre $D_{\text{Porod eq SSA}}$ peut être extrait des surfaces spécifiques avec une hypothèse de sphéricité des particules.

3.3. Mesures BET et comparaison des surfaces spécifiques BET/SAXS

Pour la détermination de la surface spécifique des matériaux sous forme de poudre, la BET est une technique de caractérisation indirecte et intégrale communément utilisée. Etant très reproductible et bien maîtrisée, la BET est considérée comme la méthode de référence pour l'évaluation de la surface spécifique des matériaux sous forme de poudre [31,32]. Une analyse BET a donc été réalisée pour chacun des échantillons de TiO₂, excepté pour le TiO₂-Drug et TiO₂-Food en raison d'une quantité extraite insuffisante pour ce type d'analyse.

Les isothermes obtenues sont présentées sur la Figure 45. Elles représentent la quantité de gaz adsorbée en fonction de la pression relative.

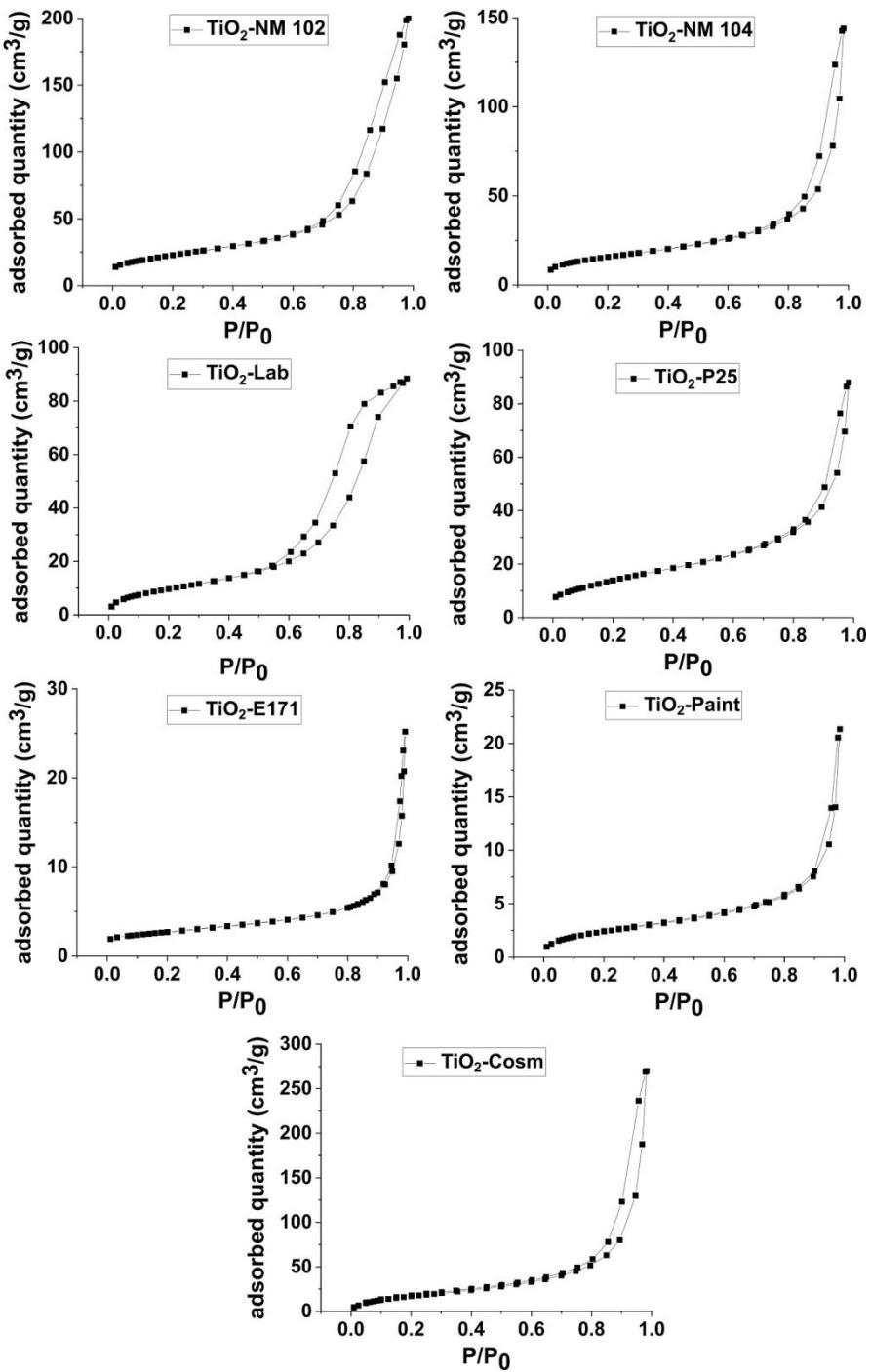


Figure 45 : Isothermes BET correspondants aux échantillons de TiO_2 analysés

Les échantillons analysés présentent des isothermes de Type IV avec des hystérésis de type H1 [33]. Ce type d'isotherme correspond généralement à des particules non poreuses mais agglomérées. Les interstices qui forment des mésopores entre les particules agglomérées sont à l'origine de cette hystérésis observée. La formation des mésopores entre

les particules est due au phénomène d'agglomération. En effet, les agglomérations des particules sont généralement dues à l'énergie de surface élevée des particules. Ces dernières ont tendance à s'agglomérer pour réduire cette énergie conduisant à un système plus stable thermodynamiquement [34]. En effet, pour passer d'un état de faibles liaisons moléculaires à un état impliquant un nombre important de liaisons, l'énergie du système varie négativement témoignant d'une réaction exothermique.

La BET comme le SAXS permet d'accéder au mesurande de surface spécifique. Il est donc possible d'effectuer une comparaison entre les mesures de surface spécifique par BET et par SAXS. La Figure 46 illustre le bilan des surfaces spécifiques (Σ) mesurées par ces deux techniques indirectes.

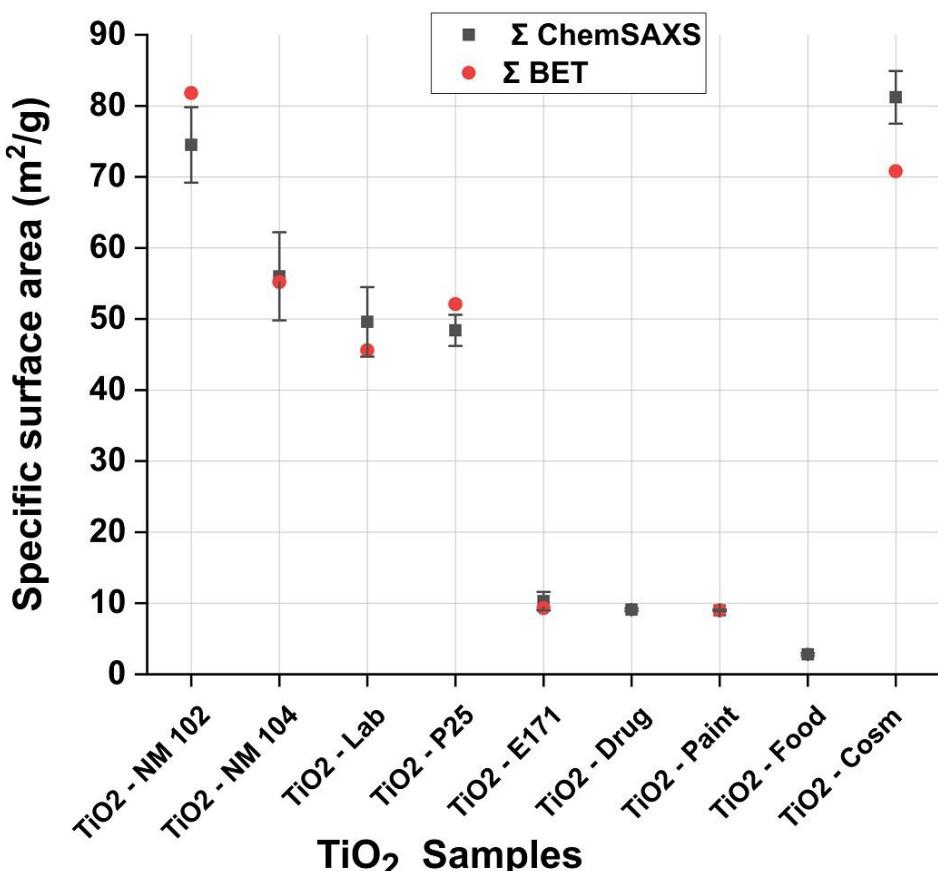


Figure 46 : Les surfaces spécifiques obtenues par SAXS et BET pour les échantillons de TiO₂

La surface spécifique BET la plus élevée (~80 m²/g) a été mesurée pour le TiO₂-NM102 et le TiO₂-Cosm. Le TiO₂-NM104, le TiO₂-Lab et le TiO₂-P25 ont une surface spécifique autour

de 50 m²/g. Enfin le TiO₂-E171, le TiO₂-Paint et le TiO₂-Drug présentent la valeur la plus basse autour de 10 m²/g. Dans le rapport du JRC, des données similaires ont été obtenues pour les mesures BET concernant le TiO₂-NM102 et le TiO₂-NM-104 [1]. Les résultats BET obtenus pour le TiO₂-P25 et l'additif TiO₂-E171 sont conformes à ceux publiés dans de précédents travaux [2,4,30].

Concernant le TiO₂-Drug et le TiO₂-Food seules des mesures chemSAXS ont été réalisées.

Pour la plupart des échantillons étudiés, aucune divergence significative (en prenant en compte les incertitudes de répétabilité du SAXS) n'est observée entre les surfaces spécifiques obtenue par SAXS et BET. Un bon accord est obtenu entre les mesures BET et chemSAXS pour toutes les particules de TiO₂ à l'exception du TiO₂-Cosm qui présente une surface spécifique SAXS 13% plus élevée que celle du BET. Il est important de souligner l'absence de mesures multiples et donc de mesure d'erreur de répétabilité pour la BET qui pourrait couvrir ces différences.

Ces deux techniques (le SAXS, via la loi de Porod et la BET via le volume de N₂ adsorbé) sont adaptées pour évaluer la surface spécifique. Elles permettent également d'extraire une taille moyenne des particules avec une hypothèse sur la forme des particules. Ce sont des méthodes d'ensemble qui donnent une valeur représentative de la totalité de l'échantillon, mais qui ne permettent pas (si on se limite à la région de Porod pour le SAXS) d'évaluer la polydispersité ou le polymorphisme des échantillons étudiés.

3.4. Comparaison des diamètres équivalents SAXS-BET/MEB

Un diamètre équivalent (en supposant la sphéricité des particules) a été calculé à partir des données SAXS ($D_{\text{Porod eq SSA}}$) et BET ($D_{\text{BET eq SSA}}$) et comparé au diamètre physique mesuré par MEB. Tous les résultats sont présentés dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Diamètres équivalents obtenus par SAXS, BET ET MEB. U_R étant les répétabilités calculées sur le nombre de mesures réalisées et Δ l'écart relatif entre les mesures.

Echantillon	SAXS	BET (*)	Ecart relatif entre SAXS et BET	MEB	Ecart relatif entre SAXS et MEB
	D_{Porod eq SSA}			D_{SEM Average area-eq}	
	$\pm U_R \cdot D_{Porod \text{ eq SSA}}$	D_{BET eq SSA (nm)}	$\Delta_{SAXS-BET} (\%)$	$\pm U_R \cdot D_{SEM \text{ average}}$	$\Delta_{SAXS-MEB} (\%)$
TiO₂-NM 102	20,6 ± 1,7	18,7	10	26,8 ± 3,1	23
TiO₂-NM 104	25,6 ± 2,9	25,7	0,4	27,3 ± 0,5	6
TiO₂-Lab	31,1 ± 3,3	33,5	7	21,1 ± 0,9	48
TiO₂-P25	31,1 ± 1,4	28,8	8	25,8 ± 1,2	20
TiO₂-E171	151,1 ± 18,8	164,3	8	110,2 ± 4,4	37
TiO₂-Drug	167,0 ± 4,0	-	-	128,4 ± 2,1	30
TiO₂-Paint	156,9 ± 2,4	157,4	0,3	146,6 ± 2,5	7
TiO₂-Food	549,5 ± 41,6	-	-	133,2 ± 3,9	313
TiO₂-Cosm	17,5 ± 0,7 (**)	20,0 (**)		27,9 ± 0,9	37
TiO₂-Cosm (Feret max et min)	13,4 ± 0,6 (***)	15,4 (***)	NC	D _{Fmax} = 51,9 ± 1,0 D _{Fmin} = 15,8 ± 2,8	NC

(*) Une seule mesure BET a été réalisée pour chaque échantillon, l'écart-type U_R de répétabilité n'a donc pas pu être calculé.

(**) Calculé avec une hypothèse de particules anisotropes, où $K=3$

(***) Calculé avec une hypothèse de particules anisotropes, où $K=2,3$ dans l'

Équation : 15

NC : Non calculé

Comme détaillé dans la 2.2.5 du chapitre 2 et d'après les travaux de Wohlleben et al [32], un lien peut être fait entre la VSSA (ou SSA) et la dimension minimum de la particule ($D_{min \text{ VSSA}}$). Ce dernier dépend de la forme des nano-objets et peut être corrigé avec le facteur K via l'

Équation : 13. Ce facteur K est égale à 3 quand les particules sont sphériques ou quasi-sphériques avec 3 dimensions inférieurs à 100 nm, il est égale à 2 pour les particules

allongées (avec 2 dimension nanométriques et une dimension infinie), et K est égale à 1 pour les nano-objets sous forme de plaquettes [32].

Équation : 13

$$D_{\min VSSA} = \frac{2 \times K \times 10^3}{\Sigma_{VSSA}}$$

Avec $D_{\min VSSA}$ est le diamètre équivalent en nm, Σ_{VSSA} la surface spécifique par unité de volume mesurée en m^2/cm^3 et K est un facteur correctif lié à la forme des particules (correspondant aux nombres dimensionnels des particules inférieures à 100 nm) [32].

Comme attendu, puisque la même formule est utilisée pour passer d'une surface spécifique (Σ) à un diamètre équivalent de surface pour le SAXS et pour la BET, et que les surfaces spécifiques obtenues pour les 2 méthodes sont proches, les diamètres équivalents $D_{\text{Porod eq SSA}}$ et $D_{\text{BET eq SSA}}$ sont proches : 0,3 % et 10 % d'écart entre les valeurs.

En revanche, les diamètres équivalents obtenus par les méthodes indirectes SAXS et BET ($D_{\text{Porod eq SSA}}$ et $D_{\text{BET eq SSA}}$) peuvent être très différents des mesures de diamètres équivalent obtenus par la méthode directe qu'est le MEB (jusqu'à 50% de différence si on ne considère pas le TiO₂-food). Pour faciliter la lecture, nous avons choisi de présenter l'écart entre les mesures SAXS et les mesures MEB par la suite.

Pour le TiO₂-NM104, les trois diamètres équivalents sont similaires alors qu'une divergence est observée pour le TiO₂-NM102 (~23 % d'écart relatif entre les résultats MEB et SAXS). Dans le rapport du JRC, il a été indiqué que les particules du TiO₂-NM102 sont très agglomérées et difficilement dispersables ce qui a entraîné des difficultés de mesure de taille par MET [1]. Cette difficulté a aussi été observée dans notre cas.

Un écart similaire est également observé pour l'échantillon TiO₂-P25 (20 %). L'échantillon synthétisé, le TiO₂-Lab, présente $D_{\text{SEM Average area-eq}}$ égale à $21,1 \pm 0,9$ nm, une valeur 32 % plus faible que celle fournie par SAXS, où $D_{\text{porod eq SSA}} = 31,1 \pm 3,3$ nm. Pour ces échantillons, la polydispersité, l'état d'agglomération et la petite taille des particules (clairement observés sur les images MEB de la Figure 40) peuvent augmenter l'incertitude

de la mesure MEB et pourraient également influencer la détermination du diamètre équivalent à partir des données SAXS.

L'additif TiO₂-E171 est un échantillon fortement polydisperse en taille et en forme. Le D_{Porod_eq SSA} mesuré (D_{Porod eq SSA-TiO₂-E171}= 151,1 ± 18,8 nm) est supérieure à celui obtenu par microscopie électronique (D_{SEM Average area-eq E171}=110,2 ± 4,4 nm).

Des résultats similaires ont été obtenus pour les échantillons extraits (TiO₂-Drug, TiO₂-Paint, et TiO₂-Food) avec un D_{Porod eq SSA SAXS} supérieur à D_{SEM Average area-eq} mesuré par MEB (Tableau 19). Comme pour l'additif TiO₂-E171, ces trois échantillons présentent une très large distribution en taille (Figure 40).

Des différences significatives sont observées pour l'échantillon TiO₂-Food. En effet, le D_{Porod eq SSA SAXS} est 4 fois plus grand que le D_{SEM average area-eq}. Comme expliqué précédemment, cette divergence pourrait provenir des impuretés présentes dans cet échantillon. Il est certain que la présence d'autres éléments que le TiO₂ a un impact aussi bien au niveau de la mesure (présence d'un composé favorisant de fortes interactions entre les particules) qu'au niveau du traitement des données (hypothèse de pureté de l'échantillon pour le calcul de la transmission et de la surface spécifique à partir de la limite de Porod pour les mesures SAXS).

Pour l'échantillon TiO₂-Cosm, nous avons constaté, via les images MEB, qu'il s'agit de particules de forme différente (bâtonnets). Habituellement, le facteur K correctif utilisé est un nombre entier (1, 2 ou 3), mais dans notre cas nous allons adapter ce facteur à la forme apparente des nano-objets de TiO₂-Cosm qui présentent une forme allongée, avec un rapport d'aspect moyen de 0,3. Il est donc possible d'adapter ce facteur à la forme des particules en les assimilant à des cylindres de diamètre de disque D_{Fmin} et de hauteur D_{Fmax}, les deux diamètres de Feret déterminés au MEB. La surface spécifique par unité de volume d'un cylindre (S/V) va donc être exprimée en fonction du D_{Fmin} uniquement (Équation : 14).

Équation : 14

$$\Sigma_{VSSA} = \frac{S_{cylindre}}{V_{cylindre}} = \frac{4}{D_{Fmin}} + \frac{2}{D_{Fmax}}$$

Équation : 13 et lorsque $D_{F\min}=0,3 D_{F\max}$, on obtient :

Équation : 15

$$D_{\min \text{ eq VSSA}} = \frac{2 \times 2,3}{\Sigma_{\text{VSSA}}} \times 10^3$$

Avec Σ_{VSSA} la surface spécifique par unité de volume en m^2/cm^3 , $D_{\min \text{ VSSA}}$ le diamètre équivalent minimum du nano-objet en nm et $K=2,3$ le facteur correctif de forme.

Le Tableau 20 présente les deux dimensions minimum calculées à partir de la VSSA pour le TiO₂-Cosm, avec K=2 et K=2,3.

Tableau 20 : le diamètre équivalent minimum ($D_{\min \text{ VSSA}}$) déterminé à partir de la surface spécifique (Σ_{VSSA})

Echantillon	Σ_{VSSA} (en m^2/cm^3)	$D_{\min \text{ eq VSSA}}$ (en nm)	
		avec $K=2$	avec $K=2,3$
TiO₂-Cosm	343,4	11,7 ± 0,5	13,4 ± 0,6

Pour les particules anisotropes du TiO₂-Cosm, un $D_{\min \text{ eq VSSA}}$ de $(13,4 \pm 0,7)$ nm a été obtenu avec un facteur correctif de forme de 2,3. En parallèle, le $D_{\min \text{ eq VSSA}}$ avec un facteur K=2 a également été calculé et un diamètre plus petit a été obtenu (11,6 nm) et donc plus éloigné du $D_{F\min}$ mesuré au MEB. Pour cet échantillon, le même traitement de donnés a été appliqué dans la suite pour la méthode BET. Ces résultats mettent donc en évidence l'influence du facteur de forme sur les mesures effectuées.

Pour conclure sur les mesures réalisées, un écart est observé entre les diamètres équivalents ($D_{\text{Porod eq SSA}}$ et $D_{\text{Bet eq SSA}}$) obtenus par SAXS ou BET et le $D_{\text{SEM average area-eq}}$. Seuls les deux échantillons de référence TiO₂-NM102 et TiO₂-NM104 montrent un $D_{\text{Porod eq SSA}}$ plus petit que le $D_{\text{SEM average area-eq}}$. Pour la plupart des échantillons de TiO₂, le $D_{\text{Porod eq SSA}}$ est plus grand que le $D_{\text{SEM average area-eq}}$, avec des écarts allant de 6 % (TiO₂-NM104) à 48 % (TiO₂-Lab). Le cas du TiO₂-Food est particulier dans la mesure où l'échantillon analysé contient trop d'impuretés par rapport au TiO₂.

Ces résultats mettent en lumière la difficulté de mesurer et de comparer la taille des (nano)_objets à partir de mesurandes différentes [35]. Ce point a été largement soutenu par des études d'intercomparaison [36,37]. Des problèmes liés à la polydispersité en taille et en forme et aux difficultés d'extraction des particules ou de préparation d'échantillon ont été reportés.

3.5. Impact de la polydispersité sur les diamètres équivalents obtenus par SAXS et MEB

En comparant les diamètres équivalents déterminés par SAXS et MEB, des différences ont été observées (Tableau 19 et Figure 48). Dans un cas, la distribution en taille complète est obtenue alors que pour les mesures d'ensemble seule une valeur moyenne de taille est mesurée sans la distribution. Pour comparer les mesures SAXS/BET et MEB, nous allons prendre en compte la distribution en taille issus du MEB.

Deschamp et al [38] ont mis en évidence la forte influence de la polydispersité sur le rayon de Porod. En supposant une distribution lognormale des sphères, le rayon de Porod correspond au rayon d'une sphère ayant un rapport surface/volume équivalent calculé en prenant en compte la distribution en taille de l'échantillon étudié (Équation : 16).

Équation : 16

$$R_{Porod\ eq\ calc} = 3 \frac{V}{S} = 3 \frac{\int f(R) R^3 dR}{\int f(R) R^2 dR}$$

Deschamp et al [38] ont montré que pour une distribution lognormale, plus l'écart-type σ de cette distribution est grand et plus le rayon de Porod (calculé ou expérimental) diffère du rayon médian de la distribution lognormale.

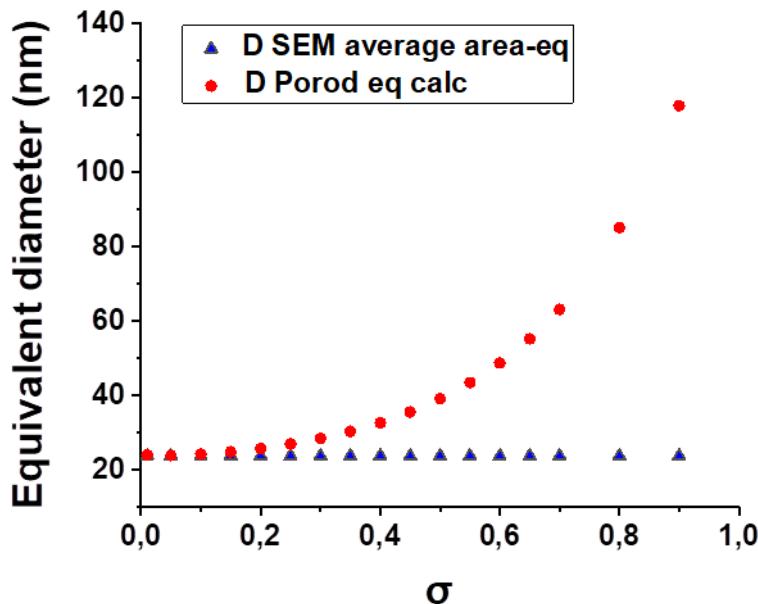


Figure 47 : Influence de l'écart-type de la distribution sur le $D_{SEM\ Average\ area-eq}$ et le $D_{Porod\ eq\ calc}$ pour un échantillon avec un diamètre moyen de 23,7 nm ($\mu = 2,85$)

La Figure 47 montre la variation du diamètre équivalent de Porod calculé ($D_{Porod\ eq\ calc}$) en fonction de l'écart-type de la distribution σ . L'écart entre $D_{Porod\ eq\ calc}$ et $D_{SEM\ Average\ area-eq}$ augmente avec l'élargissement de la distribution. En effet, une différence significative (c'est-à-dire supérieure à l'incertitude MEB) est observée à partir de $\sigma = 0,3$. Ce résultat est essentiel, car pour tous les échantillons étudiés (excepté pour le TiO₂-Cosm F_{min}), les écarts types σ sont $\geq 0,3$ (cf. Tableau 16).

La Figure 48 illustre les différents diamètres équivalents de Porod (mesurés et recalculés à partir de la distribution en taille issus du MEB) ainsi que les diamètres équivalents obtenus par MEB. Les $D_{Porod\ eq\ calc}$ présentés sur la Figure 48 sont les valeurs moyennes issues du calcul du diamètre de Porod pour les trois distributions lognormales obtenues par MEB.

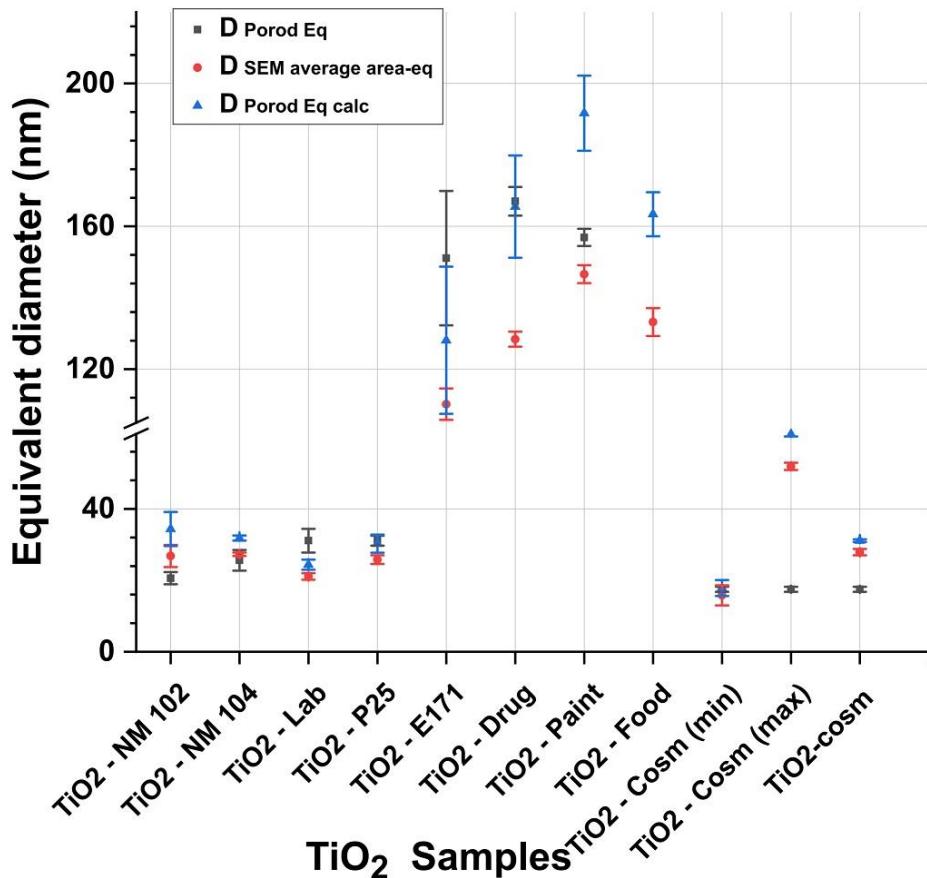


Figure 48 : Les diamètres équivalents mesurés par SAXS et MEB ainsi que les diamètres équivalents de Porod calculé à partir de la distribution en taille du MEB (avec les répétabilité en barres d'erreurs)

Par ailleurs, la Figure 48 indique que les $D_{\text{Porod eq calc}}$ sont systématiquement plus grands que les $D_{\text{SEM Average area-eq}}$. En effet, comme nous le montre la Figure 47, plus l'écart-type de la distribution log-normale est grand, plus la différence entre les deux diamètres équivalents est importante. Nous avons vu précédemment que les $D_{\text{Porod eq SSA}}$ expérimentaux sont très proches pour le TiO₂-E171 et les deux échantillons extraits de produits commerciaux, TiO₂-Drug et TiO₂-Paint. Ces similitudes ne sont pas observées pour les $D_{\text{Porod eq calc}}$, ceci est probablement dues à la différence observée entre les distributions (écart-types différents).

Le $D_{\text{Porod eq SSA}}$ mesuré pour le TiO₂-Food n'est pas représentée dans la Figure 48 car cette valeur est considérée comme aberrante.

Enfin, le cas du TiO₂-Cosm est distinct car le D_{Porod eq SSA} mesurée est presque identique à la valeur de D_{Porod eq calc} correspondant au D_{SEM Fmin}.

La prise en compte de la polydispersité en taille n'explique pas toutes les divergences observées entre le diamètre équivalent déterminé des mesures SAXS et MEB. Il semble que l'hypothèse de sphéricité des particules utilisée pour la description de la distribution granulométrique par MEB et pour la détermination du diamètre équivalent à partir de la loi de Porod soit également une forte limitation. De la même manière, des interactions entre particules peuvent exister sans qu'il soit possible de les identifier par MEB, ces interactions peuvent conduire à des variations dans les résultats comme le montre le paragraphe suivant.

4. Discussion sur l'influence des interactions inter-particulaires et de l'anisotropie sur les mesures SAXS-BET/MEB

Les interactions entre les particules peuvent conduire à des phénomènes d'agglomérations ou d'agrégations. Comme nous l'avons évoqué dans la partie sur les définitions des nanomatériaux (Chapitre 1 section 2.2), ces nano-objets peuvent se trouver sous forme isolée, agglomérée ou agrégée. Dans le cas des agglomérats, les particules se lient les unes aux autres par des liaisons faibles (comme les forces de Van-der-Waals ou électrostatiques) tout en étant tangentes les unes aux autres. Contrairement aux agglomérats, les agrégats sont constitués de nano-objets fortement liés entre eux (liaisons covalentes) et sont impossibles à séparer, car ce phénomène est irréversible (fusion partielle des particules) [39].

Ces phénomènes pourraient également expliquer les écarts observés pour les diamètres équivalents mesurés par SAXS ou BET et les diamètres équivalents mesurés par MEB (Tableau 19). Pour certains échantillons (TiO₂-Lab, TiO₂-E171, TiO₂-Drug, TiO₂-Paint et TiO₂-Food), la surface spécifique obtenue par les deux méthodes d'ensembles SAXS et BET présente une valeur trop faible par rapport à celle attendue. Ainsi, les diamètres équivalents (mesurés) obtenus pour ces échantillons, rapportés dans le Tableau 19, sont systématiquement

supérieurs à $D_{SEM\ Average\ area-eq}$. Ces valeurs sont dues à des surfaces spécifiques trop faibles pouvant provenir de la diminution de surface lorsque les particules sont agrégées ou agglomérées.

Définis comme des techniques indirectes, intégrales ou d'ensemble, la BET et le SAXS (Porod) analysent toutes les particules (constitutives, agglomérées et agrégées) en mesurant la surface spécifique totale accessible, et non la distribution en taille.

Les techniques de microscopie électronique, ne permettent pas de distinguer les liaisons fortes des liaisons faibles. Les mesures sont réalisées en tenant compte des particules constitutives et donc en mesurant les particules au sein des agrégats/agglomérats. Pour tous les échantillons de TiO_2 , $D_{SEM\ average\ area-eq}$ présente la taille moyenne des particules constitutives obtenue à partir des distributions en taille en nombre.

D'une part nous avons une méthode indirecte d'ensemble, le SAXS, (avec environ 10^{10} particules mesurées) représentative de l'échantillon étudié. D'autre part, nous avons une méthode directe et locale, le MEB, qui nous donne accès à la forme et à la plus petite dimension des particules (requise par la réglementation) mais où seulement 300 particules sont comptées sans distinguer les agglomérés des agrégats. Cela se traduit par un écart important en termes de diamètre équivalent entre ces deux types de techniques et démontre donc la présence d'interactions fortes (agrégats) entre les particules.

En plus de ces phénomènes d'interactions, la complexité de la forme semble être un réel facteur pour expliquer le désaccord entre les mesures SAXS (ou BET) et MEB. En effet, dans les deux cas une hypothèse de sphéricité est appliquée lors du traitement des données. Or, nous avons vu que les rapports d'aspects (évalués au MEB et présentés dans le Tableau 16) sont tous inférieurs à 1 (entre 0,7 et 0,9 pour les particules quasi-sphériques et 0,3 pour le TiO_2 -Cosm).

Pour une distribution lognormale de sphères monodisperses, la valeur calculée doit normalement être égale à la valeur expérimentale. Pour les particules de forme quasi-sphérique (TiO_2 -P25 et TiO_2 -Drug avec un rapport d'aspect de 0,9), le $D_{Porod\ eq\ calc}$ est similaire

au $D_{\text{Porod eq SSA}}$ mesuré (avec un $D_{\text{Porod eq calc}}$ de $30,3 \pm 2,5$ nm et un $D_{\text{Porod eq SSA}}$ de $31,1 \pm 1,4$ nm pour le TiO₂-P25, et un $D_{\text{Porod eq calc}}$ de $165,5 \pm 14,3$ nm et un $D_{\text{Porod eq SSA}}$ de $167,0 \pm 4,0$ nm pour le TiO₂-Drug). Les différences augmentent entre les deux diamètres (calculé et mesuré) lorsque les particules s'écartent fortement de la sphéricité (c'est-à-dire avec un rapport d'aspect inférieur ou égal à 0,8, Tableau 16).

Il est important de rappeler que le mesurande du MEB choisi ici est un diamètre équivalent à une sphère ayant la même surface projetée que la particule observée, et que le manque d'information dans les 3 dimensions de l'espace peut conduire à des résultats biaisés.

De la même manière, pour passer de la surface spécifique obtenue par SAXS ou BET au diamètre équivalent l'hypothèse de sphéricité est appliquée. En l'absence de MEB, Il faudrait exploiter les courbes sur une gamme de q plus étendue pour extraire le facteur de forme des particules afin de mieux quantifier le degré d'anisotropie des particules et adapter le facteur de conversion entre la surface spécifique et le diamètre équivalent.

Il est donc clair que ces deux paramètres, la polydispersité et la complexité de forme des particules, sont très importants et ont un impact non négligeable sur les résultats SAXS, BET et MEB.

Conclusion

L'objectif de ce chapitre était de comparer les dimensions mesurées pour différents types de particules de TiO₂ en utilisant des techniques différentes ayant des mesurandes distincts (la surface spécifique pour l'analyse Porod de diagramme SAXS et le BET et le diamètre équivalent à une sphère projetée pour le MEB).

Quatre des neuf échantillons de TiO₂ sélectionnés sont des extractions de produits finis commercialisés. Ces derniers ont fait l'objet d'une étape d'extraction en amont de chaque analyse. Cette étape dépend du produit sélectionné ainsi que des éléments le composant. Des impuretés ont été détectées dans la poudre extraite témoignant de la difficulté et de la spécificité de cette étape. Les techniques d'ensemble sensibles à la composition de l'échantillon pour l'analyse requièrent une connaissance parfaite de la composition du produit pour extraire une dimension. L'étape d'extraction est donc une étape clefs dans la caractérisation dimensionnelle des nanoparticules incluses dans un produit manufacturé.

Malgré les évaluations des hypothèses (composition et polydispersité en taille), les résultats de la comparaison des deux techniques montrent des divergences plus ou moins significatives entre D_{Porod eq SSA} et D_{SEM Average area-eq} pour les matières premières comme pour les échantillons extraits de produits finis. Ces résultats induisent des comparaisons difficiles entre les différents mesurandes, notamment pour les extractions qui nécessitent une phase d'extraction supplémentaire pouvant conduire à des phénomènes d'agglomérations/agrégation.

Les interactions entre les particules et la complexité de la forme semblent être les facteurs les plus influents sur les mesures de surface spécifique, ou des diamètres équivalents SAXS. Nous avons montré que l'approximation de sphéricité des particules peut très vite être une limite pour la description de la forme réelle des particules. De plus, la présence d'agrégats dans la poudre influence fortement la mesure de la surface spécifique par les techniques intégrales. Ces résultats illustrent les difficultés de la caractérisation des (nano)-particules mais montrent que les techniques utilisées dans cette étude (le MEB, le SAXS et la

BET) sont complémentaires et donnent accès à différents paramètres caractéristiques de la population de particules étudiée. Ces résultats ont été publiés.

Des études complémentaires peuvent être envisagées, comme les mesures de taille à partir de suspensions colloïdales (plutôt que sous forme de poudre) de ces mêmes échantillons sélectionnés par SAXS. Les suspensions colloïdales, pouvant être préparées de façon à casser le maximum d'agglomérats présents, permettront l'évaluation de la contribution des agrégats dans les mesures SAXS.

Références

- [1] K. Rasmussen, J. Mast, P.-J. De Temmerman, E. Verleysen, N. Waegeneers, F. Van Steen, J.C. Pizzolon, L. De Temmerman, E. Van Doren, K.A. Jensen, R. Birkedal, M. Levin, S.H. Nielsen, I.K. Koponen, P.A. Clausen, V. Kofoed-Sørensen, Y. Kembouche, N. Thieriet, O. Spalla, C. Guiot, D. Rousset, O. Witschger, S. Bau, B. Bianchi, C. Motzkus, B. Shivachev, L. Dimowa, R. Nikolova, D. Nihtanova, M. Tarassov, O. Petrov, S. Bakardjieva, D. Gilliland, F. Pianella, G. Ceccone, V. Spampinato, G. Cotogno, N. Gibson, C. Gaillard, A. Mech, Titanium Dioxide, NM-100, NM-101, NM-102, NM-103, NM-104, NM-105: Characterisation and Physico- Chemical Properties, 2014. doi:10.2788/79554.
- [2] W. Dudefou, H. Terrisse, M. Richard-Plouet, E. Gautron, F. Popa, B. Humbert, M.H. Ropers, Criteria to define a more relevant reference sample of titanium dioxide in the context of food: a multiscale approach, *Food Addit. Contam. - Part A.* (2017) 1–13. doi:10.1080/19440049.2017.1284346.
- [3] E. Verleysen, N. Waegeneers, F. Brassinne, S. De Vos, I.O. Jimenez, S. Mathioudaki, J. Mast, Physicochemical characterization of the pristine E171 food additive by standardized and validated methods, *Nanomaterials.* 10 (2020) 1–22. doi:10.3390/nano10030592.
- [4] O. Geiss, J. Ponti, C. Senaldi, I. Bianchi, D. Mehn, J. Barrero, D. Gilliland, R. Matissek, E. Anklam, Characterisation of food grade titania with respect to nanoparticle content in pristine additives and in their related food products, *Food Addit. Contam. - Part A.* 37 (2020) 239–253. doi:10.1080/19440049.2019.1695067.
- [5] W. Dudefou, H. Terrisse, A.F. Popa, E. Gautron, B. Humbert, M.H. Ropers, Evaluation of the content of TiO₂ nanoparticles in the coatings of chewing gums, *Food Addit. Contam. - Part A.* (2017) 1–11. doi:10.1080/19440049.2017.1384576.
- [6] E. Jang, K. Sridharan, Y.M. Park, T.J. Park, Eliminated Phototoxicity of TiO₂Particles by an Atomic-Layer-Deposited Al₂O₃Coating Layer for UV-Protection Applications, *Chem. - A Eur. J.* 22 (2016) 12022–12026. doi:10.1002/chem.201600815.
- [7] R. Dunford, A. Salinaro, L. Cai, N. Serpone, S. Horikoshi, H. Hidaka, J. Knowland, Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients, *FEBS Lett.* 418 (1997) 87–90. doi:10.1016/S0014-5793(97)01356-2.
- [8] M. Rossano, Utilisation des nanoparticules de dioxyde de titane dans les émulsions cosmétiques Impact sur la santé humaine et l ' environnement, Université du Havre, 2014.
- [9] A.O.T. Patrocínio, E.B. Paniago, R.M. Paniago, N.Y.M. Iha, XPS characterization of sensitized n-TiO₂ thin films for dye-sensitized solar cell applications, *Appl. Surf. Sci.* 254 (2008) 1874–1879. doi:10.1016/j.apsusc.2007.07.185.
- [10] V.G. Bessergenev, M.C. Mateus, A.M. Botelho Do Rego, M. Hantusch, E. Burkel, An improvement of photocatalytic activity of TiO₂ Degussa P25 powder, *Appl. Catal. A Gen.* 500 (2015) 40–50. doi:10.1016/j.apcata.2015.05.002.
- [11] I. de la Calle, M. Menta, M. Klein, F. Séby, Study of the presence of micro- and nanoparticles in drinks and foods by multiple analytical techniques, *Food Chem.* 266 (2018) 133–145. doi:10.1016/j.foodchem.2018.05.107.
- [12] W. Du

- defoi, Thesis, Titanium dioxide particles in food: characterization, fate in digestive fluids and impact on human gut microbiota, l'Université de Nantes sous le sceau de l'Université Bretagne Loir, 2017.
- [13] A. Philippe, J. Košík, A. Welle, J.M. Guigner, O. Clemens, G.E. Schaumann, Extraction and characterization methods for titanium dioxide nanoparticles from commercialized sunscreens, *Environ. Sci. Nano.* 5 (2018) 191–202. doi:10.1039/c7en00677b.
 - [14] N. Serpone, D. Dondi, A. Albini, Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products, *Inorganica Chim. Acta.* 360 (2007) 794–802. doi:10.1016/j.ica.2005.12.057.
 - [15] Xiaobo Chen and Samuel S. Mao, Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications, *Chem. Rev.* 107 (2007) 2891–2959. doi:<https://doi.org/10.1021/cr0500535>.
 - [16] Y.A. Shaban, A.A. El Maradny, R.K. Al Farawati, Photocatalytic reduction of nitrate in seawater using C/TiO₂ nanoparticles, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 328 (2016) 114–121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.05.018>.
 - [17] R.A. Spurr, H. Myers, Quantitative Analysis of Anatase-Rutile Mixtures with an X-Ray Diffractometer, *Anal. Chem.* 29 (1957) 760–762. doi:10.1021/ac60125a006.
 - [18] J.F. Porter, Y.-G. Li, C.K. Chan, The effect of calcination on the microstructural characteristics and photoreactivity of Degussa P-25 TiO₂, *J. Mater. Sci.* 34 (1999) 1523–1531. doi:10.1023/A:1004560129347.
 - [19] S. Bakardjieva, J. Šubrt, V. Štengl, M.J. Dianez, M.J. Sayagues, Photoactivity of anatase-rutile TiO₂ nanocrystalline mixtures obtained by heat treatment of homogeneously precipitated anatase, *Appl. Catal. B Environ.* 58 (2005) 193–202. doi:10.1016/j.apcatb.2004.06.019.
 - [20] J. Yu, H. Yu, B. Cheng, M. Zhou, X. Zhao, Enhanced photocatalytic activity of TiO₂ powder (P25) by hydrothermal treatment, *J. Mol. Catal. A Chem.* 253 (2006) 112–118. doi:10.1016/j.molcata.2006.03.021.
 - [21] B. Ohtani, O.O. Prieto-Mahaney, D. Li, R. Abe, What is Degussa (Evonic) P25? Crystalline composition analysis, reconstruction from isolated pure particles and photocatalytic activity test, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 216 (2010) 179–182. doi:10.1016/j.jphotochem.2010.07.024.
 - [22] N.B. Ghomrasni, C. Chivas-Joly, L. Devoille, J.F. Hochepied, N. Feltin, Challenges in sample preparation for measuring nanoparticles size by scanning electron microscopy from suspensions, powder form and complex media, *Powder Technol.* 359 (2020) 226–237. doi:10.1016/j.powtec.2019.10.022.
 - [23] A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. von Goetz, Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 2242–2250. doi:doi:10.1021/es204168d.
 - [24] J.J. Faust, K. Doudrick, Y. Yang, D.G. Capco, P. Westerhoff, A facile method for separating and enriching nano and submicron particles from titanium dioxide found in food and pharmaceutical products, *PLoS One.* 11 (2016) 1–15. doi:10.1371/journal.pone.0164712.
 - [25] L. CROUZIER, Developpement d'une nouvelle approche hybride combinant AFM et MEB pour la métrologie dimensionnelle des nanoparticules. Thèse Milieux denses et

matériaux. Poitiers : Université de Poitiers, UNIVERSITÉ DE POITIERS, UFR des sciences fondamentales et appliquées Pôle, 2020.

- [26] H. Rauscher, A. Mech, V. Kestens, R. Koeber, T.P.J. Linsinger, E.A. Stefaniak, Identification of nanomaterials through measurements (JRC science for policy report), 2019. doi:10.2760/053982.
- [27] Z.H. Chen, C. Kim, X.B. Zeng, S.H. Hwang, J. Jang, G. Ungar, Characterizing size and porosity of hollow nanoparticles: SAXS, SANS, TEM, DLS, and adsorption isotherms compared, *Langmuir*. 28 (2012) 15350–15361. doi:10.1021/la302236u.
- [28] B. Krause, T. Meyer, H. Sieg, C. Kästner, P. Reichardt, J. Tentschert, H. Jungnickel, I. Estrela-Lopis, A. Burel, S. Chevance, F. Gauffre, P. Jalili, J. Meijer, L. Böhmer, A. Braeuning, A.F. Thünemann, F. Emmerling, V. Fessard, P. Laux, A. Lampen, A. Luch, Characterization of aluminum, aluminum oxide and titanium dioxide nanomaterials using a combination of methods for particle surface and size analysis, *RSC Adv.* 8 (2018) 14377–14388. doi:10.1039/c8ra00205c.
- [29] O. Spalla, S. Lyonnard, F. Testard, Analysis of the small-angle intensity scattered by a porous and granular medium, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 338–347. doi:10.1107/s0021889803002279.
- [30] B. Viswanathan, K.J.A. Raj, Effect of surface area, pore volume and particle size of P25 titania on the phase transformation of anatase to rutile, *Indian J. Chem. - Sect. A Inorganic, Phys. Theor. Anal. Chem.* 48 (2009) 1378–1382.
- [31] V.-D. Hodoroaba, J. Mielke, Techniques evaluation report for selection of characterisation methods The NanoDefine Consortium 2015 (www.nanodefine.eu), 2015.
- [32] W. Wohlleben, J. Mielke, A. Bianchin, A. Ghanem, H. Freiberger, H. Rauscher, M. Gemeinert, V.D. Hodoroaba, Reliable nanomaterial classification of powders using the volume-specific surface area method, *J. Nanoparticle Res.* 19 (2017) 1–16. doi:10.1007/s11051-017-3741-x.
- [33] T.S. K.S.W. Sing, D.H. Everett, R.A.W. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotti, J. Rouquerol, Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity, *Pure Appl. Chem.* 57 (1985) 603–619. doi:10.1351/pac198254112201.
- [34] M.E. Mackay, A. Tuteja, P.M. Duxbury, C.J. Hawker, B. Van Horn, Z. Guan, G. Chen, R.S. Krishnan, General strategies for nanoparticle dispersion, *Science (80-.).* 311 (2006) 1740–1743. doi:10.1126/science.1122225.
- [35] J.M. Teulon, C. Godon, L. Chantalat, C. Moriscot, J. Cambedouzou, M. Odorico, J. Ravaux, R. Podor, A. Gerdil, A. Habert, N. Herlin-Boime, S.W.W. Chen, J.L. Pellequer, On the operational aspects of measuring nanoparticle sizes, *Nanomaterials.* 9 (2019) 1–29. doi:10.3390/nano9010018.
- [36] F. Babick, J. Mielke, W. Wohlleben, S. Weigel, V.D. Hodoroaba, How reliably can a material be classified as a nanomaterial? Available particle-sizing techniques at work, *J. Nanoparticle Res.* 18 (2016) 1–40. doi:10.1007/s11051-016-3461-7.
- [37] C. Motzkus, T. Macé, F. Gaie-Levrel, S. Ducourtieux, A. Delvallee, K. Dirscherl, V.-D. Hodoroaba, I. Popov, O. Popov, I. Kuselman, K. Takahata, K. Ehara, P. Ausset, M. Maillé, N. Michielsen, S. Bondiguel, F. Gensdarmes, L. Morawska, G.R. Johnson, E.M. Faghihi,

- C.S. Kim, Y.H. Kim, M.C. Chu, J.A. Guardado, A. Salas, G. Capannelli, C. Costa, T. Bostrom, Å.K. Jämting, M.A. Lawn, L. Adlem, S. Vaslin-Reimann, Size characterization of airborne SiO₂ nanoparticles with on-line and off-line measurement techniques: an interlaboratory comparison study, *J. Nanoparticle Res.* 15 (2013). doi:10.1007/s11051-013-1919-4.
- [38] A. Deschamps, F. De Geuser, On the validity of simple precipitate size measurements by small-angle scattering in metallic systems, *J. Appl. Crystallogr.* 44 (2011) 343–352. doi:10.1107/S0021889811003049.
- [39] European commission, Recommandation on the definition of nanomaterial, Off. J. Eur. Union. (2011). http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/.

Conclusions et perspectives

Les travaux de cette thèse visaient d'abord à développer une méthode de mesure des propriétés dimensionnelles de (nano)-objets par MEB puis de confronter les résultats des différentes techniques dédiées à la caractérisation de ces substances, à savoir le MEB, le SAXS et la BET afin d'améliorer la compréhension des différences de mesures issues de mesurandes différents. Les techniques sélectionnées mettent en jeux différents principes physiques et donc différents mesurandes.

L'étude était divisée en deux grandes parties. La première (développée dans le chapitre 3) concernait la préparation des échantillons pour le MEB, mettant en œuvre un suivi de la taille des agglomérats par DLS. Deux phases sont à distinguer lors de cette étape : la phase d'extraction des (nano)-objets de leur matrice complexe et la phase de préparation classique avant chaque analyse (mise en suspension, dispersion et dépôt). Cette dernière doit être adaptée à l'échantillon et à la technique mise en œuvre. Ainsi, des échantillons ont été sélectionnés et étudiés soit sous leurs formes natives (matière première) soit sous la forme d'extraits de produits finis commercialisés. La phase d'extraction est dépendante de la nature des particules recherchées ainsi que de la composition de la matrice complexe qui les englobe. De ce fait plusieurs protocoles d'extraction ont été effectués afin d'éliminer la totalité de la matrice. Néanmoins, cette étape est complexe car malgré l'adaptation du protocole d'extraction, des impuretés peuvent résister et se retrouver dans la poudre extraite, supposée pure. Ensuite, le dépôt des échantillons a été effectué grâce à une technique mettant en œuvre une tournette. Les observations ainsi que les mesures effectuées par MEB mettent en lumière à quel point l'étape de préparation d'échantillon est cruciale : par exemple, pour l'échantillon SiO₂-Tixosil43, la taille des agglomérats peut varier de 145,6 nm pour un échantillon préparé avec un protocole optimisé (pour lequel les particules sont bien dispersées) à 621,2 nm pour un échantillon non correctement préparé (pour lequel les particules sont agrégées en 2D ou 3D sur le substrat). L'état

de dispersion des particules avant leur dépôt influence fortement la qualité du dépôt, et une partie de la thèse a été consacrée à cette étape de dispersion. Pour cela, une méthode de dispersion à l'aide de la sonde ultrasonore a été développée afin de réduire, voire éliminer les agglomérats présents en suspension. Un suivi DLS est réalisé pour contrôler la taille des agglomérats et confirmer l'efficacité de la sonde ultrasonore. Nous avons mis en évidence qu'une ultrasonication à 40% d'amplitude (soit 1667 J.mL^{-1}), avec un cycle de pulsations de 10s ON et 10s OFF pendant 20min, est suffisante pour réduire au maximum la taille des agglomérats. La mesure dimensionnelle par MEB a ensuite été effectuée après dépôt sur substrat en silicium dans le but de déterminer les paramètres statistiques (moyenne, mode, médiane et écart-type) issus de la distribution en taille en nombre des particules étudiées (isolées ou constitutives d'agglomérats). Cette étude a montré que le procédé d'ultrasonication est crucial pour dissocier les particules agglomérées en suspension permettant ainsi un traitement plus aisés des images MEB.

La deuxième partie concernait une analyse multi-techniques de particules de TiO_2 sous plusieurs formes : référence, matière première ou particules extraite de produits finis commercialisés.

Dans la deuxième partie, développée dans le chapitre 4, plusieurs échantillons de dioxyde de titane ont été sélectionnés pour la réalisation d'une étude comparative de leurs propriétés dimensionnelles en utilisant une technique directe (le MEB) et deux techniques indirectes (le SAXS et la BET). Les mesures issues du MEB se sont appuyés sur les protocoles développés dans la première partie (et décrit ci-dessus). Les mesures issues du SAXS ont été obtenues à partir de l'analyse des courbes aux grands angles via l'analyse de la limite de Porod en optimisant la préparation des échantillons de poudre.

Le mesurande du MEB est un diamètre équivalent à une surface projetée ($D_{\text{SEM Average area-eq}}$) et celui du SAXS et de la BET est une surface spécifique à partir de laquelle un

diamètre équivalent ($D_{eq\ SSA}$) est calculé. Les résultats obtenus montrent des écarts plus ou moins significatifs entre les deux types de diamètres équivalents selon l'échantillon analysé. L'écart est accentué dans deux cas :

- Le cas des particules présentant une forte polydispersité (distribution en taille très large).
- Le cas des particules ayant une forme complexe (non sphérique).

Dans ces travaux, nous avons montré comment la polydispersité de taille et la complexité de forme pouvaient influencer la détermination de la mesure dimensionnelle à partir des surfaces spécifiques. Ainsi, nous avons montré comment la polydispersité en taille des nanoparticules pouvait modifier le diamètre issu de la surface spécifique. Par exemple pour l'échantillon E171, la prise en compte de la polydispersité permet de réduire la différence entre le diamètre de Porod calculé et le diamètre équivalent issu de la distribution MEB.

Pour certains échantillons, la prise en compte de la polydispersité ne permet pas de réduire suffisamment l'écart entre les mesures issues du MEB et celles issues du SAXS. La présence de résidus issus d'extraction de produits finis ou d'impuretés entraîne des biais de mesures, expliquant les écarts et mettant en lumière une nouvelle fois l'importance de la préparation d'échantillon. En particulier pour les mesures SAXS où il est indispensable de bien connaître la composition des échantillons.

De nombreux points ont été abordés dans ces travaux concernant la métrologie dimensionnelle des nanoparticules dans les milieux complexes, notamment en identifiant plusieurs sources pour expliquer les différences entre mesurandes pour un même échantillon. Ces sources proviennent de trois étapes majeures dans l'analyse globale d'un échantillon : la préparation d'échantillon, l'acquisition des données ainsi que le traitement des données. Dans cette thèse, l'étape de préparation d'échantillon est largement détaillée. Un approfondissement pourrait être fait en améliorant l'étape d'extraction des particules de leur matrice complexe. Concernant le traitement des

données, il est toujours possible d'améliorer la détermination d'une taille à partir d'une surface spécifique, notamment en essayant de s'approcher au maximum du volume et de la forme réelle des particules considérées au lieu de se contenter des approximations de formes standards, en particulier sphérique. Pour approfondir l'approche métrologique, un bilan d'incertitudes complet pourrait être effectué pour le MEB et le SAXS concernant les mesures réalisées sur ces échantillons complexes.

Les analyses effectuées au cours de cette thèse se sont concentrées sur les analyses de poudre. Mais finalement, la préparation optimum pour une analyse MEB passe par une étape de mise en suspension des particules avant dépôt. Pour aller plus loin dans la comparaison des mesurandes, il faudrait étudier par les techniques d'ensemble les suspensions colloïdales de ces mêmes échantillons en utilisant les protocoles développés pour l'analyse MEB d'optimisation de la dispersion et de la dissociation des agglomérats présents initialement dans la poudre. Enfin, des mesures in-situ, notamment par SAXS, des particules directement dans leur milieu d'origine pourraient être réalisées afin de s'affranchir de la difficulté et de la complexité de l'étape de préparation d'échantillon.

Annexe 1

Nomenclature des différents additifs

Les nanomatériaux introduits dans les médicaments ou les produits cosmétiques, en tant que colorants, possèdent un code approprié selon la nomenclature internationale des ingrédients cosmétiques (INCI) [1]. Le Tableau S 1 présente les additifs cosmétiques sous forme nanométrique les plus utilisés, leur code et leurs propriétés.

Tableau S 1 : Liste de quelques additifs cosmétiques pouvant être retrouvés sous forme nanométrique

Additifs cosmétiques	Code	Propriétés	Références
Dioxyde de silicium (SiO₂)	-	Agent abrasif, agent absorbant, opacifiant, liant, antiagglomérant et agent de contrôle de la viscosité	[2-4]
Dioxyde de titane (TiO₂)	CI 77891	Colorant blanc, opacifiant, filtre UV.	[3, 5, 6]
Dioxyde de zinc (ZnO)	CI 77947	Agent de protection de la peau, filtre UV, colorant blanc.	[3, 5]
Oxyde de fer	CI 77491 CI 77492 CI 77499	Protection solaire et colorants pour le maquillage.	[3]
Noir de carbone MBBT	CI 77226 -	Colorant noir Filtre UV	[4] [7]

De même que les additifs cosmétiques, les additifs alimentaires sont répertoriés par leur nature chimique et leurs caractéristiques physico-chimiques avec un code propre à chacun. Le Tableau S 2 nous dresse les différents types d'additifs alimentaires qu'on peut trouver sous forme nanométrique.

Tableau S 2 : Liste de quelques additifs alimentaires pouvant être sous forme nanométrique

Additifs alimentaires	code	solubilité	propriétés	Références
Silice (SiO_2) Silicate d'aluminium et de sodium Silicate de calcium	E551	-	- Agent rhéologique - Antiaggomérant	[2, 8, 9]
	E554	-	Antiaggomérant	[9]
	E552	-	Antiaggomérant	-
Dioxyde de titane (TiO_2)	E171	Insoluble dans l'eau et solvant organique. Soluble dans HF et H_2SO_4 concentré et chaud.	- Pigment blanc - Rehausseur de couleur	[9–11]
	E172	Insoluble dans l'eau et solvant organique. Soluble dans acides minéraux.	- Pigment rouge, jeune ou noir	[2–4, 9]
Noir de carbone	E152	-	- Colorant noir	[4]
Carbonate de calcium	E170	Peu soluble dans l'eau et alcool. Soluble dans les acides dilués.	- Pigment blanc - Epaississant - Correcteur d'acidité	[4]
Aluminium	E173	Insoluble dans l'eau et solvant organique. Soluble dans HCl dilué.	- Pigment métallique	[9]

Annexe 2

Instruments utilisés pour l'étape d'extraction des particules de leur matrice complexe

- Balance

La balance utilisée pour l'ensemble des pesées tout au long de la thèse est la Sartorius Talent TE64 avec une étendue de pesée jusqu'à 60 g et une précision de lecture de 0,1 mg donnée par le constructeur. Une vérification d'étalonnage est effectuée régulièrement pour évaluer la conformité de l'instrument.

- Bain à ultrasons et sonde à ultrasons

Deux appareils basés sur le phénomène d'ultrasons sont utilisés au LNE pour la dispersion des suspensions colloïdales : le bain à ultrasons Branson 1800 1,9 l Timer CPXH et la sonde à ultrasons Fischer Bioblock Scientific Vibracell 75043 (750 W, 20 kHz, avec une sonde en titane de 13 mm). Ce dernier dispositif est constitué d'un générateur, d'un transducteur piézo-électrique et d'une sonde. Le transducteur piézo-électrique convertit l'énergie électrique délivrée par le générateur en vibrations mécaniques. Ces vibrations sont amplifiées et transmises à la solution via la sonde.

Par ailleurs, la sonde se dégrade au fil des utilisations et du temps, et son introduction directement dans la suspension d'intérêt peut entraîner la contamination de celle-ci [14]. Afin de pallier ce problème, la suspension n'est pas directement immergée dans la suspension. Un aliquote en plastique de 2 mL rempli de la suspension colloïdale est placé dans un bêcher d'eau de 30 mL contenant la sonde. De plus, pendant l'étape de sonication, la température de la suspension peut augmenter considérablement, ce qui peut conduire, dans certains cas, à l'altération des particules en suspension. Pour cette raison, le bêcher contenant la sonde et le tube est constamment refroidi avec un récipient de glace de contenance 100 mL.

- Centrifugeuse

Une centrifugeuse est un dispositif permettant de séparer les différentes phases d'une solution et notamment la séparation des particules en suspension en fonction de leur taille, forme, densité, viscosité du milieu liquide grâce à la force centrifuge. Il s'agit d'une méthode rapide et efficace pour la dissociation particules de la phase liquide. En effet en temps normal, dans une suspension colloïdale les particules sont soumises au mouvement Brownien prédominant par rapport à la force d'Archimède et la gravité. Le mouvement Brownien correspond à l'agitation thermique, il n'a pas de direction privilégiée. Le système reste donc en équilibre et la vitesse de l'ensemble des particules est nulle. Lors de la centrifugation, la gravité ainsi que la poussée d'Archimède sont augmentées et ne sont plus négligeables devant l'agitation thermique. Ces forces peuvent entraîner un déplacement des particules, vers le bas si la gravité domine et inversement si la poussée d'Archimède domine. Les substances solides se trouvent donc au fond du tube à centrifugation.

L'appareil utilisé au laboratoire est le Thermo scientific Sorvall ST8 centrifuge. Le temps ainsi que la vitesse de centrifugation dépendent de l'échantillon étudié. Une grande vitesse est choisie pour les petites particules et une faible vitesse pour les plus grosses particules car ces dernières tombent plus vite au fond du tube.

- Plaque chauffante

Afin d'accélérer et d'améliorer l'extraction de certaines particules de leur produit fini, une étape de chauffage est nécessaire. L'instrument utilisé est le IKA® RCT basic IKAMAG™ Safety Control Magnetic Stirrer. Il s'agit d'une plaque chauffante (jusqu'à 500°C) en aluminium avec agitateur magnétique (entre 50 et 1500 rpm).

- Lyophilisateur

Tous les échantillons qui ne sont pas initialement sous forme de poudre ont été lyophilisés. L'appareil utilisé pour la lyophilisation est l'Alpha 1-4 LDplus-101541. L'analyse est basée sur la sublimation de la phase solide à la phase gazeuse. Elle se fait sous vide à 1,65 mbar et -15°C (afin de ne pas altérer la composition physico-chimique de l'échantillon) jusqu'à l'obtention d'une poudre. En effet, d'après les recommandations du constructeur, pour un déroulement optimal de la lyophilisation, l'analyse doit se faire à environ 10°C inférieur au point de solidification du solvant (qui est de 0°C pour l'eau) pour atteindre la pression recherchée.

Annexe 3

Calibration de la sonde ultrasonore

La calibration de la sonde ultrasonore doit être faite selon la SOP développée pour le projet NanoREG [15]. En effet, une méthode calorimétrique est faite pour la calibration de l'énergie acoustique délivrée avec ajustement de l'amplitude et de la durée de la sonication. Pour réaliser ces mesures, nous avons besoin d'eau ultrapure (milliQ®), d'un bêcher en verre (pyrex), d'une balance de laboratoire avec une précision de pesée de 0,1 g et d'un thermomètre numérique avec une précision de mesure meilleure que 0,1 °C. L'appareil utilisé est le VibraCell 75043 avec une sonde de 13 mm de diamètre.

Cette procédure est réalisée en plusieurs étapes comme suit :

- 500 mL d'eau sont introduits dans un bêcher en verre (la température de l'eau doit être équilibrée, laissée à l'air ambiant pendant quelques heures).
- La masse de l'eau est déterminée par une balance de laboratoire.
- La température de l'eau est relevée à T_0 .
- Le bêcher est placé dans la chambre du sonicateur et la sonde est immergée dans l'eau à 2,5 cm sous la surface de l'eau.
- Une première amplitude est appliquée (la plus faible) pendant une durée de 5 min en mode continu.
- La température est enregistrée toutes les 30s.

Les deux dernières étapes sont répétées deux fois pour les trois amplitudes sélectionnées (20%, 30% et 40%).

Pour calibrer la sonde, la puissance acoustique délivrée (P_{ac} en Watt) doit être déterminée. Elle est donc calculée selon l'équation suivante :

Équation : 1

$$P_{ac} = \frac{\Delta T}{\Delta t} M C_p$$

Où $\frac{\Delta T}{\Delta t}$ est la pente de la courbe d'évolution de la température en fonction du temps de sonication (Figure S1), M la masse du liquide et C_p est la chaleur spécifique du liquide (4.18 J.g-1.K-1).

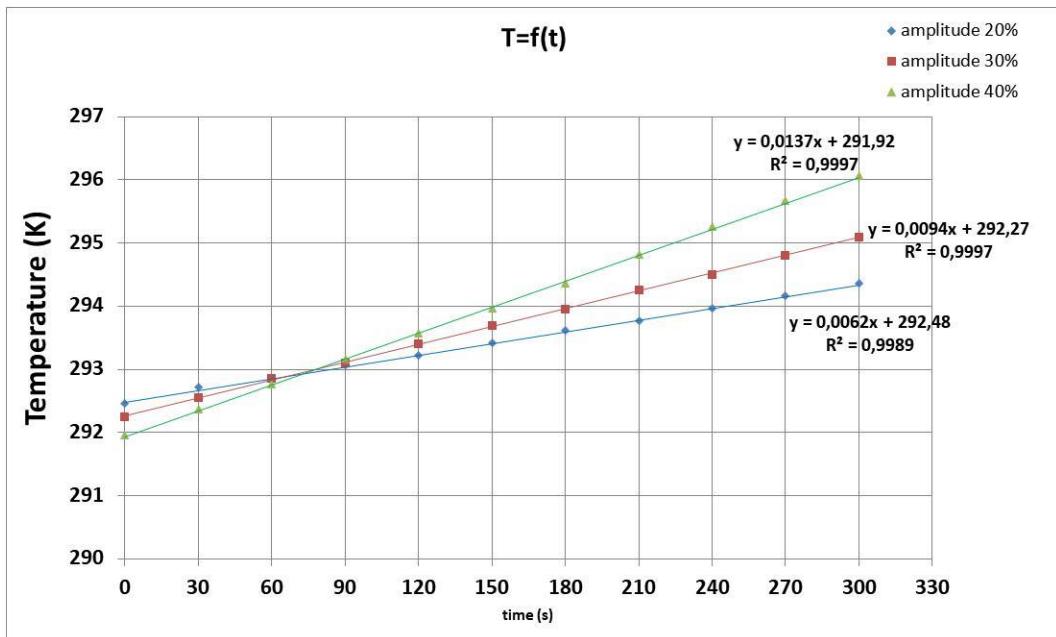


Figure S1 : Evolution de la température en fonction du temps de sonication (5 min)

La Figure S2 présente la puissance acoustique délivrée pour chaque amplitude appliquée.

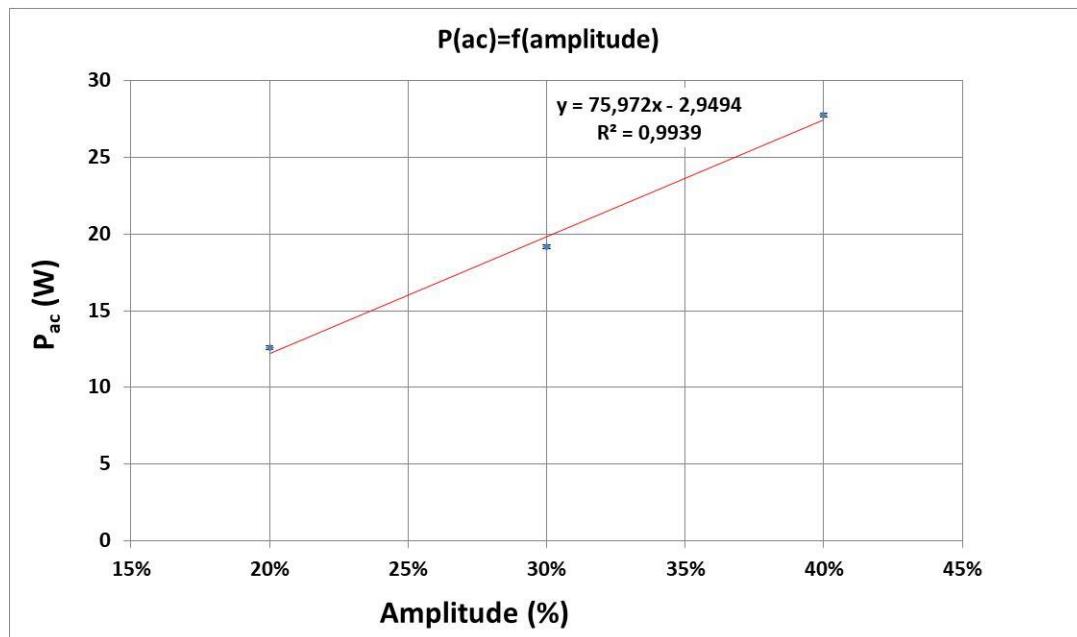


Figure S2 : Variation de la puissance acoustique en fonction de l'amplitude appliquée

Une fois la P_{ac} fixée pour chaque amplitude, la densité d'énergie calorimétrique, $E_{V, cal}$ en $J.mL^{-1}$, délivrée lors des expériences, peut être déterminée en appliquant l'Équation : 2.

Équation : 2

$$E_{V, cal} = \frac{P_{ac}\Delta t}{V}$$

V étant le volume de la suspension, P_{ac} la puissance acoustique délivrée et Δt le temps de sonication total.

Pour la détermination de la $E_{V, \text{cal}}$ nous nous sommes placé dans les conditions des expériences réalisées dans ce chapitre, à savoir les trois amplitudes avec un cycle de pulse de 10s ON et 10s OFF. Les différentes $E_{V, \text{cal}}$, calculées en considérant un volume de 10 mL et un temps de sonication total de 600s (sans prendre en compte les temps de pause), sont présentées dans le Tableau S3.

Tableau S3 : Calcul de la densité d'énergie calorimétrique en fonction de l'amplitude appliquée

Paramètres	20%	30%	40%
$E_{V, \text{cal}} (\text{J/mL})$	758,8	751,7	1154,9
Moyenne	755,2	1149,5	1666,9
Ecart-type	5,0	7,8	1,5

Annexe 4

Tableaux des valeurs DLS et corrélogrammes

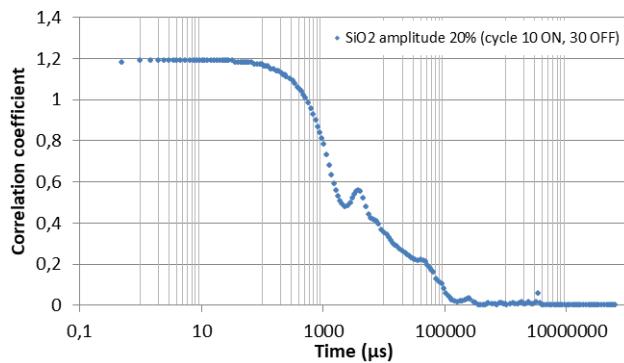
Tableau S 4 : Tableau des résultats DLS (réalisés à 25°C après calibration en température et à un angle de diffusion de 173 °) pour le SiO₂-Tixosil43 selon les différents paramètres de sonication

Paramètres de sonication	A20 % (10s ON-30s OFF)		A30 % (10s ON-30s OFF)		A40 % (10s ON-30s OFF)		A40 % (10s ON-20s OFF)		A40 % (10s ON-10s OFF)	
Mesure	D _h NNLS (nm)	temps (min)								
1	427,1	2,12	281,8	2,04	155	2,28	124,7	1,96	146,5	2,28
2	534	4,24	348,8	4,08	184	4,56	134,4	3,92	151,5	4,56
3	534	6,36	343,8	6,12	246,9	6,84	142,5	5,88	136,5	6,84
4	521,2	8,48	315,6	8,16	257,7	9,12	142,5	7,84	123,1	9,12
5	581,4	10,6	375,2	10,2	260,3	11,4	147,1	9,8	125,1	11,4
6	655,2	12,72	412,3	12,24	290,1	13,68	150,3	11,76	127,2	13,68
7	684,6	14,84	415,6	14,28	276,1	15,96	165,1	13,72	123,1	15,96
8	682,2	16,96	408	16,32	267,7	18,24	157,8	15,68	142,5	18,24
9	674,8	19,08	428,3	18,36	266,3	20,52	177	17,64	136,5	20,52
10	651,1	21,2	461,6	20,4	261,7	22,8	166,1	19,6	144,8	22,8
11	656,7	23,32	448,6	22,44	283,9	25,08	165,1	21,56	144,1	25,08
12	709,8	25,44	451,2	24,48	266,2	27,36	165,1	23,52	131,8	27,36
13	687,3	27,56	493,5	26,52	269,1	29,64	165,1	25,48	142,6	29,64
14	655,6	29,68	484,1	28,56	294	31,92	165,1	27,44	144,7	31,92
15	606,1	31,8	471,9	30,6	274,9	34,2	172,9	29,4	156,8	34,2
16	658,1	33,92	501,8	32,64	291,8	36,48	197	31,36	150,4	36,48
17	643	36,04	480,3	34,68	280,5	38,76	220	33,32	141,3	38,76
18	672	38,16	461,1	36,72	290,8	41,04	215	35,28	159,7	41,04
19	572,7	40,28	507	38,76	283,5	43,32	198,8	37,24	155	43,32
20	705,4	42,4	464	40,8	271,5	45,6	181,1	39,2	152,7	45,6
21	660,4	44,52	480,6	42,84	259,9	47,88	184,8	41,16	166,8	47,88
22	583,6	46,64	480,3	44,88	270,1	50,16	191,2	43,12	160,5	50,16
23	618,5	48,76	498,3	46,92	278,3	52,44	173,2	45,08	161	52,44
24	543,6	50,88	499,8	48,96	297,5	54,72	182,2	47,04	165,1	54,72
25	610,6	53	506,7	51	272,8	57	222	49	151,1	57

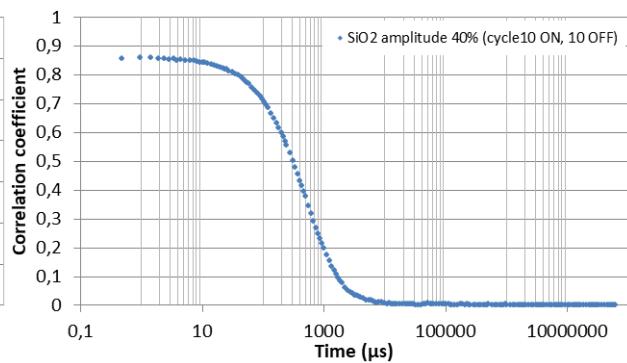
Tableau S 5 : Tableau des résultats DLS (réalisés à 25°C après calibration en température et à un angle de diffusion de 173 °) pour le CeO₂-Lab selon les différents paramètres de sonication

Paramètres de sonication	A20 % (10s ON-30s OFF)		A30 % (10s ON-30s OFF)		A40 % (10s ON-30s OFF)		A40 % (10s ON-20s OFF)		A40 % (10s ON-10s OFF)	
Mesure	D _h NNLS (nm)	temps (min)								
1	68,06	2,28	38,04	1,8	59,29	1,92	84,43	2,28	61,59	1,76
2	74,46	4,56	62,74	3,6	102,1	3,84	106,3	4,56	50,55	3,52
3	93,2	6,84	67,99	5,4	44,8	5,76	36,8	6,84	39,67	5,28
4	112	9,12	62,05	7,2	43,1	7,68	92,8	9,12	34,9	7,04
5	112	11,4	48,7	9	72,9	9,6	45,8	11,4	58,8	8,8
6	103,7	13,68	99,6	10,8	59,3	11,52	84	13,68	92,6	10,56
7	116,4	15,96	100,9	12,6	46,6	13,44	362	15,96	92,83	12,32
8	180,4	18,24	112,8	14,4	77,94	15,36	87,7	18,24	82,5	14,08
9	126,2	20,52	91,3	16,2	61,9	17,28	102	20,52	107	15,84
10	100,8	22,8	108	18	63,84	19,2	60,1	22,8	64,74	17,6
11	82,91	25,08	102	19,8	71,43	21,12	97,01	25,08	67,56	19,36
12	101,2	27,36	92,21	21,6	94,45	23,04	81,8	27,36	55,9	21,12
13	99,18	29,64	59	23,4	79,19	24,96	52,7	29,64	43,4	22,88
14	124,1	31,92	95,92	25,2	102,3	26,88	95,79	31,92	102,7	24,64
15	61	34,2	50,9	27	101,8	28,8	97,2	34,2	102,6	26,4
16	117	36,48	96,3	28,8	68,61	30,72	70,87	36,48	88,39	28,16
17	109	38,76	75,7	30,6	79,85	32,64	59	38,76	88,43	29,92
18	115,1	41,04	107,3	32,4	94,67	34,56	94,14	41,04	67,5	31,68
19	148,2	43,32	95,3	34,2	77,8	36,48	69,63	43,32	64,07	33,44
20	133,6	45,6	95,21	36	50,8	38,4	73,9	45,6	100,9	35,2
21	109	47,88	81,4	37,8	88,3	40,32	99,38	47,88	57,7	36,96
22	83,76	50,16	81,7	39,6	57,2	42,24	94,6	50,16	48,5	38,72
23	112,5	52,44	51,2	41,4	65,2	44,16	81,98	52,44	56,2	40,48
24	146,8	54,72	71,5	43,2	102	46,08	104	54,72	102,6	42,24
25	101,2	57	104,9	45	103	48	99,47	57	87,4	44

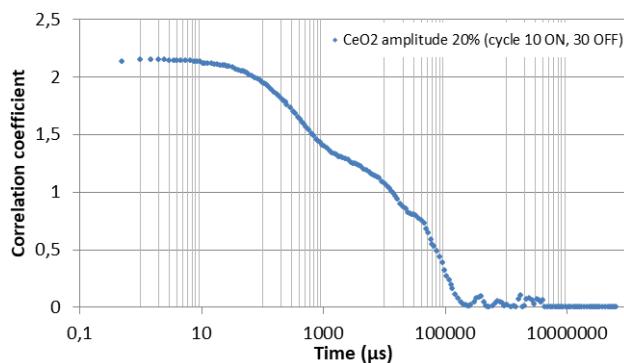
a) Corrélogramme SiO₂-Tixosil43



b) Corrélogramme SiO₂-Tixosil43



c) Corrélogramme CeO₂-Lab



d) Corrélogramme CeO₂-Lab

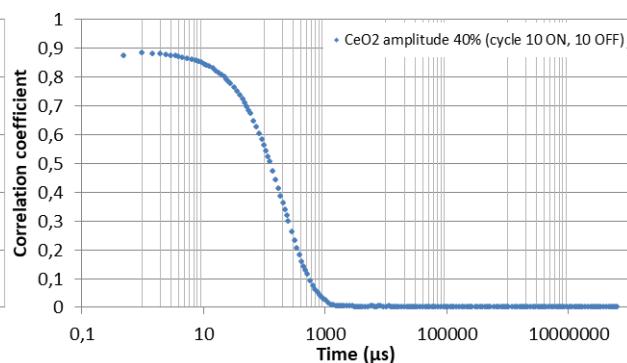


Figure S 3 : Corrélogrammes obtenus pour le a) SiO₂-Tixosil43 à 20% (10s ON, 30s Off), b) SiO₂-Tixosil43 à 40% (10s ON, 10s Off), c) CeO₂-Lab 20% (10s ON, 30s Off) et d) CeO₂-Lab 40% (10s ON, 10s Off)

Annexe 5

Protocoles de fonctionnalisation du substrat en silicium

Fonctionnalisation par Poly-L-Lysine (PLL) :

Une solution de PLL est préparée à puis mélangée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant quelques minutes.

10 µL de cette solution sont déposés sur le substrat en silicium à l'aide de spin-coater, en appliquant les paramètres de dépôt suivant :

- Une phase d'étalement de 10s avec une vitesse de 500 rpm et une accélération de 500 rpm
- Une phase de séchage de 30s avec une vitesse de 8000 rpm et une accélération de 4000 rpm

Fonctionnalisation par Amylamine :

La fonctionnalisation du substrat à l'amyamine est réalisée à l'aide d'un système d'effluvage l'ELMO (Glow Discharge System de chez CORDOUAN) permettant la modification des propriétés de surface des substrats ou des grilles dédiées à une analyse de microscopie électronique.

- Les substrats sont déposés sur un support en verre (une lame de verre) avec la surface de dépôt vers le haut. L'amyamine est introduite dans le réservoir pour obtenir la charge souhaitée (positive).
- Le support de verre avec les substrats est ensuite placé dans la cloche de droite de l'ELMO. En fermant la cloche il faut veiller à ce qu'elle soit bien plaquée sur le joint Teflon. On peut alors lancer le pompage pour atteindre une pression de $2 \cdot 10^{-1}$ mbar.
- Le voltage de l'instrument est réglé de manière à obtenir un courant de 2 à 2,5 mA entre les électrodes puis le traitement de la décharge plasma est lancé sur une durée de 15 secondes à 1 minute.
- Une fois l'effluvage terminé, la pompe est arrêtée et la cloche est remise à l'air ambiant.

Annexe 6

Analyse statistique et distributions en tailles en nombre des échantillons étudiés (3 séries par échantillons).

Pour chaque échantillon, trois séries de 300 particules ont été mesurées à l'aide du logiciel Platypus [16]. Ceci nous permettra de déduire les incertitudes liées à la répétabilité des mesures MEB. L'estimation des paramètres de la loi qui s'ajuste le mieux aux données MEB a été réalisée à l'aide du logiciel R-Studio [17] avec un programme développé par l'équipe statistique du LNE. La distribution en taille est ajustée en utilisant une méthode statistique bien connue : l'estimation par maximum de vraisemblance. Avant de procéder à l'estimation, un choix a dû être fait concernant la distribution de probabilité théorique qui serait appropriée pour représenter la distribution de taille. Quatre modèles théoriques : Gaussien, Lognormal, mélange Gaussien et mélange Lognormal ont été utilisés pour dessiner les histogrammes. Le Tableau S 6 présente les expressions des fonctions de densité de probabilité (PDF) pour les quatre modèles ainsi que l'ensemble des paramètres statistiques mis en œuvre.

Tableau S 6 : Fonctions de densité de probabilité (PDF) pour les quatre modèles ainsi que l'ensemble des paramètres avec, x , les variables, μ , la moyenne et σ , l'écart-type des valeurs logarithmiques ($\mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2$) dans le cas d'une loi mixte) et λ_1, λ_2 sont la proportion de chaque loi.

Loi Gaussienne (ou Normale)

$$f_x(\mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma_1 \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu)^2}{2\sigma_1^2}\right)$$

Mixture de deux lois gaussiennes

$$f_x(\mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2) = \frac{\lambda_1}{\sigma_1 \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu_1)^2}{2\sigma_1^2}\right) + \frac{\lambda_2}{\sigma_2 \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu_2)^2}{2\sigma_2^2}\right)$$

Loi Lognormale

$$f_x(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{x \sigma \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(\ln(x) - \mu)^2}{2\sigma^2}\right)$$

Mixture de deux lois Lognormales

$$f_x(\mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2) = \frac{1}{x_i} \left(\frac{\lambda_1}{\sigma_1 \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(\ln(x_i) - \mu_1)^2}{2\sigma_1^2}\right) + \frac{\lambda_2}{\sigma_2 \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(\ln(x_i) - \mu_2)^2}{2\sigma_2^2}\right) \right)$$

Afin de faire la distinction entre les quatre modélisations, il est nécessaire de calculer les critères d'information associés à chaque estimation. Il existe deux critères populaires : le critère d'information d'Akaike (AIC) et le critère d'information bayésien (BIC).

Le meilleur modèle est celui qui présente un AIC et/ou un BIC minimum, mais en cas de conflit, il faut privilégier le critère BIC, en tenant compte de la complexité du modèle et en favorisant le modèle ayant le moins de paramètres. Les résultats SEM sont détaillés dans le Tableau S 7 et les histogrammes des distributions en taille sont présentés dans la Figure S 4.

Tableau S 7 : Résultats de l'ajustement des différents modèles statistiques aux distributions en taille en nombre réalisées par MEB

NM-102												
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	29.6	10.0	1.0	29.6	29.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2236.0	2243.5
MixGaussian	26.2	5.3	0.6	26.2	26.2	35.6	13.0	0.4	35.6	35.6	2181.7	2200.2
LogNormal	3.3	0.4	1.0	24.1	27.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2266.3	2273.7
MixLogNormal	3.4	0.3	1.0	26.2	28.6	2.1	1.1	0.02	2.6	8.1	2180.1	2198.7
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	23.7	8.6	1.0	23.7	23.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2147.2	2154.6
MixGaussian	18.9	4.4	0.6	18.9	18.9	30.0	8.8	0.4	30.0	30.0	2101.0	2119.5
LogNormal	3.1	0.4	1.0	19.5	22.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2101.8	2109.2
MixLogNormal	3.1	0.3	1.0	19.2	21.5	3.7	0.1	0.0	40.2	40.5	2103.7	2122.3
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	26.7	8.4	1.0	26.7	26.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2133.6	2141.0
MixGaussian	21.9	3.6	0.4	21.9	21.9	30.0	9.1	0.6	30.0	30.0	2102.0	2120.5
LogNormal	3.2	0.3	1.0	23.0	25.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2106.9	2114.3
MixLogNormal	3.1	0.1	0.1	21.6	21.7	3.3	0.3	0.9	23.2	25.9	2108.4	2126.9
NM-104												
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.8	7.1	1.0	27.8	27.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2030.4	2037.9
MixGaussian	25.4	4.7	0.7	25.4	25.4	34.8	8.1	0.3	34.8	34.8	1997.7	2016.2
LogNormal	3.3	0.2	1.0	25.4	27.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1990.9	1998.3
MixLogNormal	3.3	0.1	0.2	25.4	25.9	3.3	0.3	0.8	25.4	27.3	1995.1	2013.6
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.0	7.6	1.0	27.0	27.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2073.2	2080.6
MixGaussian	22.7	4.4	0.6	22.7	22.7	32.7	7.2	0.4	32.7	32.7	2046.6	2065.1
LogNormal	3.3	0.3	1.0	24.0	26.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2040.1	2047.5
MixLogNormal	3.0	0.2	0.2	19.0	19.5	3.3	0.2	0.8	26.8	28.4	2041.1	2059.6
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.1	9.0	1.0	27.1	27.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2170.4	2177.8

MixGaussian	23.3	4.9	0.7	23.3	23.3	36.5	9.8	0.3	36.5	36.5	2100.8	2119.3
LogNormal	3.3	0.3	1.0	23.5	25.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2096.7	2104.1
MixLogNormal	3.2	0.3	0.9	22.9	24.4	3.8	0.2	0.1	43.7	45.0	2092.0	2110.5

TiO₂-Lab

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	20.1	5.1	1.0	20.1	20.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1832.9	1840.3
MixGaussian	17.6	3.2	0.6	17.6	17.6	23.9	5.1	0.4	23.9	23.9	1811.2	1829.7
LogNormal	3.0	0.2	1.0	18.3	19.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1804.6	1812.0
MixLogNormal	3.0	0.2	1.0	18.1	19.1	3.4	0.1	0.0	30.3	30.6	1809.0	1827.5
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	21.0	5.9	1.0	21.0	21.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1924.7	1932.1
MixGaussian	18.6	4.0	0.8	18.6	18.6	29.4	3.2	0.2	29.4	29.4	1898.6	1917.1
LogNormal	3.0	0.3	1.0	18.6	20.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1911.3	1918.7
MixLogNormal	3.0	0.3	0.9	18.1	19.4	3.5	0.0	0.1	31.7	31.7	1899.9	1918.5
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	22.0	5.8	1.0	22.0	22.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1914.4	1921.8
MixGaussian	19.0	3.8	0.7	19.0	19.0	28.5	4.0	0.3	28.5	28.5	1900.8	1919.3
LogNormal	3.1	0.3	1.0	19.7	21.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1904.3	1911.7
MixLogNormal	3.0	0.2	0.9	18.9	20.0	3.4	0.1	0.1	29.5	29.8	1901.8	1920.3

TiO₂-P25

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	24.9	6.6	1.0	24.9	24.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1987.3	1994.7
MixGaussian	23.5	4.2	0.9	23.5	23.5	35.4	10.7	0.1	35.4	35.4	1886.9	1905.5
LogNormal	3.2	0.2	1.0	22.9	24.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1896.0	1903.5
MixLogNormal	3.2	0.2	0.8	22.6	23.4	3.4	0.3	0.2	26.1	29.4	1880.0	1898.5
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.2	9.2	1.0	27.2	27.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2190.0	2197.4
MixGaussian	23.7	5.1	0.7	23.7	23.7	36.6	11.1	0.3	36.6	36.6	2114.3	2132.8
LogNormal	3.3	0.3	1.0	23.5	25.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2103.6	2111.0
MixLogNormal	3.1	0.2	0.4	21.4	22.2	3.3	0.3	0.6	25.2	28.2	2099.2	2117.7

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	25.2	7.7	1.0	25.2	25.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2083.6	2091.0
MixGaussian	20.6	3.8	0.5	20.6	20.6	30.3	7.8	0.5	30.3	30.3	2043.6	2062.1
LogNormal	3.2	0.3	1.0	22.1	24.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2042.2	2049.6
MixLogNormal	3.1	0.3	0.9	21.1	22.6	3.6	0.2	0.1	35.6	36.5	2044.0	2062.6

TiO₂-E171

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	114.6	36.4	1.0	114.6	114.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3012.3	3019.7
MixGaussian	103.1	25.2	0.8	103.1	103.1	178.4	19.4	0.2	178.4	178.4	2978.6	2997.2
LogNormal	4.7	0.3	1.0	98.7	109.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2979.9	2987.3
MixLogNormal	4.6	0.3	0.9	95.9	104.1	5.2	0.1	0.1	181.4	182.7	2976.2	2994.7
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	106.1	36.6	1.0	106.1	106.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3014.8	3022.2
MixGaussian	84.2	16.1	0.5	84.2	84.2	130.9	37.4	0.5	130.9	130.9	2954.3	2972.8
LogNormal	4.6	0.3	1.0	90.6	100.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2942.5	2949.9
MixLogNormal	4.4	0.2	0.4	76.1	79.0	4.8	0.3	0.6	108.7	118.2	2937.7	2956.2
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	110.2	41.8	1.0	110.2	110.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3095.3	3102.7
MixGaussian	94.3	23.5	0.7	94.3	94.3	154.3	49.2	0.3	154.3	154.3	3021.0	3039.5
LogNormal	4.6	0.3	1.0	91.8	103.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3004.6	3012.0
MixLogNormal	4.5	0.3	0.7	84.5	91.0	4.9	0.3	0.3	121.0	135.1	3003.6	3022.1

TiO₂-Drug

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	129.0	41.3	1.0	129.0	129.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3088.3	3095.7
MixGaussian	114.0	28.6	0.7	114.0	114.0	171.0	42.6	0.3	171.0	171.0	3064.7	3083.3
LogNormal	4.8	0.3	1.0	110.8	122.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3054.9	3062.3
MixLogNormal	4.7	0.3	0.6	98.1	106.3	5.0	0.3	0.4	140.9	150.0	3060.0	3078.5
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	128.4	46.3	1.0	128.4	128.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3156.3	3163.7
MixGaussian	99.1	20.9	0.4	99.1	99.1	148.7	48.2	0.6	148.7	148.7	3125.4	3143.9
LogNormal	4.8	0.4	1.0	101.2	119.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3190.6	3198.0
MixLogNormal	4.5	0.1	0.1	92.2	93.1	4.8	0.4	0.9	102.7	122.5	3192.0	3210.5
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	126.1	41.8	1.0	126.1	126.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3095.0	3102.4

MixGaussian	105.6	24.3	0.6	105.6	105.6	162.3	41.7	0.4	162.3	162.3	3059.5	3078.0
LogNormal	4.8	0.3	1.0	107.4	119.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3056.5	3063.9
MixLogNormal	4.8	0.3	1.0	105.9	117.0	5.3	0.1	0.0	201.9	202.8	3058.9	3077.4

TiO₂-Food

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	131.1	45.7	1.0	131.1	131.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3148.1	3155.5
MixGaussian	114.3	24.1	0.6	114.3	114.3	161.0	57.9	0.4	161.0	161.0	3090.3	3108.8
LogNormal	4.8	0.3	1.0	111.3	124.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3084.3	3091.7
MixLogNormal	4.8	0.3	1.0	114.5	124.9	4.7	0.8	0.0	51.2	104.7	3070.4	3088.9
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	130.7	40.9	1.0	130.7	130.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3081.9	3089.3
MixGaussian	111.0	23.7	0.6	111.0	111.0	164.0	42.2	0.4	164.0	164.0	3045.1	3063.7
LogNormal	4.8	0.3	1.0	113.7	124.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3037.8	3045.2
MixLogNormal	4.8	0.3	1.0	113.0	122.9	5.5	0.0	0.0	244.5	244.6	3031.3	3049.9
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	137.9	46.8	1.0	137.9	137.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3163.4	3170.8
MixGaussian	107.1	16.3	0.4	107.1	107.1	162.2	48.7	0.6	162.2	162.2	3097.3	3115.8
LogNormal	4.9	0.3	1.0	117.9	130.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3100.7	3108.1
MixLogNormal	4.6	0.1	0.2	102.9	104.2	4.9	0.3	0.8	124.1	138.6	3091.5	3110.0

TiO₂-Paint

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	146.4	47.3	1.0	146.4	146.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3168.9	3176.3
MixGaussian	115.9	24.6	0.5	115.9	115.9	171.9	46.5	0.5	171.9	171.9	3146.1	3164.7
LogNormal	4.9	0.3	1.0	125.3	139.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3138.8	3146.2
MixLogNormal	4.9	0.3	0.9	119.8	131.5	5.3	0.2	0.1	188.8	195.4	3142.9	3161.4
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	144.1	56.6	1.0	144.1	144.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3277.3	3284.7
MixGaussian	117.4	31.4	0.7	117.4	117.4	197.6	58.0	0.3	197.6	197.6	3225.2	3243.7
LogNormal	4.9	0.4	1.0	115.8	134.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3216.3	3223.7
MixLogNormal	4.9	0.4	0.9	113.2	128.3	5.5	0.2	0.1	246.2	252.0	3219.1	3237.6
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	149.2	59.4	1.0	149.2	149.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3306.3	3313.7
MixGaussian	124.5	36.5	0.7	124.5	124.5	198.6	65.5	0.3	198.6	198.6	3268.3	3286.8
LogNormal	4.9	0.4	1.0	119.1	138.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3245.0	3252.4

MixLogNormal	4.5	0.3	0.2	84.5	90.5	5.0	0.3	0.8	133.8	151.2	3249.7	3268.2
TiO₂-Cosm_{max}												
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	52.4	14.1	1.0	52.4	52.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2035.2	2042.2
MixGaussian	48.1	11.0	0.8	48.1	48.1	71.7	8.7	0.2	71.7	71.7	2034.1	2051.7
LogNormal	3.9	0.3	1.0	46.6	50.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2040.7	2047.8
MixLogNormal	3.8	0.3	0.4	39.2	42.7	4.0	0.2	0.6	53.8	56.3	2039.2	2056.8
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	50.8	14.8	1.0	50.8	50.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2061.2	2068.2
MixGaussian	44.5	10.2	0.7	44.5	44.5	64.8	14.0	0.3	64.8	64.8	2049.2	2066.8
LogNormal	3.9	0.3	1.0	44.6	48.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2043.0	2050.0
MixLogNormal	3.8	0.3	0.6	40.5	43.6	4.1	0.2	0.4	56.9	59.7	2047.5	2065.1
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	52.4	13.7	1.0	52.4	52.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2023.3	2030.4
MixGaussian	51.6	12.6	1.0	51.6	51.6	93.6	5.2	0.0	93.6	93.6	2019.4	2037.0
LogNormal	3.9	0.3	1.0	47.0	50.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2022.5	2029.6
MixLogNormal	3.9	0.3	1.0	46.9	50.3	4.6	0.0	0.0	99.0	99.0	2021.3	2038.9
TiO₂-Cosm_{min}												
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	12.6	3.9	1.0	12.6	12.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1388.2	1395.2
MixGaussian	12.6	3.8	1.0	12.6	12.6	17.5	0.2	0.0	17.5	17.5	1392.6	1410.3
LogNormal	2.5	0.3	1.0	11.0	12.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1367.8	1374.8
MixLogNormal	2.5	0.3	1.0	10.8	11.9	2.8	0.0	0.0	17.2	17.2	1368.6	1386.3
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	17.1	3.7	1.0	17.1	17.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1363.6	1370.6
MixGaussian	14.1	2.2	0.3	14.1	14.1	18.2	3.5	0.7	18.2	18.2	1364.8	1382.4
LogNormal	2.8	0.2	1.0	15.9	16.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1364.7	1371.7
MixLogNormal	2.8	0.2	0.8	15.1	15.8	3.0	0.1	0.2	19.7	20.0	1365.3	1382.9
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	17.7	3.8	1.0	17.7	17.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1374.6	1381.7
MixGaussian	17.5	3.5	1.0	17.5	17.5	31.0	0.7	0.0	31.0	31.0	1364.8	1382.4
LogNormal	2.9	0.2	1.0	16.5	17.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1365.3	1372.3
MixLogNormal	2.8	0.2	1.0	16.5	17.2	3.4	0.0	0.0	31.5	31.5	1362.3	1380.0

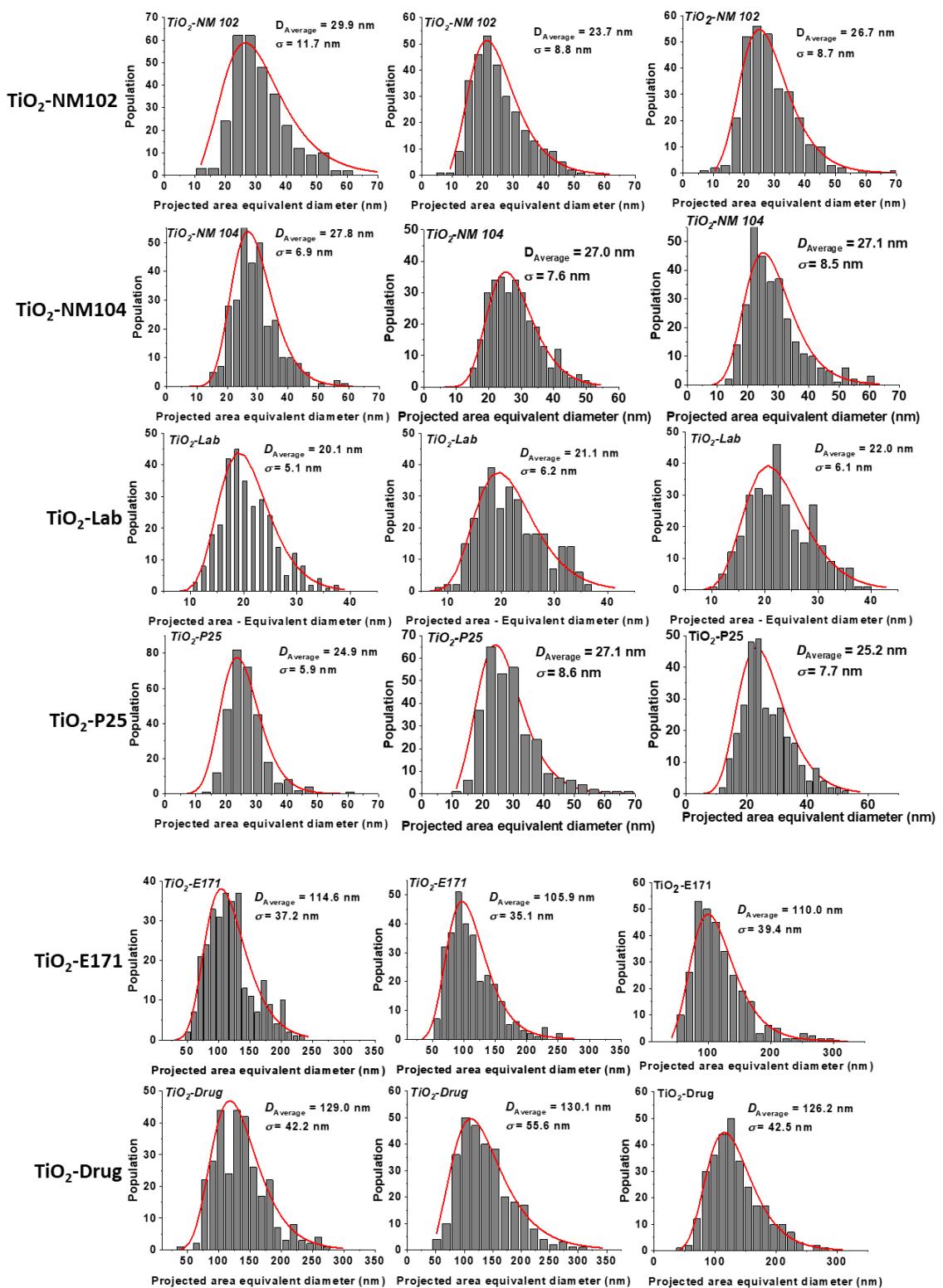
TiO ₂ -Cosm (average area-eq)												
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.0	6.6	1	27.0	27.0	0	0	0	0	0	1654.1	1661.1
MixGaussian	26.8	6.3	0,99	26.8	26.8	49.7	0,9	0,007	49.7	49.7	1652.2	1669.9
LogNormal	3.3	0.3	1	24.5	26.2	0	0	0	0	0	1664.2	1671.2
MixLogNormal	2.9	0.2	0.1	16.8	17.7	3.3	0.2	0.9	26.7	27.8	1654.6	1672.3
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	27.8	6.2	1.0	27.8	27.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1629.6	1636.6
MixGaussian	21.4	2.7	0.2	21.4	21.4	29.6	5.8	0.8	29.6	29.6	1624.4	1642.0
LogNormal	3.3	0.2	1.0	25.7	27.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1627.6	1634.6
MixLogNormal	3.2	0.2	0.6	22.9	23.8	3.5	0.1	0.4	31.9	32.5	1625.0	1642.6
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	28.9	6.0	1.0	28.9	28.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1613.2	1620.2
MixGaussian	23.7	1.0	0.1	23.7	23.7	29.6	6.1	0.9	29.6	29.6	1604.6	1622.2
LogNormal	3.3	0.2	1.0	27.0	28.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1607.5	1614.6
MixLogNormal	3.2	0.0	0.1	23.6	23.6	3.4	0.2	0.9	27.3	28.6	1608.4	1626.0

SiO₂-Tixosil43

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	15,4	3,5	1,0	15,4	15,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1605,4	1612,9
MixGaussian	15,1	2,9	1,0	15,1	15,1	26,4	3,1	0,0	26,4	26,4	1567,4	1586,0
LogNormal	2,7	0,2	1,0	14,3	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1576,5	1583,9
MixLogNormal	2,7	0,2	1,0	14,3	14,9	3,3	0,1	0,0	28,0	28,3	1576,7	1595,2
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	15,9	5,0	1,0	15,9	15,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1819,6	1827,0
MixGaussian	13,3	2,4	0,6	13,3	13,3	19,8	5,3	0,4	19,8	19,8	1755,7	1774,2
LogNormal	2,7	0,3	1,0	13,9	15,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1746,8	1754,2
MixLogNormal	2,5	0,2	0,5	12,3	12,8	2,9	0,3	0,5	16,7	18,0	1740,8	1759,3
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	17,6	5,9	1,0	17,6	17,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1916,5	1923,9
MixGaussian	13,1	2,6	0,5	13,1	13,1	21,6	5,0	0,5	21,6	21,6	1877,5	1896,0
LogNormal	2,8	0,3	1,0	14,8	16,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1888,0	1895,4
MixLogNormal	2,7	0,3	0,7	13,3	14,3	3,2	0,2	0,3	23,6	24,2	1876,0	1894,5

CeO₂-Lab

Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	16,2	3,5	1,0	16,2	16,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1608,6	1616,0
MixGaussian	16,9	2,0	0,2	16,9	16,9	15,9	3,8	0,8	15,9	15,9	1611,4	1629,9
LogNormal	2,8	0,2	1,0	14,9	15,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1629,0	1636,4
MixLogNormal	2,8	0,2	0,9	16,1	16,6	2,3	0,1	0,1	9,6	9,6	1588,6	1607,1
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	15,0	3,4	1,0	15,0	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1595,5	1602,9
MixGaussian	14,3	2,0	0,5	14,3	14,3	15,6	4,2	0,5	15,6	15,6	1587,3	1605,8
LogNormal	2,7	0,2	1,0	13,8	14,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1614,1	1621,5
MixLogNormal	2,7	0,2	0,9	14,4	14,9	2,4	0,5	0,1	9,2	11,3	1584,8	1603,3
Model	Mu1	Sigma1	Lambda1	Mode1	Median1	Mu2	Sigma2	Lambda2	Mode2	Median2	AIC	BIC
Gaussian	16,6	3,0	1,0	16,6	16,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1519,9	1527,3
MixGaussian	14,1	1,2	0,2	14,1	14,1	17,3	3,0	0,8	17,3	17,3	1514,1	1532,7
LogNormal	2,8	0,2	1,0	15,8	16,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1517,3	1524,7
MixLogNormal	2,6	0,1	0,1	13,6	13,6	2,8	0,2	0,9	15,9	16,5	1522,3	1540,8



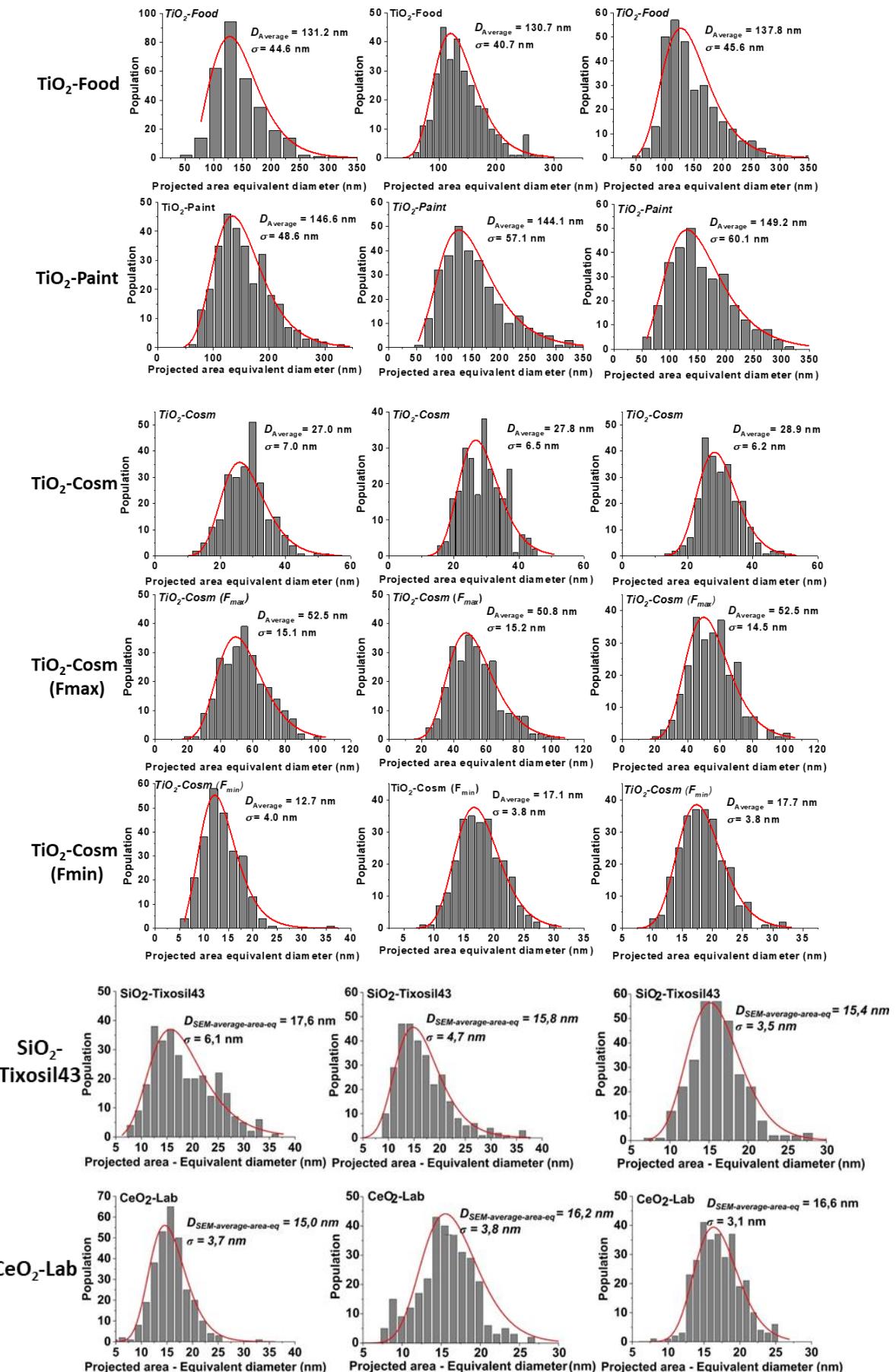


Figure S 4 : Les distributions en taille en nombre réalisées pour les échantillons étudiés dans le cadre des travaux de thèse

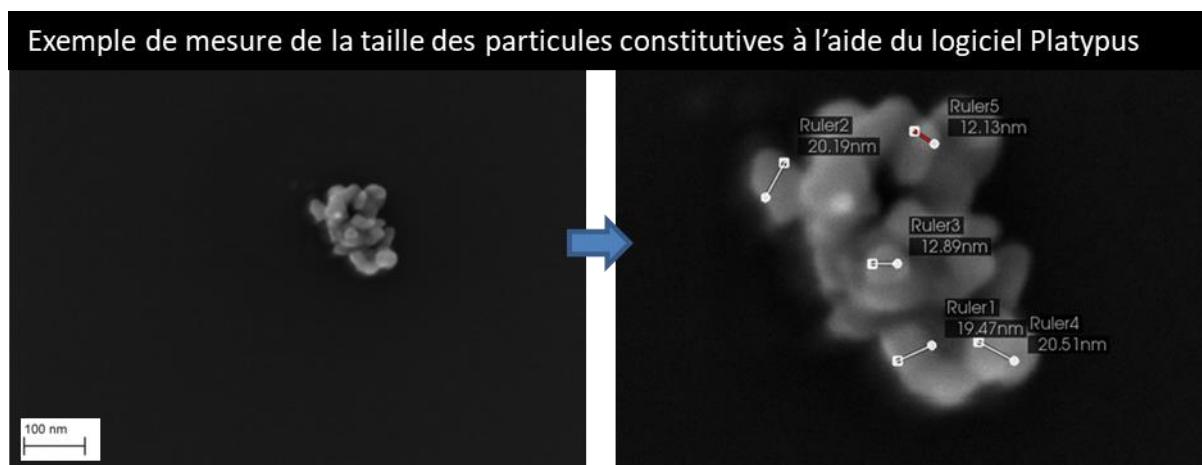
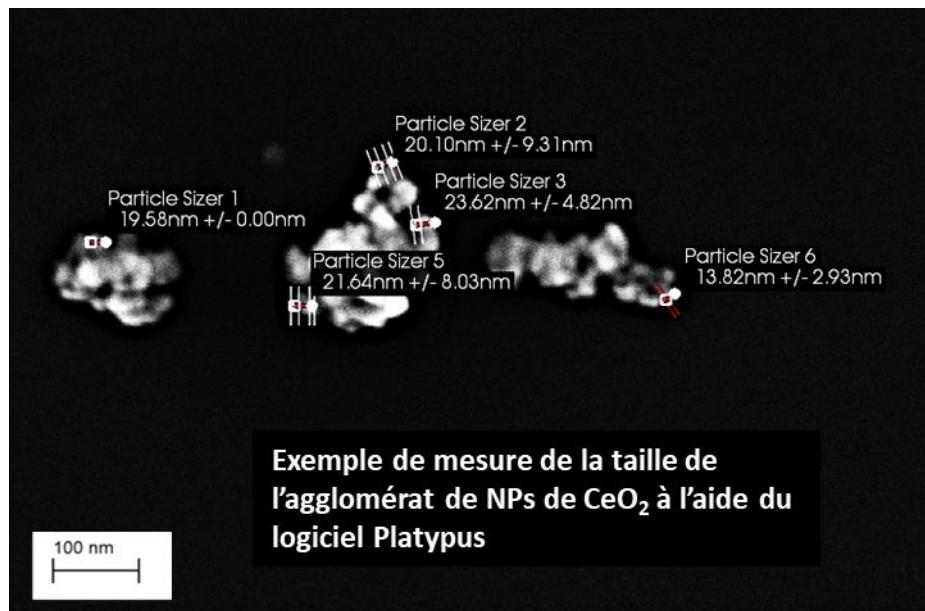


Figure S 5 : Exemple de mesure de la taille des agglomérats/agrégats ou des nanoparticules constitutives (haut NPs de CeO₂- et bas NPs de TiO₂)

Annexe 7

Résultats XPS et spectres associés

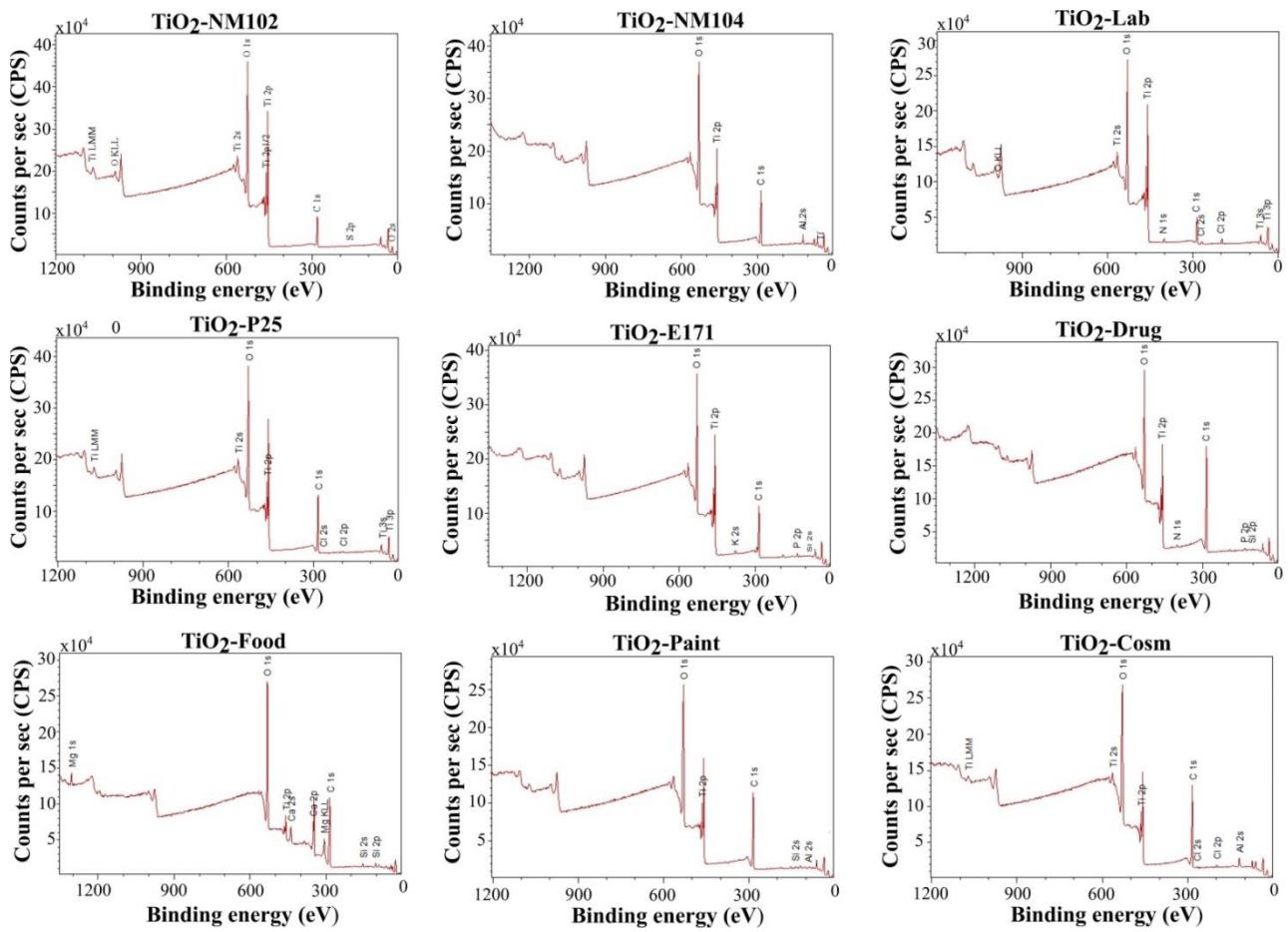


Figure S 6 : Les spectres XPS obtenus pour les échantillons de TiO_2

Tableau S 8 : Eléments détectés par XPS, leur pourcentage atomique et leur stœchiométrie par rapport au Titane

Echantillon	Eléments	at %	stœchiométrie/Ti
TiO ₂ -NM-102	O	50.9	2.6
	Ti	19.9	1.0
	C	28.8	1.4
	S	0.4	0.02
TiO ₂ -NM-104	O	45.9	4.7
	Ti	9.8	1.0
	C	35.1	3.6
	Si	0.4	0.0
	Al	8.8	0.9
TiO ₂ -Lab	O	52.9	2.8
	Ti	19.2	1.0
	C	23.7	1.2
	Cl	1.25	0.1
	N	2.9	0.2
TiO ₂ -P25	O	39.1	3.1
	Ti	12.8	1.0
	C	47.9	3.7
	Cl	0.3	0.02
TiO ₂ -E171	O	44.2	3.1
	Ti	14.1	1.0
	C	37.2	2.6
	K	1.7	0.1
	P	2.2	0.2
	Si	0.6	0.04
TiO ₂ -Paint	O	38.1	4.1
	Ti	9.3	1.0
	C	48	5.2
	Si	1.4	0.2
	P	0.8	0.1
	Al	2.5	0.3
TiO ₂ -Cosm	O	38.9	4.3
	Ti	9.1	1.0
	C	43.7	4.8
	Cl	0.7	0.1
	Al	7.7	0.8
TiO ₂ -Food	O	33.6	16.0
	Ti	2.1	1.0
	C	53.0	25.2
	Si	2.4	1.1
	Mg	0.4	0.2
	Ca	8.5	4.0
TiO ₂ -Drug	O	33.1	3.3
	Ti	10.1	1.0
	C	54.3	5.4
	Si	0.7	0.1
	N	0.9	0.1
	P	1.1	0.1

Annexe 8

Résultats MOMAC

Tableau S 9 : Résultats MOMAC obtenus pour les échantillons de TiO₂

<i>Echantillon</i>	<i>Transmission (%)</i>	<i>Epaisseur (cm)</i>	<i>Limite Porod (cm⁻¹.Å⁻⁴)</i>	<i>Σ vSSA (cm⁻¹)</i>	<i>ΣSSA (m²/g)</i>	<i>D_{MOMAC} eq (nm)</i>
<i>TiO₂-Drug</i>	41%	0,01594	0,002268	357778,2	9,1	167,7
<i>TiO₂-Paint</i>	12%	0,03602	0,002871	391143,6	9,2	153,4
<i>TiO₂-Cosm</i>	62%	0,00816	0,025026	3409529,5	80,6	17,6
<i>TiO₂-Lab</i>	49%	0,01287	0,014329	2260407,2	57,5	26,5
<i>TiO₂-P25</i>	79%	0,00420	0,0154	2356862,0	59,1	25,5
<i>TiO₂-NM102</i>	62%	0,00862	0,019033	3002465,7	76,4	20,0
<i>TiO₂-E171</i>	42%	0,01584	0,002224	350837,2	8,9	171,0

Références des Annexes

1. INCI Beauty, <https://incibeauty.com/>
2. Khan, I., Saeed, K., Khan, I.: Nanoparticles : Properties , applications and toxicities. Arab. J. Chem. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
3. Bautista, V.P.J., Klaus, K., Uwe, H., Wendel, W., Thomas, K., Alison, B., Greg, M., Angelika, H.-G., Stefan, K., Martin, R., Douglas, G., Peter, G., Birgit, S.-K., Hermann, S., Heike, L.: Basic comparison of particle size distribution measurements of pigments and fillers using commonly available industrial methods. (2014)
4. Comité de la Prévention et de la Précaution, (CPP): Nanotechnologie – Nanoparticules : Quels dangers , quels risques ? (2020)
5. Serpone, N., Dondi, D., Albini, A.: Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. Inorganica Chim. Acta. 360, 794–802 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.ica.2005.12.057>
6. Philippe, A., Košík, J., Welle, A., Guigner, J.M., Clemens, O., Schaumann, G.E.: Extraction and characterization methods for titanium dioxide nanoparticles from commercialized sunscreens. Environ. Sci. Nano. 5, 191–202 (2018). <https://doi.org/10.1039/c7en00677b>
7. European Commission: Commission regulation (EU) 2018/885 of 20 June 2018 amending Annex VI to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products,. Off. J. Eur. Union. (2018)
8. De la Calle, I., Menta, M., Séby, F.: Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review. Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc. 125, 66–96 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.09.007>
9. He, X., Deng, H., Hwang, H. min: The current application of nanotechnology in food and agriculture. J. Food Drug Anal. 27, 1–21 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>
10. Haider, A.J., Jameel, Z.N., Al-Hussaini, I.H.M.: Review on: Titanium dioxide applications. Energy Procedia. 157, 17–29 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.11.159>
11. Peters, R., Brandhoff, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., Aschberger, K., Rauscher, H., Amenta, V., Arena, M., Botelho Moniz, F., Gottardo, S., Mech, A.: Inventory

of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. EFSA Support. Publ. 11, (2017). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2014.en-621>

12. Verma, P., Maheshwari, S.K.: Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors. Int. J. Nano Dimens. 10, 18–36 217 (2019). <https://doi.org/10.22034/ijnd.2018.87646.1609>

13. EFSA: Scientific opinion on the re-evaluation of silver (E 174) as food additive. EFSA J. 14, 4364 (2016). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4364>

14. Betts, J.N., Johnson, M.G., Rygiewicz, P.T., King, G.A., Andersen, C.P.: Potential for metal contamination by direct sonication of nanoparticle suspensions. Environ. Toxicol. Chem. 32, 889–893 (2013). <https://doi.org/10.1002/etc.2123>

15. Booth, A., Alstrup Jensen, K.: SOP for probe sonicator calibration of delivered acoustic power and de-agglomeration efficiency for ecotoxicological testing. NANoREG. (2015)

16. Foucher, J., Labrosse, A., Derville, A., Zimmermann, Y., Bernard, G., Martinez, S., Grönqvist, H., Baderot, J., Pinzan, F.: The coming of age of the first hybrid metrology software platform dedicated to nanotechnologies (Conference Presentation). In: Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (2017)

17. RStudio | Open source & professional software for data science teams - RStudio, <https://rstudio.com>, (2019)