HAL
open science

Nanoplastiques modèles : de l'analyse de leurs caractéristiques physico-chimique à leur comportement colloïdal en milieu aquatique

Cloé Veclin

To cite this version:

Cloé Veclin. Nanoplastiques modèles : de l'analyse de leurs caractéristiques physico-chimique à leur comportement colloïdal en milieu aquatique. Chimie analytique. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2021. Français. NNT : 2021PAUU3051 . tel-03664532

HAL Id: tel-03664532

https://theses.hal.science/tel-03664532v1

Submitted on 11 May 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR
École doctorale des sciences exactes et leurs applications

Présentée et soutenue le 10 décembre 2021

par **Cloé VECLIN**

pour obtenir le grade de docteure
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour
Spécialité : Chimie analytique et environnement

NANOPLASTIQUES MODÈLES : DE L'ANALYSE DE LEURS CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE À LEUR COMPORTEMENT COLLOÏDAL EN MILIEU AQUATIQUE

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

- Guillaume DUFLOS — Ingénieur de recherche – HDR / Laboratoire de sécurité des aliments
- Johnny GASPERI — Directeur de recherche / Université Gustave Eiffel

EXAMINATEURS

- Joanna SZPUNAR — Ingénieure de recherche / Université de Pau et des Pays de l'Adour
- Olivier SANDRE — Directeur de recherche / Université de Bordeaux

DIRECTEURS

- Stéphanie REYNAUD — Directrice de recherche / Université de Pau et des Pays de l'Adour
- Bruno GRASSL — Professeur / Université de Pau et des Pays de l'Adour

UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

« Dans la vie, il n'y a rien à craindre et tout à comprendre. Il est temps de comprendre davantage pour avoir moins peur. »

Marie Curie

Remerciements

Tout d'abord, je souhaiterais remercier Guillaume Duflos, Johnny Gaspery, Joanna Szpunar et Olivier Sandre d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse.

Merci également à Fabienne Séby d'avoir assisté à mes comités de suivi de thèse chaque année.

Je pourrais vous dire à quel point cette thèse a été longue et difficile. Ça serait un mensonge. Je pourrais aussi vous répéter à quel point j'ai été heureuse durant ces trois années de travailler sur un sujet aussi passionnant que les déchets plastiques. Ça serait aussi un mensonge. Ces trois ans de thèse auront été tout ça à la fois.

Je remercie particulièrement mes directeurs de thèse, Stéphanie Reynaud et Bruno Grassl, de m'avoir encadrée durant ces trois ans. Merci à vous pour votre patience et votre disponibilité (beaucoup de mes amis doctorants m'enviaient votre encadrement) je suis désolée d'avoir autant squatté vos bureaux. Merci Bruno c'est grâce à toi que j'ai découvert le merveilleux du plastique en M2. Stéphanie tu m'as réconciliée (un peu) avec la synthèse et ce n'était pas une mince affaire j'y allais vraiment à reculons. Travailler à vos côtés a vraiment été enrichissant et m'a permis de grandir professionnellement et personnellement. Je suis un peu triste de partir. J'espère que nous pourrons continuer à travailler ensemble dans le futur.

Merci Virginie Pellerin tu as toujours une solution originale pour résoudre les problèmes. Merci, d'avoir été avec moi pendant l'essai labo sans tes connaissances en microscopie je n'aurais jamais pu y arriver. Les manips n'étaient pas aussi simples que dans mon souvenir

Merci, Hind El Hadri et Laurence Pessoni, pour votre présence et votre gentillesse. Vous m'avez aidée à me lancer.

Merci aux équipes du JRC et de la plateforme TFFFC de m'avoir accueillie dans vos laboratoires respectifs.

Je souhaite aussi remercier les stagiaires : Louise, Alix, Eva, Nora, Alexandre, Thomas (toi on y reviendra plus tard) que j'ai eu la chance d'encadrer. Vous ne vous en rendez peut-être pas compte, mais votre travail m'a grandement aidée.

Merci à la team nano et tous les amis doctorants pour les pauses café interminables… Franchement un peu de sérieux ! Vous êtes maintenant bien plus que des collègues (enfin sauf un, mais je ne dirais pas qui).

Si dans la team nano je devais citer une personne, ça serait Lucile. Toi et moi on a commencé ensemble et à peu de choses près on finira ensemble. Merci, toutes tes aventures pendant trois ans m'auront bien divertie. Tu devrais écrire une saga ça ferait fureur !

Merci, Clémence, d'avoir relu cette thèse. Je suis vraiment désolée d'avoir gâché tes soirées pendant une semaine et je sais que Jamie est une maigre consolation. Promis je paie ma (mes ?) tournée(s) au prochain quizz ! Merci à toi et Aurore d'être là depuis le master.

En tant que GA Veclin (aka l'appât), je souhaite remercier JM Duval (aka le portugais) , JT Cellier (aka Patate, sérieusement on n'a pas trouvé mieux ?) et JK Maupas (aka le muet, je t'avais dit qu'on y reviendrait). Grâce à vous je suis restée à peu près saine d'esprit pendant le confinement et ne venez pas dire qu'on perdait à cause de moi, ça vous arrangeait bien que je me fasse raser pendant que vous vous développiez tranquillou ?! J'ajouterai à cette liste Marie et Julia car ces vacances en Croatie

m’auront permis de me ressourcer avant d’attaquer le dur de la rédaction (et d’avoir du soutien quand les trois Jedi parlaient Star Wars).

Sans vous ma vie paloise aurait été bien fade.

Merci à ma famille de m’avoir soutenu sans me pousser dans ces études longues.

Et enfin merci à toi ministre Flo d’avoir réussi à me caser dans ton emploi du temps. Tu es arrivé au pire moment de la thèse, mais merci de m’avoir soutenu ces derniers mois et de m’avoir aidé à relâcher la pression et me changer les idées.

De toutes les parties présentes dans ce manuscrit je crois que la rédaction des remerciements aura été pour moi la partie la plus compliquée. J’espère ne pas vous avoir oublié, vous qui lisez ces mots. Si c’est le cas, je vous présente mes excuses les plus sincères.

LISTE DES FIGURES - 5 -

LISTE DES TABLEAUX - 9 -

LISTE DES ABRÉVIATIONS - 11 -

INTRODUCTION GÉNÉRALE - 15 -

CHAPITRE 1 - 21 -

LISTE DES FIGURES - 25 -

LISTE DES TABLEAUX - 25 -

1. PROBLÉMATIQUE DES DÉCHETS PLASTIQUES - 26 -

1.1. Origine et histoire du plastique - 26 -

1.2. La pollution plastique - 28 -

1.3. Déchets plastiques : de la terre à l'océan - 32 -

1.4. Le devenir des plastiques dans l'océan - 33 -

1.4.1. Dégradation chimique - 34 -

1.4.1.1. Photo-oxydation du plastique - 34 -

1.4.1.2. Thermo-oxydation du plastique - 37 -

1.4.1.3. Hydrolyse des polymères - 38 -

1.4.2. Dégradation physique - 38 -

1.4.3. Biodégradation microbienne - 38 -

1.4.4. Du macro au nano - 39 -

1.5. Qu'est-ce qu'un nanoplastique ? - 39 -

1.6. Impact des nanoplastiques sur l'environnement - 41 -

2. LES NANOPLASTIQUES MODÈLES - 42 -

2.1. Nanoplastiques modèles : méthodes ascendantes - 43 -

2.2. Nanoplastiques modèles : méthodes descendantes - 45 -

3. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES NANOPLASTIQUES - 47 -

3.1. Étude de la morphologie des nanoplastiques - 48 -

3.2. Étude de la surface des nanoplastiques - 49 -

3.3. Détermination de la composition chimique des échantillons - 50 -

3.3.1. Techniques spectroscopiques - 50 -

3.3.2. Méthode de spectrométrie de masse - 50 -

3.3.2.1. Caractérisation organique - 50 -

3.3.2.2. Caractérisation inorganique - 51 -

3.3.3. Détection et quantification des nanoplastiques dans l'environnement - 51 -

4. COMPORTEMENT DES NANOPLASTIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT - 52 -
4.1. Homoagrégation - 53 -
4.2. Hétéroagrégation - 55 -
CONCLUSION - 56 -
RÉFÉRENCES - 57 -
CHAPITRE 2 - 73 -
LISTE DES FIGURES - 77 -
LISTE DES TABLEAUX - 78 -
1. CONTEXTE - 79 -
2. MESURE DE LA TAILLE - 80 -
2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DLS) - 81 -
2.2. Fractionnement flux force couplé à la diffusion statique de la lumière (AF4-SLS) - 86 -
2.3. Comparaison des méthodes : bilan - 90 -
3. CARACTÉRISATION DE SURFACE - 92 -
3.1. Morphologie - 92 -
3.2. Charges de surface - 93 -
3.2.1. Titration pH-métrique - 94 -
3.2.2. Zêtamétrie - 95 -
3.2.2.1. Qu'est-ce que le potentiel zêta ? - 95 -
3.2.2.2. Mesure de potentiel zêta par zêtamétrie - 98 -
3.2.3. Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation (EAF4) - 102 -
3.2.3.1. Principe de l'EAF4 - 102 -
3.2.3.2. Détermination du potentiel zêta par EAF4 - 105 -
3.3. Hydrophobie de surface - 110 -
4. CONCLUSION - 112 -
5. MATÉRIEL ET MÉTHODES - 113 -
5.1. Mesure de taille et morphologie de surface - 113 -
5.1.1. Diffusion dynamique de la lumière - 113 -
5.1.2. Diffusion statique de la lumière - 113 -
5.1.3. Microscopie électronique en transmission - 114 -
5.1.4. Microscopie à force atomique - 114 -
5.2. Caractérisation de la charge de surface - 114 -
5.2.1. Titration pH-métrique - 114 -

5.2.2. Zêtamétrie - 115 -
5.2.2.1. Effet de la concentration sur le potentiel zêta - 115 -
5.2.2.2. Effet du pH sur le potentiel zêta - 115 -
5.2.2.3. Mesure du potentiel zêta - 115 -
5.2.3. Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation (EAF4) - 116 -
5.3. Mesure de l'hydrophobie de surface - 116 -

CHAPITRE 3 - 125 -

LISTE DES FIGURES - 129 -

LISTE DES TABLEAUX - 129 -

1. CONTEXTE - 131 -

2. PRÉPARATION DES NANOPLASTIQUES MODÈLES - 133 -
2.1. Contraintes pour l'obtention des modèles - 133 -
2.2. Méthode ascendante : polymérisation en émulsion sans tensio-actif. - 134 -
2.2.1. Mécanisme de la polymérisation en émulsion sans surfactant. - 134 -
2.2.2. Lots de nanoplastiques modèles par méthode ascendante - 135 -
2.3. Méthode descendante : plastique dégradé mécaniquement. - 137 -
2.3.1. Choix de la méthode descendante. - 137 -
2.3.2. Lots de nanoplastiques modèles par méthode descendante. - 137 -

3. CARACTÉRISATION DES MODÈLES. - 138 -
3.1. Modèles obtenus par émulsion. - 138 -
3.2. Modèles obtenus par dégradation - 144 -

4. HOMOAGRÉGATION DES NANOPLASTIQUES DANS L'EAU DE MER - 147 -
4.1. Étude de la stabilité des nanoplastiques *via* la concentration critique de coagulation (CCC) - 148 -
4.2. Étude de l'homoagrégation des nanoplastiques - 149 -

5. CONCLUSION - 156 -

6. MATÉRIELS ET MÉTHODES - 157 -
6.1. Préparation des nanoplastiques modèles - 157 -
6.1.1. Nanoplastiques préparés par méthode ascendante - 157 -
6.1.2. Nanoplastiques préparés par méthode descendante - 157 -
6.2. Préparation de l'eau de mer artificielle : EM150 - 158 -

RÉFÉRENCES - 159 -

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVE - 167 -

BILAN DE LA THÈSE _____ ***- 176 -***

RÉFÉRENCES _____ ***- 183 -***

LISTE DES FIGURES

Chapitre 1

Figure 1-1 : Chronologie du plastique _____ - 26 -

Figure 1-2 : Production mondiale de plastique _____ - 27 -

Figure 1-3 : Répartition de l'utilisation des matériaux plastiques par domaine d'activité dans l'Union Européenne _____ - 28 -

Figure 1-4 : Production, utilisation et devenir des plastiques _____ - 29 -

Figure 1-5 : Projection de la quantité mondiale de déchets mal gérés selon trois scénario- 31 -

Figure 1-6 : Masse de plastique à la surface des gyres océaniques en 2013 _____ - 33 -

Figure 1-7 : Phénomènes impliqués dans la dégradation des déchets plastiques dans l'océan - 34 -

Figure 1-8 : Image MEB de nanoplastiques avant et après 48h d'irradiation UV dans l'eau pure _____ - 36 -

Figure 1-9 : Échelle des différents déchets plastiques _____ - 39 -

Figure 1-10 : Critères de classification des déchets plastiques _____ - 40 -

Figure 1-11 : Nanoplastiques obtenus par polymérisation en émulsion du styrène et de l'acide acrylique _____ - 43 -

Figure 1-12 : Nanoplastiques dopés au palladium _____ - 45 -

Figure 1-13 : Microscopie électronique à balayage (MEB) d'un microplastique après la première étape de dégradation à différentes échelles et de nanoplastiques _____ - 47 -

Figure 1-14 : Propriétés des nanoplastiques modèles _____ - 48 -

Figure 1-15 : Mécanisme de stabilisation de nanoplastiques par l'acide humique et l'alginate - 56 -

Chapitre 2

Figure 2-1 : Propriétés caractéristiques des nanoplastiques _____ - 79 -

Figure 2-2 : Schéma de fonctionnement de la DLS in situ de Cordouan Technologies ___ - 82 -

Figure 2-3 : Comparaison des différents algorithmes de calcul du diamètre hydrodynamique en DLS en fonction du type d'échantillon _____ - 83 -

Figure 2-4 : Effet des paramètres d'acquisition et de la concentration sur les mesures de diamètre hydrodynamique en DLS _____ - 84 -

Figure 2-5 : Courbes d'autocorrélation et distribution de tailles des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques _____ - 86 -

Figure 2-6 : Fractogramme obtenu pour des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques par AF4-SLS _____ - 87 -

Figure 2-7 : Formation des images en microscopie électronique _____ - 88 -

Figure 2-8 : Séries d'images obtenues en MET pour des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques _____ - 89 -

Figure 2-9 : Distribution en taille du diamètre géométrique de nanoplastiques modèles sphériques et des diamètres de Féret de nanoplastiques modèles polymorphiques ____ - 90 -

Figure 2-10 : Images MET et AFM de nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques - 92 -

Figure 2-11 : Coure de titrage des groupements COOH à la surface du _____ - 94 -

Figure 2-12 : Représentation de la double couche électronique _____ - 96 -

Figure 2-13 : Principe simplifié d'une mesure de potentiel zêta _____ - 97 -

Figure 2-14 : Approximation de la fonction de Henry _____ - 98 -

Figure 2-15 : Influence de la concentration sur les valeurs de potentiel zêta pour un nanoplastique modèle sphérique _____ - 99 -

Figure 2-16 : Influence de la force ionique sur les mesure de potentiel zêta pour un nanoplastique modèle sphérique _____ - 100 -

Figure 2-17 : Influence du pH de la solution sur une mesure de potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique _____ - 101 -

Figure 2-18 : Étape d'injection et de focus en AF4 classique _____ - 102 -

Figure 2-19 : Schéma de principe de l'EAF4 _____ - 103 -

Figure 2-20 : Fractogrammes types obtenus pour un nanoplastique modèle sphérique à différents courants en EAF4 _____ - 106 -

Figure 2-21 : Mesure de l'intensité, du potentiel, du pH et de la conductivité pendant l'analyse de nanoplastiques modèles sphériques en EAF4 _____ - 107 -

Figure 2-22 : Détermination de la mobilité électrophorétique des échantillons de nanoplastiques modèles sphériques _____ - 108 -

Tableau 2-5 : Mobilité électrophorétique et potentiel zêta obtenus par EAF4 _____ - 109 -

Figure 2-23 : Fractogrammes obtenus pour un nanoplastique modèle sphérique en EAF4 entre 0 et -2 V _____ - 109 -

Figure 2-24 : Principe de la mesure d'hydrophobie de surface _____ - 111 -

Figure 2-25 : Courbe d'affinité de deux échantillons de nanoplastiques modèles sphériques sur trois collecteurs _____ - 112 -

Chapitre 3

Figure 3-1 : Schéma de principe de la polymérisation en émulsion sans tensio-actif ___ - 135 -

Figure 3-2 : Suivi de la conductivité du surnageant lors de la purification du PSAA56 par centrifugation _____ - 136 -

Figure 3-3 : Images TEM et AFM des nanoplastiques modèles obtenus par polymérisation en émulsion _____ - 138 -

Figure 3-4 : Diamètres mesurés par DLS, SLS et imagerie TEM des échantillons obtenus par polymérisation en émulsion _____ - 139 -

Figure 3-5 : Concentration en groupements COOH à la surface des nanoplastiques modèles en fonction des rapports $\frac{n_{monomère\ acide}}{n_{styrène}}$ engagés pour les synthèses pour une quantité de styrène constante _____ - 140 -

Figure 3-6 : Corrélation entre l'hydrophobie des nanoplastiques modèles et leur fonctionnalité de surface _____ - 142 -

Figure 3-7 : Répartition des fonctions ionisables et non-ionisables entre la surface et le cœur du PSMAA2 et PSAA2 _____ - 143 -

Figure 3-8 : Image TEM des nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation _____ - 144 -

Figure 3-9 : Diamètre du PS-m mesuré par DLS, SLS et TEM _____ - 145 -

Figure 3-10 : Facteur d'aspect du PS-m par imagerie TEM _____ - 146 -

Figure 3-11 : Évolution du potentiel zêta en fonction de la concentration en sel de l'EM150 - 150 -

Figure 3-12 : Cinétique d'agrégation du PSMAA2 à différentes concentrations d'EM150- 151 -

Figure 3-13 : Cinétiques d'agrégation du PS-m à différentes concentrations d'EM150 _- 152 -

Figure 3-14 : Efficacité d'attachement des nanoplastiques modèles à différentes concentrations en sel d'EM150 _____ - 153 -

Figure 3-15 : Calcul DLVO et stabilité colloïdale dans différentes concentrations en NaCl - 155 -

Figure 3-16 : Tamis de récupération du broyat _____ - 158 -

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre 1

Tableau 1-1 : Comparaison de la disponibilité des facteurs influençant la dégradation du plastiques dans les différentes zones du milieu marin _____ - 37 -

Tableau 1-2 : Revue des études récentes reportant les taux d'homoagrégation et les concentrations critiques de coagulation (CCC) dans des électrolytes mono- et divalents de nanoplastiques fonctionnalisés et ayant une surface anionique _____ - 54 -

Chapitre 2

Tableau 2-1 : Précision de la mesure du diamètre hydrodynamique d'un échantillon de nanoplastiques sphériques monodisperses en DLS _____ - 85 -

Tableau 2-2 : Comparaison des méthodes de mesure de taille _____ - 91 -

Tableau 2-3 : Mobilité électrophorétique et potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique dans différents milieux_____ - 101 -

Tableau 2-4 : Diamètre hydrodynamique et fonctionnalité de surface des nanoplastiques modèles sphériques analysés en EAF4 _____ - 105 -

Tableau 2-7 : Conditions de séparation en AF4 en fonction de la taille des analytes ___ - 114 -

Tableau 2-8 : Caractéristiques de surface des différents collecteurs _____ - 117 -

Chapitre 3

Tableau 3-1 : Conditions expérimentales pour la synthèse des nanoplastiques sans tensio-actif _____ - 136 -

Tableau 3-3 : Hydrophobie de surface des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion__ - 141 -

Tableau 3-3 : Propriétés des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion _____ - 144 -

Tableau 3-4 : Propriétés de l'echantillon de nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation _____ - 147 -

Tableau 3-5 : Concentrations critiques de coagulation de nanoplastiques modèles dans l'EM150 _____ - 153 -

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA *Acide acrylique*

AF4 *Flow-filed flox factionation*

AFM *Microscopie à force atomique (Atomic Force Microscopy)*

ALENA *Accord de libre-échange nord-américain (États-Unis, Mexique, Canada)*

APS *Persulfate d'ammonium*

BET *Analyse de la surface spécifique (Brunauer Emmett et Teller)*

CCC *Concentration critique de coagulation*

DFM *microscopie en champ sombre (Dark Field Microscopy)*

DLS *Diffusion dynamique de la lumière (Dynamic Light Scattering)*

DLVO *Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek*

EPS *Polystyrène expansé*

EIFFF *Electrical field flow fractionation*

FI *Force ionique (ionic strength)*

FTIR *Spectroscopie infrarouge à transformée de fFOurier (Fourier Transformation InfraRed spectroscopy)*

GC *Chromatographie en phase gazeuse (Gaz Chromatography)*

HPLC *Chromatography en phase liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatograhy)*

ICP *couplage à plasma induit (Inductively coupled plasma)*

JRC *Joint Research Center*

LD *Limite de détection*

MAA *Acide méthacrylique*

MALS *Diffusion de lumière multi angle*

MEB *Microscopie électronique à balayage*

MET *Microscopie électronique à transmission*

MS *Spectrométrie de masse (Mass Spectrometry)*

NPT *Nanoplastique*

NTA *Suivi individuel de particules (Nanoparticle Tracking Analysis)*

PB *Tampon phosphate (phosphate buffer)*

PCB *Polychlorobiphényles*

PDDA *Poly(chlorure diméthyldiallyammonium)*

PDI *Indice de polydispersité (polydispersity index)*

PE *Polyéthylène*

PES	*Polyéther sulfone*
PET	*Polyéthylène téréphtalate*
PIB	*Produit intérieur brut*
PMMA	*Polyméthacrylate de méthyle*
PP	*Polypropylène*
PS	*Polystyrène*
PSL	*Latexe de polystyrène (polystyren latex)*
PSS	*Polystyrène sulfonate de sodium*
PTFE	*Téflon (Polytétrafluoroéthylène)*
PTR	*Réaction à transfert de proton (Proton Transfer Reaction)*
PUR	*Polyuréthane*
PVC	*Polychlorure de vinyle*
PY	*Pyrolyse*
QNM	*Quantitative NanoMechanics*
SBL	*Sparse Bayesian Learning*
SDS	*Sodium dodécyl sulfate*
SLS	*Diffusion statique de la lumière (Static Light Scattering)*
SP	*Particule unique (single particle)*
TD	*Thermo-désorption*
TFFC	*Toulouse Field-Flow Fractionation*
USEPA	*Agence de protection environnementale américaine*
UV	*Ultraviolet*

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Lors de la préparation de son livre, sorti en 2011, Susan Freinkel a décidé de mener une expérience personnelle : pouvait-elle passer une journée sans toucher de plastique ? Quelques secondes lui ont suffi pour se rendre compte que cet objectif n'était pas réalisable. Elle l'a alors modifié et décidé de noter toutes les matières, plastiques et autres matériaux, qu'elle toucherait en 24 heures. En une journée, elle a touché 192 objets composés de plastiques contre 102 fabriqués avec d'autres matériaux tels que le bois ou le verre (Freinkel, 2011). Ce constat montre à quel point le plastique est ancré dans notre société moderne.

Le plastique est un matériau durable, résistant que nous ne savons que très peu recycler. Aujourd'hui, près de 60 % du plastique produit depuis 1950 termine sa vie dans une décharge ou simplement rejeté dans l'environnement (Geyer *et al.*, 2017). Ces plastiques mal gérés se retrouvent bien souvent dans l'océan, réceptacle final d'un grand nombre de pollutions anthropiques. Cependant, les apports terrestres ne sont pas les seules sources de plastiques, les activités maritimes (aquaculture, pêches, plateformes, transport) sont elles aussi une source non négligeable. Si rien ne change d'ici 2050 il y aura autant de plastiques dans les océans que de poissons (Crawford & Quinn, 2019). Le plastique est alors devenu l'un des polluants le plus présent et persistant dans l'environnement, faisant de lui un enjeu politique majeur bien au-delà des frontières des pays.

À l'heure actuelle, ne nous connaissons pas l'étendue de l'impact de la pollution plastique sur l'océan. Cependant, certains dangers ont déjà été observés comme le risque d'ingestion ou d'étranglement de la faune marine. De plus, bien que très résistants les déchets plastiques peuvent se fragmenter en micro et nanoplastiques sous l'effet du rayonnement UV, de la température et des vagues. Les nanoplastiques sont définis, en partie, comme étant de petites particules de taille inférieure à 1 µm (Gigault *et al.*, 2018). Ils ont la capacité de sorber d'autres contaminants (métalliques et organiques), de les transporter, puis de les désorber dans un autre compartiment environnemental ou directement dans les organismes. Ces phénomènes sont encore méconnus et sont au cœur de l'attention de la communauté scientifique. Ils sont dépendants de nombreux paramètres et notamment de l'état d'agrégation des nanoplastiques.

Dans ce contexte, ces travaux de thèse avaient pour objectif de développer les outils analytiques permettant d'étudier et comprendre les phénomènes régissant l'agrégation des nanoplastiques dans l'océan. Pour cela, nous avons défini trois objectifs. Le premier était de développer des nanoplastiques modèles représentatifs de l'environnement. Puis nous avons développé des techniques analytiques permettant de les caractériser totalement pour enfin pouvoir étudier leur agrégation dans une eau de mer artificielle.

Ce manuscrit est composé de trois chapitres.

Le premier chapitre est une étude bibliographique consacrée à trois axes. Dans un premier temps, nous avons recensé les études discutant de la pollution plastique, de son histoire et de son impact sur l'environnement. Dans la majorité des études sur l'impact des nanoplastiques sur l'environnement et la biologie marine les chercheurs utilisent des nanoplastiques modèles commerciaux. Ces modèles peuvent être problématiques à bien des égards (composition, manque d'information) ce qui conduit à la deuxième partie du chapitre : le développement de nouveaux modèles « fait maison » et comment les obtenir et les caractériser. Enfin, nous nous sommes intéressés à l'agrégation des nanoplastiques dans l'océan.

Le deuxième chapitre s'intéresse aux développements de techniques d'analyse permettant la caractérisation des nanoplastiques à travers la détermination de leur distribution de taille, de leur forme, de l'aspect et charge de leur surface. Dans ce chapitre, nous avons étudié le développement d'une stratégie de caractérisation systématique des nanoplastiques.

Enfin dans le chapitre 3 nous présentons deux types de modèles développés à l'IPREM. Les premiers sont obtenus par une méthode ascendante (polymérisation en émulsion) et les seconds par une méthode descendante (dégradation mécanique). Ces deux modèles ont été caractérisés en suivant la stratégie analytique établie dans le chapitre précédent. Enfin, nous présentons l'étude de leur homoagrégation en milieu marin.

RÉFÉRENCES

- C -

Crawford, C. B. and Quinn B., (2019). Microplastic Pollutants, Elsevier Limited.978-0-12-809406-8 ISBN : 978-0-12-809406-8

- F -

Freinkel, S., (2011). Plastic: A Toxic Love Story, Houghton Mifflin Harcourt.978-0-547-15240-0

- G -

Gigault, J., Halle A. t., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B. and Reynaud S. (2018). Current opinion: What is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024.

- R -

Geyer, R., Jambeck J. R. and Law K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* **3**(7): e1700782. https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782.

CHAPITRE 1

ETAT DE L’ART

LISTE DES FIGURES - 25 -

LISTE DES TABLEAUX - 25 -

1. PROBLÉMATIQUE DES DÉCHETS PLASTIQUES - 26 -

1.1. Origine et histoire du plastique - 26 -

1.2. La pollution plastique - 28 -

1.3. Déchets plastiques : de la terre à l'océan - 32 -

1.4. Le devenir des plastiques dans l'océan - 33 -

1.4.1. Dégradation chimique - 34 -

1.4.1.1. Photo-oxydation du plastique - 34 -

1.4.1.2. Thermo-oxydation du plastiques - 37 -

1.4.1.3. Hydrolyse des polymères - 38 -

1.4.2. Dégradation physique - 38 -

1.4.3. Biodégradation microbienne - 38 -

1.4.4.Du macro au nano - 39 -

1.5. Qu'est-ce qu'un nanoplastique ? - 39 -

1.6. Impact des nanoplastiques sur l'environnement - 41 -

2. LES NANOPLASTIQUES MODÈLES - 42 -

2.1. Nanoplastiques modèles : méthodes ascendantes - 43 -

2.2 Nanoplastiques modèles : méthodes descendantes - 45 -

3. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES NANOPLASTIQUES - 47 -

3.1 Étude de la morphologie des nanoplastiques - 48 -

3.2. Étude de la surface des nanoplastiques - 49 -

3.3. Détermination de la composition chimique des échantillons - 50 -

3.3.1. Techniques spectroscopiques - 50 -

3.3.2. Méthode de spectrométrie de masse - 50 -

3.3.2.1. Caractérisation organique - 50 -

3.3.2.2. Caractérisation inorganique - 51 -

3.4. Détection et quantification des nanoplastiques dans l'environnement - 51 -

4. COMPORTEMENT DES NANOPLASTIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT - 52 -

4.1. Homoagrégation - 53 -

4.2. Hétéroagrégation - 55 -

5. CONCLUSION - 56 -

6. RÉFÉRENCES - 57 -

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 : Chronologie du plastique _____ - 26 -

Figure 1-2 : Production mondiale de plastique _____ - 27 -

Figure 1-3 : Répartition de l'utilisation des matériaux plastiques par domaine d'activité dans l'Union Européenne _____ - 28 -

Figure 1-4 : Production, utilisation et devenir des plastiques _____ - 29 -

Figure 1-5 : Projection de la quantité mondiale de déchets mal gérés selon trois scénario _____ - 31 -

Figure 1-6 : Masse de plastique à la surface des gyres océaniques en 2013 _____ - 33 -

Figure 1-7 : Phénomènes impliqués dans la dégradation des déchets plastiques dans l'océan __ - 34 -

Figure 1-8 : Image MEB de nanoplastiques avant et après 48h d'irradiation UV dans l'eau pure _ - 36 -

Figure 1-9 : Échelle des différents déchets plastiques _____ - 39 -

Figure 1-10 : Critères de classification des déchets plastiques _____ - 40 -

Figure 1-11 : Nanoplastiques obtenus par polymérisation en émulsion du styrène et de l'acide acrylique _____ - 43 -

Figure 1-12 : Nanoplastiques dopés au palladium _____ - 45 -

Figure 1-13 : Microscopie électronique à balayage (MEB) d'un microplastique après la première étape de dégradation à différentes échelles et de nanoplastiques _____ - 47 -

Figure 1-14 : Propriétés des nanoplastiques modèles _____ - 48 -

Figure 1-15 : Mécanisme de stabilisation de nanoplastiques par l'acide humique et l'alginate __ - 56 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 : Comparaison de la disponibilité des facteurs influençant la dégradation du plastiques dans les différentes zones du milieu marin _____ - 37 -

Tableau 1-2 : Revue des études récentes reportant les taux d'homoagrégation et les concentrations critiques de coagulation (CCC) dans des électrolytes mono- et divalents de nanoplastiques fonctionnalisés et ayant une surface anionique _____ - 54 -

1. PROBLÉMATIQUE DES DÉCHETS PLASTIQUES

1.1. Origine et histoire du plastique

Les premiers plastiques inventés au milieu du XIXème siècle étaient obtenus à partir de matière première naturelle. En 1855, le premier plastique industriel synthétique, la parkésine, fut créé par Alexander Parkes et présenté à l'exposition universelle de Londres en 1862 (Heinrich-Böll-Stiftung France, 2020). Il était fabriqué à partir de cellulose. Il faudra attendre le début du XXème siècle et les avancées chimiques qui l'accompagne pour permettre la production industrielle de nouveaux plastiques vierges de toute molécule présente dans la nature, tels que la bakélite puis quelques années plus tard les plastiques que nous connaissons aujourd'hui comme le polychlorure de vinyle (PVC), le polyéthylène (PE) ou le polystyrène (PS) (Figure 1-1). Environ 30 000 types de polymères sont enregistrés dans l'Union européenne (Strungaru *et al.*, 2019).

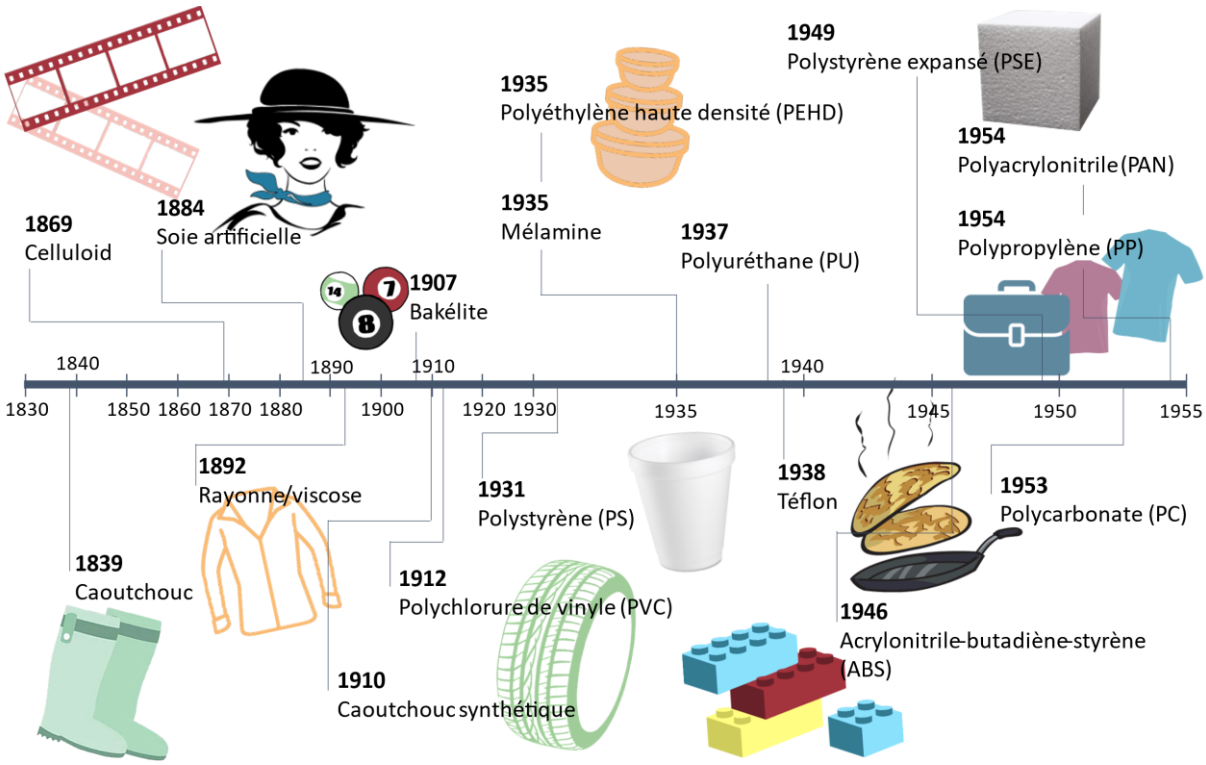

Figure 1-1: Chronologie du plastique. Adapté de (Heinrich-Böll-Stiftung France, 2020).

Ce n'est qu'à partir de la Seconde Guerre mondiale, où le plastique servait à isoler les câbles des navires de guerre, que l'on entre dans « l'âge des plastiques » avec une forte augmentation de leur production (Barnes *et al.*, 2009 ; Brandon *et al.*, 2019 ; Thompson *et al.*, 2009) (Figure 1-2). Aujourd'hui, pour notre utilisation quotidienne dans les secteurs industriels et domestiques, six types de polymères dominent le marché. Ils représentent environ 80 % de la demande en plastique en Europe et sont

appelés les « Big six » : le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polystyrène (PS) classique ou expansé (EPS), le polychlorure de vinyle (PVC), le polyéthylène téréphtalate (PET) et le polyuréthane (PUR) (PlasticsEurope). Les trois principaux pays/régions producteurs/productrices de plastique sont l'Asie (51 %) ; ALENA (États-Unis, Mexique, Canada, 19 %) et l'Union européenne (16 %) (PlasticsEurope). L'extrême polyvalence du plastique en fait un acteur important de l'économie européenne. La plasturgie emploie plus de 1.5 million de personnes en Europe répartie sur 55 000 entreprises avec un chiffre d'affaires supérieur à 350 milliards d'euros en 2019 (PlasticsEurope).

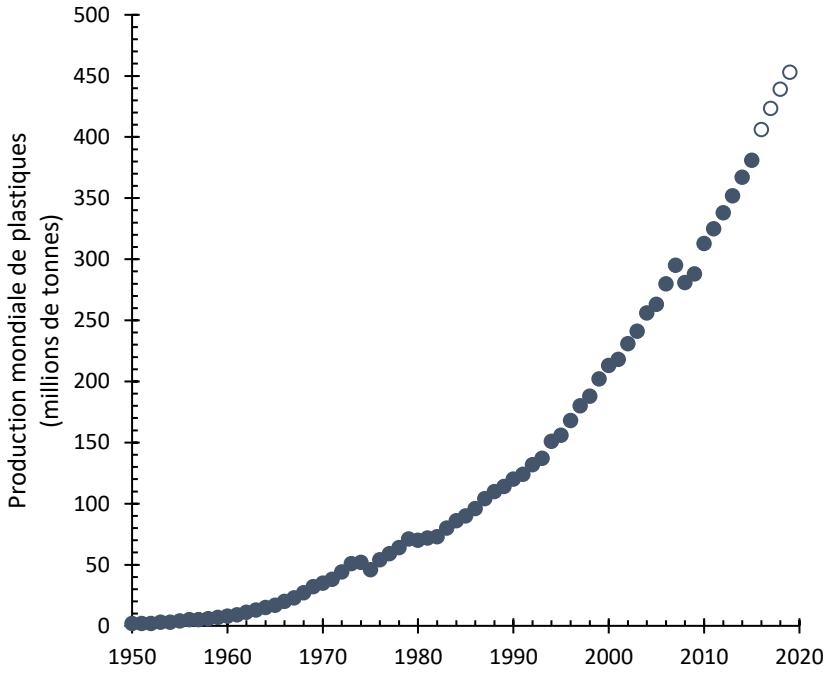

Figure 1-2 : Production mondiale de plastique, d'après les données de ● Geyer et al. et ○ Estimation calculée d'après PlasticsEurope (Geyer *et al.*, 2017 ; PlasticsEurope).

Les plastiques sont des matériaux résistants (chocs, pression, température), inertes, durables, légers, malléables et peu coûteux ce qui les rend extrêmement polyvalents et permet la production d'objets divers et variés. Depuis un siècle, les plastiques se sont donc fait une place dans tous les secteurs d'activités de notre société : de l'emballage à la construction en passant par l'électronique (Figure 1-3).

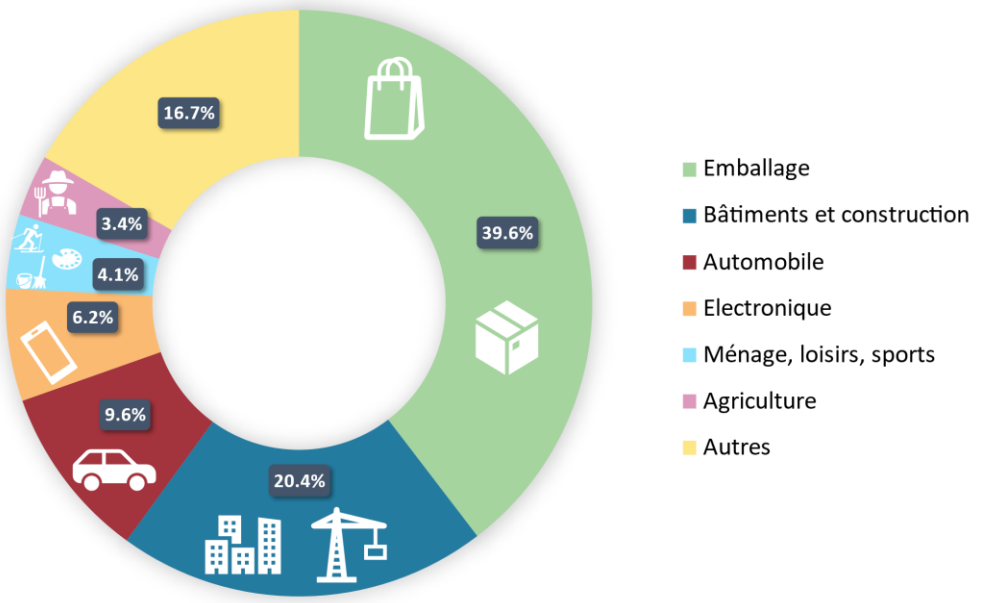

Figure 1-3 : Répartition de l'utilisation des matériaux plastiques par domaine d'activité dans l'Union européenne (inclus Suisse et Norvège). La catégorie « autres » inclut les appareils électroménagers, l'ingénierie mécanique, l'ameublement, le médical, etc. D'après les données de PlasticsEurope (PlasticsEurope).

La production mondiale de plastique est passée de 2 millions de tonnes en 1950 à 313 millions de tonnes 50 ans plus tard. Cette explosion a généré un volume de déchets qui n'avait pas été anticipé et n'a pu être géré pour éviter les conséquences environnementales auxquelles nous devons faire face aujourd'hui.

1.2. La pollution plastique

Au cours des dernières décennies, le plastique a révolutionné notre quotidien ; pourtant son cycle de vie et plus particulièrement sa fin de vie n'ont pas été anticipés à leur juste valeur (Thompson *et al.*, 2009). Il est en effet difficile d'en estimer le coût, qui n'est généralement pas imputé au producteur ou au consommateur, mais plutôt aux victimes de sa mauvaise gestion (*e.g.* collectivités, tourisme, aquaculture, *etc.*) (Newman *et al.*, 2015). De plus, l'utilisation du plastique est tellement ancrée dans la société moderne qu'il semble aujourd'hui difficile de s'en passer et d'adopter une politique visant à diminuer sa production et donc celle de déchet plastique. Aujourd'hui plus de 50 % des plastiques produits sont à usage unique ou à durée de vie courte (*e.g.* emballages, sacs alimentaires), 25 à 30 % sont à durée de vie intermédiaire (*e.g.* électronique, automobile, ameublement) et seulement 20 à 25 % ont une durée de vie longue (*e.g.* tuyaux, revêtement et autres éléments de construction) (Hopewell *et al.*, 2009). D'autres auteurs estiment que sur les 8 300 Mt de plastiques produits entre 1950 et 2015 seulement 2 500 Mt sont encore utilisés (Geyer *et al.*, 2017).

Actuellement, il existe trois éventualités de fin de vie pour un plastique (Figure 1-4) (Geyer *et al.*, 2017) :

- l'incinération (seule méthode de destruction complète) avec ou sans valorisation de l'énergie produite en électricité ou chauffage ;
- Le recyclage et la récupération de la matière première ;
- Le dépôt en décharges ou dans l'environnement.

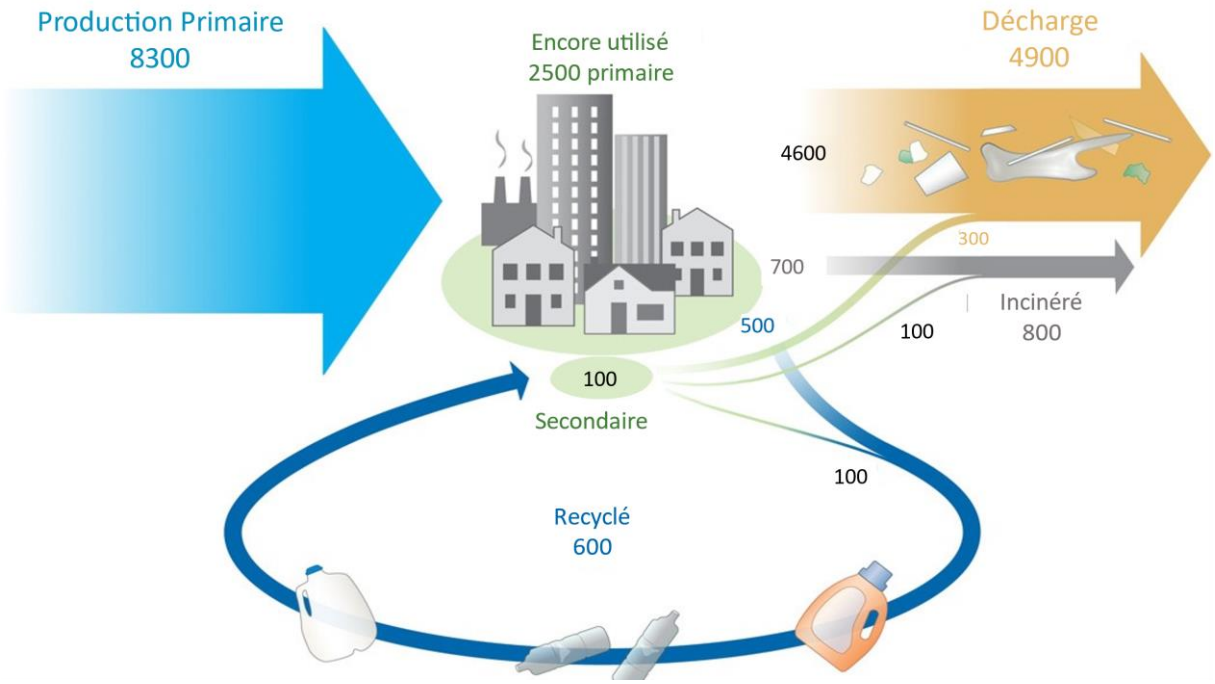

Figure 1-4 : Production mondiale, utilisation et devenir des plastiques (de 1950 à 2015 ; en millions de tonnes). Adapté de Geyer et al. 2017 (Geyer *et al.*, 2017).

Le rejet accidentel ou volontaire de déchets plastiques dans l'environnement est un fléau écologique. Aucun des principaux polymères utilisés en plasturgie n'est biodégradable ce qui entraîne leur accumulation. Cette dernière est suffisante pour que plusieurs auteurs proposent d'utiliser les plastiques comme marqueur de l'Anthropocène[11] (Brandon *et al.*, 2019 ; Zalasiewicz *et al.*, 2016).

[1] L'Anthropocène est une époque géologique de la terre dans laquelle l'Homme est l'acteur principal du changement sur l'écosystème

Dans le monde, la mauvaise gestion des déchets est variable en fonction des zones géographiques. Chaque année, en Europe et Amérique du Nord entre 1 et 10 % (0.3 – 3.3 Mt) de leur production de déchets plastiques se retrouve dans l'environnement, ce qui est largement inférieur à l'Asie (63 % ; 52 Mt) et l'Afrique (85 % ; 17 Mt) (Lebreton & Andrady, 2019). Cependant, une grande partie des déchets produits en Europe et en Amérique du Nord est exportée vers les pays d'Asie et d'Afrique. À titre d'exemple entre 1992 et 2018 la Chine a importé 45 % de la production mondiale de déchets plastiques (Brooks *et al.*, 2018). À l'échelle mondiale en 2015, 47 % de la production mondiale annuelle de déchet plastique municipaux ont été rejetés dans l'environnement (Lebreton & Andrady, 2019). Ces valeurs sont à prendre avec modération, en effet dans ces publications les auteurs ont eu accès aux données de la banque mondiale, qui ne prend en compte que les déchets ménagers. Les déchets industriels n'étant pas considérés ces résultats peuvent être largement sous-estimés.

Lebreton et Andrady ont étudié les futurs scénarios possibles quant à la production et la gestion des déchets (Lebreton & Andrady, 2019). Trois scénarios ont été considérés. Nous souhaitons attirer l'attention sur le fait que cette étude date de 2019 et est basée sur des données de 2015 (Figure 1-5):

- Scénario A : « Business-as-usual ». Ce scénario correspond à un *statu quo* dans lequel le niveau de gestion des déchets correspond aux données de 2015 et où la demande en plastique augmente avec l'économie.
- Scénario B : Amélioration de la gestion des déchets. Dans ce scénario, les infrastructures de la gestion des déchets sont améliorées à mesure que le PIB par habitant augmente.
- Scénario C : Réduction de l'utilisation des plastiques et meilleure gestion des déchets. Ce scénario reflète une réduction de la demande en plastique par habitant avec un plafonnement à 10 % de plastique dans les déchets municipaux d'ici 2020 et 5 % d'ici 2040. La gestion des déchets est améliorée progressivement comme dans le scénario B.

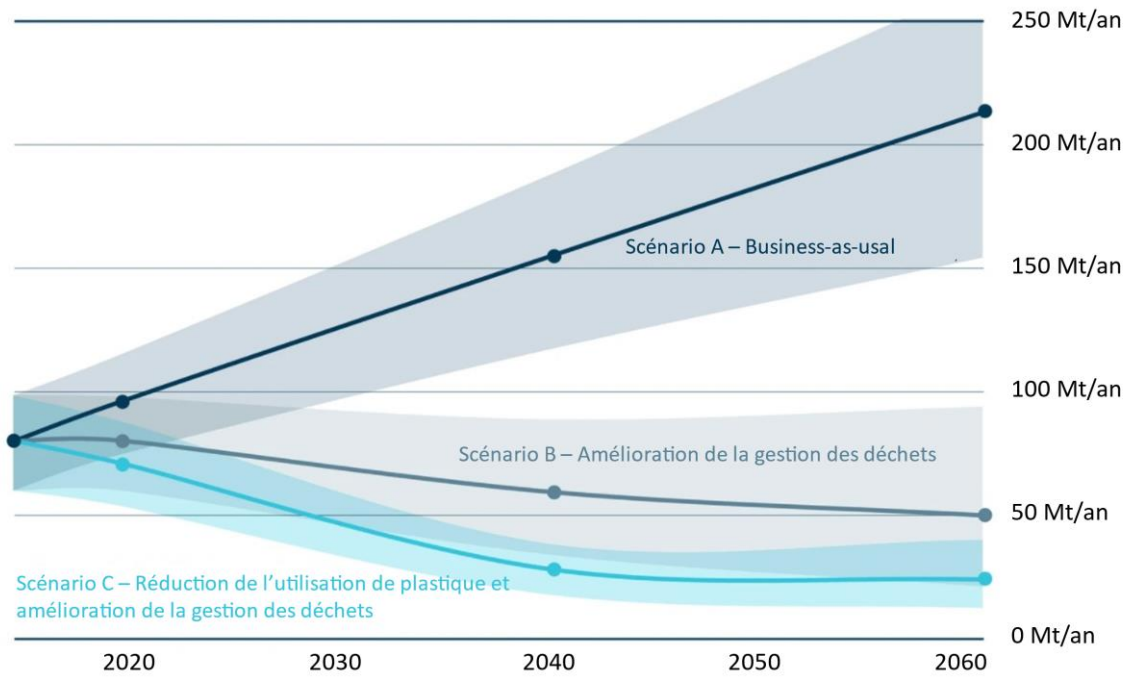

Figure 1-5 : Projection de la quantité mondiale de déchets plastiques mal gérés selon trois scénarios. Le scénario A correspond à un statu quo dans lequel le niveau de gestion des déchets plastiques correspond aux données de 2015 et où la demande en plastique augmente avec l'économie. Le scénario B considère une amélioration des infrastructures de gestion des déchets avec l'augmentation du PIB par habitant. Le scénario C reflète une réduction de la demande en plastique par habitant avec une fraction de plastiques dans les déchets solides municipaux plafonée a 10 % d'ici 2020 et 5 % d'ici 2040, la gestion des déchets est améliorée progressivement comme dans le scénario B. D'après (Lebreton & Andrady, 2019)

Le scénario A est le scénario le plus pessimiste. Il considère que la quantité de déchets mal gérés suit la tendance actuelle. Dans ces conditions d'ici 2060 la quantité de déchets plastiques mal gérés dans le monde pourrait atteindre 213 Mt/an avec l'Afrique et la Chine comme principaux contributeurs. Le scénario B, montre qu'améliorer le traitement des déchets municipaux n'est pas suffisant pour réduire drastiquement la quantité de déchets mal gérés dans le monde. Pour avoir une diminution significative de la quantité de déchets plastiques mal gérés dans le monde il est nécessaire, en plus d'améliorer fortement la gestion des déchets, pour que la quantité de plastiques dans les déchets municipaux solides par habitant soit plafonnée à 5 % d'ici 2040. Ce qui implique de réduire l'utilisation des matières plastiques au quotidien. L'interdiction des plastiques à usage unique actuellement proposée dans les politiques des villes, des pays et de certaines régions du monde va de ce sens.

1.3. Déchets plastiques : de la terre à l'océan

Tous les ans, environ 10 millions de tonnes de déchets plastiques entrent dans les océans, soit l'équivalent d'un camion poubelle toutes les minutes (Heinrich-Böll-Stiftung France, 2020). Les sources de débris plastiques, qu'elles soient intentionnelles ou non, sont séparées en deux grandes catégories (Andrady, 2011 ; Cole *et al.*, 2011 ; Law, 2017). D'un côté les sources maritimes (*e.g.* aquaculture, pêches, plateformes en haute mer, transport maritime) de l'autre les sources terrestres (*e.g.* activités industrielles, agriculture, tourisme, catastrophe naturelle). Les déchets terrestres sont généralement transportés par le ruissellement, le vent, ou rejetés directement dans les océans, les rivières et les fleuves. Les débris plastiques présents dans les rivières peuvent ensuite être transportés jusque dans les océans. Selon les modèles mathématiques utilisés, il est estimé qu'entre 0.41 – 4 Mt (Schmidt *et al.*, 2017) et 1.15 – 2.41 Mt (Lebreton *et al.*, 2017) de déchets plastiques sont transportés par les rivières chaque année. Néanmoins, cet apport varie en fonction des saisons. La majorité des apports aurait lieu pendant la période des crues hivernales (Hurley *et al.*, 2018).

La distribution et l'accumulation des plastiques dans l'océan sont fortement influencées par les courants et les vents marins. De par leur densité, une grande partie des plastiques flotte à la surface des océans. En conséquence, les déchets plastiques sont transportés jusque dans des gyres océaniques [2] dans lesquels ils vont s'accumuler. Ces zones d'accumulation sont souvent appelées le « septième continent ». Il existe cinq grands gyres océaniques : dans le Pacifique Nord et Sud, dans l'Atlantique Nord et Sud et dans l'océan Indien.

La Figure 1-6 montre la répartition massique des déchets plastiques dans l'océan en 2013 (Eriksen *et al.*, 2014). La majorité des plastiques se trouve dans l'hémisphère nord. Ce résultat est attribuable à la quantité de plastique utilisée et à la mauvaise gestion de leurs déchets dans l'hémisphère nord (Lebreton *et al.*, 2012). Les quantités de plastique présent à la surface des océans de l'hémisphère sud ne peuvent être expliquées par la seule exploitation des plastiques de cette région. Eriksen *et al.* ont émis l'hypothèse que les déchets pouvaient être déplacés plus facilement entre les différents gyres que précédemment supposé par Lebreton *et al. (Eriksen et al., 2014 ; Lebreton et al., 2012)*. Eriksen *et.*

[2] Un gyre océanique est un gigantesque tourbillon d'eau formé par un ensemble de courants marins.

al. ont estimé qu'il y avait environ 269 000 tonnes de plastiques dans les eaux de surface à travers le monde (Eriksen *et al.*, 2014). Cette valeur est largement inférieure à la quantité de plastique totale estimée dans les océans (entre 4.8 et 12.7 millions de tonnes en 2010) nous menant à nous demander où est le plastique manquant (Jambeck *et al.*, 2015) ?

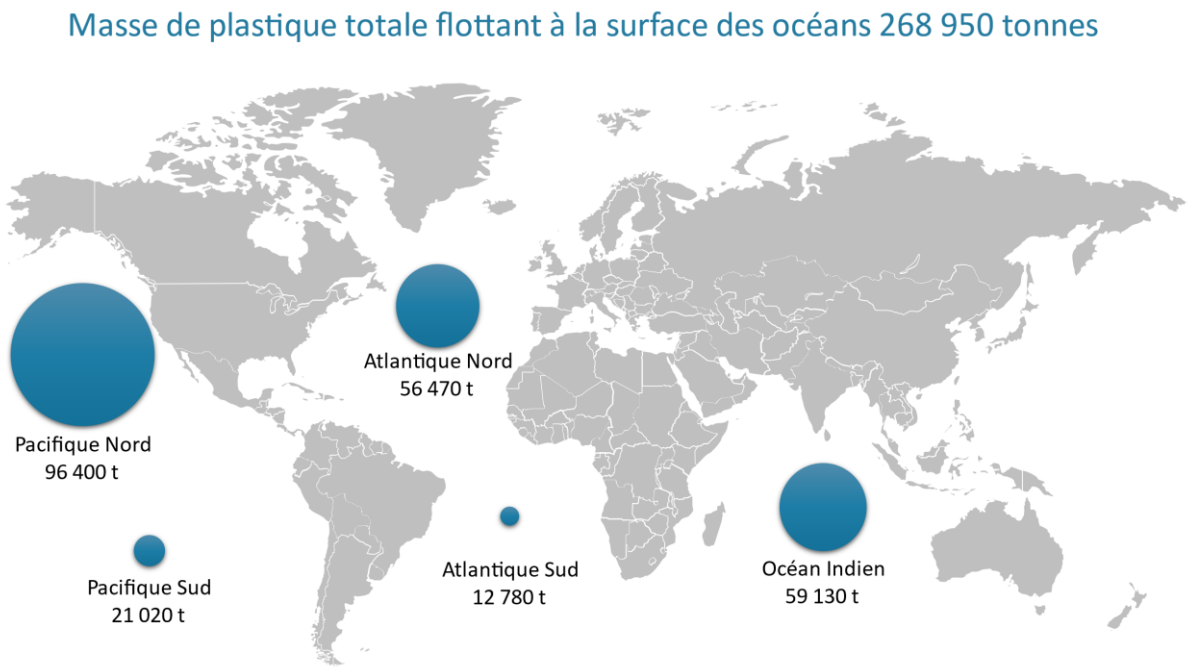

Figure 1-6 : Masse de plastique à la surface des gyres océaniques en 2013. Mesurée en masse de particules (micro et macroplastiques). Ces données prennent seulement en compte les plastiques dans les eaux de surface et ne considèrent pas la colonne d'eau ou le fond marin (Eriksen *et al.*, 2014).

1.4. Le devenir des plastiques dans l'océan

Les plastiques courants utilisés dans les emballages (polystyrène, polypropylène, polyéthylène, polyéthylène téréphtalate, polyuréthane) et rencontrés dans le milieu marin sont des matériaux persistants. Comme d'autres matériaux organiques, les facteurs environnementaux peuvent entraîner une dégradation c'est-à-dire un changement des propriétés physico-chimiques (vieillissement) et structurelles (fragmentation) (Julienne, 2019). La vitesse à laquelle ils se dégradent augmente avec la durée d'exposition.

Plusieurs phénomènes peuvent conduire à la dégradation des plastiques :

i) Dégradation chimique : photo-dégradation, oxydation thermique, hydrolyse.

ii) Dégradation physique : Fissuration et fragmentation

iii) Dégradation biotique : Biodégradation par des microorganismes

Parmi ces réactions (Figure 1-7), seule la photo-dégradation est particulièrement efficace dans l'environnement océanique et cela uniquement sur les plastiques flottants à la surface des eaux ou jonchant les plages (Cooper & Corcoran, 2010). L'oxydation thermique des plastiques se produit avec la photo-dégradation, en particulier sur les plages, mais reste lente. Son impact est très faible dans l'eau qui agit comme un dissipateur thermique (Gregory & Andrady). La fragmentation mécanique est un des principaux phénomènes conduisant à la disparition visuelle des macro et micro plastiques présents dans l'océan. Enfin, l'hydrolyse et la biodégradation sont des phénomènes mineurs de la dégradation du plastique.

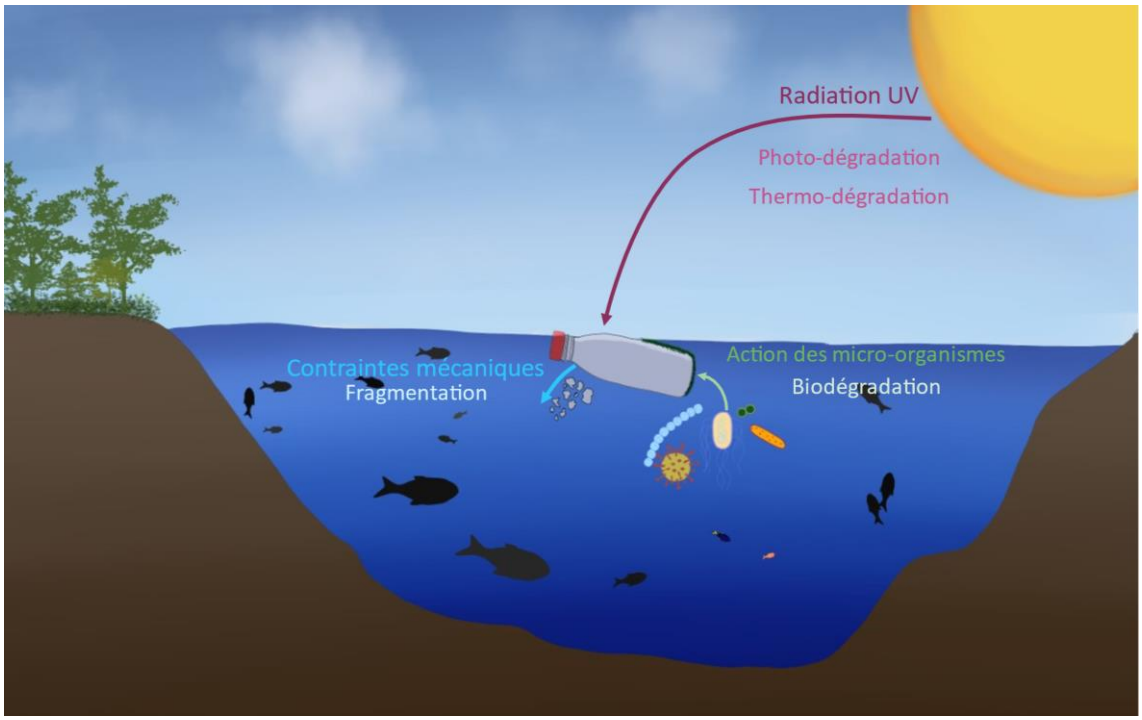

Figure 1-7 : Phénomènes impliqués dans la dégradation des déchets plastiques dans l'océan

1.4.1. Dégradation chimique

1.4.1.1. Photo-oxydation du plastique

La photo-oxydation des polyoléfines (polyéthylène basse densité, polyéthylène linéaire basse densité, polyéthylène haute densité et polypropylène) est une réaction radicalaire initiée par le rayonnement solaire UV. La séquence de réactions chimiques oxydatives impliquées entraîne *(i)* l'incorporation de fonctionnalités contenant de l'oxygène dans les chaînes macromoléculaires des polymères et *(ii)* la scission des chaînes de polymère en deux fragments (Singh & Sharma, 2008). La photo-oxydation affecte considérablement les propriétés utiles du polymère (*e.g.* résistance, rigidité, *etc.*). Même à de faibles niveaux d'oxydation (souvent 1 % ou moins), une perte très importante de

résistance mécanique peut se produire. Les longueurs d'onde solaires à haute énergie UV-B (290 – 315 nm) et moyenne énergie UV-A (315 – 400 nm) sont particulièrement efficaces pour faciliter la photo-dégradation des polymères (Andrady, 1997).

Le mécanisme de base de la photo-dégradation pour les deux plastiques les plus utilisés dans le monde et donc les plus retrouvés dans l'environnement, le PE et le PP, est bien connu. Il s'agit d'une réaction radicalaire initiée par le rayonnement UV ou la chaleur et propagée par extraction d'hydrogène du polymère. Les radicaux alkyles polymères formés réagissent avec l'oxygène pour donner des radicaux peroxydes, ROO●, qui sont en partie convertis en peroxydes (ROOH, ROOR). Ces derniers peuvent eux aussi se dissocier facilement en radicaux, la séquence réactionnelle est autocatalytique. Les principales réactions impliquées dans la séquence sont les suivantes (François-Heude *et al.*, 2015) :

i) Initiation $RH \rightarrow$ radicaux libres, *e.g.* R●, H●

ii) Propagation

$$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$$

$$ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$$

iii) Terminaison

$$ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$$

$$R\bullet + R\bullet \rightarrow R - R$$

$$RO\bullet + H\bullet \rightarrow ROH$$

$$R\bullet + H\bullet \rightarrow RH$$

D'un point de vue pratique, c'est la coupure de la chaîne qui présente le plus d'intérêt. Anthony Andrady estime que la scission de la chaîne est associée à l'une des réactions de propagation et est responsable de la perte des propriétés mécaniques du plastique après exposition (Andrady, 2015). Les différentes propriétés mécaniques tels que le module de traction ou la résistance aux chocs changeront à des vitesses différentes. Il n'y a donc pas de courbe d'altération « générale » pour un polymère donné, uniquement des modes d'endommagement spécifiques à l'exposition à une source de lumière spécifique (tels que la lumière du soleil ou le rayonnement d'une lampe au xénon).

Le polystyrène est très sensible aux intempéries (Gewert *et al.*, 2015) en raison de la présence de cycles aromatiques au cœur de son squelette macromoléculaire. Lorsque le polymère est irradié sous

lumière UV, le cycle est excité et l'énergie d'excitation est transférée à la liaison C-H la plus proche, ce qui provoque le clivage de l'hydrogène et la formation d'un radical (Zhang *et al.*, 2021a). La réticulation et la scission de la chaîne entraînent la formation d'un groupement carbonyle, de styrène et d'oléfines. La scission en bout de chaîne étant prédominante, le monomère volatile styrène est le principal produit de la dégradation qui fragilise et peut être responsable de la fragmentation du polystyrène (Figure 1-8).

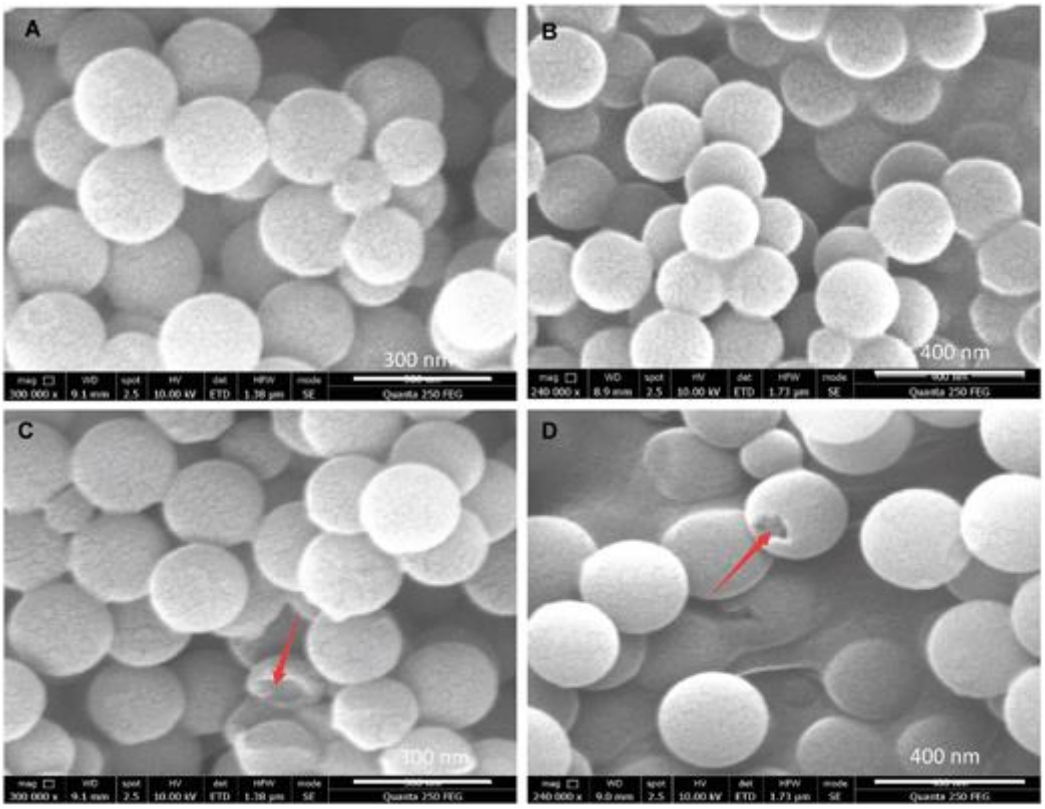

Figure 1-8 : Images MEB de nanoplastiques avant (A et B) et 48h après irradiation UV dans l'eau pure (C) et dans l'air (D). Les flèches rouges montrent les particules dégradées (Tian *et al.*, 2019).

Les mécanismes de dégradation pouvant avoir lieu dans l'environnement marin sont les mêmes que ceux des environnements terrestres, mais ils se produisent à des vitesses considérablement plus lentes (Pegram & Andrady, 1989). Pour mieux comprendre les différences, le milieu marin doit être considéré comme plusieurs zones distinctes : les plages, les eaux de surface et les eaux profondes. Les facteurs influençant la dégradation ne sont pas présents de la même manière dans ces différentes zones comme résumé dans le Tableau 1-1.

Tableau 1-1 : Comparaison de la disponibilité des facteurs influençant la dégradation du plastique dans les différentes zones du milieu marin.

Facteur de dégradation	Terrestre	Plages	Eaux de surface	Eaux profondes
Lumière du soleil	Oui	Oui	Oui	Non
Température	Élevée	Élevée	Modérée	Basse
Niveau d'oxygène	Élevé	Élevé	Élevé/modéré	Bas
Encrassement biologique	Non	Non	Oui	Oui

Les plastiques présents dans l'océan sont généralement recouverts d'un biofilm qui est rapidement colonisé par des algues et autres biotes marins, la densité du plastique augmente jusqu'à le faire couler (Muthukumar *et al.*, 2011). Une fois dans la colonne d'eau la couche biologique à la surface des plastiques peut être consommée par d'autres organismes entraînant une diminution de la densité et une remontée des plastiques vers la surface (Ye & Andrady, 1991). Cette couche biologique protège les plastiques des rayonnements UV limitant ainsi leur photo-oxydation (Lobelle & Cunliffe, 2011). De plus, dans les eaux profondes les rayons UV sont filtrés et ne peuvent pas initier la photo-oxydation.

1.4.1.2. Thermo-oxydation du plastique

La dégradation thermique fait référence à la dégradation des plastiques suite à un apport d'énergie causé par une température élevée. Lorsqu'une chaleur suffisante est absorbée par le polymère pour franchir la barrière énergétique, les chaînes de polymère peuvent être clivées en formant des radicaux libres (Zhang *et al.*, 2021b). Ces radicaux peuvent alors réagir avec l'oxygène et produire de l'hydropéroxyde dans un processus similaire à la photo-dégradation des plastiques. La réaction peut s'auto-propager jusqu'à ce que l'apport d'énergie soit interrompu ou que des produits inertes se forment suite à la réaction entre deux radicaux.

Dans l'environnement, une thermo-oxydation lente des plastiques peut avoir lieu de concert avec la photo-oxydation, en particulier sur les plages exposées au soleil. La température et les rayons UV peuvent avoir des effets synergiques sur la dégradation des plastiques, et la proportion de réactions oxydatives augmente avec la température (Andrady *et al.*, 2003 ; Kamweru *et al.*, 2011).

1.4.1.3. Hydrolyse des polymères

Dans les milieux aqueux, les facteurs chimiques influençant le plus la dégradation du plastique sont le pH et la salinité de l'eau. Il y existe des zones acides ou basiques pouvant catalyser la dégradation de plastiques sensibles à l'hydrolyse tels que les polyamides et les polyesters (polyéthylène téréphtalate) (Julienne, 2019).

1.4.2. Dégradation physique

Les dégradations oxydantes ont généralement lieu à la surface des plastiques et peuvent entraîner la formation de fissures. Sous l'action des vagues, les déchets plastiques peuvent entrer en collision les uns avec les autres, avec des rochers ou encore avec des grains de sable. Ces collisions successives entraînent la fragmentation des déchets plastiques en micro et nanoplastiques (Cooper & Corcoran, 2010).

1.4.3. Biodégradation microbienne

La biodégradation du plastique est un processus qui se traduit par une conversion totale ou partielle du carbone organique en biogaz (dioxyde de carbone, méthane, sulfure d'hydrogène, ammoniac et dihydrogène) et biomasse par des microorganismes (bactéries et champignons) capables d'utiliser le plastique comme source de carbone (Mohee *et al.*, 2008 ; Shah *et al.*, 2008). Dans le cas du polyéthylène, par exemple, les microorganismes peuvent attaquer les groupements méthyles terminaux. Le polymère est alors converti en monomères (esters et acides) avant d'être minéralisé, sous l'action d'enzymes, produisant du dioxyde de carbone et de l'eau. La biodégradation complète d'un plastique par des microorganismes peut être représentée par une équation simple (Andrady, 1998) :

$$C_xH_yO_z + \left(x - \frac{z}{2} + \frac{y}{A}\right) O_2 \rightarrow xCO_2 + \frac{y}{2} H_2O \qquad 1\text{-}1$$

La biodégradation des plastiques est de manière générale très lente. Anthony Andrady a comparé la biodégradation du polyéthylène et de la cellulose (un polymère naturel) dans les mêmes conditions. Pour le polyéthylène seulement 0.1 % par an du carbone est transformé en dioxyde de carbone contre 10 % par semaine pour la cellulose (Andrady, 1998).

1.4.4. Du macro au nano

Comme nous l'avons vu précédemment le milieu marin peut dégrader les déchets plastiques présents dans l'environnement entraînant la formation de particules de tailles inférieures. On peut ainsi nommer ces nouveaux débris comme : macro, méso, micro et nanoplastiques (Figure 1-9).

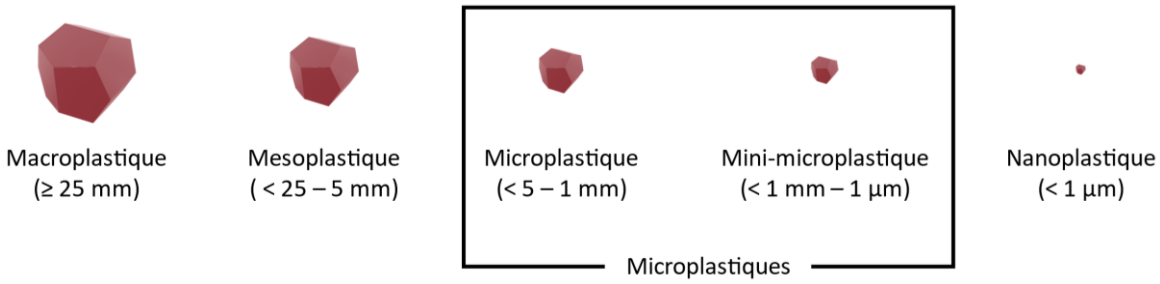

Figure 1-9 : Échelle des différents déchets plastiques d'après Crawford & Quinn (Crawford & Quinn, 2019)

La communauté scientifique classe les micro et nanoplastiques selon leurs origines, en micro/nanoplastiques primaires ou secondaires. Les micro/nanoplastiques primaires sont des objets plastiques fabriqués intentionnellement. Ils sont utilisés dans les cosmétiques, les dentifrices, les vêtements synthétiques, le sablage à air comprimé, comme vecteurs de médicament ou encore comme matière première pour la fabrication d'objets plastiques (Auta *et al.*, 2017). Les micro/nanoplastiques secondaires quant à eux sont issus de la dégradation de déchets plastiques présents dans l'environnement (Cole *et al.*, 2011). L'exposition au soleil, et en particulier à la lumière UV, provoque leur photo-dégradation (Andrady, 2011). La combinaison de ce phénomène avec l'abrasion causée par les vagues et les turbulences entraînent leur fragmentation. Les nanoplastiques ne sont pas seulement créés lors de la fragmentation des microplastiques ils peuvent aussi être formés pendant la fragmentation de macroplastiques (Rowenczyk *et al.*, 2020).

1.5. Qu'est-ce qu'un nanoplastique ?

Aujourd'hui, il n'existe pas de définition universelle de ce qu'est un nanoplastique. Certains auteurs ne considèrent que la taille comme paramètre permettant de définir un nanoplastique. Cette limite de taille est elle aussi encore débattue bien qu'une tendance apparaisse aujourd'hui. Certains auteurs considèrent une gamme de tailles comprises entre 1 et 1000 nm alors que d'autres considèrent une taille maximale à 100 nm se rapprochant de la définition utilisée pour les nanomatériaux (Cole & Galloway, 2015 ; Cole *et al.*, 2015 ; Crawford & Quinn, 2017 ; da Costa *et al.*, 2016 ; Koelmans *et al.*, 2015 ; ter Halle *et al.*, 2017). Gigault *et al.* sont les premiers à donner une définition : « les nanoplastiques sont des particules dont la taille est comprise entre 1 et 1000 nm résultant de la

dégradation d'objets plastiques issus de l'industrie et présentant un comportement colloïdal »(Gigault *et al.*, 2018).

Plus tard, dans le but d'universaliser la terminologie liée aux déchets plastiques, Hartmann *et al.* ont établi un cadre permettant de les définir et de les classer (Hartmann *et al.*, 2019). Ils ont retenu sept critères (Figure 1-10) : la composition chimique, l'état solide (T_g > 20 °C), la solubilité, la taille, la forme et la structure, la couleur et l'origine.

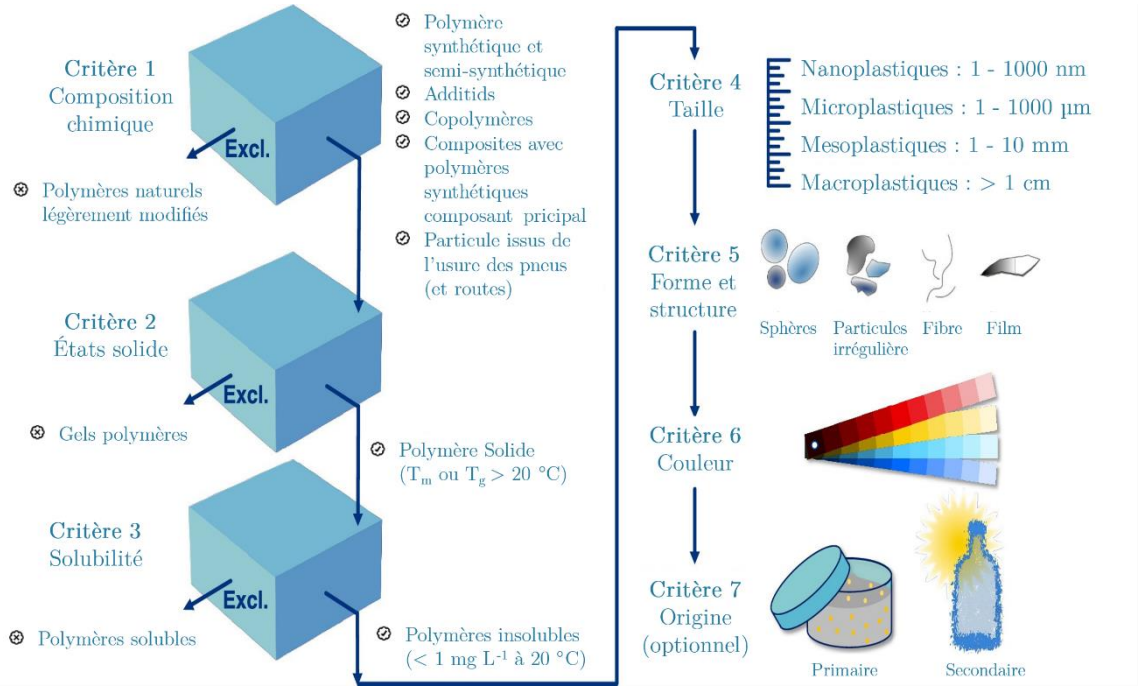

Figure 1-10 : Critères de classification des déchets plastiques. Excl = Exclus. Adapté de (Hartmann *et al.*, 2019)

L'altération des macro et microplastiques produit des débris de tailles inférieures au micron (Gigault *et al.*, 2016 ; Lambert & Wagner, 2016a ; Lambert & Wagner, 2016b). La concentration massique reste inférieure à la limite de quantification des méthodes analytiques, et l'absence de protocole établi d'échantillonnage et de préconcentration ne permet pas l'étude de nanoplastiques « réels ». Cependant, leur présence a été détectée dans le gyre atlantique nord prouvant leur capacité à s'accumuler dans les océans, tout comme les macro et microplastiques (ter Halle *et al.*, 2017). Ils ont également été détectés dans le sable et le sol plus récemment (Davranche *et al.*, 2020 ; Wahl *et al.*, 2021). À ce jour nous ne connaissons que très peu leur impact sur l'environnement.

1.6. Impact des nanoplastiques sur l'environnement

L'impact environnemental des nanoplastiques est lié en première approche aux caractéristiques suivantes : leur formulation, le ratio surface / volume et leur taille.

Les nanoplastiques sont formulés à base de polymère et additifs tels que les additifs fonctionnels (*e.g.* stabilisants, retardateurs de flamme, lubrifiants, agents moussants, biocides, agents glissants, agents de durcissement, plastifiants…), les colorants, les renforts (*e.g.* fibres de carbone ou de verre) et les charges, généralement inertes qui permettent d'augmenter la rigidité ou la dureté du produit final tout en réduisant le coût de production (*e.g.* mica, talc, kaolin, argile, carbonate de calcium). Le vieillissement des nanoplastiques dans l'environnement entraîne leur fragmentation ce qui peut conduire au relargage de ces additifs (Hermabessiere *et al.*, 2017).

Les rapports surface/volume élevés des nanoplastiques signifient qu'ils possèdent une grande interface et donc que la probabilité qu'ils entrent en contact avec d'autres espèces chimiques (*e.g.* éléments traces métalliques, polluants organiques) déjà présentes dans le milieu est grande. Hydrophobes par nature, les nanoplastiques peuvent se comporter comme de très bons sorbants, soit par adsorption, soit par absorption de contaminants hydrophobes (Hartmann *et al.*, 2017). Les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont les polluants organiques persistants se liant aux débris plastiques les plus cités dans la littérature (Velzeboer *et al.*, 2014). Lorsqu'ils sont adsorbés sur des nanoplastiques, ils peuvent être transportés le long de la colonne d'eau, dans les sédiments ou assimilés par les organismes (Alimi *et al.*, 2018). Au-delà des polluants organiques, les plastiques ont une affinité particulière avec les métaux traces tels que le plomb, le brome, les oxydes de fer, le cuivre, le zinc, le cobalt, le nickel et l'arsenic (Baudrimont *et al.*, 2020 ; Davranche *et al.*, 2019 ; Holmes *et al.*, 2012 ; Kihara *et al.*, 2021 ; Massos & Turner, 2017). Ce qui mène à la possibilité de transférer ces co-contaminants d'un compartiment (sol, eau, air) à un autre.

Au-delà du critère purement environnemental et à la frontière avec l'impact biologique, la petite taille des nanoplastiques les rend biodisponibles et bioassimilables (Galloway *et al.*, 2017 ; Triebskorn *et al.*, 2019). De ce fait, les nanoplastiques peuvent entraîner le transfert de co-contaminants non plus d'un compartiment à un autre, mais d'un milieu à un autre (environnemental vers biologique). Le phénomène associé est appelé « cheval de Troie » et peut entraîner le transport et la libération de molécules écotoxiques dans les organismes (Gigault *et al.*, 2021). Les inquiétudes concernant les nanoplastiques proviennent davantage de leur comportement de vecteurs potentiel que de leur nature.

Ces phénomènes ne sont pour l'instant que des transpositions de ce qui est observé pour les microplastiques puisque les protocoles d'échantillonnage des nanoplastiques environnementaux au vu de leur caractérisation et quantification sont encore à développer. Les équipes de recherche travaillent donc à prévoir le comportement des nanoplastiques environnementaux et connaître les risques potentiels qu'ils engendrent. Ces travaux en amont ont lieu sur des nanoplastiques modèles.

2. LES NANOPLASTIQUES MODÈLES

Parmi les modèles utilisés, un grand nombre de chercheurs utilisent des nanoplastiques commerciaux de polystyrène (PSL, Polystyrène Latex). Ces nanoplastiques peuvent être trouvés dans le commerce comme :

- Polystyrène non fonctionnalisé ;
- Polystyrène fonctionnalisé (groupements : amine, carboxylique, hydroxyle, sulfate, acrylate, carboxy-sulfate) ;
- Polystyrène fluorescent à différente longueur d'onde ;
- Polystyrène coloré (bleu, noir, violet, vert, orange, rouge, jaune, violet) avec une surface fonctionnalisée ou non.

Ces nanoplastiques commerciaux doivent être stables dans les temps et peuvent donc contenir des agents stabilisants. Pikuda *et al.* ont montré que ces agents pouvaient être plus nocifs pour les organismes biologiques que les nanoplastiques eux-mêmes (Pikuda *et al.*, 2019).

De nouveaux nanoplastiques modèles « faits maison » commencent à voir le jour. Ils sont obtenus par une approche ascendante par des méthodes classiques par polymérisation en émulsion ou par nanoprécipitation (Akbulut *et al.*, 2009 ; Al-Sid-Cheikh *et al.*, 2018 ; Mitrano *et al.*, 2019 ; Palshin V.A. *et al.*, 2020 ; Pessoni *et al.*, 2019 ; Sander *et al.*, 2019 ; Tian *et al.*, 2019). De telles méthodes permettent aux chercheurs d'adapter l'échantillon à l'étude, que ce soit pour élaboration d'un protocole analytique, une étude d'écotoxicologie ou une étude de leur comportement avec une connaissance parfaite de la concentration, de la taille, de la fonctionnalité chimique et de la teneur en additifs et résidus de synthèse. Une seconde approche permet de produire des nanoplastiques modèles en réduisant la taille d'échantillon micro- et macroscopique à l'échelle nanométrique (Baudrimont *et al.*, 2020 ; El Hadri *et al.*, 2020 ; Magrì *et al.*, 2018). Cette deuxième approche permet d'obtenir des modèles dont la forme est plus représentative des échantillons que l'on pourrait retrouver dans l'environnement (Davranche *et al.*, 2020).

2.1. Nanoplastiques modèles : méthodes ascendantes

Les tensio-actifs, très largement utilisés en synthèse de polymères en voie dispersée aqueuse, peuvent avoir des effets néfastes sur les études de comportement en étant eux même toxiques pour les organismes comme cela a été montré pour le dodécyle sulfate de sodium (SDS) et le Tween® (Pikuda *et al.*, 2019). Des solvants organiques sont également nécessaires pour la méthode par nanoprécipitation. Ces échantillons pourraient être utilisés pour le développement de méthodes analytiques, mais doivent être purifiés pour pouvoir être utiliser comme modèles dans les études de comportement et d'écotoxicologie.

Pour éviter les problèmes liés aux tensio-actifs, Pessoni *et al.* ont décidé d'élaborer des modèles de nanoplastiques sans tensio-actifs et sans additifs (Pessoni *et al.*, 2019). Dans ces travaux, les auteurs ont réalisé une polymérisation en émulsion de deux comonomères : styrène et acide acrylique. L'acide acrylique a deux fonctions : *(i)* il permet de stabiliser le latex et *(ii)* il permet l'obtention de nanoplastiques dont l'état de surface mime celle des nanoplastiques vieillis dans l'environnement via la présence de groupes carboxyliques à leur surface. En faisant varier la concentration en acide acrylique impliquée dans la synthèse, des nanoplastiques sphériques monodisperses dont la taille est comprise entre 350 et 490 nm avec une fonctionnalisation de surface entre 6 et 45 COOH par nm² ont été obtenus. De plus, les différentes fonctionnalités ont permis aux auteurs d'obtenir des aspects de surface différents. Les nanoplastiques peu fonctionnalisés ont une surface lisse tandis que les nanoplastiques plus fonctionnalisés ont une surface rugueuse (**Figure 1-11**).

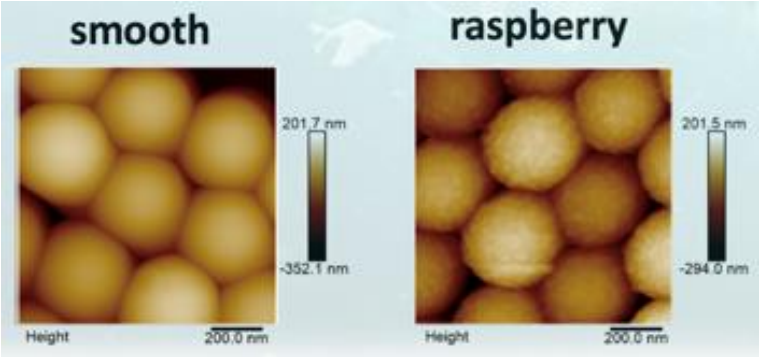

Figure 1-11 : Nanoplastiques obtenus par polymérisation en émulsion du styrène (S) et de l'acide acrylique (AA) à différents ratios AA/S (0.09 et 0.18). Légende : Smooth = particules lisses comportant peu de groupements COOH à leur surface -6 COOH/nm² ; Raspberry = particules rugueuses comportant beaucoup de groupements COOH à leur surface (43 COOH/nm²)(Pessoni *et al.*, 2019)

Ce type de modèles a été utilisé pour étudier le transport des nanoplastiques dans les milieux poreux (Pradel *et al.*, 2020), leurs interactions avec d'autres polluants tels que les antibiotiques (Wan

et al., 2019b) ou encore les effets synergiques avec l'arsenic sur les huitres (Lebordais *et al.*, 2021 ; Pradel *et al.*, 2020 ; Wan *et al.*, 2019b).

Parce qu'il n'existe aucune méthode de détection de routine pour déterminer la concentration en nanoplastiques, la communauté scientifique ne peut qu'émettre des hypothèses quant au devenir des nanoplastiques dans l'environnement. Ces hypothèses doivent être vérifiées (Koelmans, 2019). Pour cela, différentes équipes de recherche commencent à développer des nanoplastiques marqués, traçables.

Suivre un polluant par un marquage isotopique est connu depuis de nombreuses années pour les polluants organiques (*e.g.* HAP et PCB) et déjà utilisé notamment pour l'analyse quantitative de composés à faibles concentrations dans des matrices complexes, mais aussi pour étudier la bioaccumulation et la dégradation de polluants organiques. Cette méthode de suivi a été transposée pour le traçage des nanoplastiques en développant des nanoplastiques avec un marquage isotopique (Al-Sid-Cheikh *et al.*, 2018 ; Sander *et al.*, 2019 ; Tian *et al.*, 2019 ; Tian *et al.*, 2017). Tian *et al.* ont obtenu des nanoplastiques sphériques de polystyrène marqué au ^{14}C. Ces nouveaux traceurs leur ont permis d'utiliser des techniques spectroscopiques et chromatographiques pour étudier la dégradation photolytique et la minéralisation de nanoplastiques de polystyrène (Tian *et al.*, 2019 ; Tian *et al.*, 2017). Al-Sid-Cheikh *et al.* quant à eux ont étudié la distribution et dépuration des nanoplastiques dans les coquilles Saint-Jacques avec des nanoplastiques marqués au ^{14}C.

Le marquage isotopique n'est pas la seule voie, Mitrano *et al.* proposent une méthode de traçage de nanoplastiques dopés avec un métal piégé au cœur des particules (Mitrano *et al.*, 2019). Les nanoplastiques obtenus sont composés d'un cœur polyacrylonitrile/palladium et d'une coquille en polystyrène (**Figure 1-12**). Pour éviter tout faux positif, le métal choisi est différent des métaux pouvant être trouvés dans la matrice étudiée. De plus, la quantité de métal encapsulé est suffisamment faible pour qu'il n'y ait pas de modification de la densité, mais suffisamment élevée pour être détectée par spectrométrie de masse à plasma inductif (ICP-MS, inductively coupled plasma mass spectrometry). De plus, une modification des paramètres permet d'obtenir une surface lisse ou rugueuse comme pour les modèles de Pessoni *et al.,* permettant une modification des paramètres de surface (Mitrano *et al.*, 2019 ; Pessoni *et al.*, 2019). Ils ont ensuite utilisé ces modèles pour étudier le comportement des nanoplastiques dans les stations d'épurations (Frehland *et al.*, 2020).

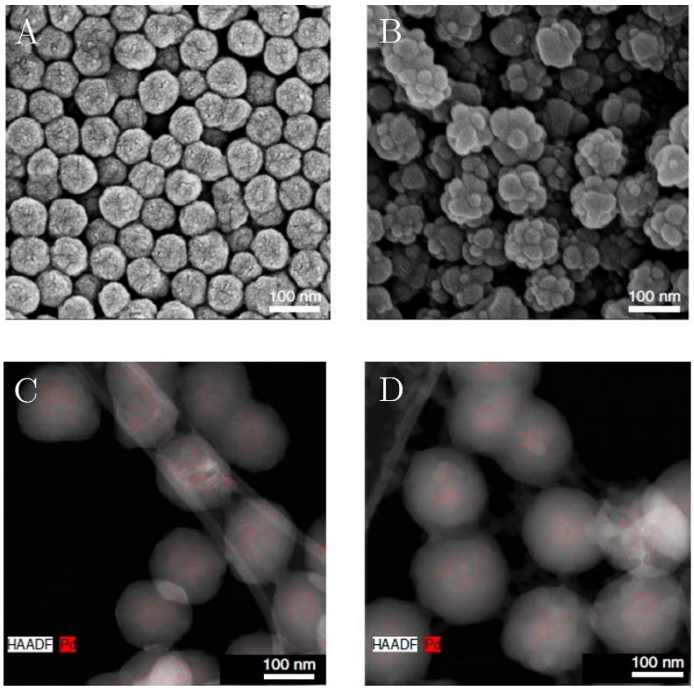

Figure 1-12 : Nanoplastiques dopés au palladium. A : nanoplastiques cœur-coquille avec une surface lisse ; B: nanoplastiques cœur-coquille avec une surface type framboise ; Distribution élémentaire du palladium dans des nanoplastiques dont la surface est (C) lisse et (D) framboise (Mitrano *et al.*, 2019)

Les nanoplastiques marqués par fluorescence sont encore très utilisés (Li *et al.*, 2020c ; Qu & Wang, 2020 ; Vicentini *et al.*, 2019). Ces modèles sont généralement issus du commerce ou préparés par nanoprécipitation (Akbulut *et al.*, 2009 ; Palshin V.A. *et al.*, 2020). Cependant, il a été démontré que les fluorophores, qui peuvent être toxiques pour les organismes, peuvent se désorber des nanoplastiques et s'accumuler dans les tissus des larves de poisson-zèbre (Catarino *et al.*, 2019).

Dans ce contexte, les nanoplastiques dopés aux métaux semblent être une bonne alternative pour les études en laboratoire dans un large éventail de matrices ou les études sur le terrain qui visent à détecter des seuils d'effet dans des conditions environnementales pertinentes.

Ces méthodes permettent d'obtenir des produits sphériques or au vu des procédés de formation des nanoplastiques dans l'environnement il est probable que ces derniers aient une forme anisotrope (Davranche *et al.*, 2020). Pour ces raisons, des méthodes descendantes ont été développées.

2.2. Nanoplastiques modèles : méthodes descendantes

Une approche pour produire des nanoplastiques modèles imitant les nanoplastiques environnementaux est la méthode descendante, qui consiste à dégrader des micro et macroplastiques jusqu'à l'échelle nanométrique. Ces méthodes permettent d'obtenir des nanoplastiques de forme anisotrope plus représentatifs des nanoplastiques que l'on pourrait retrouver dans l'environnement.

Elles peuvent être utilisées sur des plastiques primaires (vierges, issus de l'industrie) et secondaires (récoltés dans l'environnement) (Hartmann *et al.*, 2019). Plusieurs outils ont été mis en avant.

Magrì *et al.* ont développé une technique utilisant l'ablation laser pour produire des nanoplastiques de PET de forme anisotrope et exempts de tensio-actif (Magrì *et al.*, 2018). L'ablation laser permet de contrôler la taille et la polydispersité des nanoplastiques obtenus en faisant varier l'énergie, la longueur d'onde et le nombre de coups du laser. Cette technique peut être utilisée sur plusieurs types de plastiques primaires ou secondaires.

L'ultrasonication de plastiques collectés dans l'environnement a aussi été utilisée pour créer des nanoplastiques modèles (Baudrimont *et al.*, 2020). Cette méthode nécessite d'utiliser des micro ou macroplastiques préalablement fragilisés (naturellement ou artificiellement). Pendant l'ultrasonication, les plastiques vont entrer en collision les uns avec les autres entraînant alors la formation de nanoplastiques.

Nous avons vu précédemment que les déchets plastiques flottant à la surface des océans étaient sensibles aux rayons UV et à la photo-dégradation. En plus d'oxyder la surface des plastiques, les rayons UV peuvent les fragmenter entraînant la formation de nanoplastiques (Sorasan *et al.*, 2021). Il est alors possible d'exploiter cet effet au laboratoire pour obtenir des nanoplastiques modèles. Cependant, la photo-dégradation est naturellement lente, il serait donc nécessaire de mettre en place des équipements permettant d'accélérer la réaction.

Enfin, une dégradation mécanique permet la formation de nanoplastiques (El Hadri *et al.*, 2020). Cette méthode est très efficace sur les nanoplastiques secondaires et certains nanoplastiques primaires comme le polystyrène (Figure 1-13). Cependant, la température de transition vitreuse du plastique doit être prise en compte pour l'optimisation des conditions de broyage.

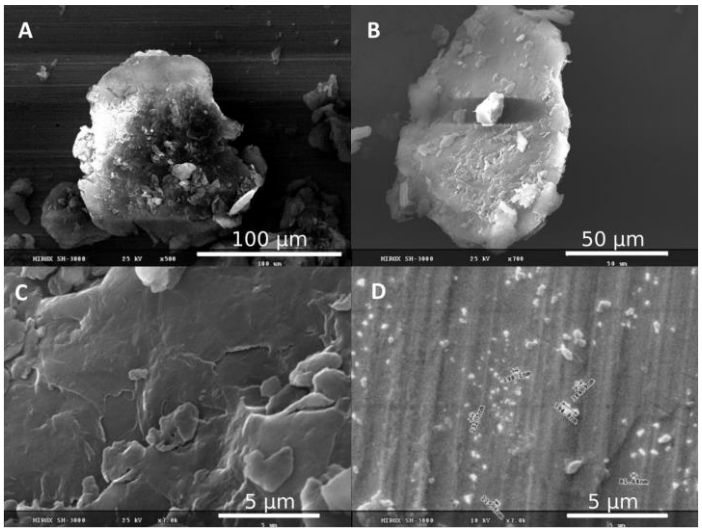

Figure 1-13 : Microscopie électronique à balayage (MEB) d'un microplastique après la première étape de dégradation à différentes échelles : (A) 100 µm, (B) 50 µm, (C) 5 µm et (D) de nanoplastiques après la dernière étape de dégradation à 5 µm (El Hadri *et al.*, 2020).

3. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES NANOPLASTIQUES

La création de modèles pertinents est un des principaux défis scientifiques pour étudier le devenir et l'impact des nanoplastiques sur l'environnement. Les nanoplastiques modèles utilisés dans les études expérimentales doivent imiter au plus près les nanoplastiques environnementaux (El Hadri *et al.*, 2020 ; Magrì *et al.*, 2018 ; Mitrano *et al.*, 2019 ; Pessoni *et al.*, 2019 ; Pradel *et al.*, 2020). Une grande variété de processus naturels aboutit aux nanoplastiques dans l'environnement, de sorte qu'aucune stratégie optimale d'obtention de modèles n'a été mise au point. Les nanoplastiques peuvent être caractérisés selon différents paramètres tels que leur taille et sa distribution, leur forme, l'état de leur surface (fonctionnalité, porosité), leur formulation (méthode d'obtention, composition, additif). Utiliser des modèles développés *in situ* offre davantage du contrôle de ces paramètres caractéristiques (Figure 1-14). Le modèle parfait n'existe pas, il est indispensable de choisir quels paramètres sont importants pour l'étude et de bien les caractériser.

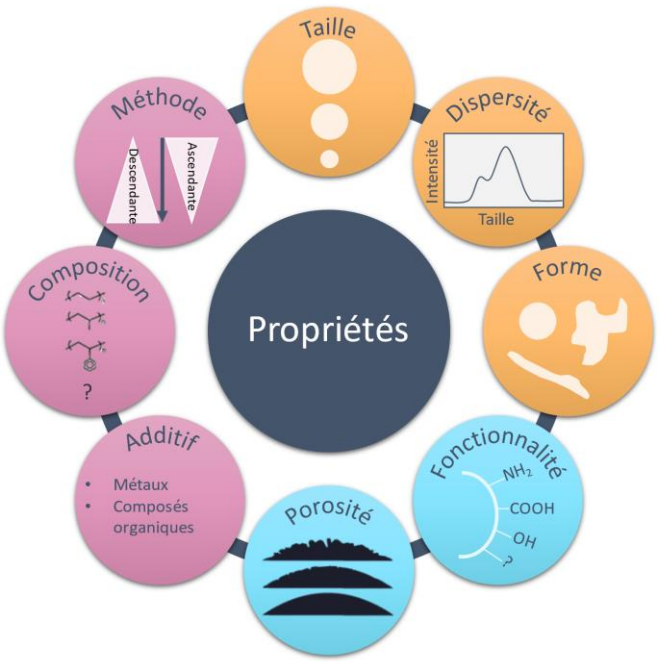

Figure 1-14 : Propriétés des nanoplastiques modèles (morphologie, état de surface, formulation).

De par leur taille, les nanoplastiques sont difficiles à analyser. Une grande partie des outils analytiques existant à ce jour ne sont pas adaptés aux nanoplastiques. Pour un même type de plastique, les propriétés physiques et chimiques des nanoplastiques changent considérablement par rapport à leurs homologues microscopiques.

Dans cette partie, nous donnerons un aperçu des méthodes développées à ce jour pour la caractérisation des nanoplastiques et notamment l'étude de leur morphologie, de l'état de leur surface et de leur formulation.

3.1. Étude de la morphologie des nanoplastiques

La diffusion dynamique de la lumière est une des techniques les plus utilisées pour déterminer la distribution en taille des colloïdes et donc des nanoplastiques (Barbosa *et al.*, 2020 ; Pinto da Costa *et al.*, 2019 ; Singh *et al.*, 2019). Elle repose sur les fluctuations d'intensité de la lumière diffusée par les particules. L'analyse du suivi individuel de particules (NTA, Nanoparticle Tracking Analysis) est une autre technique de diffusion de lumière, elle aussi basée sur le mouvement brownien des particules. La NTA a été utilisée pour démontrer la formation de nanoplastiques lors de la dégradation du polystyrène, mais permet aussi d'obtenir la distribution en taille des particules (Ekvall *et al.*, 2019 ; González-Pleiter *et al.*, 2019 ; Hernandez *et al.*, 2019). Cependant, la DLS et la NTA ont des limites considérables lors de l'analyse de nanoplastiques polydisperses et polymorphiques (Gigault *et al.*, 2017 ; ter Halle *et al.*, 2017). De plus, ces deux techniques ne peuvent pas être utilisées en présence de

colloïdes naturels, elles nécessitent la mise en place de techniques d'extraction telles que l'extraction point trouble ou la digestion (Li *et al.*, 2020a ; Li *et al.*, 2021 ; Zhou *et al.*, 2019). Jusqu'à présent, la DLS et la NTA ont été les plus utilisées pour des solutions de nanoplastiques concentrées et monodisperses telles que des solutions standards de laboratoire (El Hadri *et al.*, 2020 ; Molenaar *et al.*, 2021 ; Ramirez Arenas *et al.*, 2020).

Enfin, la diffusion statique de la lumière (SLS) couplée à une technique de fractionnement tel que le fractionnement flux-force (A4F) ou centrifuge (CF3) permet d'obtenir une distribution en taille des particules (Abdolahpur Monikh *et al.*, 2019 ; Correia & Loeschner, 2018 ; Gigault *et al.*, 2017). L'ajout de l'étape de fractionnement permet aussi de travailler dans des matrices complexes.

Pour obtenir des informations sur la distribution de tailles, mais aussi pour visualiser directement la morphologie des nanoplastiques (sphère, flocon, fibre, film) les approches de microscopie électronique telles que la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie électronique à transmission (MET) sont des techniques de choix (Caputo *et al.*, 2021).

3.2. Étude de la surface des nanoplastiques

Comme décrit précédemment, la dégradation du plastique conduit à la formation de groupements carbonyles à la surface des nanoplastiques (Gewert *et al.*, 2015 ; Weinstein *et al.*, 2016). Ces groupements peuvent avoir un impact sur leur comportement dans l'environnement. Quand la fonctionnalité de surface est étudiée, la majorité des auteurs utilise le potentiel zêta comme indicateur (El Hadri *et al.*, 2021 ; Saavedra *et al.*, 2019 ; Song *et al.*, 2019). Cependant, le potentiel zêta ne nous donne pas d'information quant aux types de fonctions à la surface ni leur concentration. À notre connaissance, il n'existe aujourd'hui aucune méthode adaptée aux nanoplastiques pour déterminer le type de groupements présents. Cependant, des techniques de titration potentiométrique ont été utilisées pour déterminer la concentration de groupements carboxyliques à la surface de nanoplastiques modèles (Blancho *et al.*, 2021 ; Pessoni *et al.*, 2019). L'aspect de la surface peut être déterminé par imagerie TEM ou microscopie à force atomique (AFM) (Blancho *et al.*, 2021 ; Pessoni *et al.*, 2019). La microscopie requiert des concentrations en nanoplastique élevées pour obtenir une bonne représentativité de l'échantillon. Enfin la porosité de la surface peut être déterminée par une analyse BET (Brunauer Emmett et Teller) (Blancho *et al.*, 2021). Ces trois méthodes nécessitent de sécher l'échantillon pour l'analyser ce qui peut entraîner des modifications de l'état de surface.

3.3. Détermination de la composition chimique des échantillons

3.3.1. Techniques spectroscopiques

Les techniques spectroscopiques telles que la spectroscopie FTIR et la spectroscopie Raman sont largement utilisées pour l'identification des microplastiques ; cependant ces méthodes ne peuvent être utilisées pour des particules dont la taille est inférieure à 1 µm (Ivleva *et al.*, 2017). En couplant la spectroscopie Raman à une pince optique, Gillibert *et al.* ont pu analyser des nanoplastiques jusqu'à 50 nm et identifier les principaux types de plastiques (PP, PE, PS et nylon) dans l'eau de mer (Gillibert *et al.*, 2019). Ils ont aussi pu déterminer la forme des échantillons (sphères, fragments et fibre). Cette technique permet de différencier les types de nanoplastiques même recouverts d'une fine couche de matière organique ou des sédiments marins. Cependant, cette méthode nécessite, à l'heure actuelle, des concentrations en nanoplastique élevées (≈ 10^4 – 10^5 part mL^{-1}).

3.3.2. Méthode de spectrométrie de masse

Plusieurs méthodes basées sur la spectrométrie de masse (MS) ont été reportées pour l'analyse de nanoplastiques. Ces techniques permettent de déterminer la composition du polymère ainsi que de leurs additifs (organiques ou métalliques) voire même d'éventuels polluants sorbés.

3.3.2.1. Caractérisation organique

La pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Py-GC-MS) est une méthode bien développée pour l'identification des polymères. Dans cette méthode, les échantillons sont placés sur un filament ou dans un four et pyrolysés à très haute température. Les produits gazeux dégradés sont transférés dans une colonne de chromatographie en phase gazeuse puis analysés par un détecteur de masse. Cette méthode a été utilisée pour montrer pour la première fois la présence de nanoplastiques dans le gyre Atlantique Nord (ter Halle *et al.*, 2017).

En amont de la Py-GC-MS avec le même équipement il est aussi possible de réaliser une thermodésorption (TD-Py-GC-MS) c'est-à-dire une première chauffe de l'échantillon (environ 200 °C). Pendant la thermodésorption, les composés organiques sorbés sur le plastique sont volatilisés pour ensuite être séparés en chromatographie en phase gazeuse puis analysés en spectrométrique de masse (Reichel *et al.*, 2020). Cette technique offre l'avantage d'obtenir la carte d'identité complète des composés organiques et du polymère qui composent le nanoplastique.

Cependant, la limite de détection (LD) de la Py-GC-MS doit être améliorée pour la caractérisation de routine des nanoplastiques. Mintenig *et al.* rapportent que la LD était de 4 mg L^{-1} pour l'analyse directe de suspension de nanoplastiques de polystyrène et pouvait être réduite à 20 µg L^{-1} après divers prétraitements (Mintenig *et al.*, 2018). Cette LD est problématique pour l'analyse d'échantillons environnementaux, la concentration de nanoplastiques dans l'environnement étant probablement très inférieure (de l'ordre du ppt d'après extrapolation des données de Lenz *et al.*) (Lenz *et al.*, 2016).

3.3.2.2. Caractérisation inorganique

La spectrométrique de masse à plasma induit (ICP-MS) peut détecter des particules de plastique dopées (volontairement ou non) en métal (Keller *et al.*, 2020 ; Mitrano *et al.*, 2019). Cette technique destructive ne peut donner d'information sur la morphologie des nanoplastiques utilisée. Cependant, les techniques d'ICP-MS sont très développées et permettent d'atteindre des limites de quantification de l'ordre du ppt pour un grand nombre de métaux. Couplée à une technique séparative telle que le fractionnement flux-force (AF4) couplé à un détecteur de diffusion de lumière multi angle (MALS) il est possible d'obtenir une information sur la composition inorganique et sur la morphologie des nanoplastiques (Barber *et al.*, 2020 ; Pessoni *et al.*, 2019).

3.3.3. Détection et quantification des nanoplastiques dans l'environnement

Après avoir déterminé le type de polymères, la distribution de taille, la quantification des nanoplastiques est l'étape finale de la caractérisation d'un échantillon. Il n'existe, aujourd'hui pas de méthode universelle pour déterminer la concentration en nanoplastiques dans un échantillon. Plusieurs pistes sont envisagées comme l'utilisation de la spectrométrie de masse. Six études ont appliqué cette méthode à des échantillons environnementaux (Davranche *et al.*, 2020 ; Jiménez-Lamana *et al.*, 2020 ; Materić *et al.*, 2020 ; Sullivan *et al.*, 2020 ; ter Halle *et al.*, 2017 ; Wahl *et al.*, 2021).

Ter Halle *et al.* ont estimé la composition d'un mélange de nanoplastiques issus du gyre Atlantique Nord (ter Halle *et al.*, 2017). En utilisant la Py-GC-MS, Wahl *et al.* ont trouvé des nanoplastiques de polyéthylène, polystyrène et polychlorure de vinyle dans des extraits aqueux de sol agricole (Wahl *et al.*, 2021). De la même manière, Davranche *et al.* ont trouvé du polystyrène et polychlorure de vinyle dans la faction colloïdale d'extraits aqueux de sable de plage (Davranche *et al.*, 2020).

Materić *et al*. ont quant à eux utilisé la TD-PTR-MS (thermo-désorption réaction à transfert de proton masse spectrométrie) et montré de faibles concentrations de microplastiques polyéthylène téréphtalate (5.4 à 27.4 ng mL^{-1}) dans des échantillons de neige de surface des Alpes autrichiennes (Materić *et al.*, 2020). Ils ont cependant, utilisé des nanoplastiques pour déterminer la sensibilité de leur méthode et ont obtenu une limite de détection inférieure au ng pour du polystyrène pur.

Récemment, d'autres méthodes de spectrométrie de masse ont été validées pour la quantification de nanoplastiques standards enrichis. Sullivan *et al.* ont utilisé la Py-GC couplée à la spectrométrie à temps de vol (Py-GC-ToF-MS) pour identifier des marqueurs spécifiques du polystyrène, polypropylène et polychlorure de vinyle. En utilisant un mélange de micro et nanoplastiques (jusqu'à 100 nm) connus comme standards, ils ont pu obtenir une semi-quantification du polystyrène dans des échantillons d'eau de rivière (Sullivan *et al.*, 2020). Cependant, l'utilisation de la Py-CG-MS requiert une purification de l'échantillon pour éviter les interférences causées par la matière organique présente dans les échantillons environnementaux.

De nouvelles techniques de quantification reposant sur le dopage ou le marquage de nanoplastiques avant leur analyse en ICP-MS ont été développées (Barber *et al.*, 2020 ; Hildebrandt *et al.*, 2020 ; Jiménez-Lamana *et al.*, 2020). À titre d'exemple Jiménez-Lamana *et al.* utilisent l'affinité des nanoplastiques avec les métaux pour obtenir un signal en ICP-MS. Pour cela ils ont dopé des nanoplastiques par des nanoparticules d'or. L'or adsorbé produit alors un signal lors de l'analyse en ICP-MS avec un module à particule unique (SP-ICP-MS) permettant ainsi une quantification précise (< 5% d'erreur). Cette méthode a été appliquée à l'analyse de nanoplastiques dans de l'eau en bouteille, de l'eau du robinet et de l'eau de rivière avec une LD de 8.4 10^5 part L^{-1} (Jiménez-Lamana *et al.*, 2020).

4. COMPORTEMENT DES NANOPLASTIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT

Pour mieux prédire l'impact des nanoplastiques sur l'environnement, il est crucial d'étudier leurs voies de transport et d'accumulation (Nguyen *et al.*, 2019), qui sont régies par leur agrégation (Hotze *et al.*, 2010). Une grande majorité des études ne vérifie pas la stabilité des analytes dans le milieu d'exposition. Ce n'est pas problématique pour les études en eau douce, car les nanoplastiques sont souvent stables pour de faibles concentrations en sel. Cependant, dans l'eau de mer, les importantes forces ioniques peuvent entraîner l'agrégation des nanoplastiques (Alimi *et al.*, 2018).

L'agrégation est causée par des interactions particule-particule de même type (homoagrégation) ou de types différents (hétéroagrégation) (Wiesner & Bottero, 2017). Les interactions (répulsion vs attraction) des nanoplastiques sont contrôlées par leurs propriétés telles que l'hydrophobie (c'est-à-dire la constante de Hamaker), la taille, et les propriétés de surface ainsi que les caractéristiques environnementales (pH, salinité, température, *etc.*) (Hotze *et al.*, 2010).

L'hétéroagrégation est plus susceptible de se produire que l'homoagrégation en raison de la présence de plus de colloïdes naturels que de nanoplastiques dans l'environnement. Cependant, l'homoagrégation étudiée à l'échelle du laboratoire reste très utile pour caractériser la stabilité des nanoplastiques en fonction de leurs propriétés physico-chimiques et de la salinité du milieu. À l'échelle du ppm, la concentration critique de coagulation (CCC) peut être déterminée par diffusion dynamique ou statique de la lumière et par spectroscopie UV/visible. De toutes les méthodes utilisées pour étudier la stabilité des nanoplastiques, la DLS résolue en temps est la plus courante (Holthoff *et al.*, 1996).

4.1. Homoagrégation

Récemment, des efforts importants ont été déployés pour décrire la stabilité de nanoplastiques de polystyrène, polyéthylène téréphtalate et de polyéthylène en étudiant leur concentration critique de coagulation dans des solutions salines monovalentes et divalentes. Le Tableau 1-2 résume les études de laboratoires réalisées entre 2017 et 2021 sur l'homoagrégation de nanoplastiques. De manière générale, les données montrent que l'efficacité d'attachement particule-particule augmente avec la force ionique ; ceci est dû à la compression de la double couche électronique en accord avec la théorie de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO). L'importance de la valence est montrée dans le Tableau 1-2, où les cations divalents (Ca^{2+}) déstabilisent les nanoplastiques à des concentrations plus faibles que les cations monovalents (Na^{+}), suivant la règle de Schulze-Hardy ($CCC \infty 1/z^n$ avec $2 < n < 6$) (Oncsik *et al.*, 2014).

Tableau 1-2 : Revue des études récentes reportant les taux d'homoagrégation et les concentrations critiques de coagulation (CCC) dans des électrolytes mono- et divalents de nanoplastiques fonctionnalisés et ayant une surface anionique (non spécifié, mais avec un potentiel zêta négatif, carboxylique, sulfonique, formique). L'origine des nanoplastiques est commerciale (émulsion), à partir de méthodes de fragmentation mécanique, d'irradiation UV et de filtration. * donné avec la nature chimique de surface (aucune, COOH, SO_3H, C_2H_2O) pour les nanoplastiques commerciaux (PSL) ou les méthodes d'élaboration à savoir broyé, UV ou ablation laser. n.a. = non ajusté

NPTs*	Taille (nm)	CCC (mmol/L) NaCl	CCC (mmol/L) $CaCl_2$	pH	Méthode	Origine	Référence
PS	240	140	25	6	DLS	Commercial	(Singh *et al.*, 2019)
	100	450	33	6			(Liu *et al.*, 2019)
		300-500	--	3 à 10			(Liu *et al.*, 2019)
		460	32	6			(Liu *et al.*, 2020)
		591	71	7.5			(Mao *et al.*, 2020)
		135	--	6			(Singh *et al.*, 2021)
		500	40	5 à 9	SLS	Commercial + 0.02% tensio-actif anionique	(Sun *et al.*, 2021)
	93	310	29	n.a.	DLS	Commercial	(Yu *et al.*, 2019)
	55	950	--	6			(Singh *et al.*, 2021)
	50	264	29	5			(Li *et al.*, 2020b)
PS-COOH	110	--	10	n.a.	DLS	Commercial	(Nolte *et al.*, 2017)
	97	308	28	n.a.		Modification chimique de la surface	(Yu *et al.*, 2019)
	50	191	16	5		Commercial	(Li *et al.*, 2020b)
	28	800	10	5			(Shams *et al.*, 2020)
PS-SO_3H	90	159	12	6	DLS	Commercial	(Wang *et al.*, 2021a)
	80	264	29	5			(Li *et al.*, 2020b)
PS-C_2H_2O	50	84	10	5	DLS	Commercial	(Li *et al.*, 2020b)
PS-broyé	350	59	--	6.5	DLS	Dégradation mécanique	(Pradel *et al.*, 2021)
		67		8			(Pradel *et al.*, 2021)
PS-UV	100	957	--	n.a.	DLS	UV-irradiation dans H_2O_2 - 60h	(Mao *et al.*, 2020)
		1108					(Mao *et al.*, 2020)
	50-100	760-458	27-8	6		UV-irradiation 1 à 24h	(Liu *et al.*, 2019)
	50	280-1300	--	3 à 10		UV-irradiation 24h	(Liu *et al.*, 2019)
PET-laser	110	700		n.a.	UV/Vis	Ablation laser	(Magrì *et al.*, 2018)
PET-broyé	300-700	54	2.1	6	DLS	Dégradation mécanique	(Dong *et al.*, 2021)
		110	5,6	10			(Dong *et al.*, 2021)
PE	200	80	0.1	5	DLS	Filtration de microplastique PE stabilité avec SDS (0.1%)	(Shams *et al.*, 2020)

A pH identique et à taille équivalente, l'amplitude des valeurs de CCC s'explique par l'origine commerciale des nanoplastiques. Les fabricants utilisent des tensio-actifs et sont souvent réticents à informer l'utilisateur de la composition exacte de l'échantillon (type et concentration de tensio-actif, résidu de synthèse). Il peut exister une variabilité et des différences significatives entre les fabricants. La présence de tensio-actifs dans les échantillons commerciaux rend difficile la comparaison avec les échantillons « fait-maison » qui en sont exempts.

4.2. Hétéroagrégation

Du fait de leur grande réactivité de surface et de leur important ratio surface/masse, les nanoplastiques peuvent interagir avec des colloïdes naturels, et anthropiques tels que des oxydes métalliques, des molécules organiques ou des composés inorganiques (argile, silice, *etc.*). Ces interactions induisent une hétéroagrégation des nanoplastiques en fonction du milieu environnant. La forme, la taille et la composition finale des hétéroagrégats déterminent leur impact sur l'environnement.

Comme premier test d'hétéroagrégation, Cai *et al.* ont utilisé des PSL commerciaux fluorescents de diamètre 100 nm en présence de substance humique et de chlorure de calcium, chlorure de sodium et chlorure de fer (III) (Cai *et al.*, 2018). Ils ont montré que la matière organique avait tendance à stabiliser les hétéroagrégats de PSL et fer. Oriekhova *et al*. arrivent à la même conclusion en étudiant un PSL fonctionnalisé amine (PSL-NH_2), commercial de diamètre 20 nm en présence de Fe_2O_3 et d'alginate (Oriekhova & Stoll, 2018). Contrairement à Tallec *et al.*, Wu *et al.* montrent que la présence d'acide humique entraîne une stabilisation des PSL-NH_2.(Tallec *et al.*, 2019 ; Wu *et al.*, 2019). Ce qui peut s'expliquer par la présence de tensio-actifs dans les nanoplastiques commerciaux utilisés par Tallec *et al.* (Tallec *et al.*, 2019). Comme expliqué précédemment, la présence d'un tensio-actif influe sur la stabilité colloïdale des nanoplastiques.

La présence de matière organique limite l'agrégation de nanoplastiques chargés négativement. Pradel *et al.* ont montré que les phénomènes mis en jeux variaient en fonction du type de matière organique utilisée (Pradel *et al.*, 2021). L'acide humique (Figure 1-15) stabilise les nanoplastiques par répulsion électrostatique entre particules, certaines particules d'acide humique plus grosses peuvent aussi provoquer un encombrement stérique. L'alginate quant à lui se sorbe à la surface des nanoplastiques et de leurs petits agrégats. Les particules recouvertes sont alors stabilisées par encombrement stérique.

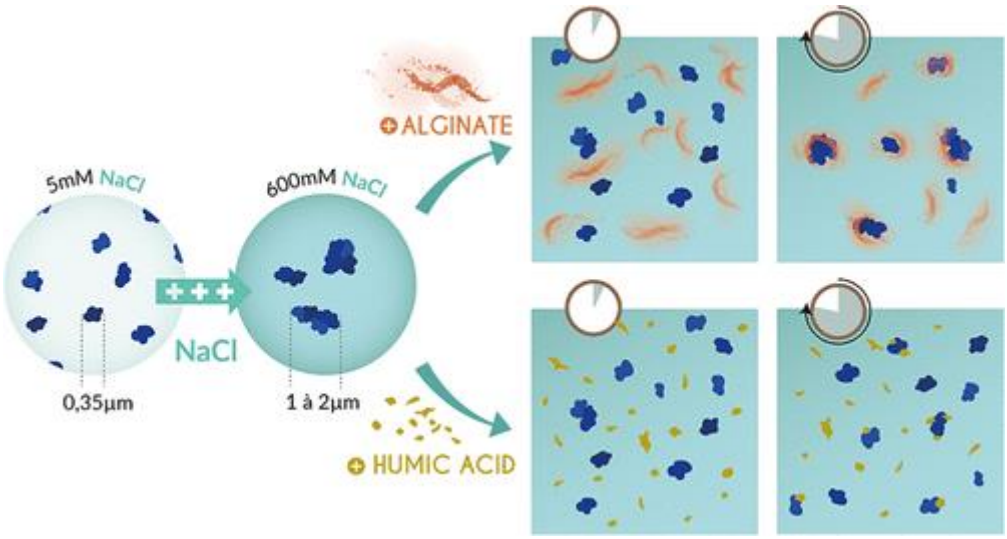

Figure 1-15 : Mécanisme de stabilisation de nanoplastique par l'acide humique et l'alginate en présence de chlorure de sodium (Pradel *et al.*, 2021).

CONCLUSION

Les déchets plastiques sont une catastrophe écologique pour notre planète. Des nanoplastiques ont été détectés dans diverses matrices environnementales (Davranche *et al.*, 2020 ; ter Halle *et al.*, 2017 ; Wahl *et al.*, 2021). Cependant, nous ne sommes actuellement pas en mesure de déterminer l'étendue de leur impact sur l'environnement. À l'heure actuelle la majorité des études publiées sur les nanoplastiques concernent leur impact sur les organismes. Toutefois, la pertinence des nanoplastiques modèles, généralement commerciaux, utilisés dans ces études peut être questionnée du fait du manque d'information quantitative sur leurs caractéristiques.

De plus, nous souffrons d'un réel manque de stratégies permettant la caractérisation complète des nanoplastiques. Du fait de leur petite taille, un grand nombre de techniques de caractérisation existantes pour l'analyse des microplastiques ne sont pas adaptés pour l'analyse des nanoplastiques.

Enfin, l'impact des nanoplastiques sur l'environnement est régi par leur capacité à être transportés et s'accumuler. Ces phénomènes dépendent de l'état d'agrégation des nanoplastiques dans le milieu d'étude. Pour cela il aussi est indispensable d'étudier les paramètres pouvant influencer l'état d'agrégation des nanoplastiques.

RÉFÉRENCES

- A -

Abdolahpur Monikh, F., Grundschober N., Romeijn S., Arenas-Lago D., Vijver M. G., Jiskoot W. and Peijnenburg W. J. G. M. (2019). Development of methods for extraction and analytical characterization of carbon-based nanomaterials (nanoplastics and carbon nanotubes) in biological and environmental matrices by asymmetrical flow field-flow fractionation. *Environ. Pollut.* **255**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113304.

Akbulut, M., Ginart P., Gindy M. E., Theriault C., Chin K. H., Soboyejo W. and Prud'homme R. K. (2009). Generic Method of Preparing Multifunctional Fluorescent Nanoparticles Using Flash NanoPrecipitation. *Adv. Funct. Mater.* **19**(5): 718-725. https://doi.org/10.1002/adfm.200801583.

Al-Sid-Cheikh, M., Rowland S. J., Stevenson K., Rouleau C., Henry T. B. and Thompson R. C. (2018). Uptake, Whole-Body Distribution, and Depuration of Nanoplastics by the Scallop Pecten maximus at Environmentally Realistic Concentrations. *Environ. Sci. Technol.* **52**(24): 14480-14486. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05266.

Alimi, O. S., Farner Budarz J., Hernandez L. M. and Tufenkji N. (2018). Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport. *Environ. Sci. Technol.* **52**(4): 1704-1724. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05559.

Andrady, A. L. (1997). Wavelength sensitivity in polymer photodegradation. Polymer Analysis Polymer Physics. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg**:** 47-94. https://doi.org/10.1007/3-540-61218-1_6

Andrady, A. L. (1998). Biodegradation of Plastics: Monitoring what Happens. Plastics Additives: An A-Z reference. G. Pritchard. Dordrecht, Springer Netherlands**:** 32-40. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5862-6_5

Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(8): 1596-1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.

Andrady, A. L. (2015). Persistence of Plastic Litter in the Oceans. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages. Cham, Springer International Publishing**:** 57-72. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_3

Andrady, A. L., Hamid H. S. and Torikai A. (2003). Effects of climate change and UV-B on materials. *Photochemical & Photobiological Sciences* **2**(1): 68-72. https://doi.org/10.1039/B211085G.

Auta, H. S., Emenike C. U. and Fauziah S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ. Int.* **102**: 165-176. https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013.

- B -

Barber, A., Kly S., Moffitt M. G., Rand L. and Ranville J. F. (2020). Coupling single particle ICP-MS with field-flow fractionation for characterizing metal nanoparticles contained in nanoplastic colloids. *Environ. Sci.: Nano* **7**(2): 514-524. https://doi.org/10.1039/c9en00637k.

Barbosa, F., Adeyemi J. A., Bocato M. Z., Comas A. and Campiglia A. (2020). A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro- and nanoplastic studies: From the detection to the toxicological assessment. *Environ. Res.* **182**. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.109089.

Barnes, D. K. A., Galgani F., Thompson R. C. and Barlaz M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 1985-1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205.

Baudrimont, M., Arini A., Guégan C., Venel Z., Gigault J., Pedrono B., Prunier J., Maurice L., ter Halle A. and Feurtet-Mazel A. (2020). Ecotoxicity of polyethylene nanoplastics from the North Atlantic oceanic gyre on freshwater and marine organisms (microalgae and filter-feeding bivalves). *Environmental Science and Pollution Research* **27**(4): 3746-3755. https://doi.org/10.1007/s11356-019-04668-3.

Blancho, F., Davranche M., Fumagalli F., Ceccone G. and Gigault J. (2021). A reliable procedure to obtain environmentally relevant nanoplastic proxies. *Environ. Sci.: Nano*. https://doi.org/10.1039/D1EN00395J.

Brandon, J. A., Jones W. and Ohman M. D. (2019). Multidecadal increase in plastic particles in coastal ocean sediments. *Science Advances* **5**(9): eaax0587. https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0587.

Brooks, A. L., Wang S. and Jambeck J. R. (2018). The Chinese import ban and its impact on global plastic waste trade. *Science Advances* **4**(6): eaat0131. https://doi.org/10.1126/sciadv.aat0131.

- C -

Cai, L., Hu L., Shi H., Ye J., Zhang Y. and Kim H. (2018). Effects of inorganic ions and natural organic matter on the aggregation of nanoplastics. *Chemosphere* **197**: 142-151. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.052.

Caputo, F., Vogel R., Savage J., Vella G., Law A., Della Camera G., Hannon G., Peacock B., Mehn D., Ponti J., Geiss O., Aubert D., Prina-Mello A. and Calzolai L. (2021). Measuring particle size distribution and mass concentration of nanoplastics and microplastics: addressing some analytical challenges in the sub-micron size range. *J. Colloid Interface Sci.* **588**: 401-417. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.039.

Catarino, A. I., Frutos A. and Henry T. B. (2019). Use of fluorescent-labelled nanoplastics (NPs) to demonstrate NP absorption is inconclusive without adequate controls. *Sci. Total Environ.* **670**: 915-920. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.194.

Cole, M. and Galloway T. S. (2015). Ingestion of Nanoplastics and Microplastics by Pacific Oyster Larvae. *Environ. Sci. Technol.* **49**(24): 14625-14632. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04099.

Cole, M., Lindeque P., Fileman E., Halsband C. and Galloway T. S. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod Calanus helgolandicus. *Environ. Sci. Technol.* **49**(2): 1130-1137. https://doi.org/10.1021/es504525u.

Cole, M., Lindeque P., Halsband C. and Galloway T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(12): 2588-2597. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.

Cooper, D. A. and Corcoran P. L. (2010). Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii. *Mar. Pollut. Bull.* **60**(5): 650-654. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.026.

Correia, M. and Loeschner K. (2018). Detection of nanoplastics in food by asymmetric flow field-flow fractionation coupled to multi-angle light scattering: possibilities, challenges and analytical limitations. *Anal. Bioanal. Chem.* **410**(22): 5603-5615. https://doi.org/10.1007/s00216-018-0919-8.

Crawford, C. B. and Quinn B. (2017). Physiochemical properties and degradation. Microplastic Pollutants. C. B. Crawford and B. Quinn, Elsevier**:** 57-100. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809406-8.00004-9

Crawford, C. B. and Quinn B., (2019). Microplastic Pollutants, Elsevier Limited.978-0-12-809406-8 ISBN : 978-0-12-809406-8

- D -

da Costa, J. P., Santos P. S. M., Duarte A. C. and Rocha-Santos T. (2016). (Nano)plastics in the environment – Sources, fates and effects. *Sci. Total Environ.* **566–567**: 15-26. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.041.

Davranche, M., Lory C., Juge C. L., Blancho F., Dia A., Grassl B., El Hadri H., Pascal P.-Y. and Gigault J. (2020). Nanoplastics on the coast exposed to the North Atlantic Gyre: Evidence and traceability. *NanoImpact* **20**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100262.

Davranche, M., Veclin C., Pierson-Wickmann A.-C., El Hadri H., Grassl B., Rowenczyk L., Dia A., Halle A. T., Blancho F., Reynaud S. and Gigault J. (2019). Are nanoplastics able to bind significant amount of metals? The lead example. *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.087.

Dong, S., Cai W., Xia J., Sheng L., Wang W. and Liu H. (2021). Aggregation kinetics of fragmental PET nanoplastics in aqueous environment: Complex roles of electrolytes, pH and humic acid. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115828.

- E -

Ekvall, M. T., Lundqvist M., Kelpsiene E., Šileikis E., Gunnarsson S. B. and Cedervall T. (2019). Nanoplastics formed during the mechanical breakdown of daily-use polystyrene products. *Nanoscale Advances* **1**(3): 1055-1061. https://doi.org/10.1039/c8na00210j.

El Hadri, H., Gigault J., Maxit B., Grassl B. and Reynaud S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact* **17**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2019.100206.

El Hadri, H., Lisa J. M., Gigault J., Reynaud S. and Grassl B. (2021). Fate of nanoplastics in the environment: Implication of the cigarette butts. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115170.

Eriksen, M., Lebreton L. C. M., Carson H. S., Thiel M., Moore C. J., Borerro J. C., Galgani F., Ryan P. G. and Reisser J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLOS ONE* **9**(12): e111913. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913.

- F -

François-Heude, A., Richaud E., Desnoux E. and Colin X. (2015). A general kinetic model for the photothermal oxidation of polypropylene. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **296**: 48-65. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2014.08.015.

Frehland, S., Kaegi R., Hufenus R. and Mitrano D. M. (2020). Long-term assessment of nanoplastic particle and microplastic fiber flux through a pilot wastewater treatment plant using metal-doped plastics. *Water Res.* **182**: 115860. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115860.

- G -

Galloway, T. S., Dogra Y., Garrett N., Rowe D., Tyler C. R., Moger J., Lammer E., Landsiedel R., Sauer U. G., Scherer G., Wohlleben W. and Wiench K. (2017). Ecotoxicological assessment of nanoparticle-containing acrylic copolymer dispersions in fairy shrimp and zebrafish embryos. *Environ. Sci.: Nano* **4**(10): 1981-1997. https://doi.org/10.1039/C7EN00385D.

Gewert, B., Plassmann M. M. and MacLeod M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental Science: Processes & Impacts* **17**(9): 1513-1521. https://doi.org/10.1039/C5EM00207A.

Gigault, J., El Hadri H., Nguyen B., Grassl B., Rowenczyk L., Tufenkji N., Feng S. and Wiesner M. (2021). Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* **16**(5): 501-507. https://doi.org/10.1038/s41565-021-00886-4.

Gigault, J., El Hadri H., Reynaud S., Deniau E. and Grassl B. (2017). Asymmetrical flow field flow fractionation methods to characterize submicron particles: application to carbon-based aggregates and nanoplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* **409**(29): 6761-6769. https://doi.org/10.1007/s00216-017-0629-7.

Gigault, J., Halle A. t., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B. and Reynaud S. (2018). Current opinion: What is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024.

Gigault, J., Pedrono B., Maxit B. and ter Halle A. (2016). Marine plastic litter: the unanalyzed nano-fraction. *Environ. Sci.: Nano* **3**(2): 346-350. https://doi.org/10.1039/C6EN00008H.

Gillibert, R., Balakrishnan G., Deshoules Q., Tardivel M., Magazzù A., Donato M. G., Maragò O. M., Lamy De La Chapelle M., Colas F., Lagarde F. and Gucciardi P. G. (2019). Raman tweezers for small microplastics and nanoplastics identification in seawater. *Environ. Sci. Technol.* **53**(15): 9003-9013. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03105.

González-Pleiter, M., Tamayo-Belda M., Pulido-Reyes G., Amariei G., Leganés F., Rosal R. and Fernández-Piñas F. (2019). Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments. *Environ. Sci.: Nano* **6**(5): 1382-1392. https://doi.org/10.1039/c8en01427b.

Gregory, M. R. and Andrady A. L. (2005). Plastics in the Marine Environment. Plastics and the Environment**:** 379-401. https://doi.org/10.1002/0471721557.ch10

- H -

Hartmann, N. B., Hüffer T., Thompson R. C., Hassellöv M., Verschoor A., Daugaard A. E., Rist S., Karlsson T., Brennholt N., Cole M., Herrling M. P., Hess M. C., Ivleva N. P., Lusher A. L. and Wagner M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* **53**(3): 1039-1047. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297.

Hartmann, N. B., Rist S., Bodin J., Jensen L. H., Schmidt S. N., Mayer P., Meibom A. and Baun A. (2017). Microplastics as vectors for environmental contaminants: Exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integr. Environ. Assess. Manage.* **13**(3): 488-493. https://doi.org/10.1002/ieam.1904.

Heinrich-Böll-Stiftung France. (2020). Atlas du plastique. editeur: H.-B.-S. France, 58 ISBN : 979-10-97395-01-8, https://fr.boell.org/fr/2020/02/24/atlas-du-plastique

Hermabessiere, L., Dehaut A., Paul-Pont I., Lacroix C., Jezequel R., Soudant P. and Duflos G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere* **182**: 781-793. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096.

Hernandez, L. M., Xu E. G., Larsson H. C. E., Tahara R., Maisuria V. B. and Tufenkji N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environ. Sci. Technol.* **53**(21): 12300-12310. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540.

Hildebrandt, L., Mitrano D. M., Zimmermann T. and Pröfrock D. (2020). A Nanoplastic Sampling and Enrichment Approach by Continuous Flow Centrifugation. *Frontiers in Environmental Science* **8**. https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00089.

Holmes, L. A., Turner A. and Thompson R. C. (2012). Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environ. Pollut.* **160**: 42-48. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.052.

Holthoff, H., Egelhaaf S. U., Borkovec M., Schurtenberger P. and Sticher H. (1996). Coagulation rate measurements of colloidal particles by simultaneous static and dynamic light scattering. *Langmuir* **12**(23): 5541-5549. https://doi.org/10.1021/La960326e.

Hopewell, J., Dvorak R. and Kosior E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 2115-2126. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311.

Hotze, E. M., Phenrat T. and Lowry G. V. (2010). Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment. *J. Environ. Qual.* **39**(6): 1909-1924. https://doi.org/10.2134/jeq2009.0462.

Hurley, R. R., Woodward J. C. and Rothwell J. J. (2018). Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding. *Nature Geoscience* **11**: 251-257. https://doi.org/10.1038/s41561-018-0080-1.

- I -

Ivleva, N. P., Wiesheu A. C. and Niessner R. (2017). Microplastic in Aquatic Ecosystems. *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**(7): 1720-1739. https://doi.org/10.1002/anie.201606957.

- J -

Jambeck, J. R., Geyer R., Wilcox C., Siegler T. R., Perryman M., Andrady A., Narayan R. and Law K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* **347**(6223): 768-771. https://doi.org/10.1126/science.1260352.

Jiménez-Lamana, J., Marigliano L., Allouche J., Grassl B., Szpunar J. and Reynaud S. (2020). A Novel Strategy for the Detection and Quantification of Nanoplastics by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *Anal. Chem.* **92**(17): 11664-11672. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01536.

Julienne, F. (2019). Fragmentation des plastiques : effet de l'environnement et de la nature du polymère sur la taille et la forme des fragments générés. *Thèse de Doctorat*, Université du Mans.

- K -

Kamweru, P. K., Ndiritu F. G., Kinyanjui T. K., Muthui Z. W., Ngumbu R. G. and Odhiambo P. M. (2011). Study of Temperature and UV Wavelength Range Effects on Degradation of Photo-Irradiated Polyethylene Films Using DMA. *Journal of Macromolecular Science, Part B* **50**(7): 1338-1349. https://doi.org/10.1080/00222348.2010.516172.

Keller, A. S., Jimenez-Martinez J. and Mitrano D. M. (2020). Transport of Nano- And Microplastic through Unsaturated Porous Media from Sewage Sludge Application. *Environ. Sci. Technol.* **54**(2): 911-920. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06483.

Kihara, S., Köper I., Mata J. P. and McGillivray D. J. (2021). Reviewing nanoplastic toxicology: It's an interface problem. *Adv. Colloid Interface Sci.* **288**. https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102337.

Koelmans, A. A. (2019). Proxies for nanoplastic. *Nat. Nanotechnol.* **14**(4): 307-308. https://doi.org/10.1038/s41565-019-0416-z.

Koelmans, A. A., Besseling E. and Shim W. J. (2015). Nanoplastics in the Aquatic Environment. Critical Review. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages, Springer International Publishing**:** 325-340. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_12

- L -

Lambert, S. and Wagner M. (2016a). Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene. *Chemosphere* **145**: 265-268. 10.1016/j.chemosphere.2015.11.078.

Lambert, S. and Wagner M. (2016b). Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* **161**: 510-517. 10.1016/j.chemosphere.2016.07.042.

Law, K. L. (2017). Plastics in the Marine Environment. *Annual Review of Marine Science* **9**(1): 205-229. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409.

Lebordais, M., Gutierrez-Villagomez J. M., Gigault J., Baudrimont M. and Langlois V. S. (2021). Molecular impacts of dietary exposure to nanoplastics combined with arsenic in Canadian oysters (Crassostrea virginica) and bioaccumulation comparison with Caribbean oysters (Isognomon alatus). *Chemosphere* **277**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130331.

Lebreton, L. and Andrady A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications* **5**(1): 6. https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7.

Lebreton, L. C. M., Greer S. D. and Borrero J. C. (2012). Numerical modelling of floating debris in the world's oceans. *Mar. Pollut. Bull.* **64**(3): 653-661. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.027.

Lebreton, L. C. M., van der Zwet J., Damsteeg J.-W., Slat B., Andrady A. and Reisser J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nat. Commun.* **8**(1): 15611. https://doi.org/10.1038/ncomms15611.

Lenz, R., Enders K. and Nielsen T. G. (2016). Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**(29): E4121. https://doi.org/10.1073/pnas.1606615113.

Li, P., Li Q., Hao Z., Yu S. and Liu J. (2020a). Analytical methods and environmental processes of nanoplastics. *J. Environ. Sci. (China)* **94**: 88-99. https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.03.057.

Li, Q.-c., Lai Y.-j., Yu S.-j., Li P., Zhou X.-x., Dong L.-j., Liu X., Yao Z.-w. and Liu J.-f. (2021). Sequential Isolation of Microplastics and Nanoplastics in Environmental Waters by Membrane Filtration, Followed by Cloud-Point Extraction. *Anal. Chem.* **93**(10): 4559-4566. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04996.

Li, X., He E., Xia B., Van Gestel C. A. M., Peijnenburg W. J. G. M., Cao X. and Qiu H. (2020b). Impact of CeO2 nanoparticles on the aggregation kinetics and stability of polystyrene nanoplastics: Importance of surface functionalization and solution chemistry. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116324.

Li, Z., Feng C., Wu Y. and Guo X. (2020c). Impacts of nanoplastics on bivalve: Fluorescence tracing of organ accumulation, oxidative stress and damage. *J. Hazard. Mater.* **392**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122418.

Liu, Y., Hu Y., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2019). Aggregation kinetics of UV irradiated nanoplastics in aquatic environments. *Water Res.* **163**: 114870. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114870.

Liu, Y., Huang Z., Zhou J., Tang J., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2020). Influence of environmental and biological macromolecules on aggregation kinetics of nanoplastics in aquatic systems. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116316.

Lobelle, D. and Cunliffe M. (2011). Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(1): 197-200. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.10.013.

- M -

Magrì, D., Sánchez-Moreno P., Caputo G., Gatto F., Veronesi M., Bardi G., Catelani T., Guarnieri D., Athanassiou A., Pompa P. P. and Fragouli D. (2018). Laser ablation as a versatile tool to mimic polyethylene terephthalate nanoplastic pollutants: Characterization and toxicology assessment. *ACS Nano* **12**(8): 7690-7700. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01331.

Mao, Y., Li H., Huangfu X., Liu Y. and He Q. (2020). Nanoplastics display strong stability in aqueous environments: Insights from aggregation behaviour and theoretical calculations. *Environ. Pollut.* **258**: 113760. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113760.

Massos, A. and Turner A. (2017). Cadmium, lead and bromine in beached microplastics. *Environ. Pollut.* **227**: 139-145. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.034.

Materić, D., Kasper-Giebl A., Kau D., Anten M., Greilinger M., Ludewig E., Van Sebille E., Röckmann T. and Holzinger R. (2020). Micro-and Nanoplastics in Alpine Snow: A New Method for Chemical Identification and (Semi)Quantification in the Nanogram Range. *Environ. Sci. Technol.* **54**(4): 2353-2359. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07540.

Mintenig, S. M., Bäuerlein P. S., Koelmans A. A., Dekker S. C. and Van Wezel A. P. (2018). Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and microplastics in aqueous environmental samples. *Environ. Sci.: Nano* **5**(7): 1640-1649. https://doi.org/10.1039/c8en00186c.

Mitrano, D. M., Beltzung A., Frehland S., Schmiedgruber M., Cingolani A. and Schmidt F. (2019). Synthesis of metal-doped nanoplastics and their utility to investigate fate and behaviour in complex environmental systems. *Nat. Nanotechnol.* https://doi.org/10.1038/s41565-018-0360-3.

Mohee, R., Unmar G. D., Mudhoo A. and Khadoo P. (2008). Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions. *Waste Manage. (Oxford)* **28**(9): 1624-1629. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.07.003.

Molenaar, R., Chatterjee S., Kamphuis B., Segers-Nolten I. M. J., Claessens M. M. A. E. and Blum C. (2021). Nanoplastic sizes and numbers: Quantification by single particle tracking. *Environ. Sci.: Nano* **8**(3): 723-730. https://doi.org/10.1039/d0en00951b.

Muthukumar, T., Aravinthan A., Lakshmi K., Venkatesan R., Vedaprakash L. and Doble M. (2011). Fouling and stability of polymers and composites in marine environment. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **65**(2): 276-284. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.012.

- N -

Newman, S., Watkins E., Farmer A., Brink P. t. and Schweitzer J.-P. (2015). The Economics of Marine Litter. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages. Cham, Springer International Publishing**:** 367-394. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_14

Nguyen, B., Claveau-Mallet D., Hernandez L. M., Xu E. G., Farner J. M. and Tufenkji N. (2019). Separation and Analysis of Microplastics and Nanoplastics in Complex Environmental Samples. *Acc. Chem. Res.* **52**(4): 858-866. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00602.

Nolte, T. M., Hartmann N. B., Kleijn J. M., Garnæs J., van de Meent D., Jan Hendriks A. and Baun A. (2017). The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption. *Aquat. Toxicol.* **183**: 11-20. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.005.

- O -

Oncsik, T., Trefalt G., Csendes Z., Szilagyi I. and Borkovec M. (2014). Aggregation of Negatively Charged Colloidal Particles in the Presence of Multivalent Cations. *Langmuir* **30**(3): 733-741. https://doi.org/10.1021/la4046644.

Oriekhova, O. and Stoll S. (2018). Heteroaggregation of nanoplastic particles in the presence of inorganic colloids and natural organic matter. *Environ. Sci.: Nano* **5**(3): 792-799. https://doi.org/10.1039/c7en01119a.

- P -

Palshin V.A., Danilovtseva E. N., M.S. S., Zelinskiy S. N. and Annenkov V. V. (2020). Fluorescent nanoplastics particles: synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology* **3**(5): 1067-1072. https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067.

Pegram, J. E. and Andrady A. L. (1989). Outdoor weathering of selected polymeric materials under marine exposure conditions. *Polym. Degrad. Stab.* **26**(4): 333-345. https://doi.org/10.1016/0141-3910(89)90112-2.

Pessoni, L., Veclin C., Hadri H. E., Cugnet C., Davranche M., Pierson-Wickmann A.-C., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2019). Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2253-2258. https://doi.org/10.1039/C9EN00384C.

Pikuda, O., Xu E. G., Berk D. and Tufenkji N. (2019). Toxicity Assessments of Micro- and Nanoplastics Can Be Confounded by Preservatives in Commercial Formulations. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **6**(1): 21-25. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00614.

Pinto da Costa, J., Reis V., Paço A., Costa M., Duarte A. C. and Rocha-Santos T. (2019). Micro(nano)plastics – Analytical challenges towards risk evaluation. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **111**: 173-184. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.013.

PlasticsEurope. (2020). Plastics - the Facts 2020. editeur:

Pradel, A., Ferreres S., Veclin C., El Hadri H., Gautier M., Grassl B. and Gigault J. (2021). Stabilization of Fragmental Polystyrene Nanoplastic by Natural Organic Matter: Insight into Mechanisms. *ACS ES&T Water*: 1198-1208. https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00283.

Pradel, A., Hadri H. E., Desmet C., Ponti J., Reynaud S., Grassl B. and Gigault J. (2020). Deposition of environmentally relevant nanoplastic models in sand during transport experiments. *Chemosphere* **255**: 126912. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126912.

- Q -

Qu, M. and Wang D. (2020). Toxicity comparison between pristine and sulfonate modified nanopolystyrene particles in affecting locomotion behavior, sensory perception, and neuronal development in Caenorhabditis elegans. *Sci. Total Environ.* **703**: 134817. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134817.

- R -

Geyer, R., Jambeck J. R. and Law K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* **3**(7): e1700782. https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782.

Ramirez Arenas, L., Ramseier Gentile S., Zimmermann S. and Stoll S. (2020). Coagulation of TiO2, CeO2 nanoparticles, and polystyrene nanoplastics in bottled mineral and surface waters. Effect of water properties, coagulant type, and dosage. *Water Environ. Res* **92**(8): 1184-1194. https://doi.org/10.1002/wer.1313.

Reichel, J., Graßmann J., Letzel T. and Drewes J. E. (2020). Systematic Development of a Simultaneous Determination of Plastic Particle Identity and Adsorbed Organic Compounds by Thermodesorption-Pyrolysis GC/MS (TD-Pyr-GC/MS). *Molecules (Basel, Switzerland)* **25**(21). https://doi.org/10.3390/molecules25214985.

Rowenczyk, L., Dazzi A., Deniset-Besseau A., Beltran V., Goudounèche D., Wong-Wah-Chung P., Boyron O., George M., Fabre P., Roux C., Mingotaud A. F. and Halle A. T. (2020). Microstructure Characterization of Oceanic Polyethylene Debris. *Environ. Sci. Technol.* **54**(7): 4102-4109. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07061.

- S -

Saavedra, J., Stoll S. and Slaveykova V. I. (2019). Influence of nanoplastic surface charge on eco-corona formation, aggregation and toxicity to freshwater zooplankton. *Environ. Pollut.* **252**: 715-722. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.135.

Sander, M., Kohler H.-P. E. and McNeill K. (2019). Assessing the environmental transformation of nanoplastic through 13C-labelled polymers. *Nat. Nanotechnol.* **14**(4): 301-303. https://doi.org/10.1038/s41565-019-0420-3.

Schmidt, C., Krauth T. and Wagner S. (2017). Export of Plastic Debris by Rivers into the Sea. *Environ. Sci. Technol.* **51**(21): 12246-12253. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02368.

Shah, A. A., Hasan F., Hameed A. and Ahmed S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnol. Adv.* **26**(3): 246-265. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005.

Shams, M., Alam I. and Chowdhury I. (2020). Aggregation and stability of nanoscale plastics in aquatic environment. *Water Res.* **171**: 115401. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115401.

Singh, B. and Sharma N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.* **93**(3): 561-584. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.

Singh, N., Bhagat J., Tiwari E., Khandelwal N., Darbha G. K. and Shyama S. K. (2021). Metal oxide nanoparticles and polycyclic aromatic hydrocarbons alter nanoplastic's stability and toxicity to zebrafish. *J. Hazard. Mater.* **407**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124382.

Singh, N., Tiwari E., Khandelwal N. and Darbha G. K. (2019). Understanding the stability of nanoplastics in aqueous environments: effect of ionic strength, temperature, dissolved organic matter, clay, and heavy metals. *Environ. Sci.: Nano* **6**(10): 2968-2976. https://doi.org/10.1039/c9en00557a.

Song, Z., Yang X., Chen F., Zhao F., Zhao Y., Ruan L., Wang Y. and Yang Y. (2019). Fate and transport of nanoplastics in complex natural aquifer media: Effect of particle size and surface functionalization. *Sci. Total Environ.* **669**: 120-128. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.102.

Sorasan, C., Edo C., González-Pleiter M., Fernández-Piñas F., Leganés F., Rodríguez A. and Rosal R. (2021). Generation of nanoplastics during the photoageing of low-density polyethylene. *Environ. Pollut.* **289**: 117919. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117919.

Strungaru, S.-A., Jijie R., Nicoara M., Plavan G. and Faggio C. (2019). Micro- (nano) plastics in freshwater ecosystems: Abundance, toxicological impact and quantification methodology. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **110**: 116-128. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.025.

Sullivan, G. L., Gallardo J. D., Jones E. W., Hollliman P. J., Watson T. M. and Sarp S. (2020). Detection of trace sub-micron (nano) plastics in water samples using pyrolysis-gas chromatography time of flight mass spectrometry (PY-GCToF). *Chemosphere* **249**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126179.

Sun, H., Jiao R. and Wang D. (2021). The difference of aggregation mechanism between microplastics and nanoplastics: Role of Brownian motion and structural layer force. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115942.

- T -

Tallec, K., Blard O., González-Fernández C., Brotons G., Berchel M., Soudant P., Huvet A. and Paul-Pont I. (2019). Surface functionalization determines behavior of nanoplastic solutions in model aquatic environments. *Chemosphere*: 639-646. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.077.

ter Halle, A., Jeanneau L., Martignac M., Jardé E., Pedrono B., Brach L. and Gigault J. (2017). Nanoplastic in the North Atlantic subtropical gyre. *Environ. Sci. Technol.* **51**(23): 13689-13697. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03667.

Thompson, R. C., Moore C. J., vom Saal F. S. and Swan S. H. (2009). Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 2153-2166. https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053.

Tian, L., Chen Q., Jiang W., Wang L., Xie H., Kalogerakis N., Ma Y. and Ji R. (2019). A carbon-14 radiotracer-based study on the phototransformation of polystyrene nanoplastics in water versus in air. *Environ. Sci.: Nano* **6**(9): 2907-2917. https://doi.org/10.1039/c9en00662a.

Tian, L., Kolvenbach B., Corvini N., Wang S., Tavanaie N., Wang L., Ma Y., Scheu S., Corvini P. F. X. and Ji R. (2017). Mineralisation of 14C-labelled polystyrene plastics by Penicillium variabile after ozonation pre-treatment. *New Biotechnology* **38**: 101-105. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.07.008.

Triebskorn, R., Braunbeck T., Grummt T., Hanslik L., Huppertsberg S., Jekel M., Knepper T. P., Krais S., Müller Y. K., Pittroff M., Ruhl A. S., Schmieg H., Schür C., Strobel C., Wagner M., Zumbülte N. and Köhler H.-R. (2019). Relevance of nano- and microplastics for freshwater ecosystems: A critical review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **110**: 375-392. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.023.

- V -

Velzeboer, I., Kwadijk C. J. A. F. and Koelmans A. A. (2014). Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes. *Environ. Sci. Technol.* **48**(9): 4869-4876. https://doi.org/10.1021/es405721v.

Vicentini, D. S., Nogueira D. J., Melegari S. P., Arl M., Köerich J. S., Cruz L., Justino N. M., Oscar B. V., Puerari R. C., da Silva M. L. N., Simioni C., Ouriques L. C., Matias M. S., de Castilhos Junior A. B. and Matias W. G. (2019). Toxicological Evaluation and Quantification of Ingested Metal-Core Nanoplastic by Daphnia magna Through Fluorescence and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometric Methods. *Environ. Toxicol. Chem.* **38**(10): 2101-2110. https://doi.org/10.1002/etc.4528.

- W -

Wahl, A., Le Juge C., Davranche M., El Hadri H., Grassl B., Reynaud S. and Gigault J. (2021). Nanoplastic occurrence in a soil amended with plastic debris. *Chemosphere* **262**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127784.

Wan, T., Lu S., Cheng W., Ren J., Wang M., Hu B., Jia Z., Li Y. and Sun Y. (2019b). A spectroscopic and theoretical investigation of interaction mechanisms of tetracycline and polystyrene nanospheres under different conditions. *Environ. Pollut.*: 398-405. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.049.

Wang, J., Zhao X., Wu A., Tang Z., Niu L., Wu F., Wang F., Zhao T. and Fu Z. (2021a). Aggregation and stability of sulfate-modified polystyrene nanoplastics in synthetic and natural waters. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114240.

Weinstein, J. E., Crocker B. K. and Gray A. D. (2016). From macroplastic to microplastic: Degradation of high-density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environ. Toxicol. Chem.* **35**(7): 1632-1640. https://doi.org/10.1002/etc.3432.

Wiesner, M. R. and Bottero J.-Y., (2017). Environmental Nanotechnology: Applications and Impacts of Nanomaterials, Second Edition. New York, McGraw-Hill Education.9780071828444 ISBN : 9780071828444

Wu, J., Jiang R., Lin W. and Ouyang G. (2019). Effect of salinity and humic acid on the aggregation and toxicity of polystyrene nanoplastics with different functional groups and charges. *Environ. Pollut.* **245**: 836-843. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.055.

- Y -

Ye, S. and Andrady A. L. (1991). Fouling of floating plastic debris under Biscayne Bay exposure conditions. *Mar. Pollut. Bull.* **22**(12): 608-613. https://doi.org/10.1016/0025-326X(91)90249-R.

Yu, S., Shen M., Li S., Fu Y., Zhang D., Liu H. and Liu J. (2019). Aggregation kinetics of different surface-modified polystyrene nanoparticles in monovalent and divalent electrolytes. *Environ. Pollut.* **255**(Pt 2): 113302. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113302.

- Z -

Zalasiewicz, J., Waters C. N., Ivar do Sul J. A., Corcoran P. L., Barnosky A. D., Cearreta A., Edgeworth M., Gałuszka A., Jeandel C., Leinfelder R., McNeill J. R., Steffen W., Summerhayes C., Wagreich M., Williams M., Wolfe A. P. and Yonan Y. (2016). The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. *Anthropocene* **13**: 4-17. https://doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.002.

Zhang, B., Chao J., Chen L., Liu L., Yang X. and Wang Q. (2021a). Research progress of nanoplastics in freshwater. *Sci. Total Environ.* **757**. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143791.

Zhang, K., Hamidian A. H., Tubić A., Zhang Y., Fang J. K. H., Wu C. and Lam P. K. S. (2021b). Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environ. Pollut.* **274**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116554.

Zhou, X.-X., Hao L.-T., Wang H.-Y.-Z., Li Y.-J. and Liu J.-F. (2019). Cloud-Point Extraction Combined with Thermal Degradation for Nanoplastic Analysis Using Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **91**(3): 1785-1790. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04729.

CHAPITRE 2

CARACTÉRISATION DE NANOPLASTIQUES MODÈLES : DÉVELOPPEMENT DE PROTOCOLES ANALYTIQUES

LISTE DES FIGURES - 77 -

LISTE DES TABLEAUX - 78 -

1. CONTEXTE - 79 -

2. MESURE DE LA TAILLE - 80 -

2.1. Diffusion dynamique de la lumière - 81 -

2.2 Fractionnement flux force couplé à la diffusion statique de la lumière - 86 -

2.3. Microscopie électronique en transmittion - 88 -

2.4. Comparaison des méthodes : bilan - 90 -

3.CARACTÉRISATION DE SURFACE - 92 -

3.1. Morphologie - 92 -

3.2. Charges de surface - 93 -

3.2.1 Titration pH-métrique - 94 -

3.2.2 Zêtamétrie - 95 -

3.2.2.1. Qu'est-ce que le potentiel zêta ? - 95 -

3.2.2.2. Mesure du potentiel zêta par zêtamétrie - 98 -

3.2.3 Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation - 102 -

3.2.3.1. Principe de l'EAF4 ? - 102 -

3.2.3.2. Détermination du potentiel zêta par EAF4 - 105 -

3.3. Hydrophobie de surface - 110 -

4.CONCLUSION - 112 -

5. MATÉRIEL ET MÉTHODES - 113 -

5.1. Mesure de la taille et morphologie de surface - 113 -

5.1.1 Diffusion dynamique de la lumière - 113 -

5.1.2 Diffusion statique de la lumière - 113 -

5.1.3 Microscopie électronique en transmission - 114 -

5.1.4 Microscopie à force atomique - 114 -

5.2. Caractérisation de la charge de surface - 114 -

5.2.1. Titration pH-métrique - 114 -

5.2.2. Zêtamétrie - 115 -

5.2.2.1. Effet de la concentration sur le potentiel zêta - 115 -

5.2.2.2. Effet du pH sur le potentiel zêta - 115 -

5.2.2.3. Mesure du potentiel zêta ? - 115 -

5.2.3. Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation - 116 -

5.3. Mesure de l'hydrophobie de surface - 116 -

RÉFÉRENCES - 119 -

LISTE DES FIGURES

Figure 2-1 : Propriétés caractéristiques des nanoplastiques _____ - 79 -

Figure 2-2 : Schéma de fonctionnement de la DLS in situ de Cordouan Technologies_____ - 82 -

Figure 2-3 : Comparaison des différents algorithmes de calcul du diamètre hydrodynamique en DLS en fonction du type d'échantillon _____ - 83 -

Figure 2-4 : Effet des paramètres d'acquisition et de la concentration sur les mesures de diamètre hydrodynamique en DLS _____ - 84 -

Figure 2-5 : Courbes d'autocorrélation et distribution de tailles des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques _____ - 86 -

Figure 2-6 : Fractogramme obtenu pour des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques par AF4-SLS _____ - 87 -

Figure 2-7 : Formation des images en microscopie électronique _____ - 88 -

Figure 2-8 : Séries d'images obtenues en MET pour des nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques _____ - 89 -

Figure 2-9 : Distribution en taille du diamètre géométrique de nanoplastiques modèles sphériques et des diamètres de Féret de nanoplastiques modèles polymorphiques _____ - 90 -

Figure 2-10 : Images MET et AFM de nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques __ - 92 -

Figure 2-11 : Coure de titrage des groupements COOH à la surface du _____ - 94 -

Figure 2-12 : Représentation de la double couche électronique _____ - 96 -

Figure 2-13 : Principe simplifié d'une mesure de potentiel zêta _____ - 97 -

Figure 2-14 : Approximation de la fonction de Henry_____ - 98 -

Figure 2-15 : Influence de la concentration sur les valeurs de potentiel zêta pour un nanoplastique modèle sphérique _____ - 99 -

Figure 2-16 : Influence de la force ionique sur les mesure de potentiel zêta pour un nanoplastique modèle sphérique _____ - 100 -

Figure 2-17 : Influence du pH de la solution sur une mesure de potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique _____ - 101 -

Figure 2-18 : Étape d'injection et de focus en AF4 classique _____ - 102 -

Figure 2-19 : Schéma de principe de l'EAF4 _____ - 103 -

Figure 2-20 : Fractogrammes types obtenus pour un nanoplastique modèle sphérique à différents courants en EAF4_____ - 106 -

Figure 2-21 : Mesure de l'intensité, du potentiel, du pH et de la conductivité pendant l'analyse de nanoplastiques modèles sphériques en EAF4_____ - 107 -

Figure 2-22 : Détermination de la mobilité électrophorétique des échantillons de nanoplastiques modèles sphériques _____ - 108 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2-1 : Précision de la mesure du diamètre hydrodynamique d'un échantillon de nanoplastiques sphériques monodisperses en DLS _____ - 85 -

Tableau 2-2 : Comparaison des méthodes de mesure de taille _____ - 91 -

Tableau 2-3 : Mobilité électrophorétique et potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique dans différents milieux _____ - 101 -

Tableau 2-4 : Diamètre hydrodynamique et fonctionnalité de surface des nanoplastiques modèles sphériques analysés en EAF4_____ - 105 -

Tableau 2-7 : Conditions de séparation en AF4 en fonction de la taille des analytes_____ - 114 -

Tableau 2-8 : Caractéristiques de surface des différents collecteurs _____ - 117 -

1. CONTEXTE

Le comportement, le devenir (sédimentation, flottaison, transport, complexation) ainsi que la biodisponibilité et la toxicité des nanoplastiques sont directement influencés par leurs caractéristiques physico-chimiques. Pour étudier leur comportement, il est important de développer des outils analytiques permettant de les caractériser qu'ils soient matériaux modèles ou échantillons environnementaux. Les caractéristiques influençant le comportement et devenir des nanoplastiques dans l'environnement peuvent être regroupées en trois grandes catégories: les caractéristiques morphologiques, l'état de surface des nanoplastiques ainsi que la formulation de l'échantillon (nanoplastiques et milieu) (Figure 2-1).

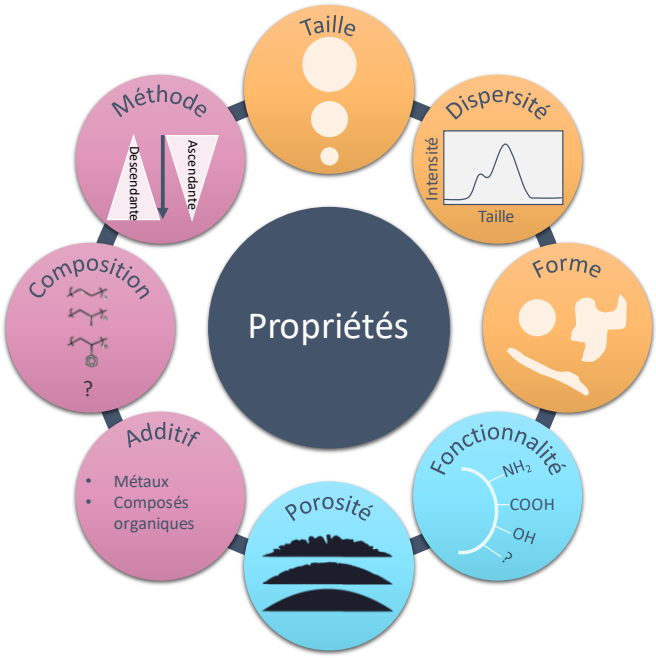

Figure 2-1 : Propriétés caractéristiques des nanoplastiques modèles (morphologie, état de surface, formulation).

La petite taille des nanoplastiques les rend difficiles à caractériser. En effet, les outils analytiques utilisés pour caractériser les microplastiques ne sont généralement pas suffisamment performants pour analyser les nanoplastiques. À ce jour, il n'existe pas de stratégie analytique complète et systématique permettant de caractériser les nanoplastiques. Au cours de ces travaux de thèse, nous avons étudié le développement d'une stratégie complète pour leur caractérisation. Nous avons développé et utilisé différentes techniques permettant la détermination de la taille des nanoplastiques et de leur distribution, mais aussi la caractérisation de leur surface (fonctionnalité, morphologie, hydrophobie).

Nos travaux ont bénéficié de trois types de modèles de nanoplastiques développés au sein de l'IPREM. Le nom des échantillons synthétisés a été choisi en fonction des monomères utilisés styrène (S), acide acrylique (AA) ou acide méthacrylique (MAA) et du nombre de fonctions des groupements COOH présents à leur surface (COOH/nm²). Les deux premiers lots de nanoplastiques ont été obtenus par polymérisation en émulsion (sphériques et de surface lisse : PSAA2, PSAA7, PSMAA2 ; sphériques et de surface rugueuse de type « framboise » : PSAA36, PSAA56) (Pessoni *et al.*, 2019). Le troisième lot a été obtenu par dégradation mécanique (polymorphique : PS-m) (El Hadri *et al.*, 2020). Les différents procédés d'obtention des modèles sont détaillés dans le chapitre 3.

2. MESURE DE LA TAILLE

En raison de leurs petites dimensions et de leurs propriétés colloïdales, l'impact des nanoplastiques sur l'environnement et le biote est considéré comme potentiellement supérieur, voire très inquiétant lorsque comparé à celui des microplastiques (Caputo *et al.*, 2021). En effet, les nanoplastiques sont composés de polymères (inertes) et d'additifs (ex. plastifiants, retardateurs de flamme, antioxydants, colorants, *etc.*) permettant d'améliorer leurs performances (Hahladakis *et al.*, 2018). Certains de ces additifs peuvent être nocifs pour l'environnement (Hermabessiere *et al.*, 2017). De plus, comparé aux autres débris plastiques de taille supérieure, le ratio surface/masse est bien supérieur pour les nanoplastiques et cette caractéristique favorise la sorption d'espèces déjà présentes dans les milieux où ils transitent, ces espèces peuvent être d'autres contaminants (organiques ou métalliques) (Davranche *et al.*, 2019 ; Gigault *et al.*, 2018 ; Town & Van Leeuwen, 2020). Ces co-contaminants peuvent ensuite être transportés et relargués dans des compartiments environnementaux différents ou dans des organismes (Jiang *et al.*, 2020 ; Town & Van Leeuwen, 2020). La taille des nanoplastiques est alors un paramètre essentiel pour étudier le comportement des nanoplastiques dans l'environnement. D'un point de vue technique, pour obtenir une analyse dimensionnelle complète il est nécessaire de combiner plusieurs approches complémentaires. Par exemple, les méthodes de diffusion de lumière peuvent donner la distribution de la taille d'un échantillon, mais ne prennent pas en compte la morphologie des échantillons polymorphiques contrairement aux techniques de microscopie optique.

Dans ces travaux de thèse, nous avons utilisé trois méthodes de détermination de la taille. Deux techniques reposent sur la diffusion de la lumière et la troisième sur la microscopie électronique.

Il existe deux types de mesure par diffusion de la lumière de particules soumises au mouvement brownien : *(i)* la diffusion dynamique de la lumière (DLS, Dynamic Light Scattering) et *(ii)* la diffusion statique de la lumière (SLS, Static Light Scattering). La première est basée sur les fluctuations de

l'intensité lumineuse au cours du temps. La seconde est basée sur une mesure d'intensité moyenne de la lumière diffusée durant toute la durée de l'analyse.

Dans ce chapitre, nous utiliserons différents diamètres moyens pour définir les nanoplastiques, ils sont reportés ci-dessous (Slomkowski *et al.*, 2011):

Le diamètre moyen en masse :

$$d_w = \frac{\sum N_i d_i^4}{\sum N_i d_i^3} \qquad 2\text{-}1$$

Le diamètre moyen en nombre :

$$d_n = \frac{\sum N_i d_i}{\sum N_i} \qquad 2\text{-}2$$

Le diamètre moyen en z :

$$d_z = \frac{\sum N_i d_i^5}{\sum N_i d_i^4} \qquad 2\text{-}3$$

Avec N_i le nombre de nanoplastiques de diamètre d_i

2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet de déterminer le diamètre hydrodynamique de colloïdes grâce à la corrélation en intensité des fluctuations de lumière diffusée par les particules en suspension soumises au mouvement brownien. L'équation de Stokes-Einstein (2-4) donne la relation entre le diamètre hydrodynamique d'une particule et son coefficient de diffusion :

$$d_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta \mathrm{D}} \qquad 2\text{-}4$$

Avec, D le coefficient de diffusion ($m^2\ s^{-1}$), k_B la constante de Boltzmann (1.380649×10^{-23} kg $m^2\ s^{-2}\ K^{-1}$), T la température absolue (K), η la viscosité du milieu liquide (kg $m^{-1}\ s^{-1}$) et d_H le diamètre hydrodynamique de la particule (m). Le coefficient de diffusion est déterminé grâce à la fonction d'autocorrélation obtenue en DLS.

Une mesure de DLS est effectuée en 3 étapes :

i) L'échantillon est éclairé par un faisceau laser. La lumière diffusée par les particules est ensuite enregistrée par un photodétecteur à un angle θ de 170 ° (Figure 2-2).

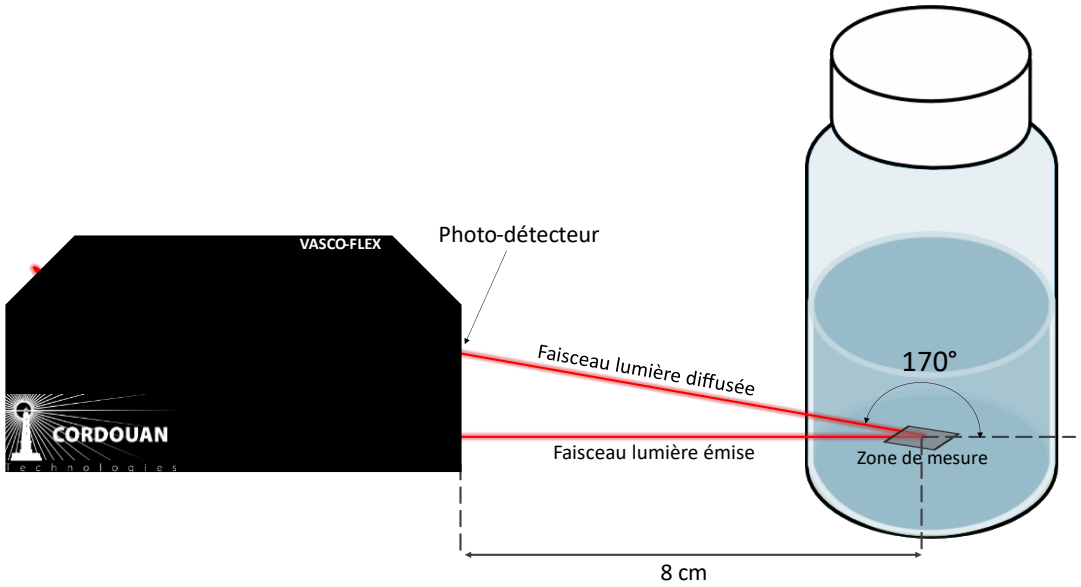

Figure 2-2 : Schéma de fonctionnement de la DLS in situ de Cordouan Technologies

ii) Le détecteur convertit les fluctuations d'intensité de la lumière diffusée causées par le mouvement brownien des particules en signal électronique qui est ensuite traité numériquement par une carte électronique dédiée (l'autocorrélateur), pour générer une fonction d'autocorrélation en intensité. La vitesse de déplacement des particules dépend de leur taille, de la viscosité du solvant et de la température du milieu. Les grosses particules diffuseront plus lentement que les petites. Les fluctuations d'intensité seront d'autant plus lentes que les particules sont grosses.

iii) Trois algorithmes mathématiques peuvent alors être utilisés pour obtenir la distribution en taille de l'échantillon (Figure 2-3).

Le premier, « Padé-Laplace », utilise l'hypothèse qu'il y a un nombre fini de tailles différentes dans l'échantillon, il est adapté pour un système multimodal et monodisperse.

Le second, « cumulant », considère qu'il n'y a qu'une seule population dans l'échantillon respectant une distribution gaussienne, il est adapté pour un système monomodal et polydisperse.

Le troisième, « Sparse Bayesian Learning (SBL) », est utilisé pour des distributions multimodales et polydisperses.

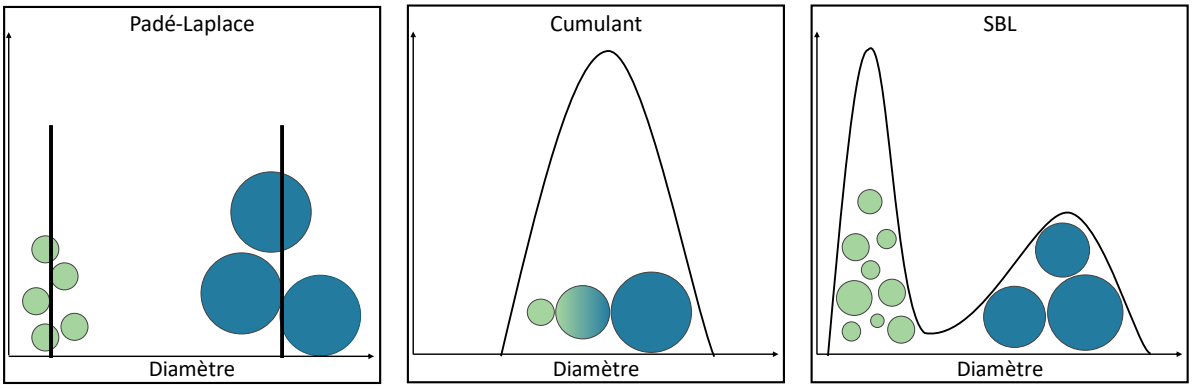

Figure 2-3 : Comparaison des différents algorithmes de calcul (Padé-Laplace, cumulant et SBL) du diamètre hydrodynamique en DLS en fonction du type d'échantillon

Une mesure par DLS nécessite de paramétrer la puissance du laser, le nombre et la durée d'acquisitions qui permettront de tracer la courbe d'autocorrélation. Ces paramètres dépendent de la taille et de la concentration de l'échantillon. Pour déterminer les bonnes conditions de mesure, nous avons dans un premier temps étudié différents paramètres d'acquisition :

- 10 acquisitions de 2min ;
- 10 acquisitions de 1min ;
- 5 acquisitions de 2 min ;
- 5 acquisitions de 1min.

Ces paramètres permettent de convertir les fluctuations d'intensité mesurées par le photodétecteur en une courbe d'autocorrélation. Nous avons travaillé avec l'algorithme des cumulants, car l'échantillon utilisé pour cette étape est un nanoplastique modèle sphérique, monomodal et monodisperse (PSAA56). Quatre solutions de nanoplastiques modèles à différentes concentrations (1, 50, 100 et 200 ppm) ont été analysées. La force ionique a été ajustée à 10 mmol L^{-1} par ajout de chlorure de sodium (NaCl). Les mesures ont été réalisées en duplicat. (Figure 2-4).

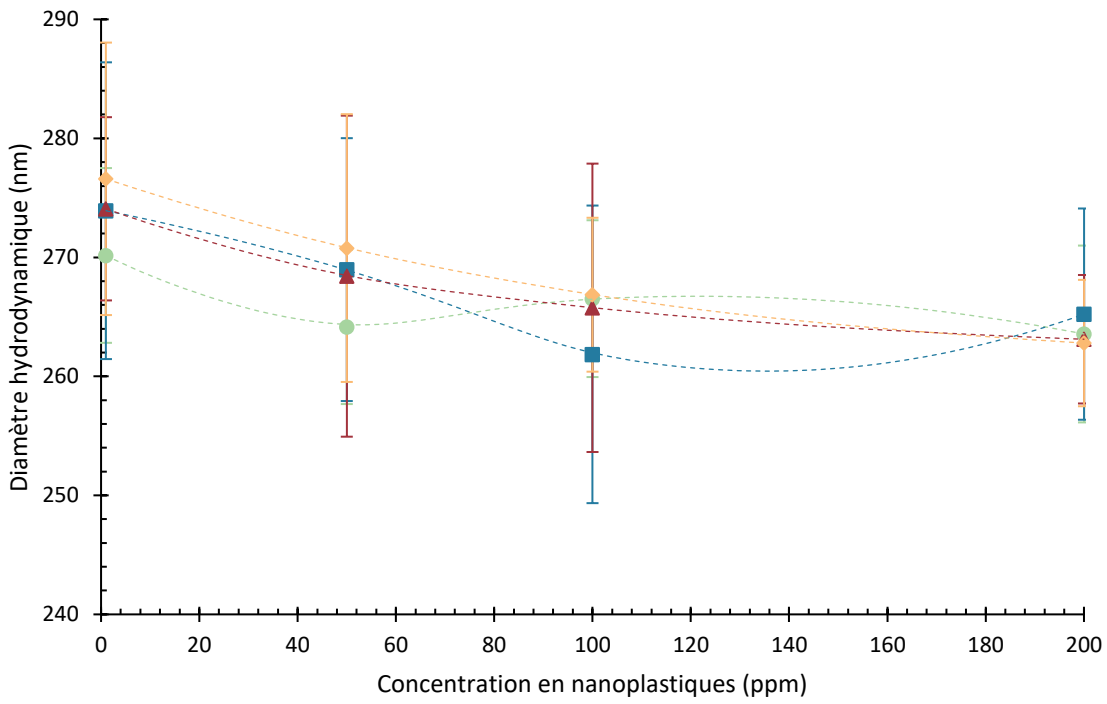

Figure 2-4 : Effet des paramètres d'acquisition et de la concentration sur les mesures de diamètres hydrodynamiques d'un échantillon de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA56) en DLS : ●10 acquisitions de 2 min, ■10 acquisitions de 1 min, ▲5 acquisitions de 2 min et ♦5 acquisitions de 1 min. Les lignes sont des guides de lecture

La Figure 2-4 montre qu'aucune des conditions testées n'a d'impact sur le diamètre hydrodynamique moyen déterminé dans la gamme de concentration 1 – 200 ppm. Cependant, il est important de noter que pour des concentrations plus élevées les mesures peuvent être faussées par le phénomène de multidiffusion. Pour le limiter, il est important de placer la zone d'analyse proche de la paroi afin de réduire la probabilité que le rayon diffusé rencontre d'autres particules avant d'arriver au détecteur.

Pour toutes les conditions, la précision des mesures est inférieure à 5 % (Tableau 2-1).

Tableau 2-1 : Précision de la mesure du diamètre hydrodynamique d'un échantillon de nanoplastiques sphériques monodisperses (PSAA2) en DLS : 10 acquisitions de 2 min, 10 acquisitions de 1 min, 5 acquisitions de 2 min et 5 acquisitions de 1 min.

Concentration (ppm)	Acquisitions (Nombre d'acquisitions x temps d'acquisition):			
	10 x 2 min	10 x 1 min	5 x 2 min	5 x 1 min
1	2.7 %	4.6 %	2.8 %	4.1 %
50	2.5 %	4.1 %	5.0 %	4.2 %
100	2.5 %	4.8 %	4.6 %	2.4 %
200	2.8 %	3.3 %	2.1 %	2.0 %

Les meilleures précisions ont été obtenues pour 5 acquisitions de 1 min à 200 ppm. Nous avons donc décidé d'utiliser ces paramètres pour toutes les mesures de DLS dans la suite de ces travaux de thèse.

Nous avons ensuite appliqué cette méthode à deux types de nanoplastiques modèles pour comparer les trois algorithmes. Le premier est un modèle sphérique (Figure 2-5-A-B), le second est un modèle polymorphique (Figure 2-5-C-D). Dans le cas de l'échantillon sphérique, monomodal et monodisperse on peut remarquer que les trois algorithmes donnent des résultats similaires avec une précision moyenne de 6.5 %. En revanche pour l'échantillon polymorphique, les résultats sont différents et doivent être regardés en détail. L'algorithme de Padé-Laplace montre que l'échantillon est bimodal, l'algorithme SBL détaille la dispersité des deux populations et l'algorithme des cumulants montre un continuum de taille.

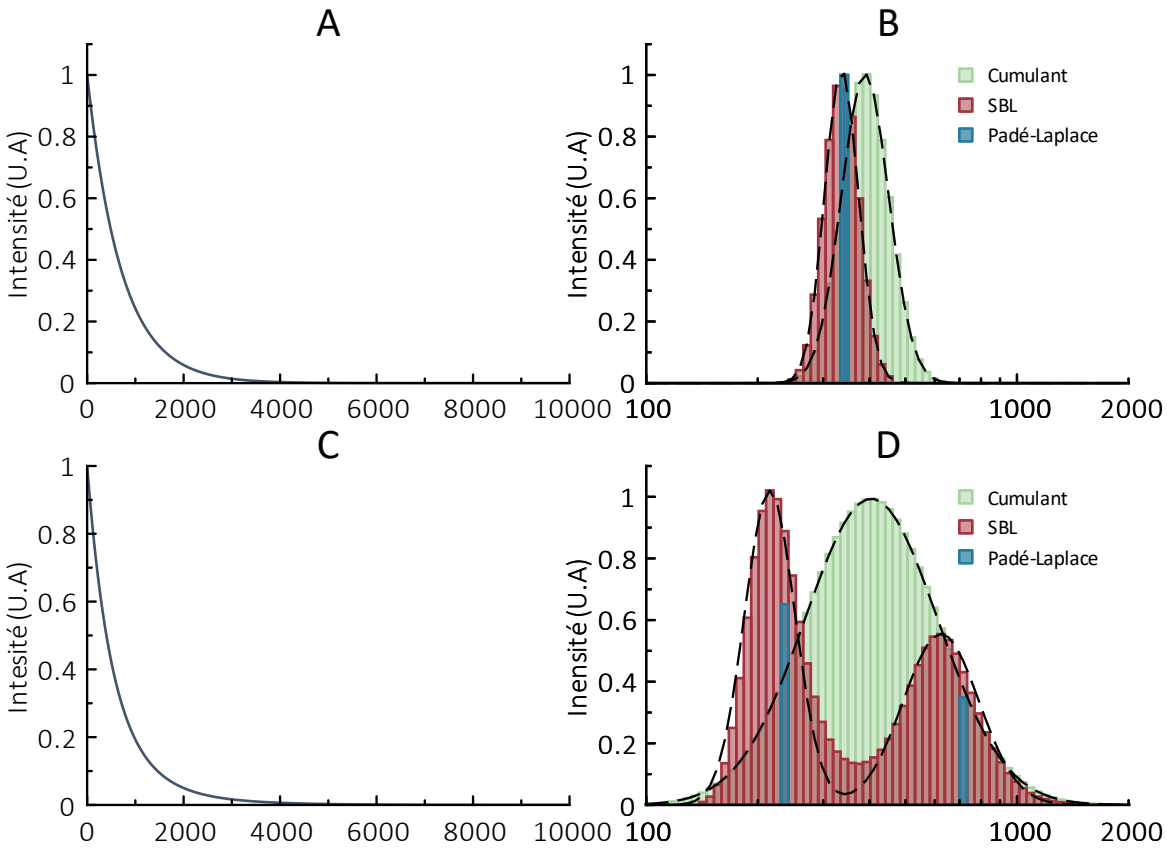

Figure 2-5 : Courbes d'autocorrélation et de distribution de tailles de deux nanoplastiques modèles. (A) courbe d'autocorrélation et (B) distribution de taille d'un modèle sphérique monodisperse ; (C) courbe d'autocorrélation et (D) distribution de taille d'un modèle polymorphique polydisperse

En DLS la polydispersité en taille de l'échantillon est représentée par l'indice de polydispersité (PDI), il représente la largeur de la distribution de taille obtenue pour l'algorithme des cumulants. Pour l'échantillon sphérique monodisperse, nous avons obtenu un PDI de 0.008 et pour l'échantillon polymorphique polydisperse de 0.09. Ces valeurs sont cohérentes avec les résultats attendus à savoir qu'un échantillon est monodisperse si le PDI est inférieur à 0.05.

Dans la suite de ces travaux et pour tous les types d'échantillons nous utiliserons l'algorithme des cumulants pour prendre en compte la polydispersité.

2.2. Fractionnement flux force couplé à la diffusion statique de la lumière (AF4-SLS)

La SLS est une technique de diffusion de lumière permettant elle aussi d'obtenir la taille d'un échantillon (Baalousha & Lead, 2007 ; Baalousha *et al.*, 2011 ; Gigault *et al.*, 2017 ; Lead & Wilkinson, 2006). La SLS couplée à une technique séparative tel que le fractionnement flux-force par flux croisés (AF4) permet d'obtenir une distribution de la taille d'un échantillon colloïdal. Cette technique repose

sur la dynamique des fluides et la loi de Fick. Elle permet de séparer les analytes d'après leurs propriétés de diffusion c'est-à-dire leur coefficient de diffusion lui-même proportionnel au diamètre hydrodynamique d'après l'équation de Stokes-Einstein (2-4, page - 81 -). L'un des avantages majeurs de l'AF4-SLS est la possibilité d'analyser des échantillons complexes. Pour cela, plusieurs formalismes peuvent être employés : les formalismes de « Zimm », « Debye » et « Berry » qui peuvent convenir pour toutes formes d'objets, le formalisme de « sphère » pour les objets sphériques et enfin le formalisme « Rodlike » pour les objets de type « bâtonnet ».

Dans ces travaux de thèse, nous avons déterminé la taille et la dispersité de nos échantillons à partir des méthodes développées par Gigault *et al.(Gigault et al., 2017)*. La méthode O est une méthode globale permettant de réaliser un balayage de l'échantillon. Elle est adaptée pour des nanoplastiques dont le diamètre est compris entre 1 et 800 nm. Elle a été utilisée pour déterminer la distribution en taille de nanoplastiques modèles sphériques et polymorphiques. Dans cette méthode, le débit de flux croisés pendant la phase de focus (F_f) est maintenu à 0.5 mL min^{-1} pendant 5 min puis décroit de manière exponentielle ($F_c = e^{-0.27t}$) pendant la phase d'élution (25 min), le débit du détecteur (F_d) est fixé à 0.5 mL min^{-1} et le débit d'injection (F_{inj}) est fixé à 0.2 mL min^{-1} (Tableau 2-6).

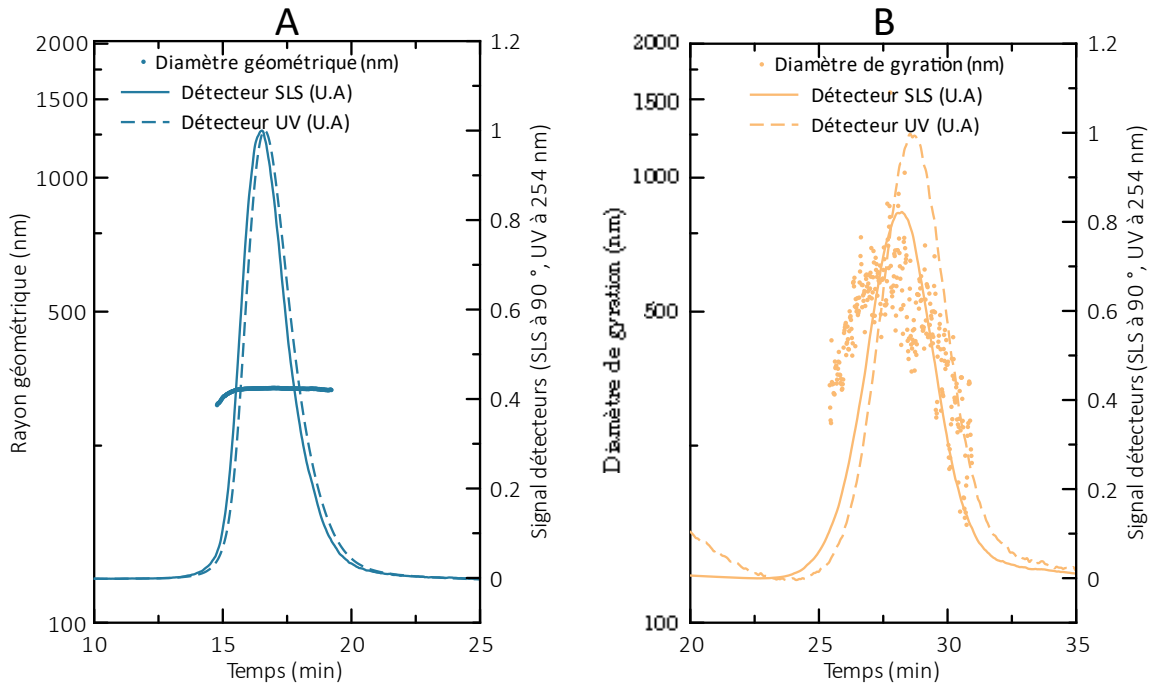

Figure 2-6 : Fractogramme type obtenu pour des nanoplastiques (A) sphériques et (B) polymorphiques par AF4-SLS avec la méthode O ($F_c = e^{-0.27t}$, F_d = 0.5 mL min^{-1} et F_{inj} = 0.2 mL min^{-1})

Les fractogrammes (Figure 2-6) obtenus permettent de déterminer la taille des nanoplastiques ainsi que leur dispersité (Đ). Le formalisme sphérique a été utilisé pour les nanoplastiques sphériques (PSAA56) et le formalisme de Berry pour les nanoplastiques polymorphiques (PS-m).

Le couplage AF4-SLS permet de déterminer la dispersité (Đ) d'un échantillon. Elle représente la distribution des diamètres hydrodynamiques des nanoplastiques au sein d'un échantillon. Đ est défini par (Slomkowski *et al.*, 2011) :

$$Đ = \frac{d_w}{d_n} \qquad 2\text{-}5$$

Avec d_w le diamètre moyen en masse défini dans l'équation 2-1 (cf. page - 81 -) et d_n le diamètre moyen en nombre défini dans l'équation 2-2 (cf. page - 81 -)

Pour les nanoplastiques modèles, nous avons obtenu une dispersité (Đ) de 1.016 et 1.451 pour les modèles sphériques monodisperses et polymorphiques polydisperses respectivement.

Cette méthode est adaptée pour la détermination de distribution en tailles d'un échantillon, quelles que soient sa morphologie (sphérique ou polymorphique) et sa dispersité. Les distributions en tailles et dispersité obtenues sont cohérentes avec les résultats attendus. Cette méthode est particulièrement intéressante pour les échantillons polymorphiques ou polydisperses, car elle présente une meilleure discrimination des tailles que la DLS. Cependant, il peut être nécessaire de faire varier et d'optimiser le débit de flux croisés pour améliorer la séparation des échantillons très complexes.

Pour les échantillons sphériques, le modèle sphérique sera utilisé tandis que pour le modèle polymorphique nous utiliserons le formalisme de Berry.

Microscopie électronique en transmission (MET)

La microscopie électronique en transmission (MET) est une technique de microscopie dans laquelle un faisceau d'électrons est transmis, grâce à un système de lentilles magnétiques, à travers un échantillon. Les interactions entre ces électrons et l'échantillon entraînent la formation d'une image. Cette image est la projection de l'échantillon étudié (Figure 2-7).

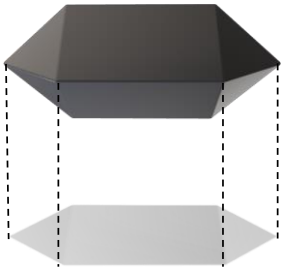

Figure 2-7 : Formation des images en microscopie électronique

Les mesures obtenues en diffusion de la lumière ont pu être complétées avec une mesure de taille *via* l'analyse statistique d'une série d'images MET. Pour chaque échantillon, 10 images ont été réalisées (Figure 2-8) puis analysées d'après le protocole mis en place par le Joint Research Center (JRC, Ispra,

Italy) basé sur une analyse automatique des images (Mech *et al.*, 2020 ; Verleysen *et al.*, 2019). Ce protocole est utilisé pour déterminer la taille et la forme de particules seules ou agrégées/agglomérées dont la taille est supérieure à 5 nm.

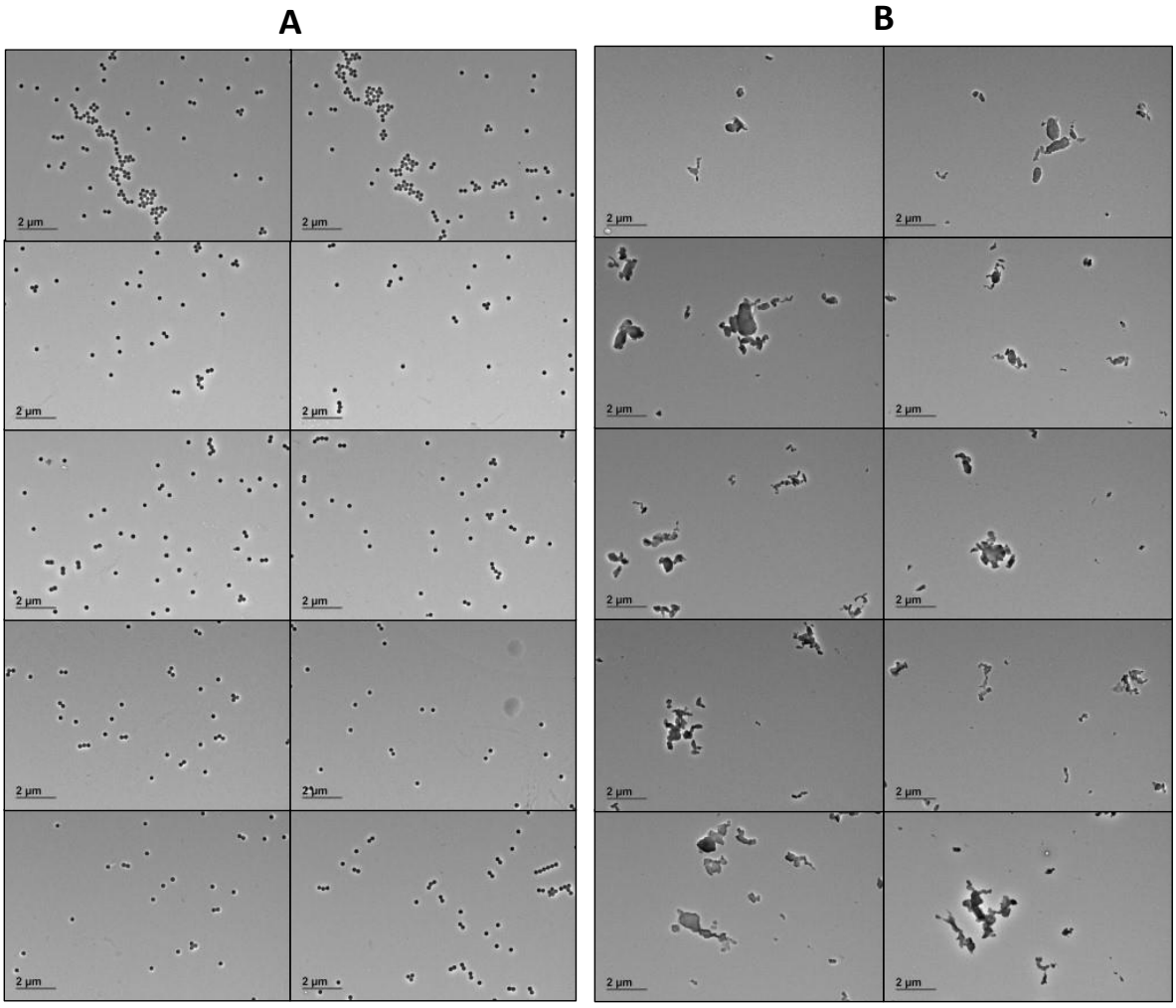

Figure 2-8 : Séries d'images obtenues en MET pour des nanoplastiques modèles (A) sphériques et (B) polymorphiques

Le traitement d'images se fait ensuite au moyen du logiciel ImageJ et du module NanoDefine (Mech *et al.*, 2020). Le protocole mis en place prévoit une procédure générale permettant de trouver les configurations appropriées (Mech *et al.*, 2020). Les paramètres à prendre en compte sont la forme des nanoplastiques ainsi que le chevauchement entre particules. Les images sont ensuite analysées automatiquement pour obtenir une distribution de taille du diamètre géométrique dans le cas de nanoplastiques sphériques et des diamètres de Féret minimaux (F_{min}) et maximaux (F_{max}) pour les nanoplastiques polymorphiques. Le diamètre de Féret correspond à la distance entre deux tangentes parallèles de côtés opposés du nanoplastique (Figure 2-9).

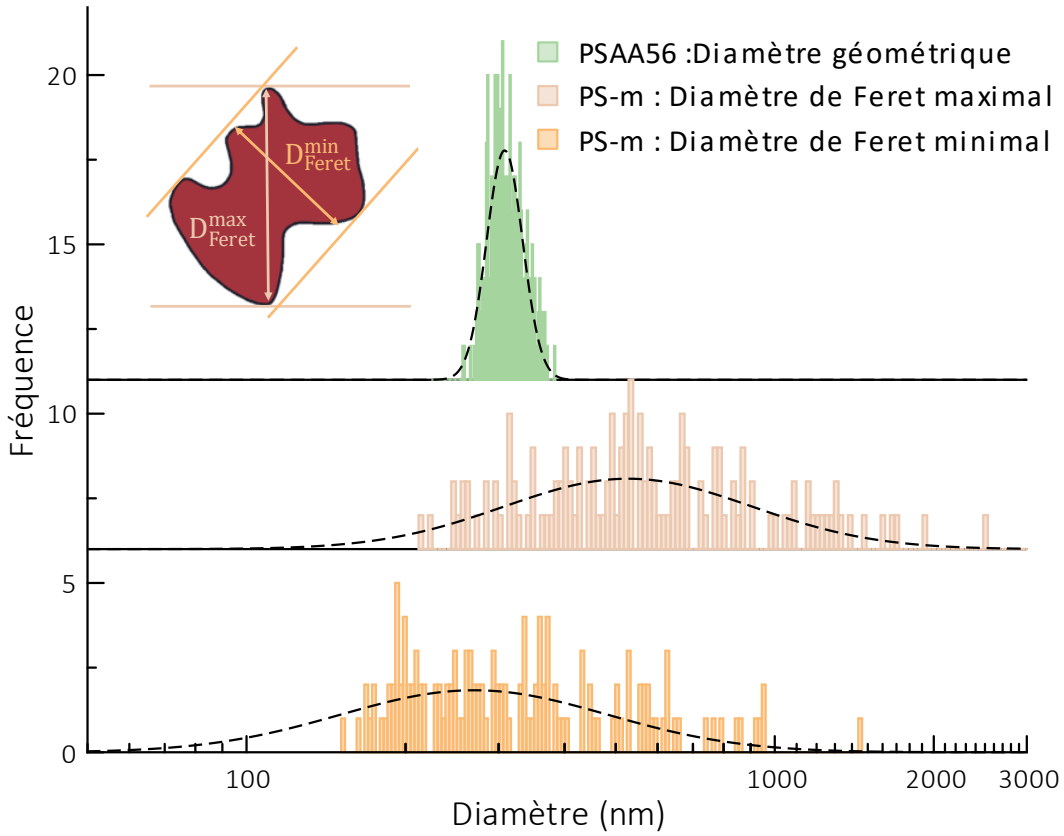

Figure 2-9 : Distribution en taille du (●) diamètre géométrique de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA56), diamètre de Féret (●) maximal et (●) minimal de nanoplastiques polymorphiques (PS-m)

Comme pour l'AF4-SLS, la microscopie MET permet de déterminer la dispersité Đ (équation 2-5, page - 88 -) d'un échantillon après le traitement statistique des données. Pour l'échantillon sphérique monodisperse, la dispersité obtenue est de 1.10 tandis que pour l'échantillon de nanoplastiques polymorphiques la dispersité est de 2.94 pour le diamètre de Féret maximal et de 2.27 pour le diamètre de Féret minimal. Ces données sont donc cohérentes avec les résultats attendus.

Dans la suite de ces travaux nous utiliserons le diamètre géométrique pour les nanoplastiques sphériques et les diamètres de Féret pour les nanoplastiques polymorphique

2.3. Comparaison des méthodes : bilan

Dans ces travaux de thèse, nous avons comparé trois méthodes de détermination de la taille de nanoplastiques modèles. La DLS présente un grand avantage pour la caractérisation du diamètre hydrodynamique de diverses particules. Elle permet non seulement de déterminer la taille moyenne d'un échantillon, mais aussi sa distribution.

Cependant, la DLS présente quelques inconvénients qui limitent son utilisation. La taille des particules en DLS est déterminée à partir des fluctuations de l'intensité de la lumière diffusée dues à

leur mouvement brownien. De ce fait, cette technique est sensible à la présence de gros nanoplastiques dans le milieu, l'intensité diffusée varie avec le diamètre à la puissance six. Par conséquent pour les systèmes polydisperses, la proportion de petites particules dans le système est sous-estimée (Lim *et al.*, 2013). De plus, les algorithmes utilisés considèrent que les nanoplastiques analysés sont sphériques, ce qui n'est pas le cas des nanoplastiques environnementaux.

Un des avantages majeurs de l'AF4-SLS par rapport à la DLS est une meilleure analyse des échantillons polydisperses. En effet, la séparation en taille des échantillons avant leur analyse en diffusion de lumière permet de caractériser toutes les tailles à leur juste valeur. De plus, contrairement à la DLS, les formalismes utilisés en SLS permettent de prendre en compte les nanoplastiques non sphériques.

La microscopie MET est la seule des trois techniques à permettre l'observation de la morphologie. Cependant, pour obtenir une bonne distribution en taille il est nécessaire d'avoir un grand nombre de nanoplastiques sur les images analysées. De plus, lors de la préparation d'échantillon, la solution de nanoplastiques est séchée sur une grille. Cette étape peut entraîner une agrégation des nanoplastiques et donc une mauvaise interprétation avec une surestimation des tailles. De plus, les images obtenues en MET sont une projection plane des nanoplastiques ce qui signifie que la taille mesurée dépendra de l'orientation de ces derniers sur la grille.

Tableau 2-2 : Comparaison des méthodes de mesure de taille (Caputo *et al.*, 2021)

Paramètres	DLS	AF4-SLS	MET
Gamme	1 – 800 nm	100 – 800 nm	>5 nm
Résolution	Faible	Haute	Très haute
Forme sphérique choisie par défaut	Oui	Dépends du formalisme	Non
Coût par échantillon	Très faible	Moyen	Haut
Expertise technique nécessaire	Faible	Moyenne	Moyenne
Complexité du traitement de données	Faible	Moyenne	Moyenne

Chacune de ces trois techniques présente des avantages et des inconvénients en termes de facilité d'utilisation, de coût instrumental, de domaine d'application et de capacité à mesurer des échantillons complexes (Tableau 2-2). Il est donc nécessaire de coupler leurs résultats pour une caractérisation plus complète de l'échantillon. Par exemple, utiliser la DLS avant une analyse AF4-SLS permet de cibler la méthode de séparation la plus adaptée. Ou encore, utiliser la microscopie MET permet d'avoir une information sur la forme et donc de choisir le formalisme le plus pertinent pour l'analyse des données SLS.

3. CARACTÉRISATION DE SURFACE

3.1. Morphologie

L'imagerie MET a initialement été utilisée pour obtenir une information sur la distribution en taille des nanoplastiques, cependant, en zoomant sur un nanoplastique il est possible d'obtenir une image de la morphologie et de l'aspect de sa surface. Comme on peut le voir dans la Figure 2-10, les nanoplastiques obtenus par synthèse en émulsion sont sphériques (lisses ou rugueux) tandis que ceux obtenus par dégradation mécanique ont une forme irrégulière, polymorphique.

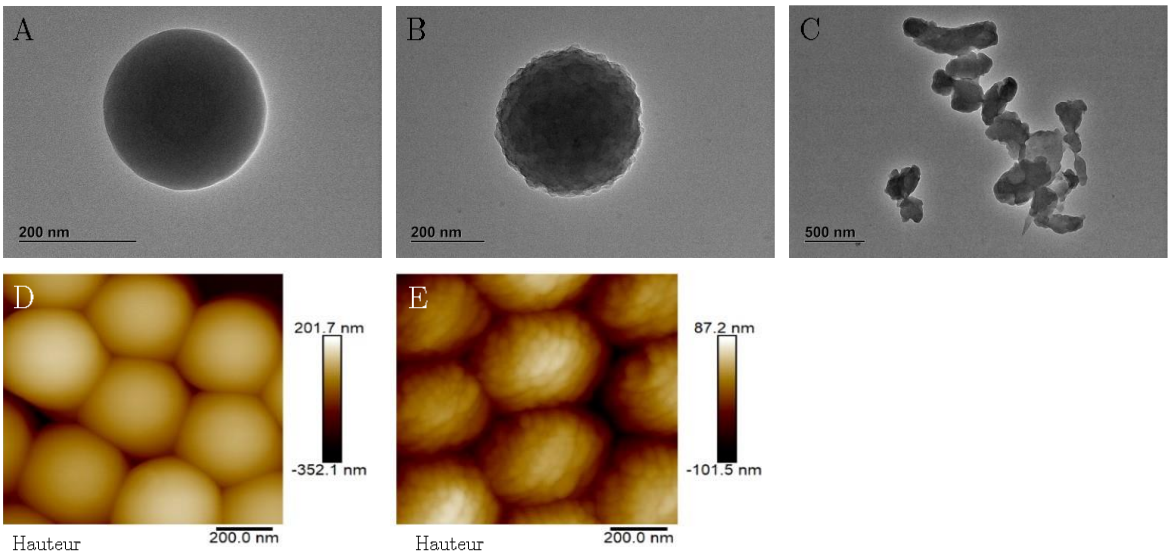

Figure 2-10 : Images MET de nanoplastiques modèles (A) sphériques de surface lisse, (B) sphériques de surface rugueuse, (C) polymorphiques et images AFM des nanoplastiques modèles (D) sphériques de surface lisse (E) sphériques de surface rugueuse

La microscopie à force atomique (AFM, atomic force microscopy) est une technique permettant de visualiser la topographie de surface d'un échantillon. Elle repose sur les interactions (attraction/répulsion) entre les atomes d'une sonde (pointe très fine) et ceux à la surface d'un échantillon (Mariano *et al.*, 2021). La pointe est fixée à l'extrémité d'un microlevier flexible pouvant se déplacer dans toutes les directions de l'espace. L'image de l'échantillon est ensuite reconstruite en traitant les informations relatives *(i)* au déplacement de la pointe sur l'échantillon et *(ii)* à la distance point par point entre l'échantillon et la pointe (Haggerty & Lenhoff, 1993). Trois modes d'interactions peuvent être utilisés :

- Mode contact : la pointe est en contact physique avec la surface à analyser. Les interactions répulsives de Van der Waals et électrostatiques sont responsables de la

flexion de la pointe. Cette méthode est utilisée pour les échantillons durs, qui ne seront pas endommagés par le contact avec la pointe.

- Mode sans contact : la pointe sur laquelle on applique une vibration est maintenue à une distance de quelques nanomètres de l'échantillon. Les variations de fréquence d'oscillation dues aux forces d'interactions de Van der Waals sont utilisées pour reconstruire l'image de la surface. Cette méthode est utilisée pour les matériaux mous, qui pourraient être endommagés au contact de la pointe
- Mode « tapping » : il consiste à faire vibrer le levier avec une amplitude fixe. Quand la pointe interagit avec la surface, la fréquence de résonance change entraînant une diminution de l'amplitude. L'image est obtenue en analysant les changements d'amplitude de la pointe. C'est le mode le plus utilisé.

Dans ces travaux nous avons travaillé en mode « tapping » pour étudier la surface des nanoplastiques modèles sphériques. Comme avec l'imagerie MET nous pouvons observer les rugosités à la surface du nanoplastique modèle de type framboise (**Figure 2-10**).

3.2. Charges de surface

Les nanoplastiques modèles sphériques utilisés ont été synthétisés par polymérisation en émulsion. En modifiant les paramètres de synthèse, nous avons pu obtenir des nanoplastiques avec différentes valeurs de charges de surface (*cf.* chapitre 3). Les nanoplastiques ont été synthétisés avec des groupements carboxyliques à leur surface afin d'imiter les nanoplastiques vieillis dans l'environnement. Sous l'effet du pH ces groupements peuvent être déprotonés. En milieu naturel, la photo-oxydation des nanoplastiques par les rayons UV entraîne la formation de groupements carboxyliques (COOH) et carboxylates (COO^-) à la surface (Sorasan *et al.*, 2021). Nous avons utilisé deux méthodes pour étudier la charge de surface des nanoplastiques. La première consiste à mesurer par titration pH-métrique, la fonctionnalité des nanoplastiques modèles, c'est-à-dire le nombre de groupements carboxyliques (COOH), à leur surface. La deuxième méthode est la mesure du potentiel zêta. Ce dernier représente la charge électrique, d'une particule en dispersion ou d'une macromolécule en solution, créée par les ions qui l'entourent. Le potentiel zêta a été déterminé en mesurant la mobilité électrophorétique des nanoplastiques par zêtamétrie et « electrical flow-field flow fractionation » (EAF4).

3.2.1. Titration pH-métrique

Un titrage en retour est utilisé pour déterminer le nombre de groupements COOH. Un exemple de courbe est donné sur la Figure 2-11. La courbe décroit lors de l'ajout d'acide. Deux sauts de pH sont présents, le premier correspond à l'excès de soude ajouté et le second aux fonctions carboxyliques présentent à la surface des nanoplastiques modèles. La dérivée de la courbe permet d'obtenir les volumes équivalents. La concentration COOH mesurable à la surface des nanoplastiques est exprimée en quantité de matière de COOH par gramme de nanoplastique (µmol g^{-1}) ou en nombre de molécules par surface développée par les nanoplastiques (COOH/nm²).

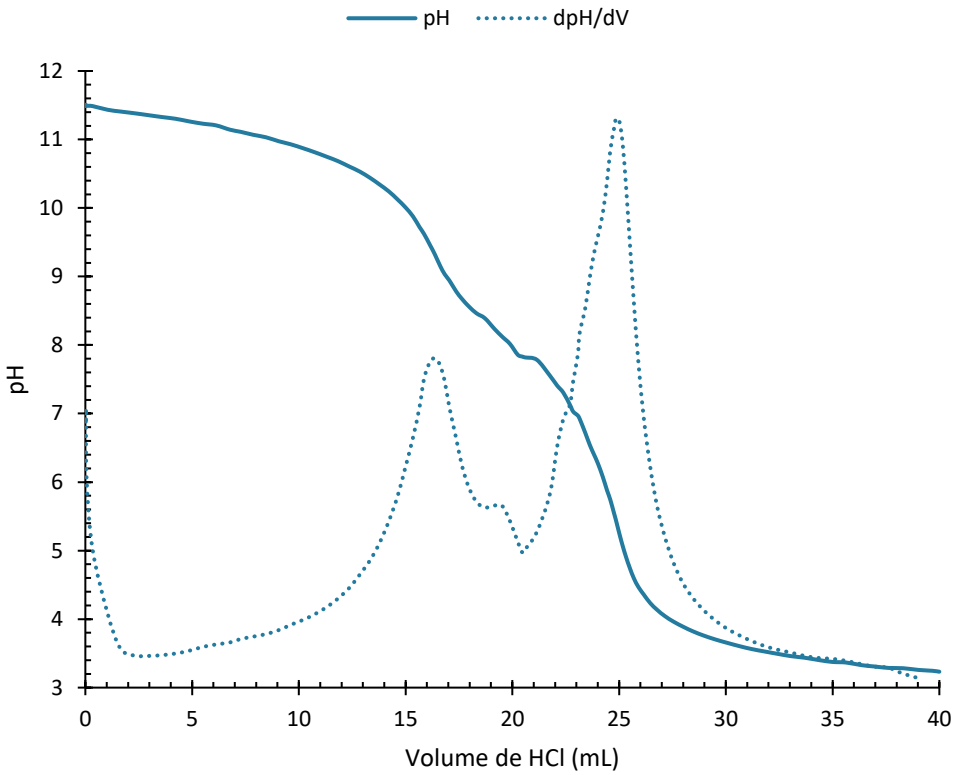

Figure 2-11 : Courbe de titrage des groupements COOH à la surface du PSAA56

Nous avons analysé trois types de nanoplastiques modèles (sphériques lisses, sphériques rugueux et polymorphiques). Les deux nanoplastiques modèles sphériques lisses (PSAA2 et PSAA7) présentent respectivement 80 et 90 µmol g^{-1} soit 2 et 7 COOH/nm², les deux modèles rugueux (PSAA36 et PSAA56) présentent respectivement 920 et 1700 µmol g^{-1} soit 36 et 56 COOH/nm². Enfin le modèle polymorphique (PS-m) présente 390 µmol g^{-1} ; du fait de sa polydispersité nous ne pouvons exprimer la fonctionnalité en fonction de la surface.

Il est important de mentionner que pour obtenir deux sauts de pH distincts avec un titrateur classique, il est nécessaire d'avoir des quantités élevées de nanoplastiques. Dans ces travaux de thèse, nous avons travaillé avec 20 mg de nanoplastiques dans une solution de 10 mL (2000 ppm). Ces limites de détection sont trop élevées pour que cette méthode puisse être appliquée à des échantillons de nanoplastiques environnementaux. Dans l'environnement, les concentrations de nanoplastiques attendues sont de l'ordre du ppt (Lenz *et al.*, 2016).

3.2.2. Zêtamétrie

3.2.2.1. Qu'est-ce que le potentiel zêta ?

Le potentiel zêta (ζ) d'un nanoplastique en milieu dispersé représente la charge électrique due aux ions qui l'entourent. Prenons l'exemple d'un nanoplastique chargé négativement (Figure 2-12). La couche de liquide l'entourant est appelée double couche électronique. Elle comprend une région proche (couche de Stern) où les ions sont fortement liés à la surface et une région externe (couche diffuse) où les ions sont moins fortement associés à la particule (Delgado *et al.*, 2005 ; O'Brien & White, 1978). Les ions au sein de la couche diffuse peuvent se comporter de deux manières lors du mouvement du nanoplastique sous l'effet d'un champ électrique : soit ces ions sont proches de la couche de Stern et se déplacent avec le nanoplastique, soit ils en sont éloignés et migrent séparément dans le milieu (Lowry *et al.*, 2016). La frontière imaginaire entre les deux est appelée le plan de cisaillement, c'est l'interface où les nanoplastiques peuvent interagirent entre eux ou avec d'autres surfaces. Le potentiel zêta est le potentiel électrostatique sur le plan de cisaillement.

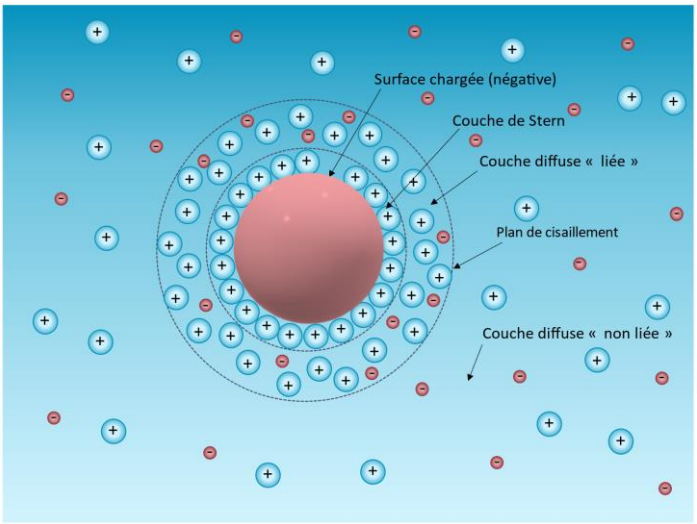

Figure 2-12 : Représentation de la double couche électronique adapté de Mainard *et al. (Mainard & Jacob, 2016).*

Le potentiel zêta est difficile à mesurer directement, la voie classique consiste à le calculer à partir de la mesure de la mobilité électrophorétique (μ_e). La mobilité électrophorétique est la capacité d'une particule chargée à se déplacer dans un milieu lors de l'application d'un champ électrique.

Pour réaliser une mesure de potentiel zêta on applique un champ électrique E entre deux électrodes plongées dans une solution contenant les nanoplastiques. Ce champ électrique conduit à un déplacement unidirectionnel des nanoplastiques. La vitesse de déplacement des nanoplastiques est mesurée par une méthode optique basée sur la mesure du décalage de fréquence Doppler. Ce phénomène se produit lorsqu'un signal est diffusé à une fréquence fixe par un objet en mouvement et est détecté par un détecteur fixe. Le décalage en fréquence pour une solution colloïdale est généralement de l'ordre de plusieurs Hertz par rapport à la fréquence d'origine du laser (5.1014 Hz). En pratique, le faisceau du laser est séparé en deux : une partie servira de référence et l'autre est envoyée dans l'échantillon (Figure 2-13). Ces deux faisceaux sont ensuite réceptionnés et analysés par le détecteur pour donner le décalage de fréquence Doppler (f_D).

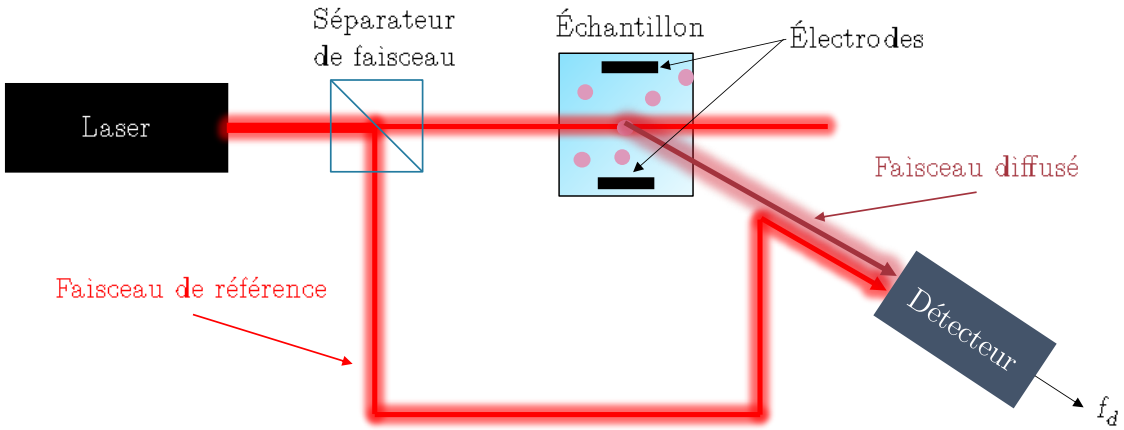

Figure 2-13 : Principe simplifié d'une mesure de potentiel zêta, représentation adaptée de Cordouan Technologies)

La mobilité électrophorétique (μ_e) peut ensuite être calculée :

$$\mu_e = \frac{\lambda}{E \sin \theta_d} f_d \qquad 2\text{-}6$$

Avec, λ la longueur d'onde du rayon incident (m), E, le champ électrique appliqué (V m^{-1}), θ_d l'angle du détecteur (17°) et f_d le décalage de fréquence Doppler (s^{-1}).

Le potentiel zêta est proportionnel à la mobilité électrophorétique et est calculé de la manière suivante :

$$\zeta = \mu_e \frac{\eta}{\varepsilon} f(\kappa\alpha) \qquad 2\text{-}7$$

Avec, μ_e la mobilité électrophorétique (m^2 s^{-1} V^{-1}), η la viscosité du solvant (kg m^{-1} s^{-1}), ε la constante diélectrique du solvant (kg m V^{-2} s^{-1}) et $f(\kappa\alpha)$ la fonction de Henry (sans unité). κ^{-1} est la longueur de Debye correspondant à la taille de la couche chargée qui entoure le nanoplastique et α est son rayon physique (Figure 2-14).

En limitant la fonction de Henry aux deux paramètres κ^{-1} et α, les effets de forme sont négligés, ce qui est une hypothèse réaliste pour les surfaces dures. La longueur de Debye dépend du solvant ce qui signifie que la fonction de Henry est dépendante elle aussi du solvant.

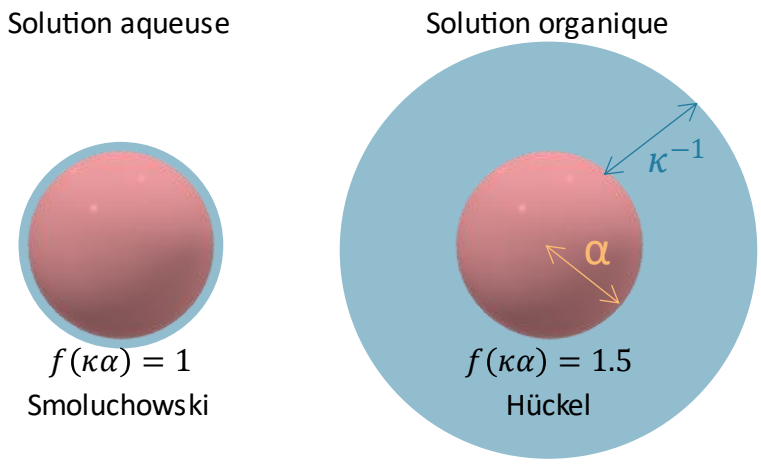

Figure 2-14 : Approximation de la fonction de Henry, représentation adaptée de Cordouan Technologies

La fonction de Henry varie entre 1 et 1.5 selon le milieu. En pratique, il existe deux situations correspondant à la majorité des cas expérimentaux réels (Figure 2-14). Dans le premier cas, l'approximation de Smoluchowski, la fonction de Henry est égale à 1 ce qui correspond à une longueur de Debye plus petite que le rayon physique de la particule. Ce cas décrit ce qui se passe en milieu aqueux. En raison de la forte polarisabilité des molécules d'eau, peu seront nécessaires pour écranter le potentiel des particules, ainsi, la couche environnante sera petite. Dans le deuxième cas, l'approximation de Hückel, la fonction de Henry est égale à 1.5 ce qui représente une longueur de Debye supérieure au rayon physique. Cette approximation est adaptée aux solvants organiques. En raison de la faible polarisabilité des molécules organiques, un grand nombre de molécules seront nécessaires pour écranter le potentiel de la particule, la couche environnante sera donc grande.

3.2.2.2. Mesure de potentiel zêta par zêtamétrie

Dans ces travaux de thèse, nous avons choisi d'utiliser le potentiel zêta comme outil semi-quantitatif de la charge de surface et de la stabilité des modèles développés. Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet de la concentration en nanoplastiques et du pH du milieu sur le potentiel zêta d'un échantillon de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA56).

Les mesures de potentiel zêta ont été réalisées à quatre concentrations, les paramètres sont détaillés dans le paragraphe 5.2.2 (page - 115 -). La Figure 2-15 ne montre pas de tendance entre la concentration et la valeur de potentiel zêta.

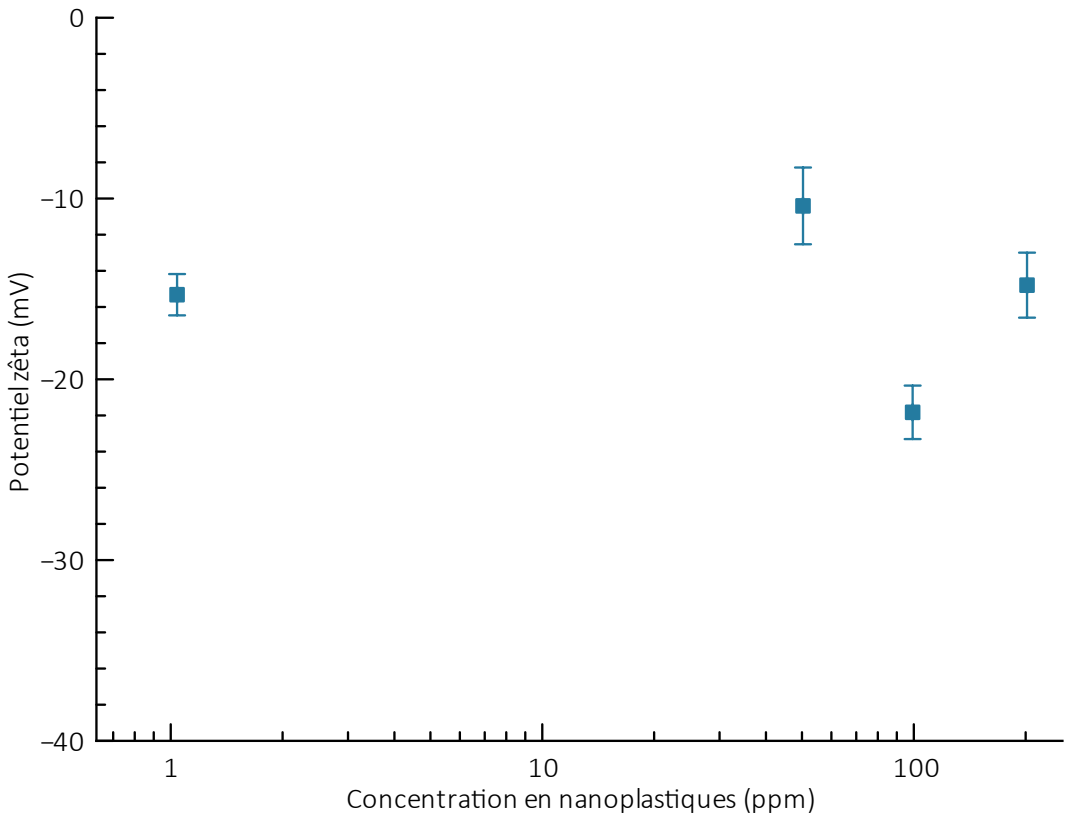

Figure 2-15 : Influence de la concentration sur les valeurs de potentiel zêta (ζ) pour un nanoplastique modèle sphérique (PSAA56) avec [NaCl] = 10 mmol L^{-1} et pH naturel (5.5 – 6.5)

Nous avons ensuite étudié l'impact de la force ionique sur les mesures du potentiel zêta (Figure 2-16). On peut remarquer qu'une augmentation de la force ionique conduit à une diminution du potentiel zêta. Au-dessus de 10 mmol L^{-1}, la surface des nanoplastiques est écrantée par les ions présents en solution, ce qui explique la diminution du potentiel zêta.

Dans la suite de ces travaux, nous avons choisi de travailler à une force ionique de 10 mmol L^{-1} pour mesurer le potentiel zêta.

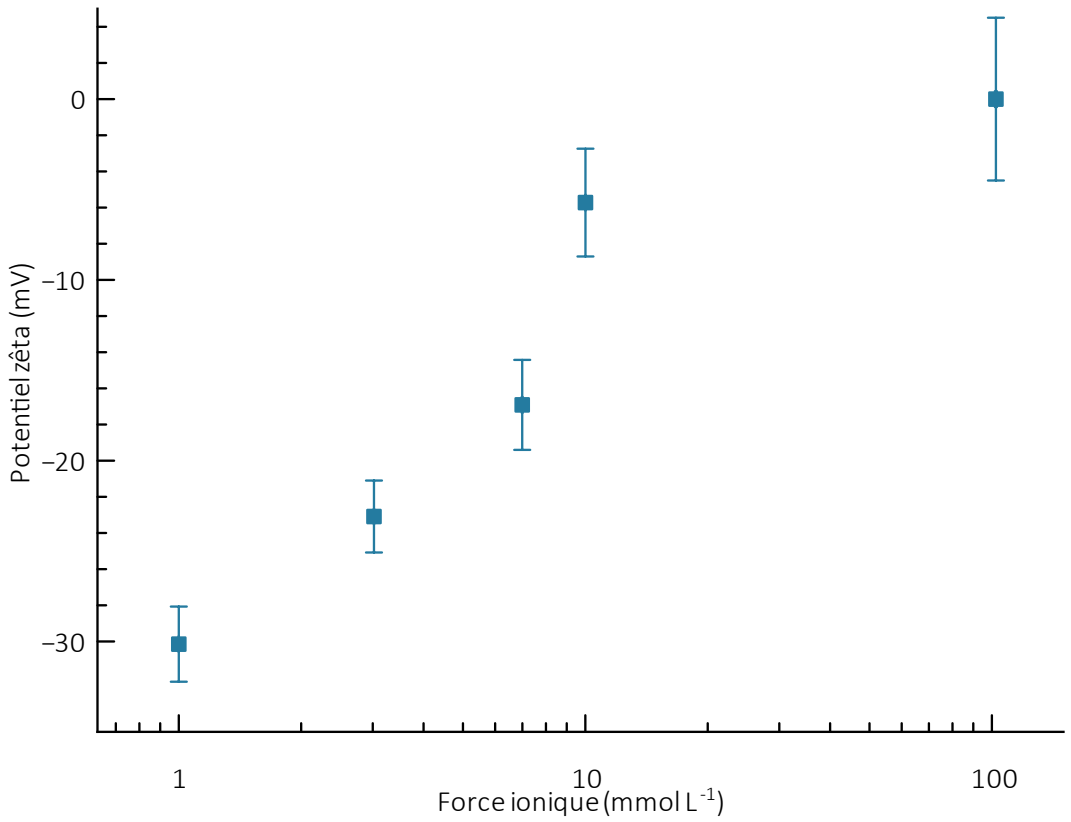

Figure 2-16 : Influence de la force ionique sur les mesures du potentiel zêta (ζ) pour un nanoplastique modèle sphérique (PSAA56)

Le pH initial des solutions était compris entre 5.5 et 6.5. L'influence du pH sur le potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique (PSAA56) est présentée Figure 2-17. On peut remarquer qu'une augmentation de pH = 3 à pH ≈ 6 entraîne une augmentation du potentiel zêta. Ce comportement est probablement dû à la déprotonation de la surface des nanoplastiques par la soude entraînant plus de répulsions électrostatiques. Au-dessus de pH ≈ 6 le potentiel zêta semble avoir atteint un plateau ce qui pourrait s'expliquer par une déprotonation maximale de la surface des nanoplastiques conduisant à un équilibre entre les forces attractives et répulsives.

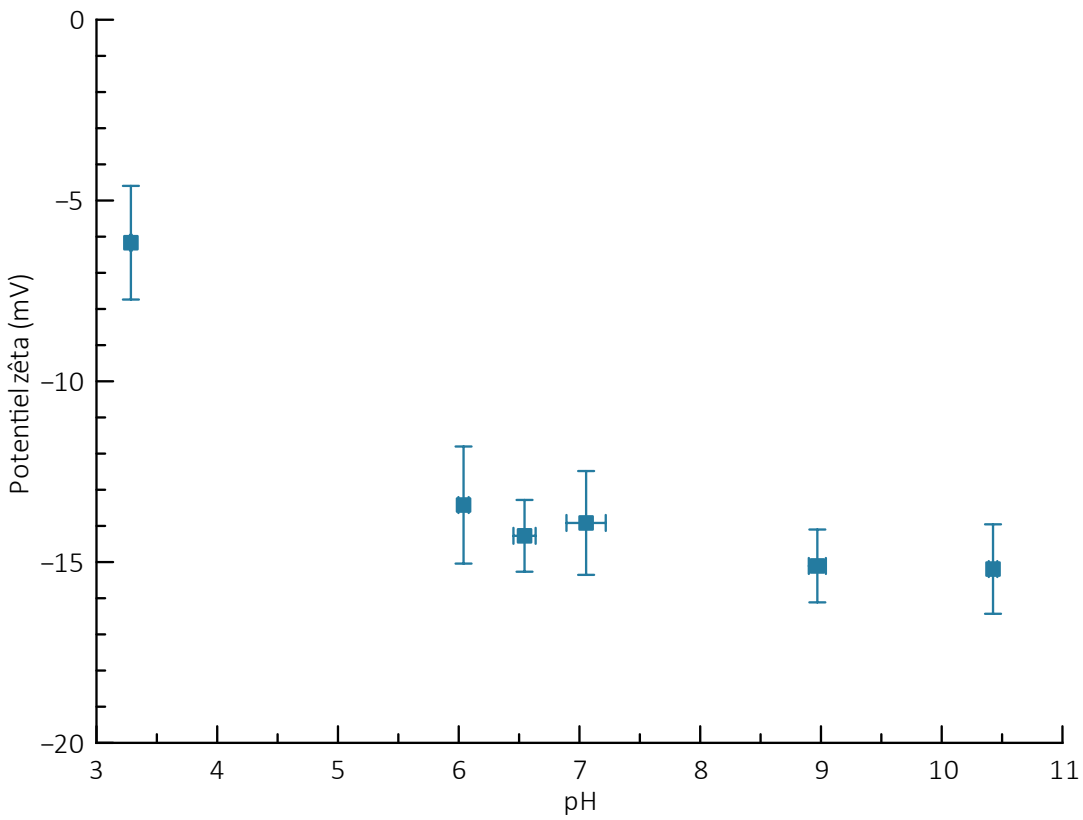

Figure 2-17 : Influence du pH de la solution sur une mesure de potentiel zêta d'un nanoplastique modèle sphérique (PSAA56) à force ionique constante (10 mmol L^{-1})

La mesure de potentiel zêta est très dépendante du milieu dans lequel elle est réalisée et notamment de la force ionique et du pH du solvant (Tableau 2-3).

Tableau 2-3 : Mobilité électrophorétique (μ_e) et potentiel zêta (ζ) d'un nanoplastique modèle sphérique (PSAA56) par zêtamétrie dans différents milieux : composition, force ionique (FI) et pH.

Composition / FI (pH)	μ_e 10^{-8} (m^2 s^{-1} V^1)	ζ (mV)
$NaNO_3$ / 0.5 mmol L^{-1} (pH = 6.5)	-4.0 ± 0.2	-39 ± 3
NaCl / 10 mmol L^{-1} (pH = 6.5)	-0.5 ± 0.1	-5 ± 3
PB / 10 mmol L^{-1} (pH = 7)	-1.1 ± 0.2	-15 ± 2

Pour la suite de nos travaux, nous avons choisi de travailler dans une solution tampon phosphate (PB) à une force ionique de 10 mmol L^{-1} et un pH égal à 7.

3.2.3. Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation (EAF4)

3.2.3.1. Principe de l'EAF4

« Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation » (EAF4) est une sous-technique de l'AF4 décrite pour la première fois en 2015 par Johann *et al. (Johann et al., 2015)*. Il s'agit d'une association entre l'«asymmetrical flow-field-flow fractionation » (AF4) et l' « electrical field-flow fractionation »(ElFFF). En AF4 classique les analytes sont entraînés par une phase mobile et la séparation se fait grâce à un flux appliqué perpendiculairement au canal dans lequel s'effectue la séparation. Le fractionnement se déroule en plusieurs étapes :

i) Étape d'injection et Focus : L'échantillon est introduit dans le canal *via* un injecteur et s'ajoute au flux de la phase mobile. Pour éviter la dispersion des analytes dans le canal lors de l'injection, l'appareil est placé en mode « focus ». Pour cela un flux axial de phase mobile est opposé à un flux venant en sens inverse et de débit plus fort. Cette étape permet de préconcentrer l'échantillon en tête de canal sur une ligne appelée la ligne de focus (Figure 2-18).

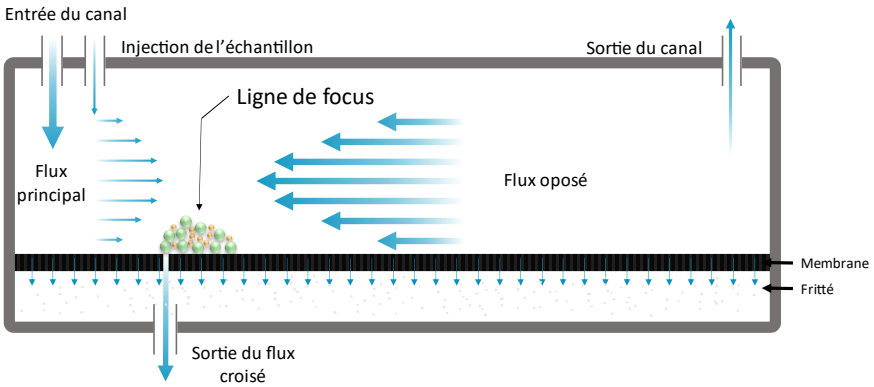

Figure 2-18 : Étape d'injection et de focus en AF4 classique

ii) Étape de focus et relaxation : après l'injection et durant un temps plus ou moins long suivant le type et la quantité d'échantillons introduits (entre quelques minutes et quelques dizaines de minutes) la position « focus » est maintenue. Cette étape permet aux analytes de trouver leur position d'équilibre dans l'épaisseur du canal en fonction du flux croisé et de leur capacité de diffusion. Elle a lieu au niveau de la ligne de focus.

iii) Étape d'élution : Le flux opposé à la phase mobile est stoppé. L'élution de l'échantillon commence. Le flux croisé est maintenu de manière à conserver la répartition des analytes dans l'épaisseur du canal.

L'association entre l'AF4 et l'ElFFF (Figure 2-19) permet une séparation en fonction à la fois du coefficient de diffusion (basée sur l'AF4) et, dans une certaine mesure, de la charge de surface des analytes (basée sur l'ElFFF). Dans notre cas, cette méthode devrait permettre la séparation de nanoplastiques en fonction de leur oxydation et donc de leur vieillissement pour les échantillons environnementaux à venir.

L'EAF4 permet aussi de mesurer la mobilité électrophorétique des particules en fonction de leur taille. Elle est déterminée à partir du temps de rétention mesuré si le coefficient de diffusion ou la taille hydrodynamique sont connus (Gale *et al.*, 2001).

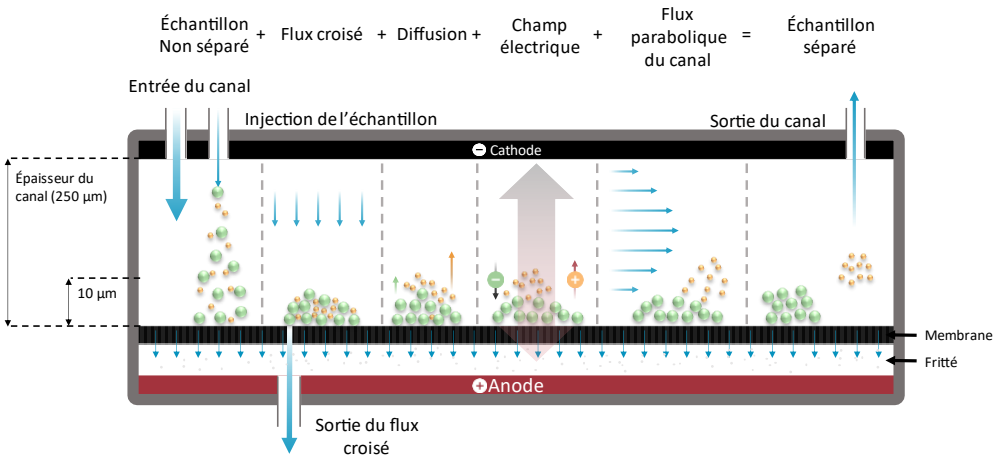

Figure 2-19 : Schéma de principe de l'EAF4 adapté de Wyatt Technology

Pour déterminer la mobilité électrophorétique, une méthode d'AF4 modifiée est utilisée en ajoutant un champ électrique constant pendant la phase d'élution. En AF4 classique, le temps de rétention dépend de la vitesse de déplacement des particules au niveau de la paroi d'accumulation, c'est-à-dire de la membrane. La rétention est provoquée par un écoulement perpendiculaire à travers la paroi inférieure. Le temps de rétention des particules (t_R) est donné par :

$$t_R = \frac{w^2}{6D} \ln\left(1 + \frac{f F_c}{F_d}\right) \qquad 2\text{-}8$$

Avec, f le rapport de la surface du canal en aval de la ligne de focus à la surface totale du canal (sans unité), w l'épaisseur du canal (m) , D le coefficient de diffusion des particules ($m^2\ s^{-1}$), F_c le débit du flux croisé ($m^3\ s^{-1}$) et F_d le débit du détecteur ($m^3\ s^{-1}$).

Cette équation suppose que les débits sont constants dans le temps. L'épaisseur du canal est déterminée en mesurant le temps de rétention d'un échantillon avec un coefficient de diffusion connu

à l'aide de l'équation 2-8. Le coefficient de diffusion doit se rapporter aux mêmes conditions de température et dans la même solution que celles utilisées dans l'expérience.

La mobilité électrophorétique (μ_e) est définie par :

$$\mu_e = \frac{v_{EP}}{E} \qquad 2\text{-}9$$

Avec, v_{EP} la vitesse de déplacement des particules soumises au champ électrique dans un milieu donné (m s^{-1}) et E la force du champ électrique (V m^{-1}).

L'intensité du champ électrique E est proportionnelle à la chute de tension V entre les bornes et est donnée par :

$$E = \frac{I}{A_{el}k} \qquad 2\text{-}10$$

Avec I est le courant électrique (A), A_{el} l'aire des électrodes qui dans ces travaux est équivalent à la surface de la membrane (m²) et k est la conductivité spécifique du solvant (S m^{-1}).

Pendant l'expérience, le courant *I* est maintenu constant lors de la phase d'élution et *k* est mesuré. La vitesse de déplacement des particules dans l'échantillon v est définie telle que :

$$v = v_{EP} + v_c \qquad 2\text{-}11$$

Avec, v_{EP} la vitesse de déplacement induite par le champ électrique (m s^{-1}) et v_c celle induite par le flux croisé (m s^{-1}).

La vitesse de déplacement induite par le flux croisé est donnée par :

$$v_c = \frac{F_c}{A_{el}} \qquad 2\text{-}12$$

Avec, F_c le débit du flux croisé (m^3 s^{-1}) et A_{el} l'air des électrodes (m²).

En EAF4, v_c est connue à partir du débit de flux croisé *et* v_{EP} est obtenue à partir du temps de rétention mesuré. Ainsi, v_{EP} peut être calculée à partir d'au moins deux expériences mesurant le temps de rétention à une intensité de champ électrique spécifique par rapport au temps de rétention sans champ électrique. L'équation 2-8 peut alors être utilisée pour obtenir la vitesse de déplacement induite v_{EP}:

$$v_{EP} = \left(e^{\frac{t_{Ri} \cdot \ln\left(1+\frac{f \cdot F_c}{F_d}\right)}{t_R}} - \left(1+\frac{f \cdot F_c}{F_d}\right) \right) \cdot \frac{F_d}{A_{el} \cdot f} \qquad 2\text{-}13$$

Avec, t_{Ri} le temps de rétention pour un champ électrique spécifique (min), t_R le temps de rétention sans champ électrique (min), f le rapport de la surface du canal en aval de la ligne de focus à la surface totale

du canal (sans unité), F_c le débit du flux croisé ($m^3\ s^{-1}$), F_d le débit du flux détecteur ($m^3\ s^{-1}$) et A_{el} l'aire des électrodes (m^2).

L'équation 2-13 est valide si les flux F_c et F_d sont constants. Dans ces conditions, l'évaluation de la mobilité électrophorétique (μ_e) est indépendante de l'épaisseur du canal et du coefficient de diffusion des particules.

3.2.3.2. Détermination du potentiel zêta par EAF4

Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec la plateforme Toulouse Flow-Field Flow fractionation center (TFFFC) au sein de l'école d'ingénieur de Purpan (Toulouse), laboratoire au sein duquel j'ai effectué plusieurs séjours pour l'optimisation de la méthode sur nos échantillons. Dans cette partie nous avons cherché à déterminer le potentiel zêta de quatre nanoplastiques modèles sphériques (PSAA2, PSAA7, PSAA36, PSAA56) dont la fonctionnalisation de surface est différente **(Tableau 2-4).**

Tableau 2-4 : Diamètres hydrodynamiques (D_h) et fonctionnalité de surface des nanoplastiques modèles sphériques analysés en EAF4

	D_h (nm)	Fonctionnalité de surface	
		µmol g^{-1}	[COOH] / nm^2
PSAA2	270 ± 10	80 ± 20	2
PSAA7	350 ± 20	190 ± 20	7
PSAA36	390 ± 20	920 ± 100	36
PSAA56	330 ± 20	1700 ± 20	56

Le potentiel zêta a été déterminé avec une méthode adaptée de la méthode C de Gigault *et al.* (Tableau 2-6, page - 114 -)(Gigault *et al.*, 2017). Dans la méthode que nous avons utilisée, le débit de flux croisés pendant la phase de focus (F_f) est maintenu à 1 mL min^{-1} pendant 5 min puis à 0.1 mL min^{-1} pendant 48 min (élution), le débit du détecteur (F_d) est fixé à 0.5 mL min^{-1} et le débit d'injection (F_{inj}) est fixé à 0.2 mL min^{-1}. Le dernier champ électrique est appliqué à une intensité constante comprise entre -1 et 0 mA pendant la phase d'élution. La phase mobile utilisée est du nitrate de sodium ($NaNO_3$, 0.5 mmol L^{-1}). Nous n'avons pas utilisé le PB comme dans la partie précédente, car ne voulions pas fixer le pH pour pouvoir observer une séparation en fonction de la charge de surface des nanoplastiques. De plus la force ionique est plus faible que pour les mesures de zêtamétrie pour limiter les interactions entre les nanoplastiques et la membrane.

Les fractogrammes (Figure 2-20) montrent une augmentation du temps de rétention avec l'intensité, c'est-à-dire du champ électrique E appliqué. On remarque aussi un étalement des pics et donc une diminution de leur intensité causée par une augmentation des interactions entre les nanoplastiques et la membrane.

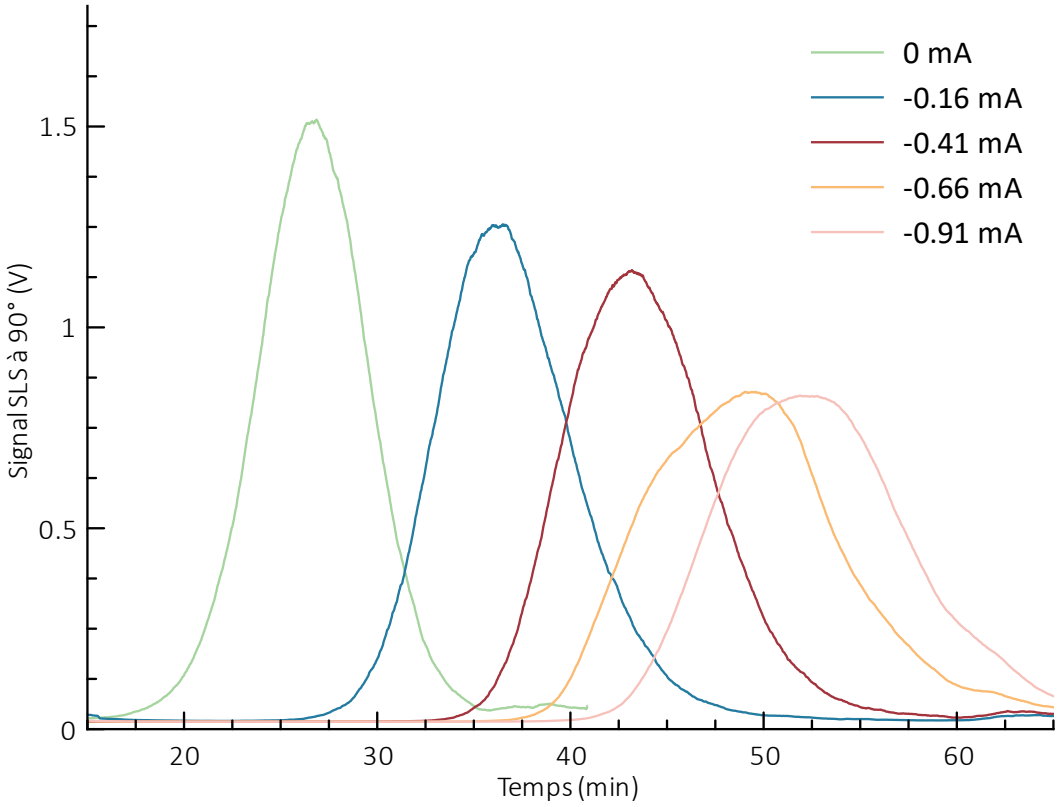

Figure 2-20 : Fractogrammes types obtenus pour un nanoplastique modèle sphérique (PSAA7) à différents courants en EAF4 (F_f = 1 mL min^{-1}, F_c = 0.1 mL min^{-1}, F_d = 0.5 mL min^{-1} et F_{inj} = 0.2 mL min^{-1}). Légende : ● 0 mA, ● -0.16 mA, ● -0.41 mA, ● -0.66 mA et ● -0.91 mA

Cependant, la Figure 2-21 montre que la consigne donnée en intensité n'est pas respectée (Figure 2-21-A). De plus, il y a une variation du potentiel électrique (Figure 2-21-B) dans le canal pour une intensité constante. Cette variation conduit à l'autoprotolyse de la phase mobile provoquant une variation du pH (Figure 2-21-C) et de la conductivité (Figure 2-21-D) dans le canal.

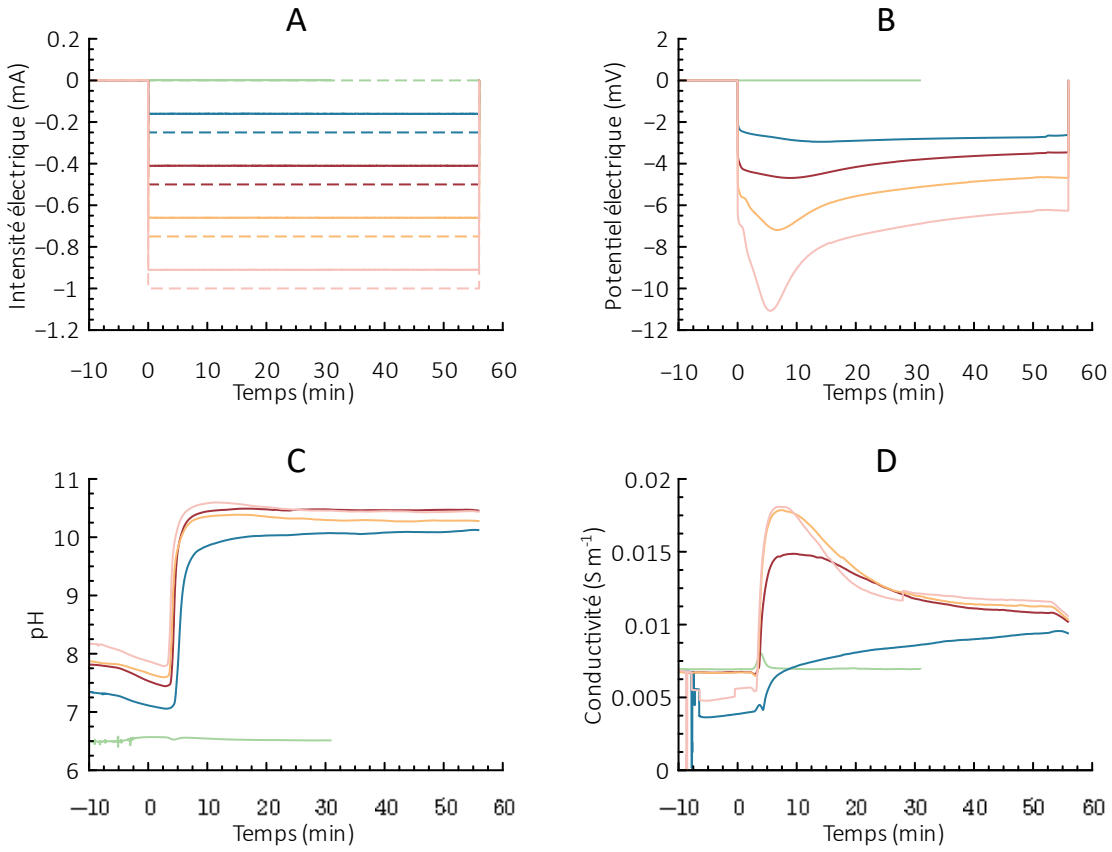

Figure 2-21 : Analyse EAF4 de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA7) : (A) Mesure de l'intensité pendant une analyse EAF4 (les lignes pointillées représentent les valeurs de consigne) ; (B) Évolution du potentiel pendant une mesure EAF4 à différentes intensités électriques ; (C) Évolution du pH pendant une mesure EAF4; et (D) évolution de la conductivité pendant une mesure EAF4 (F_f = 1 mL min^{-1}, F_c = 0.1 mL min^{-1}, F_d = 0.5 mL min^{-1} et F_{inj} = 0.2 mL min^{-1}). Légende : ● 0 mA, ● -0.16 mA, ● -0.41 mA, ● -0.66 mA et ● -0.91 mA

Comme nous l'avons vu dans l'équation 2-10, le calcul du champ électrique dépend de la conductivité, *k*. Pour les calculs suivants, nous avons choisi de considérer la conductivité de la phase mobile sans courant électrique (k = 60.8 µS cm^{-1}). La vitesse de déplacement des nanoplastiques v est ainsi calculée, suivant les équations 2-11, 2-12 et 2-13, et est reportée en fonction du champ électrique E (Figure 2-22). La pente de la droite indique la valeur de la mobilité électrophorétique.

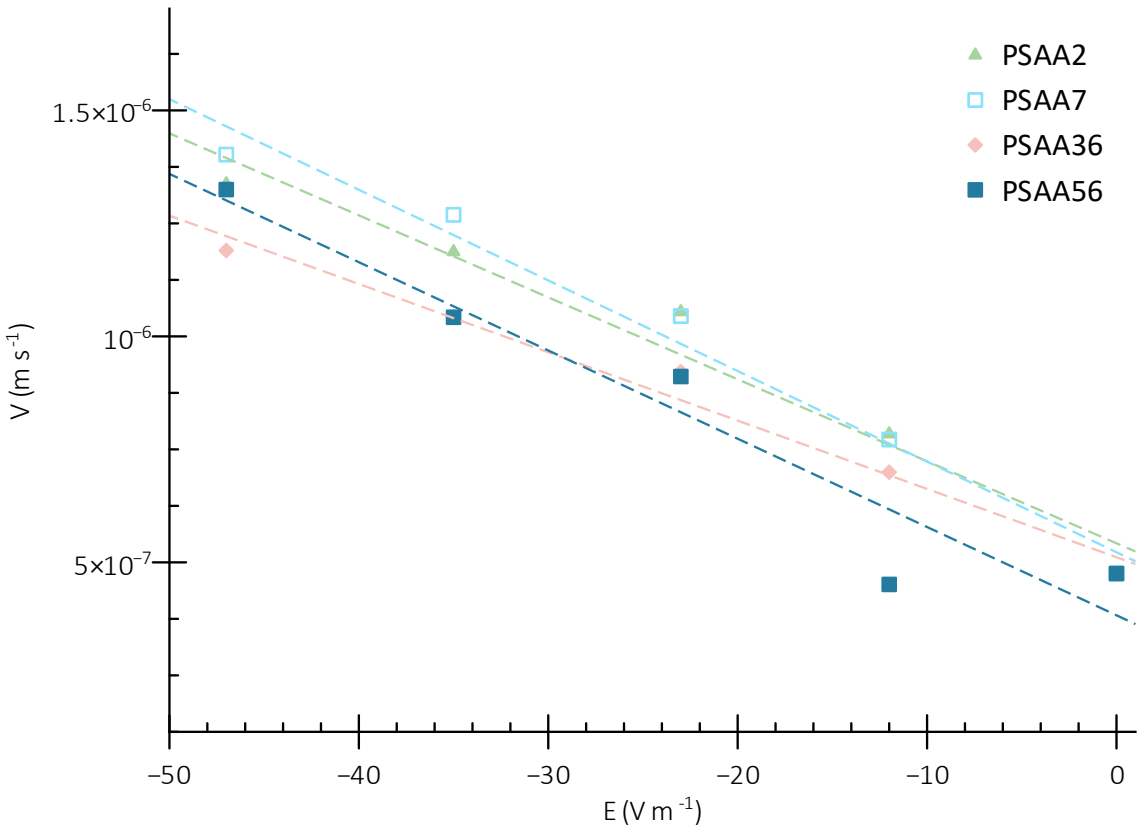

Figure 2-22 : Détermination de la mobilité électrophorétique des échantillons de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA2 ; PSAA7 ; PSAA36 et PSAA56).

Au cours de ces travaux, nous sommes parvenus à observer un déplacement du temps de rétention en fonction du courant appliqué (Figure 2-20) ce qui signifie que la vitesse de déplacement des nanoplastiques est sensible au courant appliqué. Cependant, ces variations ne sont pas suffisantes pour différencier deux nanoplastiques de charges de surface différentes. Nous avons donc utilisé les lois déterminées précédemment pour calculer la mobilité électrophorétique puis le potentiel zêta. Cependant, les valeurs de potentiels zêtas obtenus par EAF4 ne correspondent pas aux valeurs obtenues par zêtamétrie dans les mêmes conditions de force ionique (Tableau 2-5). Cet écart peut être expliqué par les modifications de surface entraînées par les modifications de pH lors l'électrolyse de la phase mobile pendant la phase d'élution.

Tableau 2-5 : Mobilité électrophorétique et potentiel zêta obtenus par EAF4 (Phase mobile : $NaNO_3$ 0.5 mmol L^{-1}) de nanoplastiques modèles sphériques (PSAA2, PSAA7, PSAA36 et PSAA56)

Échantillon	Mobilité électrophorétique ($m^2\ s^{-1}\ V^{-1}$)	Potentiel zêta (mV)
PSAA2	$-1.82\ 10^{-8}$	-23.2
PSAA7	$-1.97\ 10^{-8}$	-25.2
PSAA36	$-1.50\ 10^{-8}$	-19.2
PSAA56	$-1.95\ 10^{-8}$	-25.4

De plus, on peut voir que l'application d'un courant électrique constant n'est pas synonyme de potentiel électrique constant dans le canal (Figure 2-21). Pour limiter l'électrolyse de l'eau et les variations de potentiel nous avons décidé de fixer un potentiel inférieur à celui de l'électrolyse de l'eau, c'est-à-dire inférieur à 2 V (Figure 2-23) (Schimpf *et al.*, 2000)

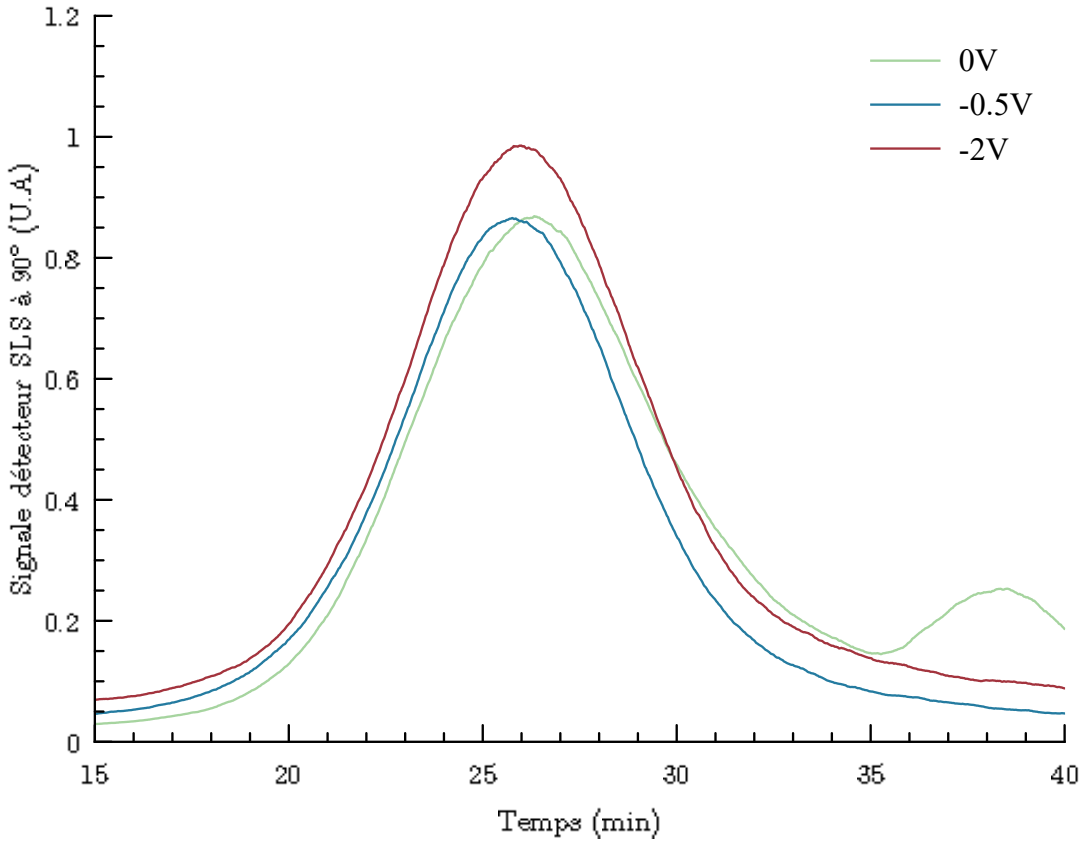

Figure 2-23 : Fractogrammes obtenus pour un nanoplastique modèle sphérique (PSAA2) en EAF4 méthode adaptée de la méthode C de Gigault *et al.* Tableau 2-6 (Gigault et al., 2017). Légende : ● 0 V, ● -0.5 V et ● -2V.

Les conditions utilisées pour limiter l'électrolyse de l'eau et donc les modifications de l'état de surface des nanoplastiques pendant la phase d'élution ne sont pas suffisantes pour observer une modification du temps de rétention sous l'effet du champ électrique (Figure 2-23). Pour observer un décalage du temps de rétention, il faudrait travailler à des intensités plus importantes. Cela implique de travailler dans un tampon pH comme préconisé par Johann *et al.* (Johann *et al.*, 2015). Cependant, dans ces conditions on perd le bénéfice de l'étude approfondie du comportement des nanoplastiques sous un champ électrique par rapport à une simple mesure de potentiel zêta.

3.3. Hydrophobie de surface

Le comportement des nanoplastiques dans l'environnement est régi par leurs propriétés de surface. Dans les parties précédentes, nous avons développé des méthodes permettant de déterminer leurs tailles, leurs morphologies et leurs charges de surface. Le dernier paramètre pouvant influencer leur devenir dans l'environnement est l'hydrophobie de surface. Généralement, elle est déterminée par une mesure d'angle de contact. Cependant, cette méthode est peu adaptée aux nanoplastiques, car elle nécessite de former un film mince par séchage, la rugosité de surface du film peut entraîner des biais d'analyse non négligeables.

Dans ces travaux, l'hydrophobie de surface a été obtenue grâce à une méthode développée en collaboration avec le Joint Research Center *(JRC)* d'Ispra (Italie) *(Desmet et al., 2017 ; Valsesia et al., 2018),* laboratoire au sein duquel j'ai effectué un séjour pour l'analyse de nos échantillons. Cette méthode étudie l'affinité des échantillons pour trois surfaces, appelées « collecteurs », dont les charges de surface et les composantes énergétiques sont différentes et connues.

Les collecteurs ont été préparés par le laboratoire du JRC par dépôt de couches successives. Le protocole expérimental et les paramètres des collecteurs sont décrits dans le paragraphe 5.3 (page-116 -). Dans ces travaux, nous avons utilisé trois collecteurs : une surface hydrophobe (T0), une surface hydrophile chargée négativement (T4) et une surface hydrophile chargée positivement (T5).

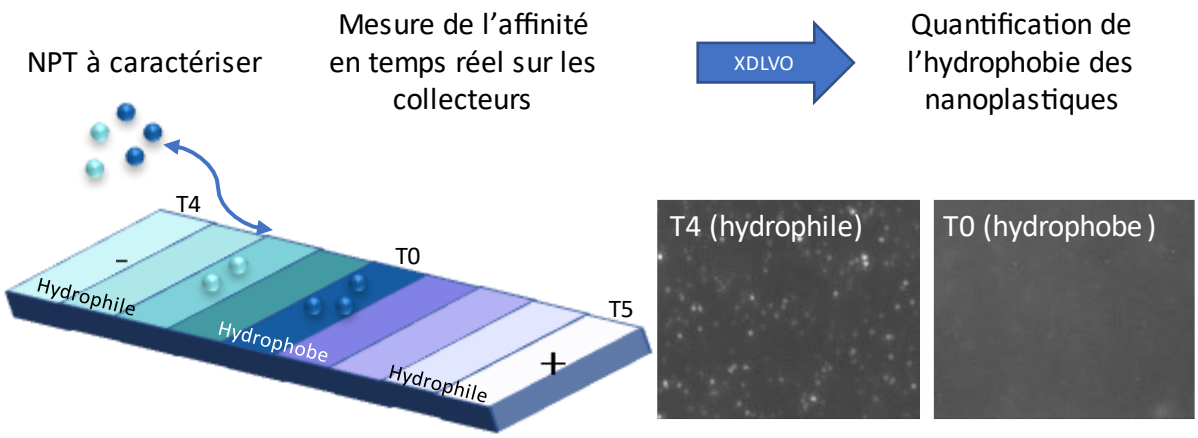

Figure 2-24 : Principe de la mesure d'hydrophobie de surface d'après (Desmet *et al.*, 2017 ; Valsesia *et al.*, 2018)

Dans le principe de la méthode, un nanoplastique chargé négativement aura une plus grande affinité avec un collecteur dont la surface est positive tandis qu'un nanoplastique chargé positivement sera plus attiré par une surface négative (Figure 2-24 : Principe de la mesure d'hydrophobie de surface d'après (Desmet *et al.,* 2017 ; Valsesia *et al.,* 2018). L'affinité des nanoplastiques avec les collecteurs a été calculée en mesurant directement leur cinétique d'adsorption sur les différents collecteurs. Les courbes d'affinité (**Figure 2-25**) sont construites à l'aide d'un script créé dans le logiciel ImageJ permettant la détection automatique des nanoplastiques sous forme d'objets ronds dans une séquence vidéo. Les nanoplastiques sont détectés de deux manières : soit il est possible de détecter le nombre total de nanoplastiques pour chaque image, soit il est possible de suivre le mouvement des nanoplastiques à la surface. Seuls les nanoplastiques parfaitement focalisés avec le plan de surface sont détectés avec une profondeur de champ de 4000 nm. Les nanoplastiques en dehors de ce plan se déplacent beaucoup plus rapidement que la résolution temporelle de la caméra (>ms). On ne peut donc observer que les nanoplastiques ralentis par le contact avec la surface. Le nombre de nanoplastiques détectés est alors lié à leur affinité avec le collecteur.

Les mesures d'hydrophobie de surface ont été réalisées sur deux nanoplastiques modèles sphériques dont les propriétés de surface sont différentes. Le PSAA2 est faiblement fonctionnalisé avec un 2 COOH par nm² à sa surface et un potentiel zêta de -31 ± 2 mV (pH = 7, [PB] = 10 mmol L^{-1}) et le PSAA56 est fortement fonctionnalisé avec un 56 COOH par nm² à sa surface et un potentiel zêta de -20 ± 3 mV (pH = 7, [PB] = 10 mmol L^{-1}). Les courbes d'affinités ont été obtenues sur trois collecteurs (T0, T4 et T5) dans une solution de PB à 10 mmol L^{-1} (**Figure 2-25**).

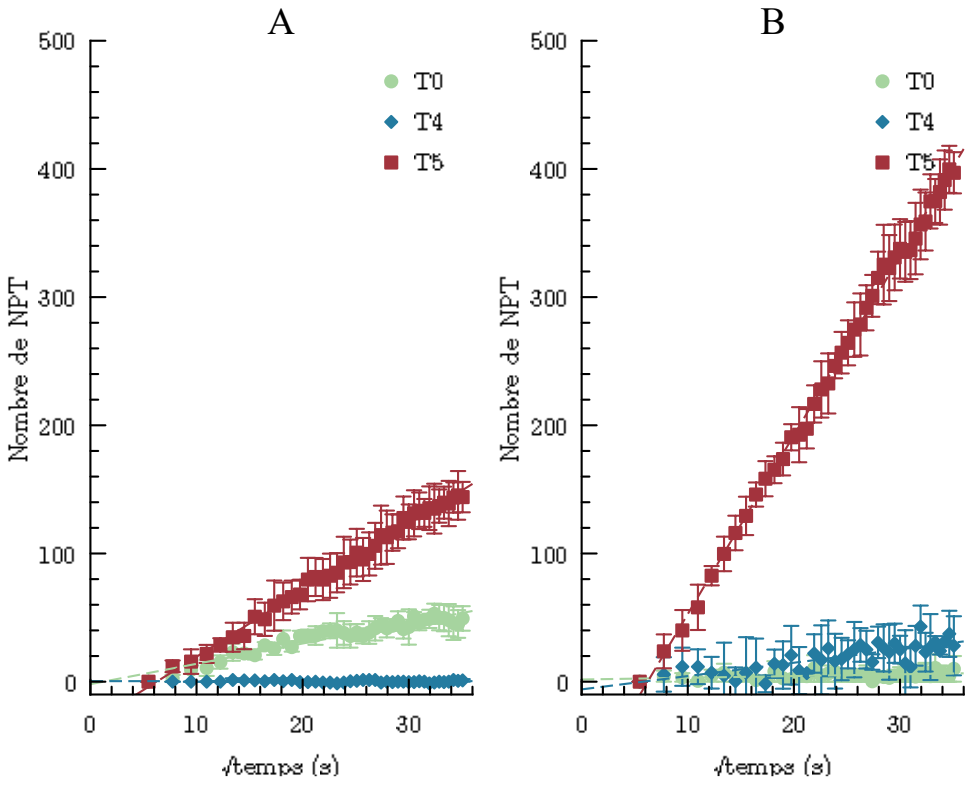

Figure 2-25 : Courbe d'affinité de deux échantillons de nanoplastiques modèles sphériques (A) PSAA2 et (B) PSAA56 sur trois collecteurs (T0, T4 et T5)

Le choix des collecteurs a été fait de sorte à minimiser les interactions entre les nanoplastiques et leur surface tout en gardant la stabilité colloïdale des nanoplastiques.

La composante polaire de l'énergie libre de surface γ_N^{AB} des nanoplastiques modèles sphériques obtenus par polymérisation est significativement différente 2.20 et 37 mJ m^{-2}, pour le PSAA2 et le PSAA56 respectivement. Ce qui correspond à un angle de contact équivalent de 87 ° pour le PSAA2 et 16 ° pour le PSAA56. Cette méthode contrairement aux méthodes les plus utilisées, comme la mesure de l'angle de contact, permet d'obtenir une valeur quantitative de l'hydrophobie des nanoplastiques. Cependant, elle nécessite une concentration relativement élevée (>10^9 part L^{-1}) ce qui peut être difficile à obtenir pour des échantillons environnementaux.

4. CONCLUSION

La caractérisation des nanoplastiques est indispensable pour étudier leur devenir dans l'environnement ou pour le développement d'outils analytiques le permettant. Il existe un grand nombre de méthodes permettant la caractérisation des nanoplastiques. Dans ce chapitre, nous avons essayé de proposer une stratégie de caractérisation. La première étape de caractérisation d'un échantillon de nanoplastiques serait de déterminer sa morphologie au moyen de l'imagerie (MET,

AFM), car cette dernière est une méthode de choix pour caractériser la taille d'un échantillon. Dans le cas d'un échantillon simple, sphérique, monomodal et monodisperse, la DLS peut être suffisante pour obtenir la distribution en taille. Cependant, si l'échantillon est plus complexe il est important de compléter cette mesure avec une analyse en AF4-SLS, car les formalismes utilisés sont adaptés à des échantillons polymorphiques et la phase de séparation permet d'éliminer la matrice de l'échantillon.

Une fois, la distribution de taille déterminée il est possible de choisir les outils et les conditions nécessaires pour la poursuite de la caractérisation de l'échantillon. Par exemple, la mesure du potentiel zêta peut être réalisée par mesure directe avec un zêta-mètre pour avoir une information sur la charge du plastique puis être complétée par une titration des fonctions (charges de surface) présentes à la surface et une mesure de l'hydrophobie.

Enfin, dans de prochains travaux il nous semble important de développer les outils analytiques permettant de déterminer la composition chimique de l'échantillon et de son milieu.

5. MATÉRIEL ET MÉTHODES

5.1. Mesure de taille et morphologie de surface

5.1.1. Diffusion dynamique de la lumière

Le diamètre hydrodynamique a été déterminé en utilisant la diffusion dynamique de la lumière (DLS) à tête déportée (Vasco Flex, Cordouan Technologies) à un angle de 170°. Les fluctuations d'intensité en fonction du temps sont analysées grâce à un autocorrélateur. L'algorithme des cumulants est utilisé pour obtenir une distribution en taille des échantillons et le diamètre hydrodynamique moyen ($d_{h\text{-moyen}}$).

5.1.2. Diffusion statique de la lumière

Un système Eclipse 3+ AF4 (Wyatt Technology) a été utilisé comme système de séparation. Il est équipé d'un détecteur d'absorbance UV-vis serie 1200 (Agilent Technologies) et d'un détecteur de diffusion de lumière à plusieurs angles (MALS, multi-angle light scattering) (DAWN HELEOS, Wyatt Technology). La hauteur du canal est fixée par un « *spacer* » de forme trapézoïdale (26.5 cm de longueur et un rétrécissement de 2.1 à 0.6 cm de largueur) et de 250 µm d'épaisseur. Les membranes utilisées sont en polyéthersulfone (PES) 10 kDa. La phase mobile est du nitrate de sodium ($NaNO_3$) à 0.5 mmol L^{-1}. Le débit de la phase mobile a été généré par une pompe serie 1200 (Agilent Technologies). Toutes les injections ont été réalisées avec un passeur d'échantillons serie 1250 ALS

(Agilent Technologies). Les données des détecteurs ont été traitées à l'aide des logiciels Astra 6.1.7.17 (Wyatt Technology) et OpenLab (Agilent technlolgies). Le diamètre a été déterminé en utilisant le formalisme de sphère pour les échantillons sphériques et le formalisme de Berry (premier ordre) pour l'échantillon polymorphique. La méthode utilisée est la méthode O (**Tableau 2-6**) d'après les travaux de Gigault *et al. (Gigault et al., 2017)*.

Tableau 2-6 : Conditions de séparation en AF4 en fonction de la taille des analytes selon la méthode développée par Gigault *et al.* (Gigault *et al.*, 2017). Le débit d'injection est fixé à 0.2 mL min^{-1} et le débit détecteur à 0.5 mL min^{-1}.

Méthode AF4		Relaxation		Elution	
Méthode de fractionnement	Taille des analytes (nm)	Débit du flux de focus F_f (mL min^{-1})	Durée (min)	Débit du flux croisé F_c (mL min^{-1})	Durée
O	1 – 800	0.5	5	$V_c = 2e^{-0.27t}$	25
C	200 – 450	1.0	5	0.1	15

5.1.3. Microscopie électronique en transmission

Les images de microscopie électronique en transmission (MET) ont été obtenues avec un microscope électronique à transmission (JEOL) avec un courant d'accélération de 200 kV. Une goutte d'échantillon (4 µL) est placée sur une grille de cuivre recouverte d'un film mince de carbone puis séchée à température ambiante.

5.1.4. Microscopie à force atomique

Les images de microscopie à force atomique (AFM) ont été obtenues en utilisant un microscope MultiMode 8 Atomic Force (Bruker) en mode PeakForce QNM (quantitative NanoMechanics). Les échantillons ont été préparés en déposant 150 µL de nanoplastiques par « spin coating » à 2000 tr min^{-1} pendant 60 s sur une plaque en silicium.

5.2. Caractérisation de la charge de surface

5.2.1. Titration pH-métrique

Le nombre de groupements carboxyliques à la surface des nanoplastiques a été déterminé par titration pH-métrique. Un titrateur (Titrando 888) équipé d'un agitateur (stirrer 728) et d'une électrode de verre (pH : 0 – 14 ; température 0 – 80 °C ; [KCl] : 3 mol L^{-1}) de chez Metrohm a été utilisé. Le logiciel permettant la collecte des données est Tiamo 2.5. Le pH de la solution de nanoplastiques ([NPT] >

2 000 ppm, V_E = 10 mL) a été augmenté jusqu'à atteindre pH > 11 par ajout d'une solution de soude (NaOH ; 0.10 mol L^{-1}) avant d'être titrée en retour par de l'acide chlorhydrique (HCl ; 6.58 mmol L^{-1}).

5.2.2. Zêtamétrie

La charge de surface des particules a été évaluée en utilisant le zêtamètre Wallis de Cordouan Technologies). Il mesure la mobilité électrophorétique de particules colloïdales par « laser Doppler electrophoresis ». Le modèle de Smoluchowski est utilisé pour calculer le potentiel zêta (ζ). Pour toutes les mesures nous avons appliqué une tension de 20.27 V cm^{-1} et réalisé 2 fois 10 mesures. La température de mesure est fixée à 25 °C. La viscosité du solvant est de 0.888 mPa s^{-1}

5.2.2.1. Effet de la concentration sur le potentiel zêta

Les propriétés du milieu pour l'étude de l'effet de la concentration sur la mesure du potentiel zêta de nanoplastiques modèles sont les suivantes :

- pH : Non ajusté entre 4 et 6
- Force ionique : 10 mmol L^{-1}
- Composition : NaCl
- Concentration en nanoplastiques : Variable (1 et 200 ppm)

5.2.2.2. Effet du pH sur le potentiel zêta

Les propriétés du milieu pour l'étude de l'effet du pH sur la mesure du potentiel zêta de nanoplastiques modèles sont les suivantes :

- pH : Variable entre 3 et 11
- Force ionique : 10 mmol L^{-1}
- Composition : NaCl
- Concentration en nanoplastiques : 100 ppm

5.2.2.3. Mesure du potentiel zêta

Les propriétés du milieu pour les mesures de potentiel zêta des nanoplastiques modèles sont les suivantes :

- pH : Entre 6 et 7.5
- Force ionique : 0.5 et 10 mM
- Composition : $NaNO_3$; NaCl ou tampon phosphate

- Concentration particulaire : 100 ppm

5.2.3. Electrical asymmetrical flow field-flow fractionation (EAF4)

Les expériences ont été réalisées en collaboration avec la plateforme Toulouse Field-Flow Fractionation Center (Plateforme TFFC, Ecole d'ingénieur de Purpan, Toulouse). Elles ont été réalisées sur un système HPLC Agilent 1220 (Agilent Technologies), composé d'une pompe à gradient basse pression, d'un passeur automatique est d'un détecteur UV. Il est couplé à un détecteur Wyatt DAWN HELLEOS MALS, un Wyatt Eclipse AF4 ainsi que d'un canal EF4 (Wyatt Technology). Le canal est équipé d'un fritté en céramique, d'une membrane d'ultrafiltration en PES 10 kDa et d'un *spacer* de 250 µm. Les électrodes sont en acier inoxydable placées de manière parallèle sur la partie haute du canal et sous le fritté. La surface effective de la membrane et de l'électrode est de 3.51 10^{-3} m². Une alimentation contrôlable a été utilisée pour appliquer un courant continu au canal d'EAF4. La conductivité et le pH du solvant sont mesurés dans le bidon de solvant au début de l'analyse et en ligne après le passage du canal dans une cellule à écoulement à l'aide d'un conductimètre et d'un pH-mètre PCE-PHD-A (PCE Instruments). La phase mobile est composée de $NaNO_3$ à une concentration de 0.5 mmol L^{-1}. La méthode utilisée est la méthode C (Tableau 2-6, page - 114 -) d'après les travaux de Gigault *et al. (Gigault et al., 2017)*. Le volume d'injection est de 100 µL d'une solution mère de nanoplastiques à 10 ppm. Pour toutes les expériences, le courant a été appliqué pendant la phase d'élution.

5.3. Mesure de l'hydrophobie de surface

Les expériences ont été réalisées en collaboration avec le Joint Research Center *(JRC)* d'Ispra (Italie). L'hydrophobie de surface des nanoplastiques est déterminée en étudiant l'adsorption des nanoplastiques sur des collecteurs fonctionnalisés par microscopie en champ sombre (DFM) (Desmet *et al.*, 2017 ; Valsesia *et al.*, 2018). Les collecteurs préparés préalablement par le JRC sont composés d'une alternance de couches de téflon (PTFE), de poly(chlorure diméthyldiallyammonium) (PDDA) et de polystyrène sulfonate de sodium (PSS). Des solutions purifiées de nanoplastiques ont été diluées dans une solution tampon phosphate (PB, 10 mmol L^{-1}). Les taux d'adsorption des nanoplastiques sur trois collecteurs, dont les propriétés sont reportées dans le Tableau 2-7, ont été mesurés en enregistrant des vidéos DFM pendant 20 min. Une analyse automatique image par image des vidéos a été réalisée avec le plugin TrackMate du logiciel graphique open source ImageJ, pour évaluer la vitesse de liaison des nanoplastiques sur les différents collecteurs.

Tableau 2-7 : Caractéristiques de surface des différents collecteurs : potentiel zêta (ζ), ellipsométrie, AFM, angle de contact et composante de l'énergie de surface: PTFE (T0), PTFE/(PDDA/PSS)$_2$ (T4) et PTFE/(PDDA/PSS)$_2$/PDDA (T5)

Surface	ζ (mV)	Hauteur (nm)	Rugosité (nm)	CA eau (°)	CA bromonaphtalene (°)	γ^{LW} (mJ m^{-2})	γ^{AB} (mJ m^{-2})
T0	-61.2 ± 0.1	123 ± 1	0.29 ± 0.03	105 ± 1	73 ±2	19.3 ± 1.9	0.9 ± 0.2
T4	-62.4 ± 0.6	3.41 ± 0.03	0.83 ± 0.08	57 ± 2	43 ± 3	32.9 ± 1.3	16.9 ± 0.5
T5	-4.1 ± 0.3	3.82 ± 0.03	0.85 ± 0.09	72 ± 2	44 ± 4	32.5 ± 1.9	8.6 ± 0.3

D'après la théorie de la xDLVO (Owens & Wendt, 1969 ; van Oss, 1993 ; Voïtchovsky *et al.*, 2010), l'énergie d'interaction totale (G^{tot}) peut être exprimée comme suit:

$$G^{tot} = G^{el} + G^{AB} + G^{LW} \qquad 2\text{-}14$$

Où G^{el}, G^{AB} et G^{LW} sont respectivement les énergies relatives aux interactions électrostatique, acide-base et de Lifhitq-Van der Waals.

Les trois potentiels dépendent de la distance entre les nanoplastiques et la surface du collecteur. G^{AB} inclut toutes les forces impliquant le réarrangement structurel des molécules d'eau autour des deux surfaces en fonction du degré de mouillabilité de la surface impliquée. La combinaison de plusieurs études (Fowkes, 1964 ; Good *et al.*, 1958 ; Owens & Wendt, 1969) permet d'obtenir une relation entre les composantes dispersives et polaires de l'énergie libre de surface d'un solide et son angle de contact équivalent tel que présenté dans l'équation 2-15.

$$(\gamma_N^D \gamma_l^D)^{1/2} + (\gamma_N^{AB} \gamma_l^{AB})^{1/2} = \gamma_l(\cos CA_{eq} + 1)/2 \qquad 2\text{-}15$$

Où : $\gamma_N^D, \gamma_N^{AB}$ sont, respectivement, les composantes dispersives(i.e. les interactions de Van der Waals) et polaires de l'énergie libre de surface du solide (ici les nanoplastiques);$\gamma_l^D, \gamma_l^{AB}$ sont, respectivement, les composantes dispersives et polaires de la tension superficielle du liquide ;$\gamma_l = \gamma_l^D + \gamma_l^{AB}$est l'énergie libre totale de surface du liquide; etCA_{eq} est l'angle de contact équivalent.

Un angle de contact équivalent (CA_{eq}) a été calculé en utilisant l'équation 2-15 pour chaque échantillon à partir de leur composante polaire d'énergie (γ_N^{AB}) libre et en estimant la composante dispersive γ_N^D de l'énergie libre de surface du polystyrène égale à 35 mJ m^{-2}. Nous avons choisi de préciser « équivalent », car il s'agit d'un angle de contact obtenu par calcul à partir de l'énergie libre et non d'une mesure obtenue par dépôt d'une goutte sur l'échantillon.

RÉFÉRENCES

- B -

Baalousha, M. and Lead J. R. (2007). Size fractionation and characterization of natural aquatic colloids and nanoparticles. *Sci. Total Environ.* **386**(1): 93-102. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.05.039.

Baalousha, M., Stolpe B. and Lead J. R. (2011). Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review. *J. Chromatogr. A* **1218**(27): 4078-4103. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.063.

- C -

Caputo, F., Vogel R., Savage J., Vella G., Law A., Della Camera G., Hannon G., Peacock B., Mehn D., Ponti J., Geiss O., Aubert D., Prina-Mello A. and Calzolai L. (2021). Measuring particle size distribution and mass concentration of nanoplastics and microplastics: addressing some analytical challenges in the sub-micron size range. *J. Colloid Interface Sci.* **588**: 401-417. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.039.

- D -

Davranche, M., Veclin C., Pierson-Wickmann A.-C., El Hadri H., Grassl B., Rowenczyk L., Dia A., Halle A. T., Blancho F., Reynaud S. and Gigault J. (2019). Are nanoplastics able to bind significant amount of metals? The lead example. *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.087.

Delgado, A. V., González-Caballero F., Hunter R. J., Koopal L. K. and Lyklema J. (2005). Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **77**(10): 1753-1805. https://doi.org/10.1351/pac200577101753.

Desmet, C., Valsesia A., Oddo A., Ceccone G., Spampinato V., Rossi F. and Colpo P. (2017). Characterisation of nanomaterial hydrophobicity using engineered surfaces. *J. Nanopart. Res.* **19**(3): 117. https://doi.org/10.1007/s11051-017-3804-z.

- E -

El Hadri, H., Gigault J., Maxit B., Grassl B. and Reynaud S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact* **17**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2019.100206.

- F -

Fowkes, F. M. (1964). Attractive forces at interfaces. *Ind. Eng. Chem.* **56**(12): 40-52. https://doi.org/10.1021/ie50660a008.

- G -

Gale, B. K., Caldwell K. D. and Frazier A. B. (2001). Geometric Scaling Effects in Electrical Field Flow Fractionation. 1. Theoretical Analysis. *Anal. Chem.* **73**(10): 2345-2352. https://doi.org/10.1021/ac001463q.

Gigault, J., El Hadri H., Reynaud S., Deniau E. and Grassl B. (2017). Asymmetrical flow field flow fractionation methods to characterize submicron particles: application to carbon-based aggregates and nanoplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* **409**(29): 6761-6769. https://doi.org/10.1007/s00216-017-0629-7.

Gigault, J., Halle A. t., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B. and Reynaud S. (2018). Current opinion: What is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024.

Good, R. J., Girifalco L. A. and Kraus G. (1958). A theory for estimation of interfacial energies. II. Application to surface thermodynamics of teflon and graphite. *J. Phys. Chem.* **62**(11): 1418-1421. https://doi.org/10.1021/j150569a016.

- H -

Haggerty, L. and Lenhoff A. M. (1993). STM and AFM in Biotechnology. *Biotechnol. Progr.* **9**(1): 1-11. https://doi.org/10.1021/bp00019a001.

Hahladakis, J. N., Velis C. A., Weber R., Iacovidou E. and Purnell P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J. Hazard. Mater.* **344**: 179-199. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014.

Hermabessiere, L., Dehaut A., Paul-Pont I., Lacroix C., Jezequel R., Soudant P. and Duflos G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere* **182**: 781-793. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096.

- J -

Jiang, B., Kauffman A. E., Li L., McFee W., Cai B., Weinstein J., Lead J. R., Chatterjee S., Scott G. I. and Xiao S. (2020). Health impacts of environmental contamination of micro- And nanoplastics: A review. *Environ. Health Prevent. Med.* **25**(1). https://doi.org/10.1186/s12199-020-00870-9.

Johann, C., Elsenberg S., Schuch H. and Rösch U. (2015). Instrument and Method to Determine the Electrophoretic Mobility of Nanoparticles and Proteins by Combining Electrical and Flow Field-Flow Fractionation. *Anal. Chem.* **87**(8): 4292-4298. http://doi.org/10.1021/ac504712n.

- L -

Lead, J. R. and Wilkinson K. J. (2006). Aquatic Colloids and Nanoparticles: Current Knowledge and Future Trends. *Environmental Chemistry* **3**(3): 159-171. https://doi.org/10.1071/EN06025.

Lenz, R., Enders K. and Nielsen T. G. (2016). Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**(29): E4121. https://doi.org/10.1073/pnas.1606615113.

Lim, J., Yeap S. P., Che H. X. and Low S. C. (2013). Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. *Nanoscale Research Letters* **8**(1): 381. https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-381.

Lowry, G. V., Hill R. J., Harper S., Rawle A. F., Hendren C. O., Klaessig F., Nobbmann U., Sayre P. and Rumble J. (2016). Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS. *Environ. Sci.: Nano* **3**(5): 953-965. https://doi.org/10.1039/C6EN00136J.

- M -

Mainard, M. and Jacob D. (2016). Comprendre la mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. *Photoniques* **83**: 40-44. https://doi.org/10.1051/photon/20168340.

Mariano, S., Tacconi S., Fidaleo M., Rossi M. and Dini L. (2021). Micro and Nanoplastics Identification: Classic Methods and Innovative Detection Techniques. *Frontiers in Toxicology* **3**(2). https://doi.org/10.3389/ftox.2021.636640.

Mech, A., Rauscher H., Rasmussen K., Babick F., Hodoroaba V.-D., Ghanem A., Wohlleben W., Marvin H., Brüngel R., Friedrich C. M., Löschner K. and Gilliland D. (2020). The NanoDefine Methods Manual. Part 3: Standard Operating Procedures (SOPs). *Publications Office of the European Union* **EUR 29876 EN**. https://doi.org/10.2760/02910.JRC117501

- O -

O'Brien, R. W. and White L. R. (1978). Electrophoretic mobility of a spherical colloidal particle. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **74**(0): 1607-1626. https://doi.org/10.1039/F29787401607.

Owens, D. K. and Wendt R. C. (1969). Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **13**(8): 1741-1747. https://doi.org/10.1002/app.1969.070130815.

- P -

Pessoni, L., Veclin C., Hadri H. E., Cugnet C., Davranche M., Pierson-Wickmann A.-C., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2019). Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2253-2258. https://doi.org/10.1039/C9EN00384C.

- S -

Schimpf, M. E., Caldwell K. and Giddings C., (2000). Field-Flow Fractionation Handbook, Wiley IEEE.ISBN : 978-0-471-18430-0

Slomkowski, S., Alemán J. V., Gilbert R. G., Hess M., Horie K., Jones R. G., Kubisa P., Meisel I., Mormann W., Penczek S. and Stepto R. F. T. (2011). Terminology of polymers and polymerization processes in

dispersed systems (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl. Chem.* **83**(12): 2229-2259. https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-06-03.

Sorasan, C., Edo C., González-Pleiter M., Fernández-Piñas F., Leganés F., Rodríguez A. and Rosal R. (2021). Generation of nanoplastics during the photoageing of low-density polyethylene. *Environ. Pollut.* **289**: 117919. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117919.

- T -

Town, R. M. and Van Leeuwen H. P. (2020). Uptake and Release Kinetics of Organic Contaminants Associated with Micro- A nd Nanoplastic Particles. *Environ. Sci. Technol.* **54**(16): 10057-10067. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02297.

- V -

Valsesia, A., Desmet C., Ojea-Jiménez I., Oddo A., Capomaccio R., Rossi F. and Colpo P. (2018). Direct quantification of nanoparticle surface hydrophobicity. *Commun. Chem.* **1**(1): 53. https://doi.org/10.1038/s42004-018-0054-7.

van Oss, C. J. (1993). Acid—base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids Surf, A* **78**: 1-49. https://doi.org/10.1016/0927-7757(93)80308-2.

Verleysen, E., Wagner T., Lipinski H.-G., Kägi R., Koeber R., Boix-Sanfeliu A., De Temmerman P.-J. and Mast J. (2019). Evaluation of a TEM based Approach for Size Measurement of Particulate (Nano)materials. *Materials* **12**(14): 2274. https://doi.org/10.3390/ma12142274.

Voïtchovsky, K., Kuna J. J., Contera S. A., Tosatti E. and Stellacci F. (2010). Direct mapping of the solid-liquid adhesion energy with subnanometre resolution. *Nat. Nanotechnol.* **5**(6): 401-405. https://doi.org/10.1038/nnano.2010.67.

CHAPITRE 3

COMPORTEMENT DES NANOPLASTIQUES EN MILIEU MARIN

LISTE DES FIGURES - 129 -

LISTE DES TABLEAUX - 129 -

1. CONTEXTE - 131 -

2. PRÉPARATION DES NANOPLASTIQUES MODÈLES - 133 -

2.1. Contraintes pour l'obtention des modèles - 133 -

2.2. Méthode ascendante : polymérisation en émulsion sans tensioacitf - 134 -

2.2.1 Mécanisme de la polymérisation en émulsion sans surfactant - 134 -

2.2.2 Lots de nanoplastiques par méthode ascendante - 135 -

2.3. Méthode descendante : plastique dégradé mécaniquement - 137 -

2.3.1 Choix de la méthode descendante - 137 -

2.3.2 Lots de nanoplastiques modèles par méthode descendante - 137 -

3. CARACTÉRISATION DES MODÈLES - 138 -

3.1. Modèles obtenus par émulsion - 138 -

3.2. Modèles obtenus par dégradation - 144 -

4. HOMOAGRÉGATION DES NANOPLASTIQUES DANS L'EAU DE MER - 147 -

4.1. Etude de la stabilité des nanoplastiques *via* la concentration critique de coagulation - 148 -

4.2. Étude de l'homoagrégation des nanoplastiques - 149 -

5. CONCLUSION - 156 -

6. MATÉRIELS ET MÉTHODES - 157 -

6.1. Préparation des nanoplastiques modèles - 157 -

6.1.1. Nanoplastiques préparés par méthode ascendante - 157 -

6.1.2. Nanoplastiques préparés par méthode descendante - 157 -

6.2. Préparation de l'eau de mer artificielle : EM150 - 158 -

RÉFÉRENCES - 159 -

LISTE DES FIGURES

Figure 3-1 : Schéma de principe de la polymérisation en émulsion sans tensio-actif ___ - 135 -

Figure 3-2 : Suivi de la conductivité du surnageant lors de la purification du PSAA56 par centrifugation _____ - 136 -

Figure 3-3 : Images TEM et AFM des nanoplastiques modèles obtenus par polymérisation en émulsion _____ - 138 -

Figure 3-4 : Diamètres mesurés par DLS, SLS et imagerie TEM des échantillons obtenus par polymérisation en émulsion _____ - 139 -

Figure 3-5 : Concentration en groupements COOH à la surface des nanoplastiques modèles en fonction des rapports $\frac{n_{monomère\ acide}}{n_{styrène}}$ engagés pour les synthèses pour une quantité de styrène constante _____ - 140 -

Figure 3-6 : Corrélation entre l'hydrophobie des nanoplastiques modèles et leur fonctionnalité de surface _____ - 142 -

Figure 3-7 : Répartition des fonctions ionisables et non-ionisables entre la surface et le cœur du PSMAA2 et PSAA2 _____ - 143 -

Figure 3-8 : Image TEM des nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation _____ - 144 -

Figure 3-9 : Diamètre du PS-m mesuré par DLS, SLS et TEM _____ - 145 -

Figure 3-10 : Facteur d'aspect du PS-m par imagerie TEM _____ - 146 -

Figure 3-11 : Évolution du potentiel zêta en fonction de la concentration en sel de l'EM150 - 150 -

Figure 3-12 : Cinétique d'agrégation du PSMAA2 à différentes concentrations d'EM150 - 151 -

Figure 3-13 : Cinétiques d'agrégation du PS-m à différentes concentrations d'EM150 _ - 152 -

Figure 3-14 : Efficacité d'attachement des nanoplastiques modèles à différentes concentrations en sel d'EM150 _____ - 153 -

Figure 3-15 : Calcul DLVO et stabilité colloïdale dans différentes concentrations en NaCl - 155 -

Figure 3-16 : Tamis de récupération du broyat _____ - 158 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3-1 : Conditions expérimentales pour la synthèse des nanoplastiques sans tensio-actif _____ - 136 -

Tableau 3-3 : Hydrophobie de surface des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion __ - 141 -

Tableau 3-3 : Propriétés des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion _____ - 144 -

Tableau 3-4 : Propriétés de l'echantillon de nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation _____ - 147 -

Tableau 3-5 : Concentrations critiques de coagulation de nanoplastiques modèles dans l'EM150 _____ - 153 -

1. CONTEXTE

L'engouement des chercheurs pour l'étude des débris plastiques et plus particulièrement des nanoplastiques et leurs impacts sur l'environnement a montré la nécessité de développer des nanoplastiques modèles. Si les recherches concernant l'étude des nanoplastiques ont véritablement démarré en 2012, ce n'est qu'à partir de 2019 que plusieurs équipes se sont simultanément lancées dans le développement de modèles capables d'imiter au mieux les nanoplastiques environnementaux. Plusieurs voies ont été envisagées :

- La méthode ascendante dans laquelle la formulation commence du monomère jusqu'à l'obtention d'un nanoplastique, par différents procédés de synthèse (Balakrishnan *et al.*, 2019 ; Mitrano *et al.*, 2019 ; Pessoni *et al.*, 2019 ; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2019 ; Tian *et al.*, 2019).
- La méthode descendante qui consiste à dégrader des macros et/ou microplastiques (Astner *et al.*, 2019 ; El Hadri *et al.*, 2020 ; Enfrin *et al.*, 2020 ; Magrì *et al.*, 2018 ; Mattsson *et al.*, 2021) pour obtenir des débris nanoplastiques.

Ces nanoplastiques ont pour but d'être utilisés dans des études écotoxicologiques et de comportement (transport, accumulation) extrapolables à des conditions environnementales. Cependant, ces méthodes se concentrent essentiellement sur la reproduction de la composition, de la taille et de la forme des nanoplastiques, pourtant leur toxicité semble aussi liée à leurs propriétés de cheval de Troie, définies comme leur capacité à sorber, concentrer et transporter d'autres polluants dans les organismes (Kim *et al.*, 2017 ; Lee *et al.*, 2019). Il semble alors évident que la fonctionnalité de surface et la composition chimique de ces modèles (intrinsèque et en termes d'additifs) soient des critères nécessaires à prendre en compte pour s'approcher des nanoplastiques présents dans l'environnement.

Pour étudier l'impact des nanoplastiques sur l'environnement, il est indispensable d'utiliser des modèles dont les caractéristiques sont connues. Dans la majorité des études publiées, les chercheurs ont choisi d'utiliser des nanosphères commerciales de polystyrène obtenues par méthode ascendante (Lehner *et al.*, 2019 ; Pikuda *et al.*, 2019 ; Yin *et al.*, 2021). Ces nanoplastiques commerciaux peuvent contenir des solvants organiques, des tensio-actifs, des antibactériens ou autres résidus de réactifs de synthèse. La composition finale des nanoplastiques obtenus peut alors induire un biais dans les études de leurs comportements physiques, chimiques et biologiques. La première étude approfondie montrant que la toxicité des nanoplastiques commerciaux pouvait être reliée aux additifs et non aux nanoplastiques eux-mêmes a été publiée par Pikuda *et al.* en 2019, et incriminait la présence d'azide

de sodium utilisé comme antibactérien responsable des effets délétères (Pikuda *et al.*, 2019). Les auteurs ont comparé l'effet de latexes commerciaux de polystyrène purifiés et non purifiés. Ils ont montré que les nanoplastiques seuls pouvaient perturber le comportement de nage de *D.magna* mais n'étaient pas responsables de leur mortalité.

Au-delà du manque d'informations sur la formulation chimique, les nanoplastiques commerciaux souffrent d'un défaut d'informations quantitatives concernant la fonctionnalité chimique et l'aspect de leur surface. Les nanoplastiques analysés sont le plus souvent sphériques et lisses en surface (Wang *et al.*, 2021b) tandis que les nanoplastiques environnementaux ont des formes polymorphiques et des surfaces accidentées (Davranche *et al.*, 2020). De la même manière, les nanoplastiques subissent une oxydation chimique lorsqu'ils sont soumis aux éléments naturels. Ce processus, important pour les plastiques flottant à la surface des océans, comme le polystyrène expansé, est la dégradation photo-oxydante initiée par le rayonnement UV (Gewert *et al.*, 2015 ; Weinstein *et al.*, 2016) ayant pour conséquence l'apparition de fonctions carbonyles à la surface des objets. Le même processus peut se produire sous activation thermique. Pourtant, peu d'équipes mentionnent la fonctionnalité chimique des nanoplastiques commerciaux utilisés dans leurs études, d'autres utilisent des nanoplastiques dont les fonctionnalités peuvent apparaitre peu représentatives (amine, sulfate) (Feng *et al.*, 2020 ; Gonçalves & Bebianno, 2021 ; Qu & Wang, 2020 ; Varó *et al.*, 2019). Les modèles commerciaux ont leurs limites, mais restent des objets de référence pour nombre d'équipes, car ils sont faciles d'accès, ont une distribution monodisperse en taille, permettant de connaitre leur surface développée et sont certifiés en taille par des protocoles normalisés. Leur caractérisation complète reste néanmoins nécessaire pour les identifier comme des modèles.

Si la majorité des études publiées à ce jour utilisent des nanoplastiques commerciaux, développer et utiliser des modèles capables d'imiter les nanoplastiques environnementaux reste indispensable. Des études utilisant des nanoplastiques obtenus en laboratoire commencent à être publiées (Davranche *et al.*, 2019 ; González-Pleiter *et al.*, 2019 ; Lebordais *et al.*, 2021 ; Magrì *et al.*, 2021 ; Redondo-Hasselerharm *et al.*, 2020). Une grande variété de processus naturels entraîne la formation de nanoplastiques dans l'environnement, de sorte qu'aucune stratégie optimale pour préparer des modèles n'existe. L'utilisation de ces modèles peut offrir l'avantage de connaitre la forme, la composition chimique, la fonctionnalité, la taille , la dispersité, et la composition des additifs pour mettre en évidence les paramètres régissant le comportement des nanoplastiques dans l'environnement. Le modèle parfait n'existe pas, il est important de choisir quels paramètres sont importants pour l'étude et de bien caractériser le modèle utilisé.

Dans ce contexte, l'IPREM développe ses propres nanoplastiques modèles par la méthode ascendante ou la méthode descendante. Ce chapitre porte sur l'étude du comportement de ces nanoplastiques modèles dans une eau de mer synthétique représentative du milieu océanique pour y étudier les phénomènes d'homoagrégation. Les paramètres souvent sous-estimés, mais qui semblent pertinents tels que la morphologie et l'hydrophobie et l'état de surface des modèles ont été au cœur de notre étude. L'état d'oxydation de la surface des modèles (présence de fonctions carboxyliques) est considéré comme un indicateur du temps de vie d'un échantillon en milieu naturel.

Dans un premier temps, les nanoplastiques modèles utilisés dans cette étude sont présentés avec leur procédé d'élaboration suivis de leur caractérisation. La troisième partie de ce chapitre présente l'étude de l'homoagrégation des nanoplastiques modèles dans un milieu aquatique.

2. PRÉPARATION DES NANOPLASTIQUES MODÈLES

2.1. Contraintes pour l'obtention des modèles

L'objectif de ces travaux de thèse était d'étudier et de comprendre les différents paramètres qui influencent l'homoagrégation des nanoplastiques dans le milieu aquatique. La stabilité colloïdale est contrôlée par un grand nombre d'interactions comme les attractions de Van der Waals, la répulsion de la double couche électronique ainsi que les interactions stériques. Ces interactions sont régies par les différentes propriétés de surface des modèles comme la charge et l'hydrophobie. Pour ne pas altérer les propriétés intrinsèques des nanoplastiques, nous avons choisi de travailler sans tensio-actif. Il aurait été possible de purifier des nanoplastiques commerciaux, mais cette étape peut être délicate et entraîner une agrégation et/ou floculation irréversible de l'échantillon.

Comme montré dans le chapitre 1 (Tableau 1-2), plusieurs études ont été publiées sur le comportement de nanoplastiques commerciaux dans des solutions salées (Li *et al.*, 2020b ; Liu *et al.*, 2019 ; Liu *et al.*, 2020 ; Mao *et al.*, 2020 ; Singh *et al.*, 2021 ; Singh *et al.*, 2019 ; Sun *et al.*, 2021 ; Yu *et al.*, 2019). Les modèles utilisés contiennent des additifs, ils sont généralement sphériques, monodisperses et composés de polystyrène ce qui semble peu représentatif de ce qu'on pourrait retrouver dans l'environnement. Cependant, ils sont utilisés par un grand nombre d'équipes ce qui permet de comparer les résultats obtenus. Notre objectif était d'utiliser un modèle à la fois représentatif de l'environnement (morphologie, oxydation de la surface), comparable aux études déjà existantes, mais aussi sans additifs pouvant influencer le comportement.

Au vu de ce cahier des charges, nous avons choisi deux méthodes d'obtention des nanoplastiques modèles. Une méthode ascendante, la polymérisation en émulsion sans tensio-actif et une méthode descendante, la dégradation mécanique de microplastiques.

2.2. Méthode ascendante : polymérisation en émulsion sans tensio-actif.

2.2.1. Mécanisme de la polymérisation en émulsion sans surfactant.

La synthèse en émulsion a été décrite pour la première fois à la fin des années 1940 par Williams Harkins (Harkins, 1947). Ce procédé implique généralement un monomère organosoluble, un amorceur hydrosoluble et un agent tensio-actif qui permet de stabiliser la dispersion des réservoirs de monomères et des particules (Chern, 2006 ; Lovell & El-Aasser, 1997). Les polymérisations en émulsion sans tensio-actif font intervenir un comonomère possédant les fonctions chimiques nécessaires pour permettre de stabiliser intrinsèquement les particules lors de leur formation. Ici les nanoplastiques de polystyrène sont obtenus en présence d'un comonomère acide hydrosoluble, dont les groupements carboxylates (le pH de la solution dispersante est supérieur au pKa du monomère acide de plus d'une unité pH) permettent la stabilisation des particules formées tout en imitant l'oxydation de surface évoquée plus haut des plastiques environnementaux.

D'un point de vue qualitatif, la capacité des monomères acides à induire la formation de particules peut être expliquée par la théorie de Fitch *et al.* (Fitch & Tsai, 1970 ; Fitch & Tsai, 1971). Les radicaux amorceurs de persulfate d'ammonium hydrophiles amorcent la polymérisation du styrène (sa faible fraction soluble en milieu aqueux) et du monomère hydrophile (Figure 3-1-A). Quand les oligomères formés deviennent insolubles de par leur teneur en PS (Figure 3-1-B), ils précipitent pour former des particules stabilisées par les groupements carboxylates des unités hydrophiles (Figure 3-1C). D'après la théorie de Smith-Ewart, la croissance des particules se poursuit à l'intérieur de la particule. La fonction du monomère acide est alors double. Il induit la formation de particules de polymère et les stabilise.

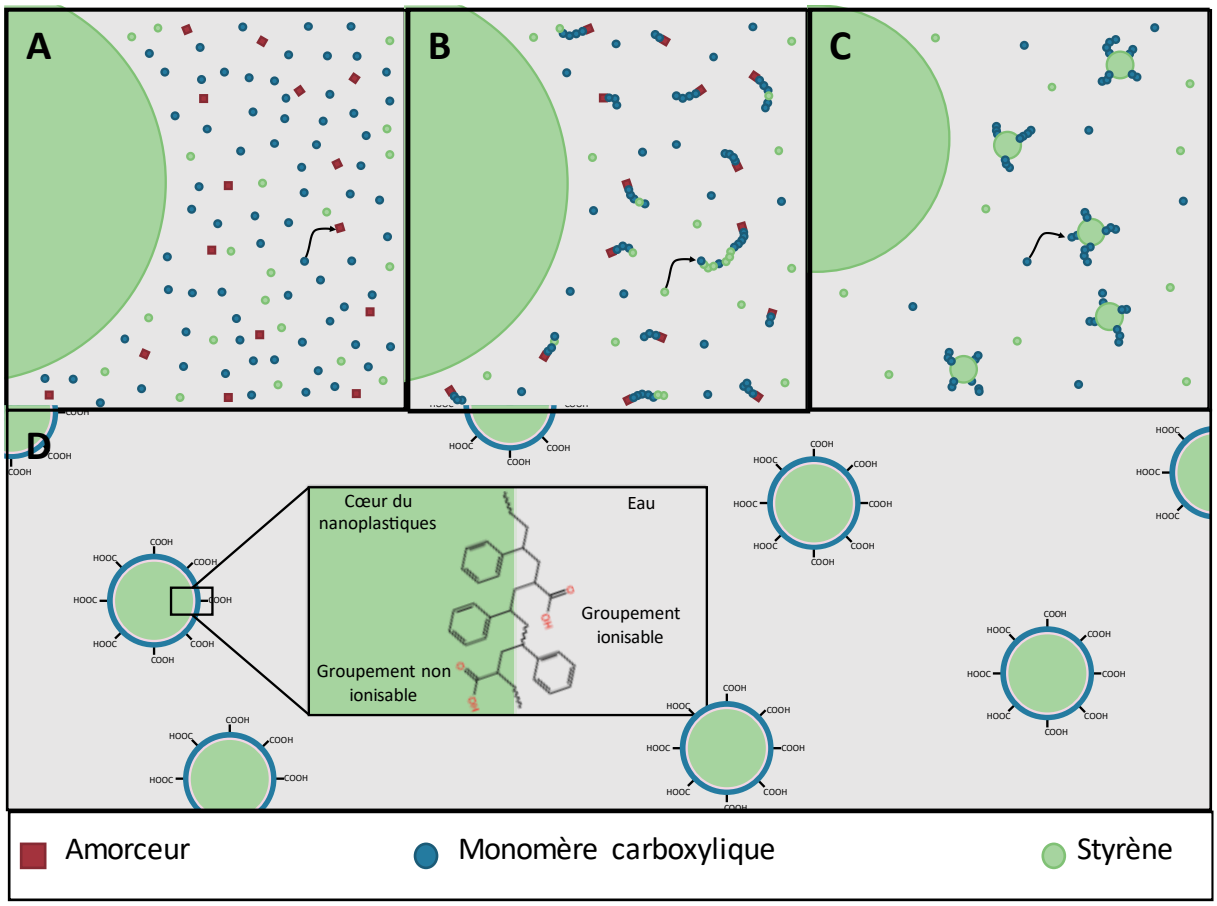

Figure 3-1 : Schéma de principe de la polymérisation en émulsion sans tensio-actif.

2.2.2. Lots de nanoplastiques modèles par méthode ascendante

Deux comonomères acides ont été choisis pour ces travaux : l'acide acrylique (AA, pKa = 4.25) et l'acide méthacrylique (MAA, pKa = 4.7). Ces comonomères acides ont été choisis pour : *i)* leur capacité à stabiliser les nanoplastiques dans l'eau du fait de leur comportement amphiphile, *ii)* leur capacité à imiter l'oxydation des nanoplastiques environnementaux. En effet, la dégradation de la surface par la lumière UV peut générer des espèces carbonyles, ioniques à la surface des nanoplastiques (Mao *et al.*, 2020). L'énergie de surface peut être considérée comme un paramètre représentatif de la polarité de surface des échantillons et donc de leur vieillissement dans l'environnement.

Durant ces travaux de thèse, nous avons préparé différents lots de nanoplastiques en nous inspirant du protocole développé par Pessoni *et al.* (Pessoni *et al.*, 2019). Une synthèse représentative est décrite dans le paragraphe 6.1.1 (page - 157 -). Les quantités de monomères impliqués dans les

synthèses sont reportées dans le Tableau 3-1. Les proportions entre les deux monomères sont exprimées en rapport de quantité de matière $n_{monomère\ acide}/n_{styrène}$ pour une quantité de styrène constante. Le nom des échantillons synthétisés a été choisi en fonction des monomères utilisés styrène (S), acide acrylique (AA) ou acide méthacrylique (MAA) et du nombre de groupements COOH présents à la surface de la particule finale (COOH/nm²) (*cf.* Figure 3-5 paragraphe 3.1 page - 140 -)

Tableau 3-1 : Monomère impliqué dans la synthèse des nanoplastiques modèles avec S: styrène, monomère acide: AA: acide acrylique et MAA: acide méthacrylique. Pour une quantité de styrène constante (n_s = 87 mmol)

#	Rapport n_{AA}/n_S	Rapport n_{MAA}/n_S	Rapport $n_{AA}/(n_S + n_{AA})$	Rapport $n_{MAA}/(n_S + n_{MAA})$
PSAA2	0.092	0	0.083	0
PSAA7	0.152	0	0.132	0
PSAA36	0.217	0	0.178	0
PSAA56	0.235	0	0.190	0
PSMAA2	0	0.216	0	0.18

À la fin des synthèses, les nanoplastiques sont purifiés par centrifugation, cette étape a été optimisée par suivi des caractéristiques du surnageant après chaque cycle. La Figure 3-2 montre qu'au moins six cycles de 30 min de centrifugation à 12000 tr min^{-1} sont nécessaires pour purifier l'échantillon.

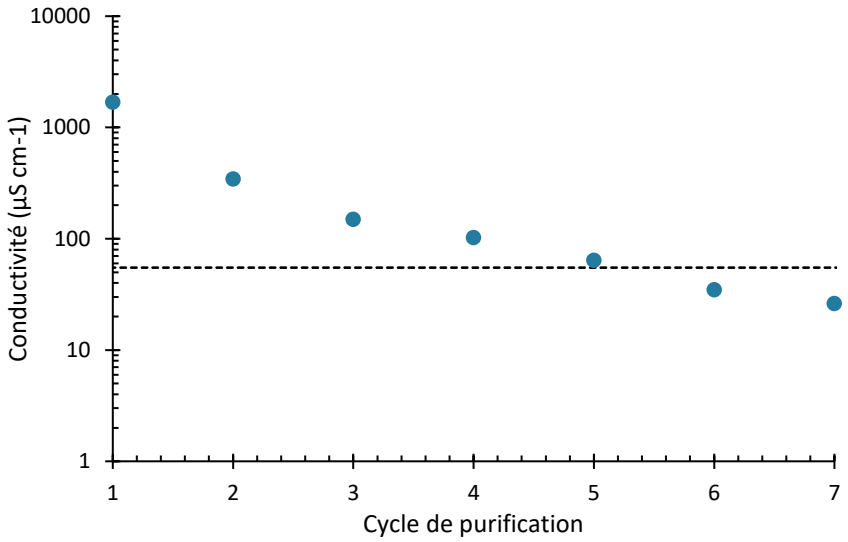

Figure 3-2 : Suivi de la conductivité du surnageant lors de la purification du PSAA56 par centrifugation

Dans ce chapitre, nous avons utilisé cinq nanoplastiques modèles : quatre ont été obtenus avec l'acide acrylique (PSAA2, PSAA7, PSAA36 et PSAA56) et un avec l'acide méthacrylique (PSMAA2).

2.3. Méthode descendante : plastique dégradé mécaniquement.

2.3.1. Choix de la méthode descendante.

Les nanoplastiques sphériques développés dans la partie précédente nous permettent d'étudier l'effet de leur aspect en surface, de leur hydrophobie et de leur fonctionnalité de la surface sur les phénomènes d'homoagrégation. Dans cette partie, nous avons choisi d'ajouter un nouveau paramètre d'étude : la forme des nanoplastiques nous permettant ainsi de nous rapprocher un peu plus des nanoplastiques que l'on pourrait retrouver dans l'environnement. L'utilisation de la dégradation mécanique permet d'obtenir simplement et à moindre coût des nanoplastiques de PS modèles de forme polymorphique et sans tensio-actif.

2.3.2. Lots de nanoplastiques modèles par méthode descendante.

Pour cette partie, nous avons utilisé une méthode descendante développée par El Hadri et *al.* (El Hadri *et al.*, 2020). Cette méthode utilise la dégradation mécanique de microplastiques primaires (neufs, issus de l'industrie). Le protocole est décrit dans le paragraphe 6.1.2 (page - 157 -).

Le lot de nanoplastiques obtenu par méthode descendante est appelé PS-m.

3. CARACTÉRISATION DES MODÈLES.

3.1. Modèles obtenus par émulsion.

Cinq modèles ont été synthétisés et purifiés : quatre avec l'AA comme comonomère et un avec le MAA. Les images obtenues par microscopie montrent qu'ils sont sphériques (Figure 3-3).

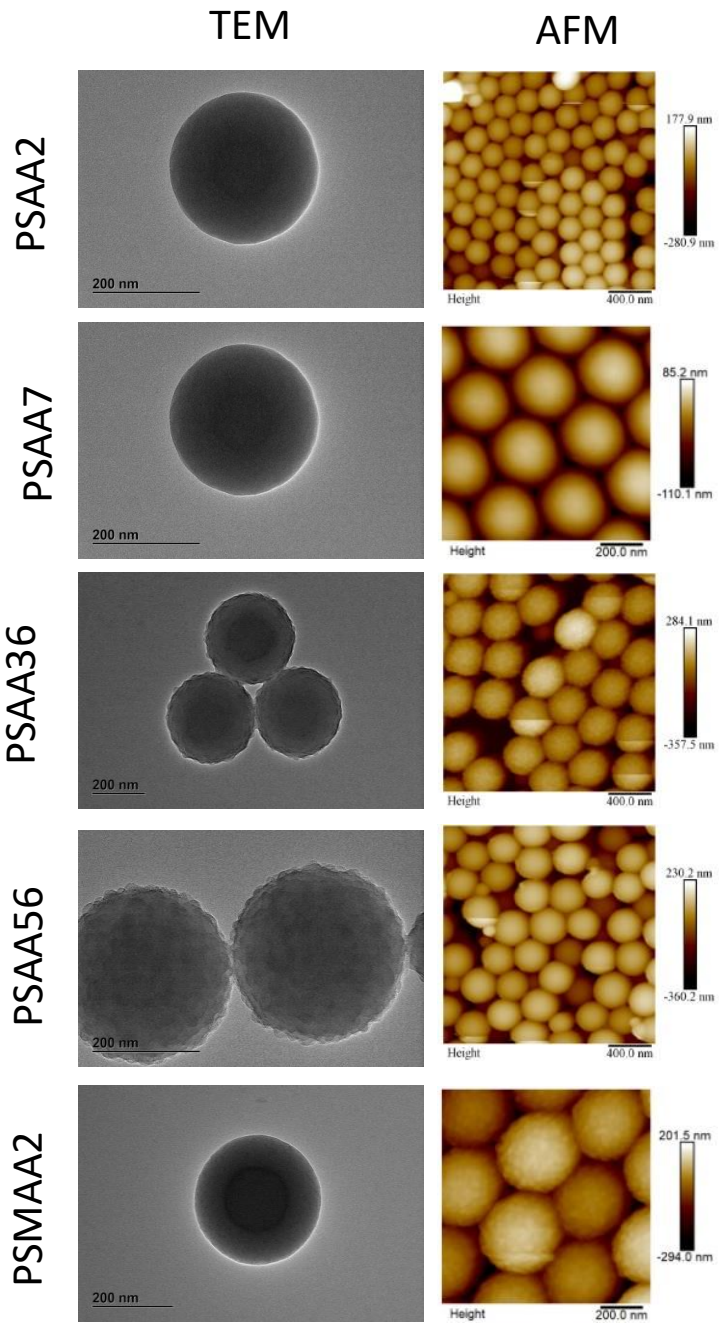

Figure 3-3 : Images des nanoplastiques modèles obtenus par polymérisation en émulsion (PSAA2, PSAA7, PSAA36, PSAA56 et PSMAA2). La première colonne correspond aux images obtenues en MET. La deuxième colonne correspond à des images de topographie obtenue en AFM

Nous avons ensuite déterminé les distributions de taille des cinq modèles par MET, DLS et AF4-SLS. Les diamètres moyens obtenus sont compris entre 200 et 324 nm par MET, 220 à 390 nm par DLS et 338 et 473 par AF4-SLS (Figure 3-4) et des dispersités inférieures à 0.05 en DLS et proche de 1 en AF4-SLS et MET. Ces caractéristiques ont été obtenues d'après les développements analytiques décrits dans le chapitre 2.

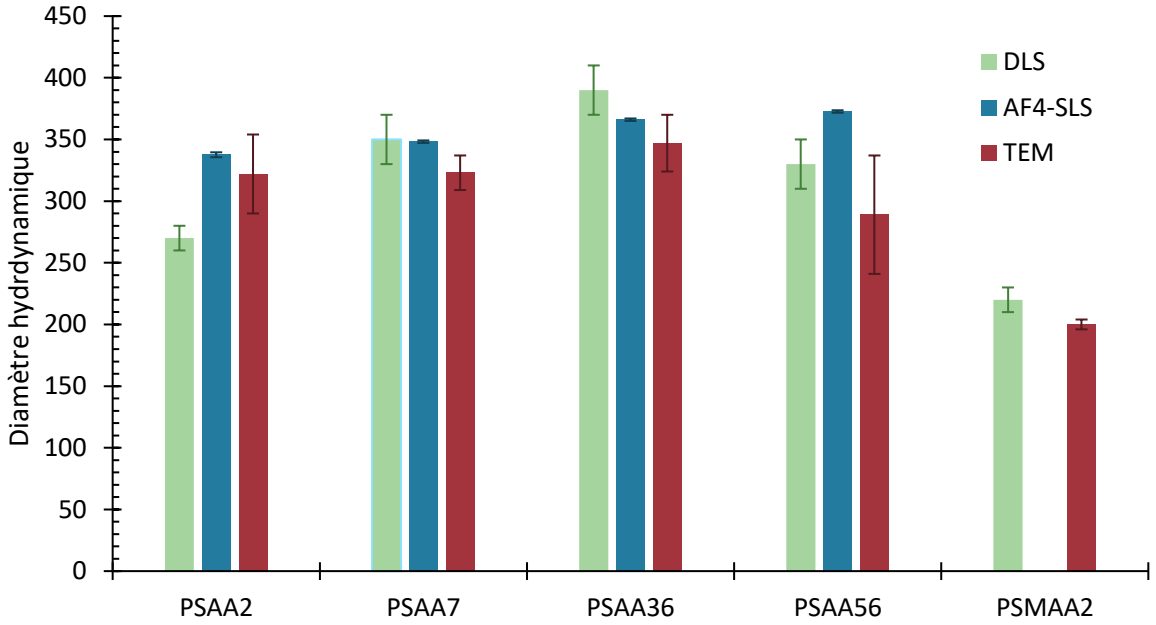

Figure 3-4 : Diamètres mesurés par DLS, AF4-SLS et imagerie MET des échantillons obtenus par polymérisation en émulsion

L'acide méthacrylique est plus hydrophobe que l'acide acrylique. Au début de la nucléation la précipitation des oligomères de PSMAA est alors plus facile que celle des oligomères de PSAA, ce qui conduit à la formation de plus petites particules finales de nanoplastiques (Wang & Pan, 2001). Ainsi pour des ratio MAA/S et AA/S similaires ($n_{MAA}/n_S = 0.216$ *vs* $n_{AA}/n_S = 0.217$) le diamètre est significativement plus petit pour le PSMAA2 que pour le PSAA36 (220 nm *vs* 390 nm, Tableau 3-3).

Tous les modèles présentent un potentiel zêta dans une solution tampon phosphate (PB, 10 mmol L^{-1}) à pH=7 compris entre -31 et -20 mV, ce qui est caractéristique de la stabilité colloïdale en phase aqueuse (Bhattacharjee, 2016). Les différents rapports n_{AA}/n_S engagés pour les synthèses ont permis d'obtenir des nanoplastiques ayant entre 80 et 1700 µmol g^{-1} de groupements carboxyliques à la surface des nanoplastiques (c'est-à-dire entre 2 et 56 COOH par nm²) (Tableau 3-3). Comme précisé précédemment, le nom des échantillons synthétisés a été choisi en fonction des monomères utilisés styrène (S), acide acrylique (AA) ou acide méthacrylique (MAA) et du nombre de groupements COOH présents à la surface des particules finales (COOH/nm²).

L'augmentation de la quantité de COOH à la surface des nanoplastiques à base d'AA varie de manière exponentielle avec le rapport n_{AA}/n_S (Figure 3-5). La quantité de MAA engagé pour la synthèse du PSMAA2 est similaire à la quantité de AA pour le PSAA36 cependant, on peut remarquer que le PSMAA2 possède une quantité de groupements COOH largement inférieure à celle du PSAA36 (2 COOH / nm² *vs.* 36 COOH / nm²).

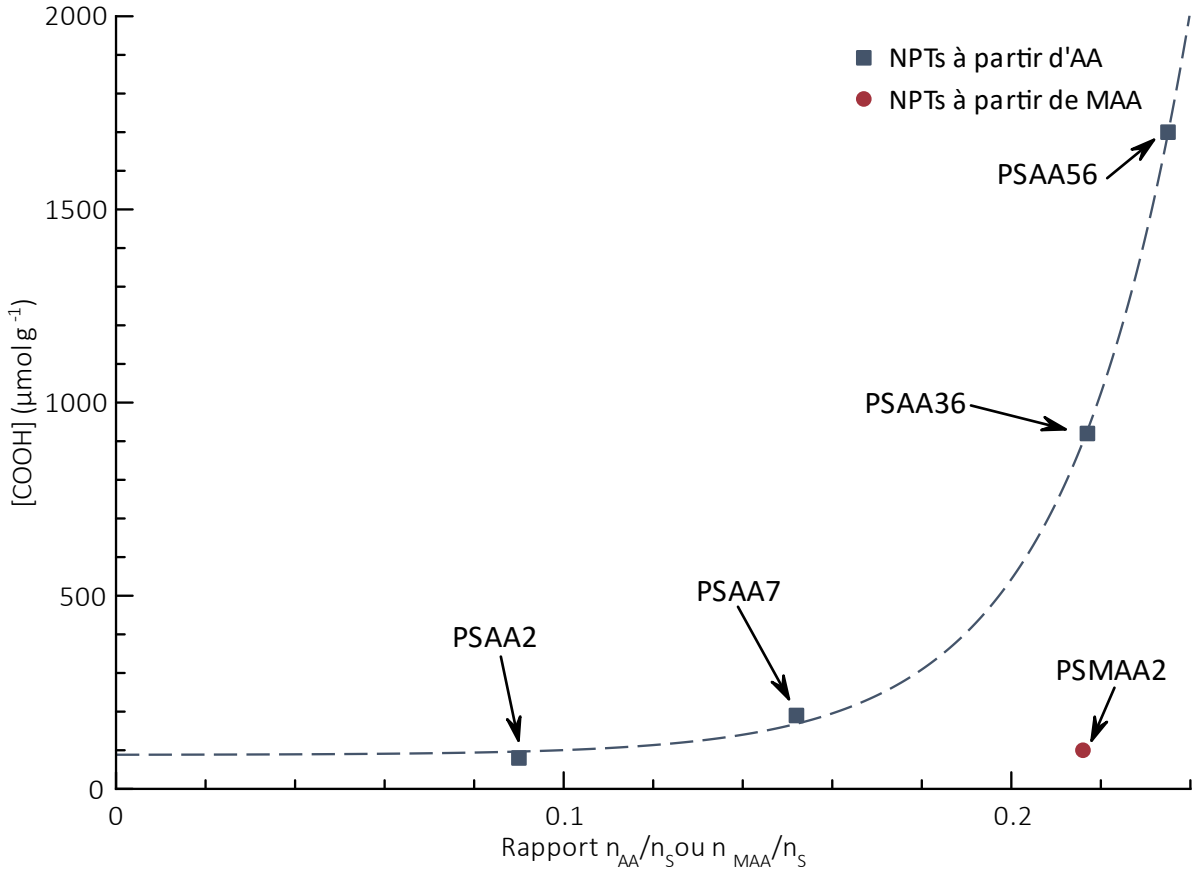

Figure 3-5 : Concentration en groupements COOH à la surface des nanoplastiques modèles en fonction des rapports $n_{monomère\ acide}/n_{styrène}$ engagés pour les synthèses avec AA : acide acrylique et MAA acide méthacrylique. La ligne pointillée représente l'ajustement par itération des données d'après l'équation $y(x) = 0.365 + 0.151e^{25.1x}$.

Les images de microscopie AFM (Figure 3-3) illustrent l'influence de l'incorporation de l'unité AA sur la morphologie de surface des nanoplastiques. Les échantillons les moins fonctionnalisés (PSAA2 et PSAA7) présentent une morphologie de surface lisse, tandis que les échantillons les plus fonctionnalisés (PSAA36 et PSAA56) présentent une surface rugueuse similaire à celle d'une particule de type « framboise ». Ce changement de morphologie peut s'expliquer par le nombre de molécules COOH susceptibles de se trouver à la surface du nanoplastique. Lors de la synthèse, des motifs AA sont préférentiellement incorporés à la surface des particules (Goodall *et al.*, 1977). Pour les nanoplastiques plus riches en AA, la rugosité de la surface permet de minimiser l'encombrement stérique, généré par

le nombre élevé de fonctions acryliques. Cela suggère qu'il y a une saturation du nombre d'unités AA à la surface. Ces résultats sont en corrélation avec ceux obtenus dans une étude précédente pour la série de nanoplastiques de même type (Pessoni *et al.*, 2019).

L'hydrophobie de surface de nos modèles a été déterminée par une méthode de caractérisation directe développée en collaboration avec le Joint Research Center (JRC) (*cf.* Chapitre 2) et est reportée dans le (**Tableau 3-2** : Hydrophobie de surface des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion représentée par l'énergie libre de surface des nanoplastiques (γ_N^{AB}) et l'angle de contact équivalent (CA_{eq}). **Tableau 3-2**). Pour rappel, cette méthode implique la mesure de l'affinité des nanoplastiques pour différentes surfaces, ou collecteurs, conçus avec des charges et énergie libre de surface spécifique. La méthode analyse l'efficacité de liaison des nanoplastiques sur ces différents collecteurs. L'affinité est évaluée en fonction du temps et est corrélée à leur hydrophobie pour donner accès à un résultat quantitatif. La combinaison de différentes études (Fowkes, 1964 ; Good *et al.*, 1958 ; Owens & Wendt, 1969) nous a permis d'établir la relation entre les composantes dispersives et polaire de l'énergie libre de surface avec un angle de contact équivalent comme présenté dans l'équation 2-15 (page - 117 -). La composante polaire de l'énergie libre de surface des nanoplastiques (γ_N^{AB}) obtenus par polymérisation en émulsion varie de manière significative entre le PSAA2 et le PSAA56, de 2.2 à 37 mJ m^{-2} respectivement, ce qui correspond à des angles de contact allant de 87 à 16°.

Tableau 3-2 : Hydrophobie de surface des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion représentée par l'énergie libre de surface des nanoplastiques (γ_N^{AB}) et l'angle de contact équivalent (CA_{eq}).

Échantillon	γ_N^{AB} (mJ m^{-2})	CA_{eq} (°)
PSAA2	2.2 ± 0.4	87 ± 2
PSAA7	28 ± 4	36 ± 6
PSAA36	35 ±5	21 ± 10
PSAA56	37 ± 5	16 ±12
PSMAA2	23 ±3	46 ±5

L'énergie libre de surface peut être corrélée avec la fonctionnalité de surface pour mettre en évidence l'impact des groupements COOH sur l'hydrophobie de la surface des nanoplastiques. La Figure 3-6 montre une croissance rapide de γ_N^{AB} avec l'augmentation du nombre de groupements COOH à la surface des nanoplastiques, représentant une diminution de l'hydrophobie, jusqu'à un plateau correspondant aux PSAA36 et PSAA56 avec un γ_N^{AB} moyen de 36.7 mJ m^{-2} ($CA_{eq\ moyen}$= 18 °).

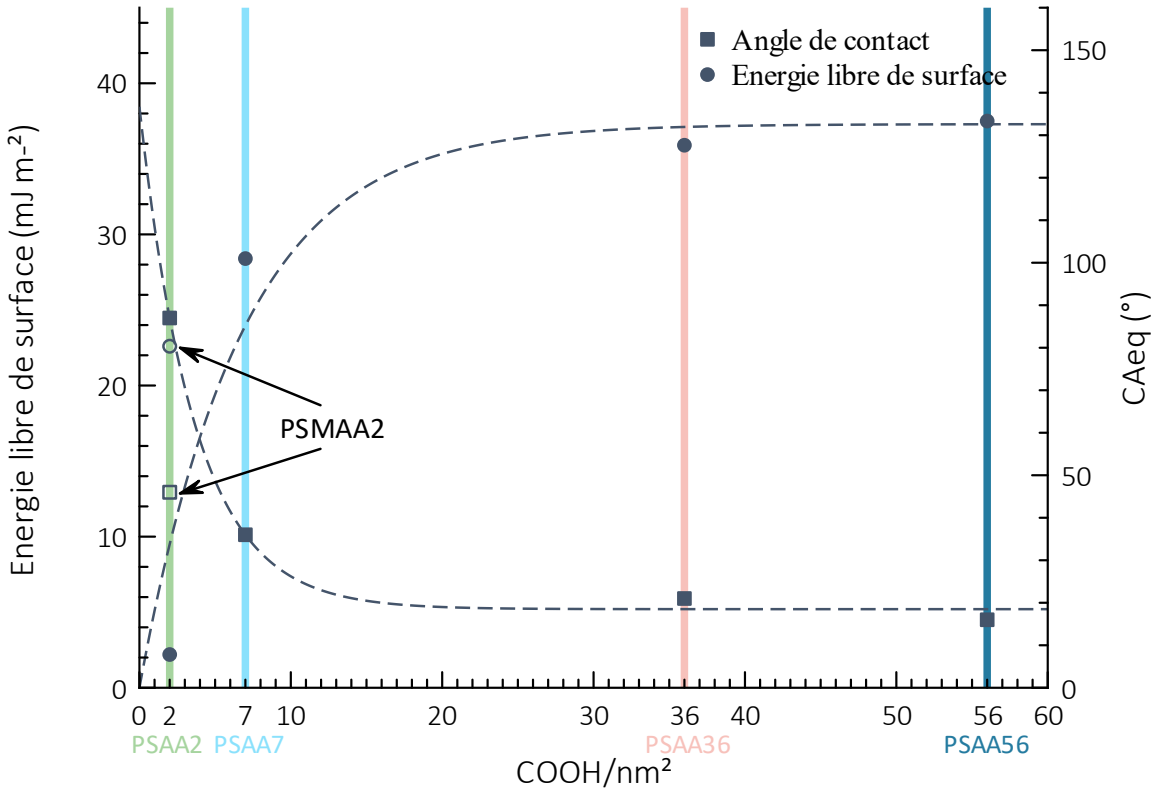

Figure 3-6 : Corrélation entre l'hydrophobie des nanoplastiques exprimée grâce à la composante polaire de l'énergie libre (●) et l'angle de contact équivalent (■) et leur fonctionnalité de surface. Symboles pleins : comonomère AA, symboles vides : comonomère MAA.

Un échantillon a été obtenu en présence du MAA plus hydrophobe que le AA, les oligomères S-co-MAA précipitent à plus petite masse molaire, créant ainsi plus de nanoplastiques qu'une synthèse conduite avec le même ratio AA/S, et à même concentration en Styrène (S)(Ceska, 1974). C'est bien ce qui est observé pour les deux synthèses faites avec $n_{AA}/n_S = 0.24$ et $n_{MAA}/n_S = 0.22$, dont les produits de synthèse sont appelés PSAA56 et PSMAA2 avec respectivement des tailles de 330 ± 20 et 220 ± 10nm. (Tableau 3-3). Néanmoins, si ces deux synthèses ont été faites à même ratio monomère acide / styrène, les nanoplastiques finaux ont des taux de fonctionnalisation de surface drastiquement différents : 56 et 2 COOH/nm² pour PSAA56 et PSMAA2 respectivement (Tableau 3-3, Figure 3-5). Ici à nouveau le caractère plus hydrophobe du MAA comparé au AA est en cause et le MAA sera plus aisément présent au sein des nanoplastiques, rendant les fonctions carboxyliques peu ou non ionisables. Ne contenant que 2 COOH/nm² à leur surface, les nanoplastiques PSMAA2 ont une surface lisse comme les nanoplastiques à base de AA à faible valeur de COOH/nm².

Il est intéressant maintenant de comparer le PSAA2 et le PSMAA2 puisqu'ils ont la même quantité de COOH ionisables à leur surface (2 COOH/nm²). En toute logique, le PSAA2 devrait être plus hydrophile que le PSMAA2, pourtant les résultats reportés dans Tableau 3-3 montrent l'inverse avec des tensions superficielles de 2.2 et 22.6 mJ m^{-2} respectivement pour PSAA2 et PSMAA2.

Revenons aussi aux conditions de synthèse, PSAA2 est obtenu avec $n_{AA}/n_S = 0.09$ tandis que PSMAA2 est obtenu avec $n_{MAA}/n_S = 0.22$. Si les fonctions de surface ionisables COOH des échantillons finaux sont similaires (fonctionnalisation de l'extrême surface : 2 COOH/nm²), le cœur de PSMAA2 sera plus riche en unités acides (non ionisables) que le cœur PSAA2. Ces deux modèles possèdent une surface lisse, la différence d'hydrophobie observée n'est donc pas due à l'aspect de la surface. Le PSAA2 et le PSMAA2 ayant le même nombre de fonctions ionisables à leur surface, les groupements COOH ne peuvent pas uniquement être responsables de la différence d'hydrophobie entre les deux échantillons. Les séquences de MAA sont plus hydrophobes que celles des AA, il est donc envisageable que le MAA s'incorpore plus au cœur des nanoplastiques que le AA qui aura tendance à rester à l'extrême surface. Le MAA reste cependant plus hydrophile que le styrène. Au final, la teneur en MMA non ionisable sera plus importante en surface car la proportion engagée dans la synthèse est plus élevée. Cette différence peut expliquer la tendance des résultats de tension superficielle : PSAA2 plus hydrophobe que PSMMA2. La Figure 3-7 schématise la répartition des groupements COOH ionisables et non ionisables à la surface et au cœur du PSAA2 et du PSMAA2.

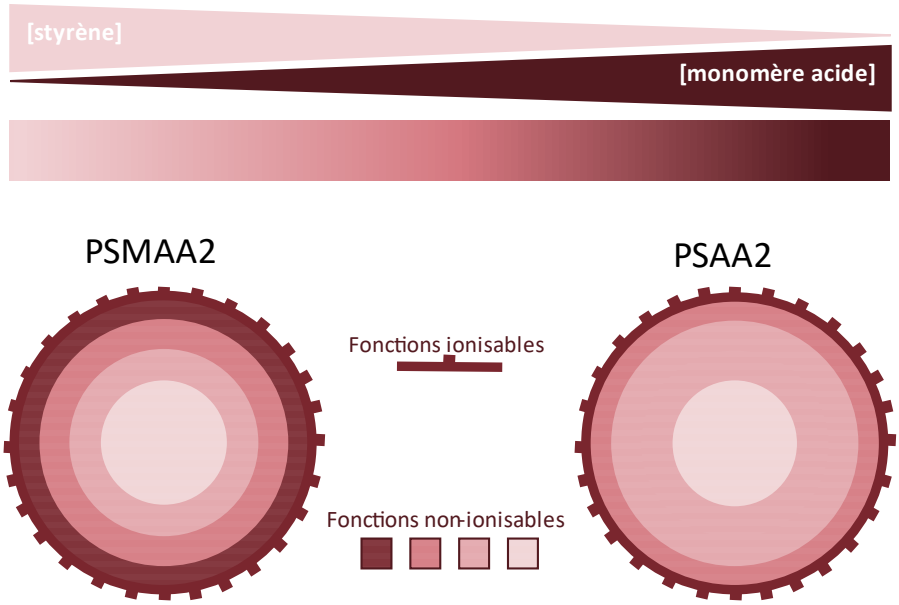

Figure 3-7 : Répartition des fonctions ionisables et non ionisables entre la surface et le cœur du PSMAA2 et du PSAA2

Le Tableau 3-3 résume les caractéristiques des nanoplastiques modèles sphériques synthétisés par polymérisation en émulsion.

Tableau 3-3 : Propriétés des nanoplastiques modèles obtenus par émulsion (PSAA2, PSAA7, PSAA36, PSAA56, PSMAA2) D_h : diamètre hydrodynamique mesuré par DLS. [COOH] : concentration en groupements COOH ionisables à la surface. ζ : potentiel zêta dans un tampon phosphate 10 mmol L^{-1} à pH=7. γ_N^{AB} la composante d'énergie libre de surface, représentant l'hydrophobie. CAeq l'angle de contact équivalent.

	Taux de solide m%	D_h (nm) *PDI*	[COOH] µmol g^{-1} **COOH/ nm²**	ζ(mV) pH=7, [PB]=10 mmol L^{-1}	γ_N^{AB} (mJ m^{-2})	$CA_{eq.}$ (°)	Morphologie / Aspect de surface
PSAA2	3.1	270 ± 10 *0.007*	80 ± 20 **2**	-31 ± 2	2.2	87	Sphérique / Lisse
PSAA7	7.9	350 ± 20 *0.008*	190 ± 20 **7**	-26 ± 2	28.4	36	Sphérique / Lisse
PSAA36	8.3	390 ± 20 *0.003*	920 ± 100 **36**	-21 ± 3	35.9	21	Sphérique / Rugueux
PSAA56	7.5	330 ± 20 *0.008*	1700 ± 20 **56**	-20 ± 3	37.5	16	Sphérique /Rugueux
PSMAA2	5.8	220 ± 10 *0.009*	100 ± 20 **2**	-28 ± 3	22.6	46	Sphérique / Lisse

3.2. Modèles obtenus par dégradation

Un échantillon a été préparé par dégradation mécanique. Il est appelé PS-m. Les distributions en taille du PS-m ont été déterminées par DLS, SLS et imagerie MET (Figure 3-8). Comme vu dans le chapitre 2, chacune de ces techniques nous donne des informations complémentaires.

Le PS-m est un échantillon polymorphique (Figure 3-8).

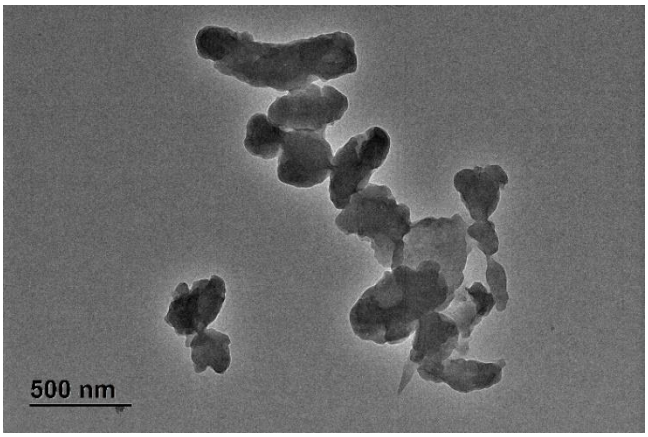

Figure 3-8 : Image MET des nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation (PS-m).

L'échantillon présente un diamètre hydrodynamique en z moyen de 370 nm et un diamètre de giration moyen de 404 nm Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues pour les nanoplastiques obtenus par émulsion et reportés ci-dessus. Par contre, le mécanisme de

fragmentation mécanique entraîne la formation d'objets polydisperses (PDI = 0.09 en DLS, Đ =2.90 en AF4-SLS) (Figure 3-9).

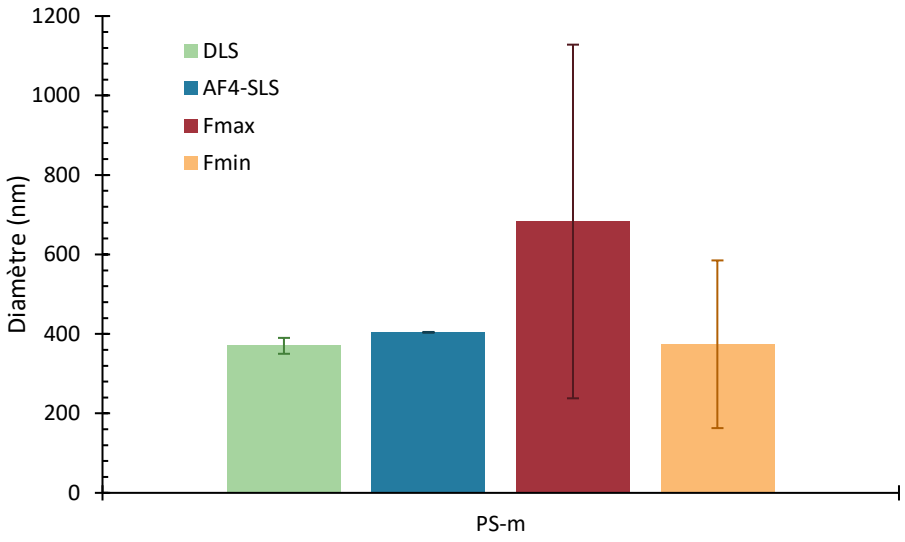

Figure 3-9 : Diamètre hydrodynamique du PS-m mesuré par DLS et AF4-SLS. Diamètre de Féret minimum et maximum mesurés par MET

La forme des nanoplastiques polymorphiques rend impossible la comparaison des diamètres géométriques entre ces échantillons et les nanoplastiques sphériques. Ici, l'imagerie MET nous permet de déterminer les diamètres de Féret. Pour rappel le diamètre de Féret correspond à la distance entre deux tangentes parallèles de côtés opposés du nanoplastique. Le rapport entre le diamètre minimum et le diamètre maximum du Féret est une autre mesure de la forme de la particule. Le rapport d'aspect ψA ($0 < \psi A \leq 1$) est défini par le rapport entre le diamètre minimal et le diamètre maximal de Féret $\psi A = Fmin/Fmax$. Il donne une indication de l'élongation de la particule définie comme son anisotropie. La Figure 3-10 nous montre que ψA n'est pas corrélé à la taille des nanoplastiques et fluctue dans un intervalle 0.34-0.85. Chaque taille de nanoplastique fragmenté (polymorphique) présente ainsi une forte hétérogénéité en rapport d'aspect qui varie peu avec la taille (Figure 3-10). On peut donc émettre l'hypothèse que le procédé de fragmentation mécanique de microplastique primaire conduit à une forte dispersité de l'anisotropie des nanoplastiques formés indépendamment de leurs tailles.

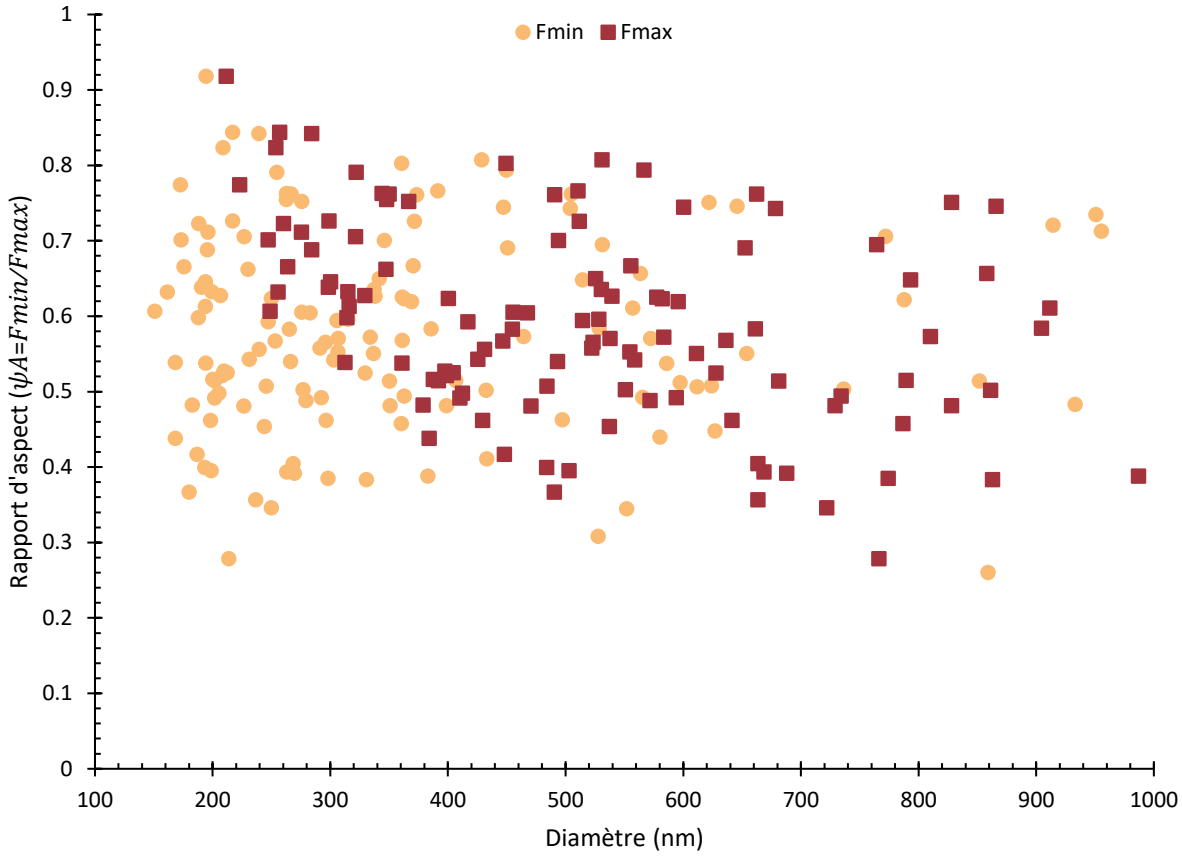

Figure 3-10 : Facteur d'aspect du PS-m déterminé par MET. Légende : ● F_{min} est le diamètre de Féret minimal et ■ F_{max} le diamètre de Féré maximal du nanoplastique

Comme pour les nanoplastiques obtenus par polymérisation en émulsion nous avons aussi caractérisé la surface du PS-m. Les résultats obtenus sont compris dans les mêmes gammes que pour les nanoplastiques synthétisés et reportées dans Tableau 3-4.

Tableau 3-4 : Propriétés de l'échantillon de nanoplastiques modèles obtenus par fragmentation (PS-m). D_h : diamètre hydrodynamique mesuré par DLS. [COOH] : concentration en groupements COOH à la surface des nanoplastiques modèles. ζ : potentiel zêta dans un tampon phosphate 10 mmol L^{-1} à pH=7. γ_N^{AB} la composante d'énergie libre de surface, représentant l'hydrophobie. CA_{eq} l'angle de contact équivalent.
* les caractéristiques des nanoplastiques sphériques sont détaillées dans le Tableau 3-3 (page - 144 -)

Caractéristiques	Gamme pour les nanoplastiques sphériques*	PS-m
D_h (nm)	220 – 390	370 ± 20
PDI	0.003 – 0.009	*0.09*
[COOH] (µmol g^{-1})	80 – 1700	390 ± 20
ζ(mV) pH=7,[PB] = 10 mmol L^{-1}	-31 – -20	-22 ± 3
γ_N^{AB} (mJ m^{-2})	2.2 – 37.5	31.8
CA_{eq} (°)	16 – 87	30
Morphologie	Sphérique	Polymorphique

Le PS-m présente un potentiel zêta dans un tampon phosphate (PB, 10 mmol L^{-1}) à pH=7 de -22 mV, ce qui est caractéristique de la stabilité colloïdale en phase aqueuse (Bhattacharjee, 2016). La concentration de groupements carboxyliques à la surface est de 390 µmol g^{-1}. Du fait de l'anisotropie des nanoplastiques, nous ne pouvons estimer cette fonctionnalité par nm². De plus, le procédé de fragmentation étant probablement aléatoire il ne semble pas correct de considérer que tous les nanoplastiques développent le même taux de fonctionnalisation. Comme pour les nanoplastiques modèles préparés par polymérisation en émulsion, l'hydrophobie de surface du PS-m a été déterminée (Tableau 3-4). La composante polaire d'énergie libre de surface du PS-m (γ_N^{AB}) est de 31.8 mJ m² ce qui correspond à un angle de contact de 30°. Ces valeurs sont comprises entre celles du PSAA7 et PSAA36 (Tableau 3-3).

Au vu des caractéristiques considérées (taille, surface), le PS-m et les échantillons synthétisés par émulsion se différencient par leurs morphologies polymorphiques vs sphériques (Figure 3-8).

4. HOMOAGRÉGATION DES NANOPLASTIQUES DANS L'EAU DE MER

Pour mieux comprendre l'impact des nanoplastiques sur les écosystèmes, il est important d'étudier leur transport et leur accumulation dans l'environnement en partie régis par leur état d'agrégation. Cependant, dans la majorité des études sur l'écotoxicologie des nanoplastiques leur état d'agrégation n'est pas étudié. On est alors amené à se poser la question du comportement d'un nanoplastique dans un milieu salé comme l'eau de mer. En effet, un agrégat de nanoplastiques n'aura pas le même impact

qu'un nanoplastique isolé. Du fait de sa taille il ne sera pas transporté entre les différents compartiments environnementaux ou les milieux : environnement vers organismes vivants ou encore au sein des organismes eux-mêmes, de la même manière.

Cette section présente les effets de paramètres sous-estimés et pertinents tels que la morphologie de surface, l'hydrophobie et l'oxydation des nanoplastiques sur leur comportement d'agrégation dans l'eau de mer synthétique. Les nanoplastiques de taille similaire de PSAA2, PSAA56, PSMAA2 et PS-m décrit précédemment ont été utilisés. Ils présentent des caractéristiques de surface, une morphologie, une fonctionnalité COOH de surface et une énergie de surface différentes.

4.1. Étude de la stabilité des nanoplastiques *via* la concentration critique de coagulation (CCC)

La DLS résolue en temps a été utilisée pour mesurer le diamètre hydrodynamique des nanoplastiques dans une eau de mer artificielle. La concentration en nanoplastiques a été ajustée à dans de l'eau déionisée pour obtenir une concentration finale de 200 ppm après ajout d'une solution électrolytique concentrée (entre 0.1 et 90 g $^{L-}$1) à la composition de l'eau de mer. Le volume total de l'échantillon est de 10 mL et cette solution est laissée sous agitation mécanique pendant 30 s avant la mesure par DLS effectuée toutes les 60s pendant 1h.

Au début du processus d'agrégation, l'augmentation du diamètre hydrodynamique en fonction du temps est proportionnelle à la constante d'agrégation (k) (Yu *et al.*, 2019). La cinétique d'agrégation est caractérisée par l'efficacité d'attachement (α_i) à une concentration donnée C_s. α est déterminée d'après l'équation suivante :

$$\alpha_i = \frac{k_i}{k_{rapide}} \qquad 3\text{-}1$$

Avec K_i la constante d'agrégation de l'échantillon et K_{rapide} la constante lorsque la cinétique d'agrégation est maximale.

La valeur de la CCC est ensuite obtenue en ajustant la courbe avec l'équation 3-2 définie par Grolimund et al. et utilisée par Liu et al. pour déterminer la CCC de nanoplastiques vieillis sous UV (Grolimund *et al.*, 2001 ; Liu *et al.*, 2019).

$$\alpha = \frac{1}{1 + \left(\frac{CCC}{C_s}\right)^{\beta}} \qquad 3\text{-}2$$

Avec C_s, la concentration massique en électrolyte, β la pente de d log(α)/d log(C_s).

4.2. Étude de l'homoagrégation des nanoplastiques

Les nanoplastiques peuvent s'agréger de deux manières différentes on parle alors d'homoagrégation quand il s'agit d'interactions « particule-particule » entre particules du même type, ou d'hétéroagrégation quand des particules de nature ou d'origines variées sont considérées. Ces interactions (répulsions *vs* attractions) entre particules sont contrôlées par leurs propriétés intrinsèques telles que leur hydrophobie, leur taille et leurs propriétés de surface.

Dans ces travaux de thèse, nous avons choisi d'étudier l'homoagrégation plutôt que l'hétéroagrégation des nanoplastiques comme première approche nécessaire.

Le potentiel zêta est usuellement utilisé dans la littérature comme indicateur de stabilité pour les systèmes colloïdaux. Une suspension colloïdale est considérée comme très stable si le potentiel zêta est supérieur à ± 30 mV, stable pour un potentiel zêta compris entre ± 10 et ± 30 mV et instable quand le potentiel zêta est inférieur à ± 10 mV (Bhattacharjee, 2016). Le potentiel zêta des PSAA2, PSAA56 et PSMAA2 a été mesuré en milieu salé aqueux (eau salée, EM150,) dont la composition saline est similaire à celle de l'eau de mer (*cf.* paragraphe *6.2* page - 158 -). Sur la Figure 3-11 on peut observer une diminution du potentiel zêta et donc de la charge de surface correspondant à l'écrantage des charges par les cations présents en solution ainsi qu'une forte déstabilisation des suspensions à partir de 0.6 g L^{-1} de sel dans le milieu, soit une force ionique d'environ 10 mmol L^{-1}.

À concentration saline constante, on remarque que le PSAA2 est plus stable que le PSAA56 et le PSMAA2. Ce comportement ne peut pas être expliqué par les seules mesures d'hydrophobie de surface puisque le PSAA2 est le plus hydrophobe.

Bien que le PSAA2 et le PSMAA2 aient le même nombre de groupements COOH ionisables à leur surface, le milieu salé crée une augmentation d'environ 1.5 unité pH par rapport au milieu eau ultrapure, les caractéristiques intrinsèques de l'AA et du MAA (plus hydrophobe) peuvent être à l'origine d'une différence du nombre de groupements ionisables en milieu salé. Cependant, la meilleure stabilité du PSAA2 par rapport au PSAA56 ne peut être expliquée à ce stade.

En 2016, Lowry *et al*. ont mis en garde contre les mauvaises interprétations des résultats de zêtamétrie (Lowry *et al.*, 2016). Ils mettent en évidence deux points qui peuvent influencer les mesures de potentiel zêta et qui méritent d'être soulignés ici. Le premier est un effet de taille l'agrégation de

nos modèles qui peut entraîner une diminution de la concentration particulaire en solution et diminuer le ratio signal/bruit. L'agrégation étant un processus dynamique, on peut s'attendre à ce que le potentiel zêta évolue de la même manière. Le deuxième point évoqué par Lowry *et al.* concerne la force ionique (FI). Lorsque les électrolytes sont à une concentration élevée (supérieure à 100 mmol L^{-1}) , la mobilité électrophorétique des nanoplastiques peut être modifiée et perturber les mesures du potentiel zêta (Long *et al.*, 2006 ; Lowry *et al.*, 2016). Ces mesures restent donc une analyse qualitative à utiliser avec grande précaution compte tenu du nombre d'interférents rendant cette propriété insuffisante pour comprendre les phénomènes d'homoagrégation des nanoplastiques.

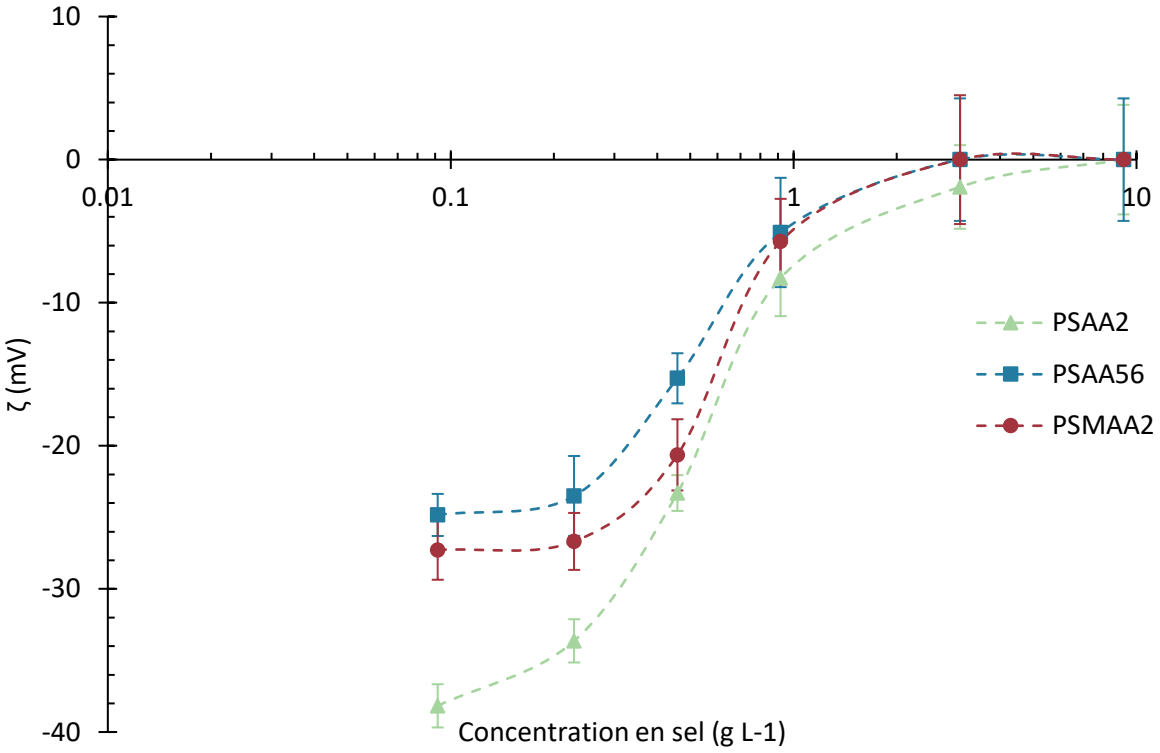

Figure 3-11 : Évolution du potentiel zêta (ζ) en fonction de la concentration en sel de l'EM150. La composition en sel de l'EM150 est décrite dans le paragraphe 6.2 page - 158 - (pH = 8, T = 25 °C, potentiel appliqué E = 20.27 V cm^{-1}, conditions de mesure 2 fois 10 acquisitions)

Notre étude s'est concentrée sur la détermination de la concentration critique de coagulation (CCC). La CCC représente la concentration minimale en électrolyte nécessaire pour déstabiliser une solution colloïdale. Elle est obtenue en mesurant la vitesse d'agrégation d'un échantillon (ici des nanoplastiques) à différentes concentrations en sel. La CCC a été mesurée pour quatre de nos échantillons : trois obtenus par synthèse (PSAA2, PSAA56 et PSMAA2) et un obtenu par dégradation mécanique (PS-m) qui possèdent différentes caractéristiques de surface, de morphologie, de fonctionnalité et d'énergie de surface (Tableau 3-3 et Tableau 3-4).

Pour les trois échantillons synthétisés, les expériences ont été possibles à 200 ppm, ces conditions ont été fixées par les concentrations des lots après élaborations des modèles.

La Figure 3-12 montre un exemple de cinétiques d'agrégation obtenues pour le PSMAA2 et à différentes dilutions d'EM150 dans de l'eau ultrapure (composition d'EM150 *cf.* paragraphe 6.2, page - 158 -). Pour les trois modèles, on remarque que la vitesse d'agrégation augmente avec la salinité.

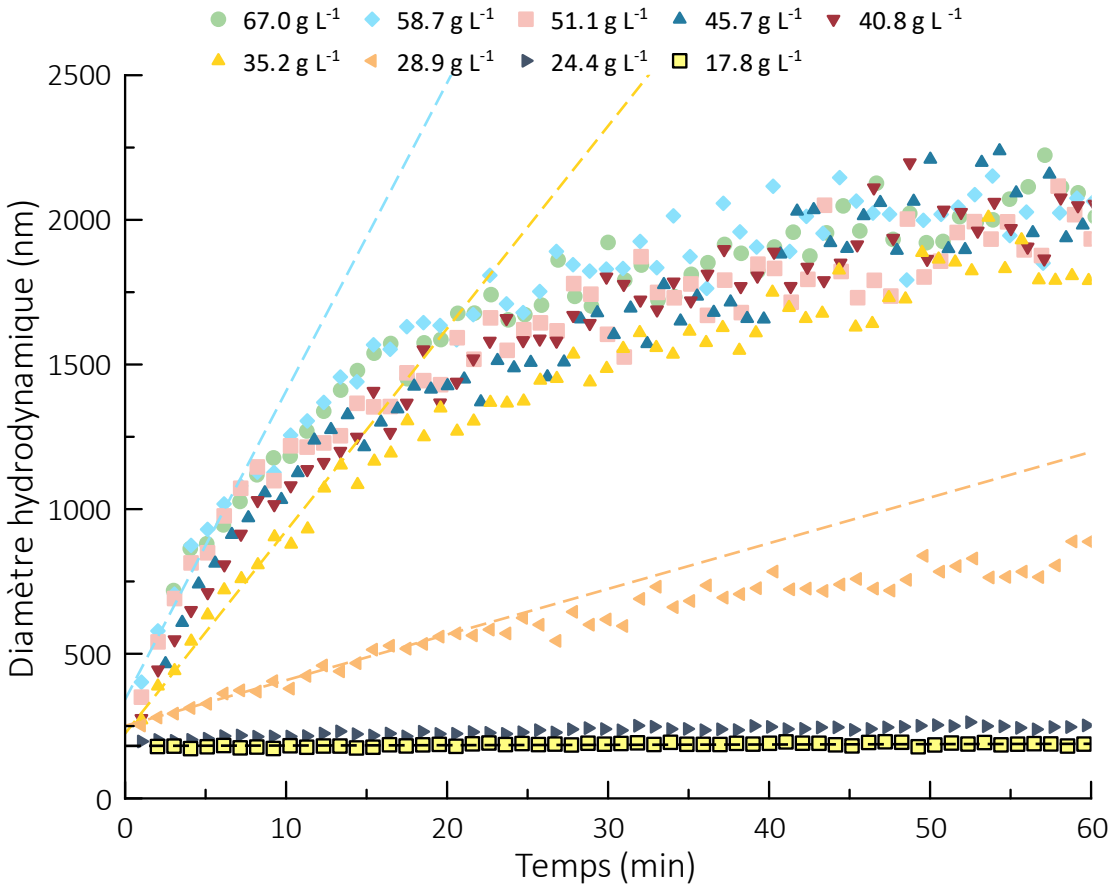

Figure 3-12 : Cinétiques d'agrégation du PSMAA2 à différentes concentrations d'EM150. La composition en sel de l'EM150 est décrite dans le paragraphe 6.2 page - 158 -

Le procédé d'élaboration par fragmentation mécanique du PS-m ne permet pas d'obtenir des concentrations supérieures à quelques dizaines de ppm. Les cinétiques d'agrégation du PS-m (Figure 3-13) sont donc effectuées à une concentration environ 40 fois inférieure à celles des échantillons synthétisés (PSAA2, PSAA56 et PSMAA2). Comme attendu dans ces conditions de concentration, les cinétiques d'agrégation sont plus lentes, mais une modification significative de la taille est observée pour les concentrations en sel supérieures à 10.2 g L^{-1}. En 20 min, la taille a augmenté d'un facteur 1.1 et 1.4 pour des concentrations en EM150 de 10.2 et 45.3 g L^{-1} respectivement.

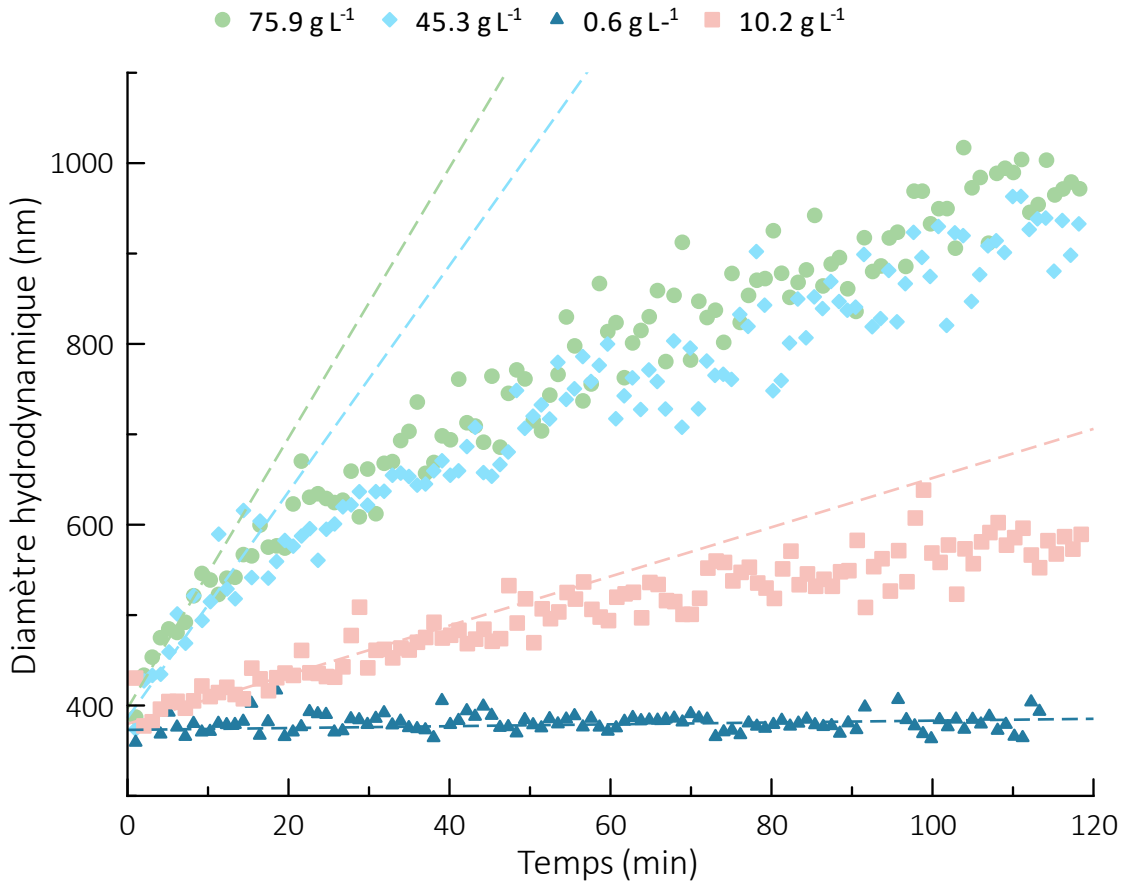

Figure 3-13 : Cinétiques d'agrégation du PS-m à différentes concentrations d'eau salée EM150. La composition en sel de l'EM150 est décrite dans le paragraphe 6.2 page - 158 -

Les cinétiques d'agrégation permettent de déterminer l'efficacité d'attachement ou probabilité d'attachement (α). α est le ratio entre les collisions qui entraînent l'attachement des nanoplastiques et le nombre total de collisions. Il permet ensuite de déterminer les CCC d'après l'équation 3-2 (page - 149 -) (Figure 3-14).

À faible force ionique, les répulsions électrostatiques entre nanoplastiques sont élevées en raison d'une épaisse double couche électronique : la dispersion colloïdale est dite en régime « reaction-limited aggregation » (α <1). À mesure que la force ionique augmente, les répulsions électrostatiques diminuent et la vitesse d'agrégation augmente. Quand la force ionique correspond à la CCC, la barrière énergétique interparticulaire est éliminée, la vitesse d'agrégation est alors maximale (k_{rapide}) et l'agrégation est limitée par la diffusion des nanoplastiques (α ≈ 1). Quand α atteint α =1 la vitesse d'agrégation n'est plus sensible à l'augmentation de la force ionique.

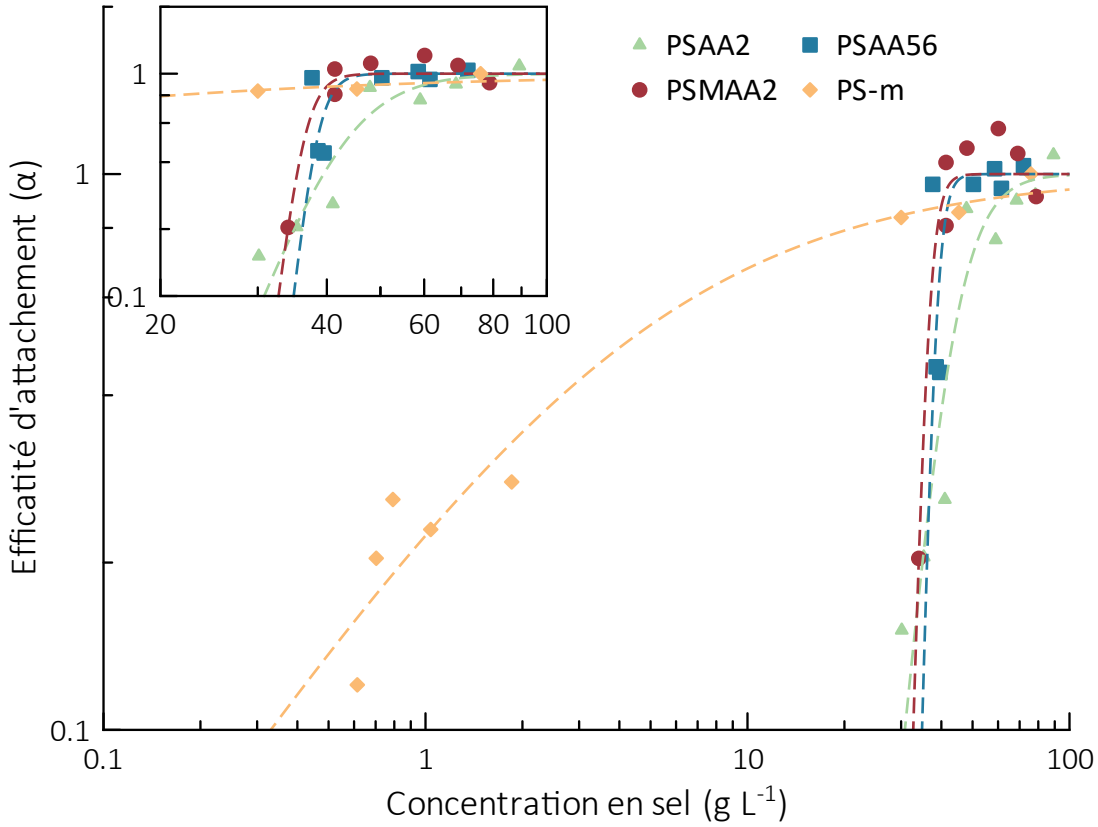

Figure 3-14 : Efficacité d'attachement à différentes concentrations en sel d'une eau salée EM150. Les lignes représentent l'ajustement de la courbe d'après l'équation 3-1. La composition en sel de l'EM150 est décrite dans le paragraphe 6.2 page - 158 -

En milieu aqueux, pour les nanoplastiques sphériques l'agrégation est maximale à partir de concentrations en sel comprises entre 36 et 43 g L^{-1} tandis que pour les nanoplastiques polymorphiques l'agrégation maximale est atteinte à partir de 5 ± g L^{-1} (Tableau 3-5).

Tableau 3-5 : Concentrations critiques de coagulation (CCC) obtenues pour les PSAA2, PSAA56, PSMAA2 et PS-m dans une eau salée (EM150)

	CCC	
	(g L^{-1})	(mmol L^{-1})
PSAA2	43 ± 2	730 ± 37
PSAA56	38 ± 1	665 ± 6
PSMAA2	36 ± 1	630 ± 24
PS-m	5 ± 2	94 ± 20

Ces résultats montrent que l'échantillon fragmenté (PS-m) est le moins stable dans l'eau de mer à concentration en sel de 30 g L^{-1}. À titre de comparaison des valeurs similaires de CCC ont été

obtenues dans la littérature pour des nanoplastiques commerciaux de PS dans des solutions de sels monovalent (NaCl) et divalent ($CaCl_2$) (*cf.* chapitre 1 paragraphe 4.1 page - 53 -). Par exemple, les valeurs obtenues sont comprises entre 7 et 55 g L^{-1} pour NaCl et entre 1 et 8 g L^{-1} pour $CaCl_2$ (Li *et al.*, 2020b ; Liu *et al.*, 2019 ; Mao *et al.*, 2020 ; Nolte *et al.*, 2017 ; Shams *et al.*, 2020 ; Singh *et al.*, 2019 ; Sun *et al.*, 2021 ; Yu *et al.*, 2019).

Le recours à la théorie de la DLVO pour comprendre ce comportement a ses lacunes. En effet, elle ne prend pas en compte l'hétérogénéité de surface et notamment la rugosité des nanoplastiques. Lan *et al*. ont démontré que cette dernière influence la stabilité des nanoplastiques : des échantillons sphériques sans tensio-actif sphériques de type « framboise » sont plus stables en raison d'interactions répulsives plus faibles entre nanoplastiques que des échantillons sans tensio-actif sphériques lisses (Lan *et al.*, 2018). Les auteurs ont montré qu'à faible concentration en sel (NaCl 0.5 mmol L^{-1}) les nanoplastiques lisses sont soumis à des forces de répulsion beaucoup plus fortes que les nanoplastiques de morphologie de type framboise (Figure 3-15b). En effet, les nanoplastiques de morphologie de type framboise ont un plan d'interaction plus éloigné de la surface que les nanoplastiques lisse en raison de leur rugosité, ce qui entraîne une répulsion globale beaucoup plus faible. Dans nos travaux, les modèles sphériques de différentes morphologies de surface (lisse ou rugueuse) et possédant des quantités de fonctions ionisables variées sont stables dans l'eau de mer sans qu'aucun de ces paramètres ne semble être prépondérant.

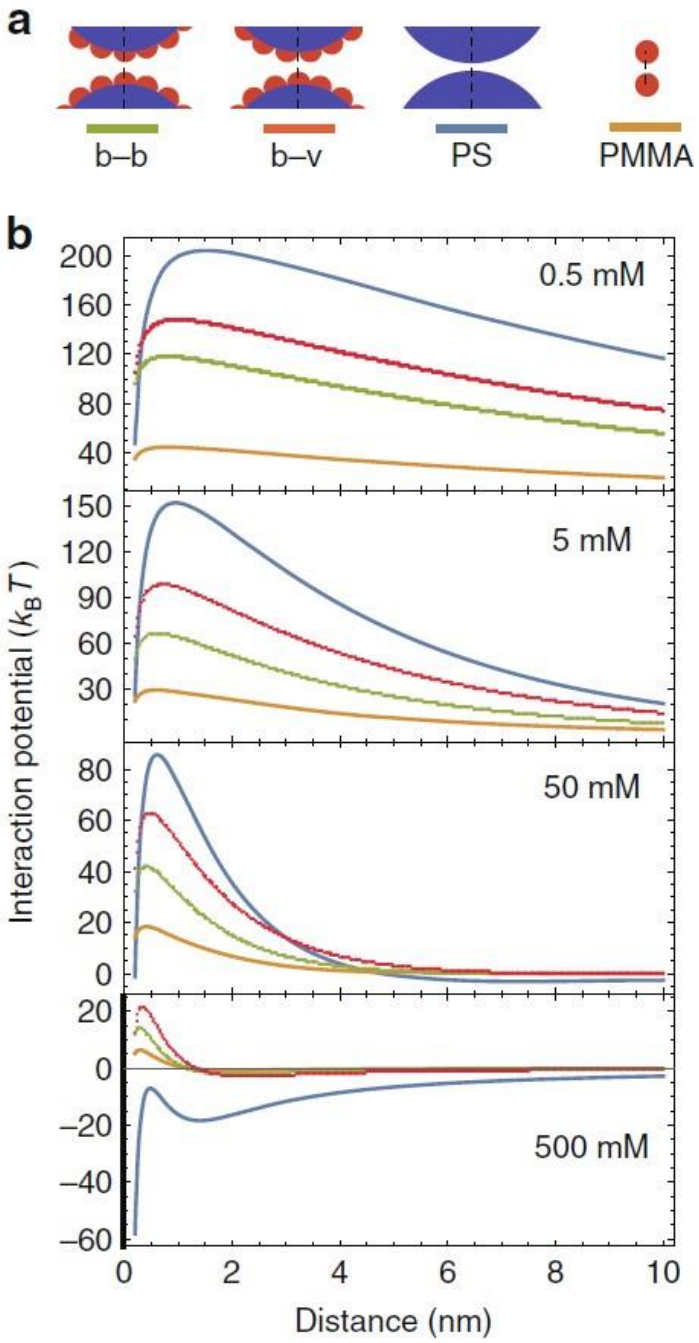

Figure 3-15 : Calcul DLVO et stabilité colloïdale dans différentes concentrations en NaCl. (A) Géométries de contact possible entre les nanoplastiques de type framboise (bosse à bosse, b-b, lignes vertes) et bosse à vallée (b-v, lignes rouges), PS lisse (PS, lignes bleues) et nanoplastiques de PMMA (PMMA, lignes orange). (B) potentiel d'interaction DLVO pour les nanoplastiques framboise, PS lisse et PMMA pour 0.5, 5, 50 et 500 mmol L^{-1} de NaCl. (Lan *et al.*, 2018)

5. CONCLUSION

Dans ces travaux nous nous sommes attachés à nous rapprocher des conditions environnementales en utilisant une eau de mer artificielle (EM150) et des nanoplastiques dont la composition chimique est contrôlée et parfaitement connue. Il est important de rappeler que les nanoplastiques obtenus par polymérisation en émulsion sont sans tensio-actif pour limiter tout artefact pouvant être causé par ces produits souvent retrouvés dans les échantillons modèles commerciaux.

Tous les échantillons sphériques (isotropes) obtenus par polymérisation en émulsion et sans tensio-actif montrent une très bonne stabilité dans l'eau de mer (39 g L^{-1}), indépendamment de leurs caractéristiques de surface.

La CCC du PS-m (5 g L^{-1}) est plus faible que celle des nanoplastiques sphériques. Ainsi, de tous les paramètres étudiés, la forme semble être celui qui a la plus grande influence sur les phénomènes d'homoagrégation.

Il est important de souligner que cette caractéristique est certainement plus représentative de la morphologie des nanoplastiques secondaires présents dans l'environnement : débris polymorphiques.

Les nanoplastiques sphériques ne semblent donc pas être des modèles très représentatifs pour étudier la stabilité des nanoplastiques environnementaux, pourtant ils restent des modèles de choix pour d'autres domaines d'étude. Grâce à leur stabilité colloïdale et leurs propriétés de surface ajustables et variables à façon, ils peuvent offrir de nouvelles opportunités dans le développement de méthodes analytiques (Jiménez-Lamana *et al.*, 2020) dans l'étude de l'adsorption de composés métalliques (Pessoni *et al.*) ou dans l'étude de transfert dans les milieux poreux (Pradel *et al.*, 2020). Jiménez-Lamana et al. ont développé une méthode permettant la détection et la quantification de nanoplastiques dans des concentrations environnementales (Jiménez-Lamana *et al.*, 2020). Cette méthode repose sur la sorption de nanoparticules d'or à la surface de nanoplastiques carboxylatés, les rendant ainsi détectables par spectrométrie de masse à plasma inductif fonctionnant en mode particules individuelles (SP-ICP/MS). De plus la composition chimique des nanoplastiques synthétisés en absence de tensio-actif et sans additifs peut être mise à profit pour étudier les voies potentielles d'expositions aux nanoplastiques, les effets biologiques dans les cellules ou encore déterminer les facteurs influençant la toxicité et les mécanismes probables de cytotoxicité (Banerjee & Shelver, 2021)

6. MATÉRIELS ET MÉTHODES

6.1. Préparation des nanoplastiques modèles

6.1.1. Nanoplastiques préparés par méthode ascendante

Les monomères utilisés dans cette étude sont le styrène (S ≥ 99%), l'acide acrylique (AA, 97 %) et l'acide méthacrylique (MAA, 99%). L'amorceur utilisé est le persulfate d'ammonium (APS, ≥ 99 %). Ils ont été utilisés sans purification complémentaire et proviennent de la société Sigma-Aldrich. L'eau ultra pure (18 mΩ cm^{-1} soit 55 µS cm^{-1}) utilisée a été fournie par un système de purification d'eau Millipore (Merck, Darmstadt, Allemagne).

Une synthèse représentative se déroule de la manière suivante, exemple du PSAA2 : le styrène et le monomère acide acrylique sont dégazés séparément sous bullage d'azote pendant 20 min. L'eau ultrapure est dégazée dans un réacteur double enveloppe munie d'une agitation mécanique, par bullage d'azote pendant 20 min. Le persulfate d'ammonium (APS, 0.39 g) est solubilisé dans 4.5 mL d'eau ultrapure puis dégazé pendant 20 min. Le styrène (10 mL, 87 mmol) et le monomère acide acrylique (0.55 mL, 8 mmol) sont ensuite ajoutés aux 100 mL d'eau ultrapure dans le réacteur. Le milieu est chauffé à 70 °C et agité (350 tr min^{-1}) avant l'ajout de 1 mL de la solution *d'APS* (78.5 mg, 0.34 mmol). Après 8 heures à 70°C et sous agitation, le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante et l'agitation mécanique est arrêtée.

Le milieu réactionnel est ensuite filtré pour enlever les plus gros agrégats (>100 µm, 6 – 30 m%) puis purifié par 6 cycles de centrifugation successifs à 12 000 tr min^{-1} pendant 30 min. Après chaque centrifugation, le surnageant est remplacé par un volume égal d'eau ultrapure. La conductivité finale du surnageant doit être inférieure à celle de l'eau ultrapure (55 µS cm^{-1}). Le taux de solide final est déterminé par méthode gravimétrique.

6.1.2. Nanoplastiques préparés par méthode descendante

Entre 30 et 40 g de microplastiques de polystyrène (Diamètre 3.5 ± 0.5 mm, PS LACQRENE® 1160) sont prébroyés dans un broyeur à couteau en alternant 30 secs de broyage et 30 secs de pause pour limiter l'élévation de température. Le prébroyat (6 mL) est ensuite placé dans des bols de 45 mL en

oxyde de zirconium avec des billes (45 g) en oxyde de zirconium de 5 ou 10 mm. Puis broyé avec un broyeur planétaire (PULVERISETTE 7 premium line, Fritsch). La durée et la vitesse de broyage sont de 450 tr min^{-1} pendant 120 min. Le procédé complet comporte six broyages de dix cycles de 3 min de broyage espacés chacun de 6 min de pause à température ambiante. Le premier broyage est réalisé en condition sèche puis une petite quantité d'éthanol (2 mL) est ajoutée entre les broyages suivants. Le broyat est ensuite récupéré à l'aide d'un système de tamis, d'une seringue (Figure 3-16) et d'une grande quantité d'éthanol (environ 50 mL). La poudre obtenue est ensuite séchée et purifiée sous micro-ondes pendant 10 min à 100 W en répétant ce séchage jusqu'à ce que la masse soit constante (environ 5 cycles) pour enlever toute trace d'éthanol. Cette poudre purifiée est enfin dispersée dans un minimum de volume d'eau ultrapure sous sonication (15 min, Bandelin Sonorex) et de filtration (membrane en acétate de cellulose de pore 5-6 µm) pour obtenir environ 100 mL d'une solution de nanoplastiques polymorphiques dont la concentration est comprise entre 2 et 20 ppm et une taille comprise entre 10 et 1000 nm.

Figure 3-16 : Tamis de récupération du broyat

6.2. Préparation de l'eau de mer artificielle : EM150

La solution d'eau de mer artificielle concentrée (EM150, 150 g L^{-1}, force ionique 3.0 M) a été préparée d'après le protocole de l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (USEPA, 2002) en dissolvant du chlorure de sodium (NaCl, 104 g L^{-1}), du sulfate de sodium (Na_2SO_4, 17 g L^{-1}), du chlorure de sodium (KCl, 2.6 g L^{-1}), du tétraborate de sodium ($Na_2B_4O_7$, 0.08 g L^{-1}), du chlorure de magnésium ($MgCl_2$, 22 g L^{-1}), du chlorure de calcium ($CaCl_2$, 5 g L^{-1}), du bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$, 0.91 g L^{-1}) et du bromure de potassium (KBr, 0.42 g L^{-1}) dans de l'eau ultrapure. La solution est ensuite filtrée sur une membrane en acétate de cellulose avec des pores de 0.1 µm.

RÉFÉRENCES

- A -

Astner, A. F., Hayes D. G., O'Neill H., Evans B. R., Pingali S. V., Urban V. S. and Young T. M. (2019). Mechanical formation of micro- and nano-plastic materials for environmental studies in agricultural ecosystems. *Sci. Total Environ.* **685**: 1097-1106. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.241.

- B -

Balakrishnan, G., Déniel M., Nicolai T., Chassenieux C. and Lagarde F. (2019). Towards more realistic reference microplastics and nanoplastics: preparation of polyethylene micro/nanoparticles with a biosurfactant. *Environ. Sci.: Nano* **6**(1): 315-324. https://doi.org/10.1039/C8EN01005F.

Banerjee, A. and Shelver W. L. (2021). Micro- and nanoplastic induced cellular toxicity in mammals: A review. *Sci. Total Environ.* **755**(Pt 2): 142518. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142518.

Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *J. Controlled Release* **235**: 337-351. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

- C -

Ceska, G. W. (1974). The effect of carboxylic monomers on surfactant-free emulsion copolymerization. *J. Appl. Polym. Sci.* **18**(2): 427-437. https://doi.org/10.1002/app.1974.070180210.

Chern, C. S. (2006). Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. *Prog. Polym. Sci.* **31**(5): 443-486. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.02.001.

- D -

Davranche, M., Lory C., Juge C. L., Blancho F., Dia A., Grassl B., El Hadri H., Pascal P.-Y. and Gigault J. (2020). Nanoplastics on the coast exposed to the North Atlantic Gyre: Evidence and traceability. *NanoImpact* **20**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100262.

Davranche, M., Veclin C., Pierson-Wickmann A.-C., El Hadri H., Grassl B., Rowenczyk L., Dia A., Halle A. T., Blancho F., Reynaud S. and Gigault J. (2019). Are nanoplastics able to bind significant amount of metals? The lead example. *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.087.

- E -

El Hadri, H., Gigault J., Maxit B., Grassl B. and Reynaud S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact* **17**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2019.100206.

Enfrin, M., Lee J., Gibert Y., Basheer F., Kong L. and Dumée L. F. (2020). Release of hazardous nanoplastic contaminants due to microplastics fragmentation under shear stress forces. *J. Hazard. Mater.* **384**: 121393. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121393.

- F -

Feng, L.-J., Sun X.-D., Zhu F.-P., Feng Y., Duan J.-L., Xiao F., Li X.-Y., Shi Y., Wang Q., Sun J.-W., Liu X.-Y., Liu J.-Q., Zhou L.-L., Wang S.-G., Ding Z., Tian H., Galloway T. S. and Yuan X.-Z. (2020). Nanoplastics Promote Microcystin Synthesis and Release from Cyanobacterial Microcystis aeruginosa. *Environ. Sci. Technol.* **54**(6): 3386-3394. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06085.

Fitch, R. M. and Tsai C.-h. (1970). Polymer colloids: Particle formation in nonmicellar systems. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* **8**(10): 703-710. https://doi.org/10.1002/pol.1970.110081007.

Fitch, R. M. and Tsai C. H. (1971). Particle Formation in Polymer Colloids, III: Prediction of the Number of Particles by a Homogeneous Nucleation Theory. Polymer Colloids, Boston, MA, Springer US.

Fowkes, F. M. (1964). Attractive forces at interfaces. *Ind. Eng. Chem.* **56**(12): 40-52. https://doi.org/10.1021/ie50660a008.

- G -

Gewert, B., Plassmann M. M. and MacLeod M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental Science: Processes & Impacts* **17**(9): 1513-1521. https://doi.org/10.1039/C5EM00207A.

Gonçalves, J. M. and Bebianno M. J. (2021). Nanoplastics impact on marine biota: A review. *Environ. Pollut.* **273**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116426.

González-Pleiter, M., Tamayo-Belda M., Pulido-Reyes G., Amariei G., Leganés F., Rosal R. and Fernández-Piñas F. (2019). Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments. *Environ. Sci.: Nano* **6**(5): 1382-1392. https://doi.org/10.1039/c8en01427b.

Good, R. J., Girifalco L. A. and Kraus G. (1958). A theory for estimation of interfacial energies. II. Application to surface thermodynamics of teflon and graphite. *J. Phys. Chem.* **62**(11): 1418-1421. https://doi.org/10.1021/j150569a016.

Goodall, A. R., Wilkinson M. C. and Hearn J. (1977). Mechanism of emulsion polymerization of styrene in soap-free systems. *J Polym Sci Pol Chem* **15**(9): 2193-2218. https://doi.org/10.1002/pol.1977.170150912.

Grolimund, D., Elimelech M. and Borkovec M. (2001). Aggregation and deposition kinetics of mobile colloidal particles in natural porous media. *Colloids Surf, A* **191**(1-2): 179-188. https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00773-7.

- H -

Harkins, W. D. (1947). A General Theory of the Mechanism of Emulsion Polymerization [1]. *J. Am. Chem. Soc.* **69**(6): 1428-1444. https://doi.org/10.1021/ja01198a053.

- J -

Jiménez-Lamana, J., Marigliano L., Allouche J., Grassl B., Szpunar J. and Reynaud S. (2020). A Novel Strategy for the Detection and Quantification of Nanoplastics by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *Anal. Chem.* **92**(17): 11664-11672. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01536.

- K -

Kim, D., Chae Y. and An Y.-J. (2017). Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with Different Functional Groups on Daphnia magna. *Environ. Sci. Technol.* **51**(21): 12852-12858. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03732.

- L -

Lan, Y., Caciagli A., Guidetti G., Yu Z., Liu J., Johansen V. E., Kamp M., Abell C., Vignolini S., Scherman O. A. and Eiser E. (2018). Unexpected stability of aqueous dispersions of raspberry-like colloids. *Nat. Commun.* **9**(1): 3614. https://doi.org/10.1038/s41467-018-05560-3.

Lebordais, M., Gutierrez-Villagomez J. M., Gigault J., Baudrimont M. and Langlois V. S. (2021). Molecular impacts of dietary exposure to nanoplastics combined with arsenic in Canadian oysters (Crassostrea virginica) and bioaccumulation comparison with Caribbean oysters (Isognomon alatus). *Chemosphere* **277**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130331.

Lee, W. S., Cho H.-J., Kim E., Huh Y. H., Kim H.-J., Kim B., Kang T., Lee J.-S. and Jeong J. (2019). Bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effect on the toxicity of Au ions in zebrafish embryos. *Nanoscale* **11**(7): 3173-3185. https://doi.org/10.1039/C8NR09321K.

Lehner, R., Weder C., Petri-Fink A. and Rothen-Rutishauser B. (2019). Emergence of Nanoplastic in the Environment and Possible Impact on Human Health. *Environ. Sci. Technol.* https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05512.

Li, X., He E., Xia B., Van Gestel C. A. M., Peijnenburg W. J. G. M., Cao X. and Qiu H. (2020b). Impact of CeO2 nanoparticles on the aggregation kinetics and stability of polystyrene nanoplastics: Importance of surface functionalization and solution chemistry. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116324.

Liu, Y., Hu Y., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2019). Aggregation kinetics of UV irradiated nanoplastics in aquatic environments. *Water Res.* **163**: 114870. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114870.

Liu, Y., Huang Z., Zhou J., Tang J., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2020). Influence of environmental and biological macromolecules on aggregation kinetics of nanoplastics in aquatic systems. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116316.

Long, T. C., Saleh N., Tilton R. D., Lowry G. V. and Veronesi B. (2006). Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity. *Environ. Sci. Technol.* **40**(14): 4346-4352. https://doi.org/10.1021/es060589n.

Lovell, P. and El-Aasser M., (1997). Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers, Wiley.ISBN: 978-0-471-96746-0

Lowry, G. V., Hill R. J., Harper S., Rawle A. F., Hendren C. O., Klaessig F., Nobbmann U., Sayre P. and Rumble J. (2016). Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS. *Environ. Sci.: Nano* **3**(5): 953-965. https://doi.org/10.1039/C6EN00136J.

- M -

Magrì, D., Sánchez-Moreno P., Caputo G., Gatto F., Veronesi M., Bardi G., Catelani T., Guarnieri D., Athanassiou A., Pompa P. P. and Fragouli D. (2018). Laser ablation as a versatile tool to mimic polyethylene terephthalate nanoplastic pollutants: Characterization and toxicology assessment. *ACS Nano* **12**(8): 7690-7700. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01331.

Magrì, D., Veronesi M., Sánchez-Moreno P., Tolardo V., Bandiera T., Pompa P. P., Athanassiou A. and Fragouli D. (2021). PET nanoplastics interactions with water contaminants and their impact on human cells. *Environ. Pollut.* **271**. 10.1016/j.envpol.2020.116262.

Mao, Y., Li H., Huangfu X., Liu Y. and He Q. (2020). Nanoplastics display strong stability in aqueous environments: Insights from aggregation behaviour and theoretical calculations. *Environ. Pollut.* **258**: 113760. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113760.

Mattsson, K., Björkroth F., Karlsson T. and Hassellöv M. (2021). Nanofragmentation of Expanded Polystyrene Under Simulated Environmental Weathering (Thermooxidative Degradation and Hydrodynamic Turbulence). *Frontiers in Marine Science* **7**. https://doi.org/10.3389/fmars.2020.578178.

Mitrano, D. M., Beltzung A., Frehland S., Schmiedgruber M., Cingolani A. and Schmidt F. (2019). Synthesis of metal-doped nanoplastics and their utility to investigate fate and behaviour in complex environmental systems. *Nat. Nanotechnol.* https://doi.org/10.1038/s41565-018-0360-3.

- N -

Nolte, T. M., Hartmann N. B., Kleijn J. M., Garnæs J., van de Meent D., Jan Hendriks A. and Baun A. (2017). The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption. *Aquat. Toxicol.* **183**: 11-20. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.005.

- O -

Owens, D. K. and Wendt R. C. (1969). Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **13**(8): 1741-1747. https://doi.org/10.1002/app.1969.070130815.

- P -

Pessoni, L., Veclin C., Hadri H. E., Cugnet C., Davranche M., Pierson-Wickmann A.-C., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2019). Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2253-2258. https://doi.org/10.1039/C9EN00384C.

Pikuda, O., Xu E. G., Berk D. and Tufenkji N. (2019). Toxicity Assessments of Micro- and Nanoplastics Can Be Confounded by Preservatives in Commercial Formulations. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **6**(1): 21-25. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00614.

Pradel, A., Hadri H. E., Desmet C., Ponti J., Reynaud S., Grassl B. and Gigault J. (2020). Deposition of environmentally relevant nanoplastic models in sand during transport experiments. *Chemosphere* **255**: 126912. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126912.

- Q -

Qu, M. and Wang D. (2020). Toxicity comparison between pristine and sulfonate modified nanopolystyrene particles in affecting locomotion behavior, sensory perception, and neuronal development in Caenorhabditis elegans. *Sci. Total Environ.* **703**: 134817. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134817.

- R -

Redondo-Hasselerharm, P., Gort G., Peeters E. and Koelmans A. (2020). Nano-and microplastics affect the composition of freshwater benthic communities in the long term. *Science advances* **6**(5): eaay4054. https://doi.org/10.1126/sciadv.aay4054.

Rodríguez-Hernández, A. G., Muñoz-Tabares J. A., Aguilar-Guzmán J. C. and Vazquez-Duhalt R. (2019). A novel and simple method for polyethylene terephthalate (PET) nanoparticle production. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2031-2036. https://doi.org/10.1039/c9en00365g.

- S -

Shams, M., Alam I. and Chowdhury I. (2020). Aggregation and stability of nanoscale plastics in aquatic environment. *Water Res.* **171**: 115401. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115401.

Singh, N., Bhagat J., Tiwari E., Khandelwal N., Darbha G. K. and Shyama S. K. (2021). Metal oxide nanoparticles and polycyclic aromatic hydrocarbons alter nanoplastic's stability and toxicity to zebrafish. *J. Hazard. Mater.* **407**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124382.

Singh, N., Tiwari E., Khandelwal N. and Darbha G. K. (2019). Understanding the stability of nanoplastics in aqueous environments: effect of ionic strength, temperature, dissolved organic matter, clay, and heavy metals. *Environ. Sci.: Nano* **6**(10): 2968-2976. https://doi.org/10.1039/c9en00557a.

Sun, H., Jiao R. and Wang D. (2021). The difference of aggregation mechanism between microplastics and nanoplastics: Role of Brownian motion and structural layer force. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115942.

- T -

Tian, L., Chen Q., Jiang W., Wang L., Xie H., Kalogerakis N., Ma Y. and Ji R. (2019). A carbon-14 radiotracer-based study on the phototransformation of polystyrene nanoplastics in water versus in air. *Environ. Sci.: Nano* **6**(9): 2907-2917. https://doi.org/10.1039/c9en00662a.

- U -

USEPA, (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, USEPA, Office of Water Washington, DC.1428904042

- V -

Varó, I., Perini A., Torreblanca A., Garcia Y., Bergami E., Vannuccini M. L. and Corsi I. (2019). Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp Artemia franciscana at physiological, biochemical and molecular levels. *Sci. Total Environ.* **675**: 570-580. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.157.

- W -

Wang, L., Wu W.-M., Bolan N. S., Tsang D. C. W., Li Y., Qin M. and Hou D. (2021b). Environmental fate, toxicity and risk management strategies of nanoplastics in the environment: Current status and future perspectives. *J. Hazard. Mater.* **401**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123415.

Wang, P. H. and Pan C.-Y. (2001). Emulsion copolymerization of styrene with acrylic or methacrylic acids – distribution of the carboxylic group. *Colloid. Polym. Sci.* **279**(1): 98-103. https://doi.org/10.1007/s003960000407.

Weinstein, J. E., Crocker B. K. and Gray A. D. (2016). From macroplastic to microplastic: Degradation of high-density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environ. Toxicol. Chem.* **35**(7): 1632-1640. https://doi.org/10.1002/etc.3432.

- Y -

Yin, K., Wang Y., Zhao H., Wang D., Guo M., Mu M., Liu Y., Nie X., Li B., Li J. and Xing M. (2021). A comparative review of microplastics and nanoplastics: Toxicity hazards on digestive, reproductive and nervous system. *Sci. Total Environ.* **774**. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145758.

Yu, S., Shen M., Li S., Fu Y., Zhang D., Liu H. and Liu J. (2019). Aggregation kinetics of different surface-modified polystyrene nanoparticles in monovalent and divalent electrolytes. *Environ. Pollut.* **255**(Pt 2): 113302. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113302.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVE

Quand on parle de pollution de l'océan le vieux proverbe latin de Properce « Loin des yeux, loin du cœur » prend tout son sens. Pendant des décennies, l'homme y a accumulé toutes sortes de déchets. Cette accumulation cachée aux yeux du monde était considérée comme négligeable. Aujourd'hui, cependant, la pollution des milieux aquatiques est reconnue comme l'une des plus grandes menaces environnementales pour notre planète. Depuis la production de masse de matière plastique dans les années 1940, le plastique a été statistiquement le plus grand contributeur de la pollution marine (Ryan *et al.*, 2009). Les déchets plastiques sont retrouvés dans toutes les strates de nos océans, du plancher océanique à la surface (Alimi *et al.*, 2018 ; Barnes *et al.*, 2009 ; Choy *et al.*, 2019). Avec la découverte des microplastiques au début des années 2000 et l'attention qui en a découlé (Andrady, 2011 ; Cole *et al.*, 2011 ; Fries *et al.*, 2013 ; Kershaw, 2015 ; von Moos *et al.*, 2012) les chercheurs ont émis l'hypothèse que les déchets plastiques pouvaient se fragmenter en particules plus petites (Lambert & Wagner, 2016b). Ce postulat a conduit la communauté scientifique à considérer des particules à des échelles très petites, en dessous de 1 µm (Andrady, 2011 ; Cózar *et al.*, 2014 ; ter Halle *et al.*, 2016). Les données expérimentales publiées à ce jour semblent montrer que la fragmentation peut atteindre l'échelle nanométrique (Gigault *et al.*, 2016 ; Lambert & Wagner, 2016a ; ter Halle *et al.*, 2017). Cependant, les verrous méthodologiques rendent difficiles l'obtention de données quantitative et qualitative du comportement des nanoplastiques dans l'environnement (Mintenig *et al.*, 2018 ; Schwaferts *et al.*, 2019).

En dépit des incertitudes quant à la concentration et la distribution des nanoplastiques dans les compartiments environnementaux l'étude de ces effets sur les organismes marins est une problématique majeure pour les scientifiques et les politiques (Bouwmeester *et al.*, 2015 ; Galgani *et al.*, 2013 ; GESAMP, 2015 ; Wan *et al.*, 2019a). Pour être en mesure de tirer des conclusions sur le réel impact des nanoplastiques sur l'environnement, il est indispensable de développer des outils capables de les caractériser et de comprendre leur comportement. Les travaux réalisés durant cette thèse s'intègrent dans cette problématique. Pour ce faire nous avons dû développer des nanoplastiques modèles capables d'imiter les nanoplastiques environnementaux. Puis développer les outils analytiques permettant de les caractériser pour enfin étudier les paramètres influençant leur agrégation dans le milieu marin. Une synthèse des résultats marquants obtenus durant ces trois ans de recherche ainsi que les perspectives d'étude sont présentées dans cette discussion générale.

Aujourd'hui, les nanoplastiques sont des analytes très étudiés par la communauté scientifique. Pour comprendre leur devenir et comportement dans l'environnement il est indispensable de réaliser une caractérisation complète. Dans le chapitre 2, nous avons testé un certain nombre de méthodes sur des nanoplastiques sphériques ou polymorphiques le permettant. Nos expériences ont mis en évidence la nécessité d'utiliser des techniques complémentaires cependant, la détermination de la taille semble

être la première étape. Parmi, les techniques utilisées aucune ne se distingue particulièrement. Voici une des stratégies possibles pour la détermination de la distribution en taille. La DLS peut être utilisée pour avoir un premier aperçu de la gamme de taille de l'échantillon, mais ne peut être utilisée seule notamment pour des échantillons complexes. Si l'échantillon présente une taille supérieure à 1 µm il est nécessaire de réaliser une séparation pour enlever les microplastiques. Ensuite, il est possible de déterminer la forme des nanoplastiques analysés : les nanoplastiques sphériques pourront être analysés en DLS ou AF4-SLS tandis les particules anisotropes doivent être analysées en AF4-SLS.

Une fois la distribution en taille obtenus il est possible de caractériser l'aspect de surface (TEM, AFM), la charge (titration, mesure du potentiel zêta) et la composition (organique et inorganique) sans ordre de préférence.

La détermination de la concentration d'un échantillon est la caractéristique la plus difficile à obtenir. En effet à ce jour il n'existe pas de méthode adaptée pour les nanoplastiques. Quelques-unes ont été mises au point, mais n'ont été utilisées que dans des conditions de laboratoire et ne semblent pas adaptées aux échantillons peu concentrés. Toute la méthode utilisée requiert des concentrations supérieures à la concentration attendue dans les océans. Un travail important doit alors être réalisé sur les méthodes de préconcentration et de détermination de la concentration doit être réalisée. Pour cela, le développement des nanoplastiques modèles représentatif des nanoplastiques environnementaux est indispensable.

Jusqu'à présent, la majorité des chercheurs employaient des nanoplastiques commerciaux de types PSL pour étudier leur impact indirect sans tenir compte de leur forte association avec des métaux et autres polluants organiques persistants. Dans ce contexte, il est nécessaire de disposer de modèles connus et représentatifs des nanoplastiques pour imiter au mieux les nanoplastiques environnementaux et *in fine* comprendre leur comportement et impact sur l'environnement.

Le comportement des nanoplastiques est influencé par leur capacité à s'accumuler et à être transportée dans l'environnement et donc dépendant de leur forme et de l'état de leur surface. Dans ces travaux, nous avons proposé deux types de modèles faisant varier ces paramètres. Les modèles sphériques développés sont les produits de la synthèse en émulsion sans tensio-actif du styrène (S) et de l'acide acrylique (AA) ou méthacrylique (MAA). En faisant varier les ratio AA/S nous avons pu obtenir des nanoplastiques sphériques avec des taux de fonctionnalisation différents (entre 2 et 56 COOH par nm^2). Bien que ce modèle ne soit probablement pas le plus représentatif des nanoplastiques environnementaux, la possibilité de modifier et contrôler un grand nombre de caractéristiques en fait un choix intéressant pour le développement analytique. De plus, en modifiant le monomère acide utilisé nous avons pu modifier l'hydrophobie de surface des nanoplastiques. Il est alors envisageable

de tester de nouveaux monomères comme l'acide itaconique ou vinylbenzoïque dont les hydrophobies sont différentes du AA et MAA.

Le deuxième nanoplastique modèle développé est polymorphique. Il est produit par dégradation de microplastique de polystyrène. Ces modèles permettent de faire varier un nouveau paramètre d'étude : la forme. Avec ces modèles nous nous rapprochons des nanoplastiques que l'on pourrait retrouver dans l'environnement. Cette méthode pourrait être utilisée sur différent type de plastiques primaire ou secondaire ce qui permettrait d'agrandir le catalogue de modèle (El Hadri *et al.*, 2020). Cependant, la composition chimique de ces modèles est dépendante de celle du microplastique utilisé pour le broyage. Dans ces travaux nous avons utilisé des microplastiques commerciaux ce qui signifie que nous n'avions pas de contrôle total sur la composition de l'échantillon. Une approche intéressante serait de broyer des microplastiques préparés au sein du laboratoire et dont on connaîtrait parfaitement la composition et les caractéristiques.

Dans la littérature, l'homoagrégation de nanoplastiques modèles (sphérique et polymorphique) a été étudiée dans des matrices simples, contenant un seul type d'ion (monovalent ou divalent). Dans ces travaux, nous nous sommes rapprochés des conditions environnementales en utilisant une eau de mer artificielle (dont la composition en sel est identique à une eau de mer). Les modèles que nous avons utilisés nous ont permis d'étudier l'importance de paramètres généralement peu considérés comme la morphologie, l'hydrophobie et la fonctionnalisation de la surface de nanoplastiques modèles.

Ces travaux n'ont pas montré d'impact de l'hydrophobie et de la fonctionnalisation de surface des nanoplastiques modèles sphériques sur leur homoagrégation. Cependant, nous avons montré que les nanoplastiques polymorphiques, probablement plus représentatifs des nanoplastiques environnementaux, s'homoagrègent à des concentrations en sel largement inférieures que les nanoplastiques sphériques. La forme semble être le facteur avec le plus d'influence sur l'homoagrégation des nanoplastiques dans l'océan.

Bien que nous nous soyons approchés de condition environnementale dans ces travaux, le milieu d'étude est resté relativement simple. Dans l'environnement, de par la présence d'autre colloïdes il est très probable que l'hétéroagrégation soit plus récurrente que l'homoagrégation. De fait, il est maintenant important de complexifier le milieu. Pour cela il est possible d'ajouter de la matière organique naturelle, des métaux ou encore des polluants organiques. Pour cela il nous semble important dans un premier temps de développer des techniques analytiques permettant d'étudier et comprendre la sorption de ces composés sur les nanoplastiques.

RÉFÉRENCES

- A -

Alimi, O. S., Farner Budarz J., Hernandez L. M. and Tufenkji N. (2018). Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport. *Environ. Sci. Technol.* **52**(4): 1704-1724. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05559.

Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(8): 1596-1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.

- B -

Barnes, D. K. A., Galgani F., Thompson R. C. and Barlaz M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 1985-1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205.

Bouwmeester, H., Hollman P. C. H. and Peters R. J. B. (2015). Potential Health Impact of Environmentally Released Micro- and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* **49**(15): 8932-8947. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01090.

- C -

Choy, C. A., Robison B. H., Gagne T. O., Erwin B., Firl E., Halden R. U., Hamilton J. A., Katija K., Lisin S. E., Rolsky C. and S. Van Houtan K. (2019). The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Scientific Reports* **9**(1): 7843. https://doi.org/10.1038/s41598-019-44117-2.

Cole, M., Lindeque P., Halsband C. and Galloway T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(12): 2588-2597. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.

Cózar, A., Echevarría F., González-Gordillo J. I., Irigoien X., Úbeda B., Hernández-León S., Palma Á. T., Navarro S., García-de-Lomas J., Ruiz A., Fernández-de-Puelles M. L. and Duarte C. M. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**(28): 10239. 10.1073/pnas.1314705111.

- E -

El Hadri, H., Gigault J., Maxit B., Grassl B. and Reynaud S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact* **17**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2019.100206.

- F -

Fries, E., Dekiff J. H., Willmeyer J., Nuelle M. T., Ebert M. and Remy D. (2013). Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci Process Impacts* **15**(10): 1949-1956. https://doi.org/10.1039/c3em00214d.

- G -

Galgani, F., Hanke G., Werner S. and De Vrees L. (2013). Marine litter within the European Marine Strategy Framework Directive. *ICES J. Mar. Sci.* **70**(6): 1055-1064. https://doi.org/10.1093/icesjms/fst122.

GESAMP. (2015). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment. editeur: I. M. organization, https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3803.7925,

Gigault, J., Pedrono B., Maxit B. and ter Halle A. (2016). Marine plastic litter: the unanalyzed nano-fraction. *Environ. Sci.: Nano* **3**(2): 346-350. https://doi.org/10.1039/C6EN00008H.

- K -

Kershaw, P. (2015). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment. editeur:

- L -

Lambert, S. and Wagner M. (2016a). Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene. *Chemosphere* **145**: 265-268. 10.1016/j.chemosphere.2015.11.078.

Lambert, S. and Wagner M. (2016b). Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* **161**: 510-517. 10.1016/j.chemosphere.2016.07.042.

- M -

Mintenig, S. M., Bäuerlein P. S., Koelmans A. A., Dekker S. C. and Van Wezel A. P. (2018). Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and microplastics in aqueous environmental samples. *Environ. Sci.: Nano* **5**(7): 1640-1649. https://doi.org/10.1039/c8en00186c.

- R -

Ryan, P. G., Moore C. J., van Franeker J. A. and Moloney C. L. (2009). Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 1999-2012. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0207.

- S -

Schwaferts, C., Niessner R., Elsner M. and Ivleva N. P. (2019). Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment. *TrAC, Trends Anal. Chem.* https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.014.

- T -

ter Halle, A., Jeanneau L., Martignac M., Jardé E., Pedrono B., Brach L. and Gigault J. (2017). Nanoplastic in the North Atlantic subtropical gyre. *Environ. Sci. Technol.* **51**(23): 13689-13697. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03667.

ter Halle, A., Ladirat L., Gendre X., Goudouneche D., Pusineri C., Routaboul C., Tenailleau C., Duployer B. and Perez E. (2016). Understanding the Fragmentation Pattern of Marine Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* **50**(11): 5668-5675. 10.1021/acs.est.6b00594.

- V -

von Moos, N., Burkhardt-Holm P. and Köhler A. (2012). Uptake and Effects of Microplastics on Cells and Tissue of the Blue Mussel Mytilus edulis L. after an Experimental Exposure. *Environ. Sci. Technol.* **46**(20): 11327-11335. https://doi.org/10.1021/es302332w.

- W -

Wan, J.-K., Chu W.-L., Kok Y.-Y. and Lee C.-S., (2019a). Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae https://doi.org/10.1007/398_2018_14

BILAN DE LA THÈSE

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES(4)

Cormier, B., Gambardella C., Tato T., Perdriat Q., Costa E., **Veclin C.**, Le Bihanic F., Grassl B., Dubocq F., Kärrman A., Van Arkel K., Lemoine S., Lagarde F., Morin B., Garaventa F., Faimali M., Cousin X., Bégout M. L., Beiras R. and Cachot J. (2021). Chemicals sorbed to environmental microplastics are toxic to early life stages of aquatic organisms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **208**. 10.1016/j.ecoenv.2020.111665.

Davranche, M., **Veclin C**., Pierson-Wickmann A.-C., El Hadri H., Grassl B., Rowenczyk L., Dia A., Halle A. T., Blancho F., Reynaud S. and Gigault J. (2019). Are nanoplastics able to bind significant amount of metals? The lead example. *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.087.

Pessoni, L., **Veclin C.,** Hadri H. E., Cugnet C., Davranche M., Pierson-Wickmann A.-C., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2019). Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2253-2258. https://doi.org/10.1039/C9EN00384C.

Pradel, A., Ferreres S., **Veclin C.,** El Hadri H., Gautier M., Grassl B. and Gigault J. (2021). Stabilization of Fragmental Polystyrene Nanoplastic by Natural Organic Matter: Insight into Mechanisms. *ACS ES&T Water*: 1198-1208. https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00283.

Veclin, C., Desmet C., Pradel A., Valsesia A., Ponti J., El Hadri H., Maupas T., Pellerin V., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2022). Effect of the Surface Hydrophobicity–Morphology–Functionality of Nanoplastics on Their Homoaggregation in Seawater. *ACS ES&T Water* **2**(1): 88-95. 10.1021/acsestwater.1c00263.

COMMUNICATION EN TANT QUE PREMIER AUTEUR (5)

Veclin C., Pessoni L., Cugnet C., Pierson-Wickmann A-C., Gigault J., Davranche M., El Hadri H., Reynaud S., Deniau E., Grassl B., Jimenez-Lamana J., Szpunar J.. Asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4) ICP MS studies of sorpion of lead on nanoplastics, European Winter conference on Plasma Spectrochemistry, Pau, France, Févier, 2019 (Poster)

Veclin C., Pessoni L., Cugnet C., Gigault J., El Hadri H., Reynaud S., Deniau E., Grassl B., Jimenez-Lamana J., Szpunar J.. Nanoplastics model to study Trajan Horse Effect, International Congress on Analytical Nanoscience and Nanotechnology, Saragozza, Spain, Juillet 2019 (Poster)

Veclin C., Desmet C., Pradel A., El Hadri H., Pellerin V., Gigault J., Grassl B., Reynaud S.. Effet de l'hydrophobie, de la morphologie et de la fonctionnalité de surface sur l'homoagrégation des nanoplastiques dans l'eau de mer. GDR-P.O, Pau, France, Février 2021 (Poster)

Veclin C., Desmet C., Pradel A., Valsesia A., Ponti J., El Hadri H., Maupas T., Pellerin V., Gigault J., Grassl B., Reynaud S.. Effet de l'hydrophobie, de la morphologie et de la fonctionnalité de surface sur l'homoagrégation des nanoplastiques dans l'eau de mer. GFP-SO, en ligne, mars 2021 (Orale)

Veclin C., C. Desmet, J. Gigault, B. Grassl, S. Reynaud. Comportement et stabilité des nanoplastiques en eau de mer. GFP, Lyon, novembre 2021 (Orale)

ENSEIGNEMENTS (Total : 98.5h)

Année scolaire	Type/Niveau	Titre	Volume horaire	Effectifs	Présentiel ou distantiel
2018–2019	TD / L1	Chimie des solutions	10.5	40	Présentiel
	TP / L3	Chimie des solutions	19.5	18	Présentiel
	TP / M1	Chromatographie	4	4	Présentiel
	TP / M1	Chimie analytique	24	10	Présentiel
2019–2020	TD / L1	Chimie des solutions	10.5	41	Distantiel
	TP / L3	Chimie des solutions	19.5	20	Présentiel
2020–2021	TD / L1	Chimie des solutions	10.5	40	Présentiel

STAGIAIRE

2019	Watcher L. L3 (3 mois)	Nanoplastiques dans l'eau – Étude de l'agrégation de nanoplastiques modèles dans l'eau de mer
2019	Martinez A. et Etchegaray E. M1 (2 semaines)	Études des phénomènes de transfert des nanoplastiques
2020	Maupas T. M2 (6 mois)	Analyse de nanoplastiques modèles sous différentes conditions environnementales
2021	Zitouni N. M2 (2 semaines)	Étude de l'influence de la température sur l'homoagrégation de nanoplastiques modèles dans l'eau de mer
2021	Bareille A. L3 (7 semaines)	Mise en place d'un protocole opératoire standardisé pour la préparation de nanoplastiques par dégradation mécaniques

RÉFÉRENCES

- A -

Abdolahpur Monikh, F., Grundschober N., Romeijn S., Arenas-Lago D., Vijver M. G., Jiskoot W. and Peijnenburg W. J. G. M. (2019). Development of methods for extraction and analytical characterization of carbon-based nanomaterials (nanoplastics and carbon nanotubes) in biological and environmental matrices by asymmetrical flow field-flow fractionation. *Environ. Pollut.* **255**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113304.

Akbulut, M., Ginart P., Gindy M. E., Theriault C., Chin K. H., Soboyejo W. and Prud'homme R. K. (2009). Generic Method of Preparing Multifunctional Fluorescent Nanoparticles Using Flash NanoPrecipitation. *Adv. Funct. Mater.* **19**(5): 718-725. https://doi.org/10.1002/adfm.200801583.

Al-Sid-Cheikh, M., Rowland S. J., Stevenson K., Rouleau C., Henry T. B. and Thompson R. C. (2018). Uptake, Whole-Body Distribution, and Depuration of Nanoplastics by the Scallop Pecten maximus at Environmentally Realistic Concentrations. *Environ. Sci. Technol.* **52**(24): 14480-14486. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05266.

Alimi, O. S., Farner Budarz J., Hernandez L. M. and Tufenkji N. (2018). Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport. *Environ. Sci. Technol.* **52**(4): 1704-1724. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05559.

Andrady, A. L. (1997). Wavelength sensitivity in polymer photodegradation. Polymer Analysis Polymer Physics. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg**:** 47-94. https://doi.org/10.1007/3-540-61218-1_6

Andrady, A. L. (1998). Biodegradation of Plastics: Monitoring what Happens. Plastics Additives: An A-Z reference. G. Pritchard. Dordrecht, Springer Netherlands**:** 32-40. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5862-6_5

Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(8): 1596-1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.

Andrady, A. L. (2015). Persistence of Plastic Litter in the Oceans. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages. Cham, Springer International Publishing**:** 57-72. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_3

Andrady, A. L., Hamid H. S. and Torikai A. (2003). Effects of climate change and UV-B on materials. *Photochemical & Photobiological Sciences* **2**(1): 68-72. https://doi.org/10.1039/B211085G.

Astner, A. F., Hayes D. G., O'Neill H., Evans B. R., Pingali S. V., Urban V. S. and Young T. M. (2019). Mechanical formation of micro- and nano-plastic materials for environmental studies in agricultural ecosystems. *Sci. Total Environ.* **685**: 1097-1106. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.241.

Auta, H. S., Emenike C. U. and Fauziah S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ. Int.* **102**: 165-176. https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013.

- B -

Baalousha, M. and Lead J. R. (2007). Size fractionation and characterization of natural aquatic colloids and nanoparticles. *Sci. Total Environ.* **386**(1): 93-102. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.05.039.

Baalousha, M., Stolpe B. and Lead J. R. (2011). Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: A critical review. *J. Chromatogr. A* **1218**(27): 4078-4103. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.063.

Balakrishnan, G., Déniel M., Nicolai T., Chassenieux C. and Lagarde F. (2019). Towards more realistic reference microplastics and nanoplastics: preparation of polyethylene micro/nanoparticles with a biosurfactant. *Environ. Sci.: Nano* **6**(1): 315-324. https://doi.org/10.1039/C8EN01005F.

Banerjee, A. and Shelver W. L. (2021). Micro- and nanoplastic induced cellular toxicity in mammals: A review. *Sci. Total Environ.* **755**(Pt 2): 142518. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142518.

Barber, A., Kly S., Moffitt M. G., Rand L. and Ranville J. F. (2020). Coupling single particle ICP-MS with field-flow fractionation for characterizing metal nanoparticles contained in nanoplastic colloids. *Environ. Sci.: Nano* **7**(2): 514-524. https://doi.org/10.1039/c9en00637k.

Barbosa, F., Adeyemi J. A., Bocato M. Z., Comas A. and Campiglia A. (2020). A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro- and nanoplastic studies: From the detection to the toxicological assessment. *Environ. Res.* **182**. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.109089.

Barnes, D. K. A., Galgani F., Thompson R. C. and Barlaz M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 1985-1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205.

Baudrimont, M., Arini A., Guégan C., Venel Z., Gigault J., Pedrono B., Prunier J., Maurice L., ter Halle A. and Feurtet-Mazel A. (2020). Ecotoxicity of polyethylene nanoplastics from the North Atlantic oceanic gyre on freshwater and marine organisms (microalgae and filter-feeding bivalves). *Environmental Science and Pollution Research* **27**(4): 3746-3755. https://doi.org/10.1007/s11356-019-04668-3.

Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *J. Controlled Release* **235**: 337-351. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017.

Blancho, F., Davranche M., Fumagalli F., Ceccone G. and Gigault J. (2021). A reliable procedure to obtain environmentally relevant nanoplastic proxies. *Environ. Sci.: Nano*. https://doi.org/10.1039/D1EN00395J.

Bouwmeester, H., Hollman P. C. H. and Peters R. J. B. (2015). Potential Health Impact of Environmentally Released Micro- and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* **49**(15): 8932-8947. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01090.

Brandon, J. A., Jones W. and Ohman M. D. (2019). Multidecadal increase in plastic particles in coastal ocean sediments. *Science Advances* **5**(9): eaax0587. https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0587.

Brooks, A. L., Wang S. and Jambeck J. R. (2018). The Chinese import ban and its impact on global plastic waste trade. *Science Advances* **4**(6): eaat0131. https://doi.org/10.1126/sciadv.aat0131.

- C -

Cai, L., Hu L., Shi H., Ye J., Zhang Y. and Kim H. (2018). Effects of inorganic ions and natural organic matter on the aggregation of nanoplastics. *Chemosphere* **197**: 142-151. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.052.

Caputo, F., Vogel R., Savage J., Vella G., Law A., Della Camera G., Hannon G., Peacock B., Mehn D., Ponti J., Geiss O., Aubert D., Prina-Mello A. and Calzolai L. (2021). Measuring particle size distribution and mass concentration of nanoplastics and microplastics: addressing some analytical challenges in the sub-micron size range. *J. Colloid Interface Sci.* **588**: 401-417. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.039.

Catarino, A. I., Frutos A. and Henry T. B. (2019). Use of fluorescent-labelled nanoplastics (NPs) to demonstrate NP absorption is inconclusive without adequate controls. *Sci. Total Environ.* **670**: 915-920. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.194.

Ceska, G. W. (1974). The effect of carboxylic monomers on surfactant-free emulsion copolymerization. *J. Appl. Polym. Sci.* **18**(2): 427-437. https://doi.org/10.1002/app.1974.070180210.

Chern, C. S. (2006). Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. *Prog. Polym. Sci.* **31**(5): 443-486. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.02.001.

Choy, C. A., Robison B. H., Gagne T. O., Erwin B., Firl E., Halden R. U., Hamilton J. A., Katija K., Lisin S. E., Rolsky C. and S. Van Houtan K. (2019). The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Scientific Reports* **9**(1): 7843. https://doi.org/10.1038/s41598-019-44117-2.

Cole, M. and Galloway T. S. (2015). Ingestion of Nanoplastics and Microplastics by Pacific Oyster Larvae. *Environ. Sci. Technol.* **49**(24): 14625-14632. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04099.

Cole, M., Lindeque P., Fileman E., Halsband C. and Galloway T. S. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod Calanus helgolandicus. *Environ. Sci. Technol.* **49**(2): 1130-1137. https://doi.org/10.1021/es504525u.

Cole, M., Lindeque P., Halsband C. and Galloway T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(12): 2588-2597. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.

Cooper, D. A. and Corcoran P. L. (2010). Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii. *Mar. Pollut. Bull.* **60**(5): 650-654. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.026.

Correia, M. and Loeschner K. (2018). Detection of nanoplastics in food by asymmetric flow field-flow fractionation coupled to multi-angle light scattering: possibilities, challenges and analytical limitations. *Anal. Bioanal. Chem.* **410**(22): 5603-5615. https://doi.org/10.1007/s00216-018-0919-8.

Cózar, A., Echevarría F., González-Gordillo J. I., Irigoien X., Úbeda B., Hernández-León S., Palma Á. T., Navarro S., García-de-Lomas J., Ruiz A., Fernández-de-Puelles M. L. and Duarte C. M. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**(28): 10239. 10.1073/pnas.1314705111.

Crawford, C. B. and Quinn B. (2017). Physiochemical properties and degradation. Microplastic Pollutants. C. B. Crawford and B. Quinn, Elsevier**:** 57-100. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809406-8.00004-9

Crawford, C. B. and Quinn B., (2019). Microplastic Pollutants, Elsevier Limited.978-0-12-809406-8 ISBN : 978-0-12-809406-8

- D -

da Costa, J. P., Santos P. S. M., Duarte A. C. and Rocha-Santos T. (2016). (Nano)plastics in the environment – Sources, fates and effects. *Sci. Total Environ.* **566–567**: 15-26. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.041.

Davranche, M., Lory C., Juge C. L., Blancho F., Dia A., Grassl B., El Hadri H., Pascal P.-Y. and Gigault J. (2020). Nanoplastics on the coast exposed to the North Atlantic Gyre: Evidence and traceability. *NanoImpact* **20**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100262.

Davranche, M., Veclin C., Pierson-Wickmann A.-C., El Hadri H., Grassl B., Rowenczyk L., Dia A., Halle A. T., Blancho F., Reynaud S. and Gigault J. (2019). Are nanoplastics able to bind significant amount of metals? The lead example. *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.087.

Delgado, A. V., González-Caballero F., Hunter R. J., Koopal L. K. and Lyklema J. (2005). Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **77**(10): 1753-1805. https://doi.org/10.1351/pac200577101753.

Desmet, C., Valsesia A., Oddo A., Ceccone G., Spampinato V., Rossi F. and Colpo P. (2017). Characterisation of nanomaterial hydrophobicity using engineered surfaces. *J. Nanopart. Res.* **19**(3): 117. https://doi.org/10.1007/s11051-017-3804-z.

Dong, S., Cai W., Xia J., Sheng L., Wang W. and Liu H. (2021). Aggregation kinetics of fragmental PET nanoplastics in aqueous environment: Complex roles of electrolytes, pH and humic acid. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115828.

- E -

Ekvall, M. T., Lundqvist M., Kelpsiene E., Šileikis E., Gunnarsson S. B. and Cedervall T. (2019). Nanoplastics formed during the mechanical breakdown of daily-use polystyrene products. *Nanoscale Advances* **1**(3): 1055-1061. https://doi.org/10.1039/c8na00210j.

El Hadri, H., Gigault J., Maxit B., Grassl B. and Reynaud S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact* **17**. https://doi.org/10.1016/j.impact.2019.100206.

El Hadri, H., Lisa J. M., Gigault J., Reynaud S. and Grassl B. (2021). Fate of nanoplastics in the environment: Implication of the cigarette butts. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115170.

Enfrin, M., Lee J., Gibert Y., Basheer F., Kong L. and Dumée L. F. (2020). Release of hazardous nanoplastic contaminants due to microplastics fragmentation under shear stress forces. *J. Hazard. Mater.* **384**: 121393. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121393.

Eriksen, M., Lebreton L. C. M., Carson H. S., Thiel M., Moore C. J., Borerro J. C., Galgani F., Ryan P. G. and Reisser J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLOS ONE* **9**(12): e111913. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913.

- F -

Feng, L.-J., Sun X.-D., Zhu F.-P., Feng Y., Duan J.-L., Xiao F., Li X.-Y., Shi Y., Wang Q., Sun J.-W., Liu X.-Y., Liu J.-Q., Zhou L.-L., Wang S.-G., Ding Z., Tian H., Galloway T. S. and Yuan X.-Z. (2020). Nanoplastics Promote Microcystin Synthesis and Release from Cyanobacterial Microcystis aeruginosa. *Environ. Sci. Technol.* **54**(6): 3386-3394. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06085.

Fitch, R. M. and Tsai C.-h. (1970). Polymer colloids: Particle formation in nonmicellar systems. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* **8**(10): 703-710. https://doi.org/10.1002/pol.1970.110081007.

Fitch, R. M. and Tsai C. H. (1971). Particle Formation in Polymer Colloids, III: Prediction of the Number of Particles by a Homogeneous Nucleation Theory. Polymer Colloids, Boston, MA, Springer US.

Fowkes, F. M. (1964). Attractive forces at interfaces. *Ind. Eng. Chem.* **56**(12): 40-52. https://doi.org/10.1021/ie50660a008.

François-Heude, A., Richaud E., Desnoux E. and Colin X. (2015). A general kinetic model for the photothermal oxidation of polypropylene. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **296**: 48-65. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2014.08.015.

Frehland, S., Kaegi R., Hufenus R. and Mitrano D. M. (2020). Long-term assessment of nanoplastic particle and microplastic fiber flux through a pilot wastewater treatment plant using metal-doped plastics. *Water Res.* **182**: 115860. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115860.

Freinkel, S., (2011). Plastic: A Toxic Love Story, Houghton Mifflin Harcourt.978-0-547-15240-0

Fries, E., Dekiff J. H., Willmeyer J., Nuelle M. T., Ebert M. and Remy D. (2013). Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci Process Impacts* **15**(10): 1949-1956. https://doi.org/10.1039/c3em00214d.

- G -

Gale, B. K., Caldwell K. D. and Frazier A. B. (2001). Geometric Scaling Effects in Electrical Field Flow Fractionation. 1. Theoretical Analysis. *Anal. Chem.* **73**(10): 2345-2352. https://doi.org/10.1021/ac001463q.

Galgani, F., Hanke G., Werner S. and De Vrees L. (2013). Marine litter within the European Marine Strategy Framework Directive. *ICES J. Mar. Sci.* **70**(6): 1055-1064. https://doi.org/10.1093/icesjms/fst122.

Galloway, T. S., Dogra Y., Garrett N., Rowe D., Tyler C. R., Moger J., Lammer E., Landsiedel R., Sauer U. G., Scherer G., Wohlleben W. and Wiench K. (2017). Ecotoxicological assessment of nanoparticle-containing acrylic copolymer dispersions in fairy shrimp and zebrafish embryos. *Environ. Sci.: Nano* **4**(10): 1981-1997. https://doi.org/10.1039/C7EN00385D.

GESAMP. (2015). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment. editeur: I. M. organization, https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3803.7925,

Gewert, B., Plassmann M. M. and MacLeod M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental Science: Processes & Impacts* **17**(9): 1513-1521. https://doi.org/10.1039/C5EM00207A.

Gigault, J., El Hadri H., Nguyen B., Grassl B., Rowenczyk L., Tufenkji N., Feng S. and Wiesner M. (2021). Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* **16**(5): 501-507. https://doi.org/10.1038/s41565-021-00886-4.

Gigault, J., El Hadri H., Reynaud S., Deniau E. and Grassl B. (2017). Asymmetrical flow field flow fractionation methods to characterize submicron particles: application to carbon-based aggregates and nanoplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* **409**(29): 6761-6769. https://doi.org/10.1007/s00216-017-0629-7.

Gigault, J., Halle A. t., Baudrimont M., Pascal P.-Y., Gauffre F., Phi T.-L., El Hadri H., Grassl B. and Reynaud S. (2018). Current opinion: What is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024.

Gigault, J., Pedrono B., Maxit B. and ter Halle A. (2016). Marine plastic litter: the unanalyzed nano-fraction. *Environ. Sci.: Nano* **3**(2): 346-350. https://doi.org/10.1039/C6EN00008H.

Gillibert, R., Balakrishnan G., Deshoules Q., Tardivel M., Magazzù A., Donato M. G., Maragò O. M., Lamy De La Chapelle M., Colas F., Lagarde F. and Gucciardi P. G. (2019). Raman tweezers for small microplastics and nanoplastics identification in seawater. *Environ. Sci. Technol.* **53**(15): 9003-9013. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03105.

Gonçalves, J. M. and Bebianno M. J. (2021). Nanoplastics impact on marine biota: A review. *Environ. Pollut.* **273**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116426.

González-Pleiter, M., Tamayo-Belda M., Pulido-Reyes G., Amariei G., Leganés F., Rosal R. and Fernández-Piñas F. (2019). Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments. *Environ. Sci.: Nano* **6**(5): 1382-1392. https://doi.org/10.1039/c8en01427b.

Good, R. J., Girifalco L. A. and Kraus G. (1958). A theory for estimation of interfacial energies. II. Application to surface thermodynamics of teflon and graphite. *J. Phys. Chem.* **62**(11): 1418-1421. https://doi.org/10.1021/j150569a016.

Goodall, A. R., Wilkinson M. C. and Hearn J. (1977). Mechanism of emulsion polymerization of styrene in soap-free systems. *J Polym Sci Pol Chem* **15**(9): 2193-2218. https://doi.org/10.1002/pol.1977.170150912.

Gregory, M. R. and Andrady A. L. (2005). Plastics in the Marine Environment. Plastics and the Environment**:** 379-401. https://doi.org/10.1002/0471721557.ch10

Grolimund, D., Elimelech M. and Borkovec M. (2001). Aggregation and deposition kinetics of mobile colloidal particles in natural porous media. *Colloids Surf, A* **191**(1-2): 179-188. https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00773-7.

- H -

Haggerty, L. and Lenhoff A. M. (1993). STM and AFM in Biotechnology. *Biotechnol. Progr.* **9**(1): 1-11. https://doi.org/10.1021/bp00019a001.

Hahladakis, J. N., Velis C. A., Weber R., Iacovidou E. and Purnell P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J. Hazard. Mater.* **344**: 179-199. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014.

Harkins, W. D. (1947). A General Theory of the Mechanism of Emulsion Polymerization [1]. *J. Am. Chem. Soc.* **69**(6): 1428-1444. https://doi.org/10.1021/ja01198a053.

Hartmann, N. B., Hüffer T., Thompson R. C., Hassellöv M., Verschoor A., Daugaard A. E., Rist S., Karlsson T., Brennholt N., Cole M., Herrling M. P., Hess M. C., Ivleva N. P., Lusher A. L. and Wagner M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* **53**(3): 1039-1047. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297.

Hartmann, N. B., Rist S., Bodin J., Jensen L. H., Schmidt S. N., Mayer P., Meibom A. and Baun A. (2017). Microplastics as vectors for environmental contaminants: Exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integr. Environ. Assess. Manage.* **13**(3): 488-493. https://doi.org/10.1002/ieam.1904.

Heinrich-Böll-Stiftung France. (2020). Atlas du plastique. editeur: H.-B.-S. France, 58 ISBN : 979-10-97395-01-8, https://fr.boell.org/fr/2020/02/24/atlas-du-plastique

Hermabessiere, L., Dehaut A., Paul-Pont I., Lacroix C., Jezequel R., Soudant P. and Duflos G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere* **182**: 781-793. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096.

Hernandez, L. M., Xu E. G., Larsson H. C. E., Tahara R., Maisuria V. B. and Tufenkji N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environ. Sci. Technol.* **53**(21): 12300-12310. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540.

Hildebrandt, L., Mitrano D. M., Zimmermann T. and Pröfrock D. (2020). A Nanoplastic Sampling and Enrichment Approach by Continuous Flow Centrifugation. *Frontiers in Environmental Science* **8**. https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00089.

Holmes, L. A., Turner A. and Thompson R. C. (2012). Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environ. Pollut.* **160**: 42-48. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.052.

Holthoff, H., Egelhaaf S. U., Borkovec M., Schurtenberger P. and Sticher H. (1996). Coagulation rate measurements of colloidal particles by simultaneous static and dynamic light scattering. *Langmuir* **12**(23): 5541-5549. https://doi.org/10.1021/La960326e.

Hopewell, J., Dvorak R. and Kosior E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 2115-2126. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311.

Hotze, E. M., Phenrat T. and Lowry G. V. (2010). Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment. *J. Environ. Qual.* **39**(6): 1909-1924. https://doi.org/10.2134/jeq2009.0462.

Hurley, R. R., Woodward J. C. and Rothwell J. J. (2018). Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding. *Nature Geoscience* **11**: 251-257. https://doi.org/10.1038/s41561-018-0080-1.

- I -

Ivleva, N. P., Wiesheu A. C. and Niessner R. (2017). Microplastic in Aquatic Ecosystems. *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**(7): 1720-1739. https://doi.org/10.1002/anie.201606957.

- J -

Jambeck, J. R., Geyer R., Wilcox C., Siegler T. R., Perryman M., Andrady A., Narayan R. and Law K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* **347**(6223): 768-771. https://doi.org/10.1126/science.1260352.

Jiang, B., Kauffman A. E., Li L., McFee W., Cai B., Weinstein J., Lead J. R., Chatterjee S., Scott G. I. and Xiao S. (2020). Health impacts of environmental contamination of micro- And nanoplastics: A review. *Environ. Health Prevent. Med.* **25**(1). https://doi.org/10.1186/s12199-020-00870-9.

Jiménez-Lamana, J., Marigliano L., Allouche J., Grassl B., Szpunar J. and Reynaud S. (2020). A Novel Strategy for the Detection and Quantification of Nanoplastics by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *Anal. Chem.* **92**(17): 11664-11672. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01536.

Johann, C., Elsenberg S., Schuch H. and Rösch U. (2015). Instrument and Method to Determine the Electrophoretic Mobility of Nanoparticles and Proteins by Combining Electrical and Flow Field-Flow Fractionation. *Anal. Chem.* **87**(8): 4292-4298. http://doi.org/10.1021/ac504712n.

Julienne, F. (2019). Fragmentation des plastiques : effet de l'environnement et de la nature du polymère sur la taille et la forme des fragments générés. *Thèse de Doctorat*, Université du Mans.

- K -

Kamweru, P. K., Ndiritu F. G., Kinyanjui T. K., Muthui Z. W., Ngumbu R. G. and Odhiambo P. M. (2011). Study of Temperature and UV Wavelength Range Effects on Degradation of Photo-Irradiated Polyethylene Films Using DMA. *Journal of Macromolecular Science, Part B* **50**(7): 1338-1349. https://doi.org/10.1080/00222348.2010.516172.

Keller, A. S., Jimenez-Martinez J. and Mitrano D. M. (2020). Transport of Nano- And Microplastic through Unsaturated Porous Media from Sewage Sludge Application. *Environ. Sci. Technol.* **54**(2): 911-920. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06483.

Kershaw, P. (2015). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment. editeur:

Kihara, S., Köper I., Mata J. P. and McGillivray D. J. (2021). Reviewing nanoplastic toxicology: It's an interface problem. *Adv. Colloid Interface Sci.* **288**. https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102337.

Kim, D., Chae Y. and An Y.-J. (2017). Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with Different Functional Groups on Daphnia magna. *Environ. Sci. Technol.* **51**(21): 12852-12858. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03732.

Koelmans, A. A. (2019). Proxies for nanoplastic. *Nat. Nanotechnol.* **14**(4): 307-308. https://doi.org/10.1038/s41565-019-0416-z.

Koelmans, A. A., Besseling E. and Shim W. J. (2015). Nanoplastics in the Aquatic Environment. Critical Review. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages, Springer International Publishing**:** 325-340. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_12

- L -

Lambert, S. and Wagner M. (2016a). Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene. *Chemosphere* **145**: 265-268. 10.1016/j.chemosphere.2015.11.078.

Lambert, S. and Wagner M. (2016b). Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* **161**: 510-517. 10.1016/j.chemosphere.2016.07.042.

Lan, Y., Caciagli A., Guidetti G., Yu Z., Liu J., Johansen V. E., Kamp M., Abell C., Vignolini S., Scherman O. A. and Eiser E. (2018). Unexpected stability of aqueous dispersions of raspberry-like colloids. *Nat. Commun.* **9**(1): 3614. https://doi.org/10.1038/s41467-018-05560-3.

Law, K. L. (2017). Plastics in the Marine Environment. *Annual Review of Marine Science* **9**(1): 205-229. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409.

Lead, J. R. and Wilkinson K. J. (2006). Aquatic Colloids and Nanoparticles: Current Knowledge and Future Trends. *Environmental Chemistry* **3**(3): 159-171. https://doi.org/10.1071/EN06025.

Lebordais, M., Gutierrez-Villagomez J. M., Gigault J., Baudrimont M. and Langlois V. S. (2021). Molecular impacts of dietary exposure to nanoplastics combined with arsenic in Canadian oysters (Crassostrea virginica) and bioaccumulation comparison with Caribbean oysters (Isognomon alatus). *Chemosphere* **277**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130331.

Lebreton, L. and Andrady A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications* **5**(1): 6. https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7.

Lebreton, L. C. M., Greer S. D. and Borrero J. C. (2012). Numerical modelling of floating debris in the world's oceans. *Mar. Pollut. Bull.* **64**(3): 653-661. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.027.

Lebreton, L. C. M., van der Zwet J., Damsteeg J.-W., Slat B., Andrady A. and Reisser J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nat. Commun.* **8**(1): 15611. https://doi.org/10.1038/ncomms15611.

Lee, W. S., Cho H.-J., Kim E., Huh Y. H., Kim H.-J., Kim B., Kang T., Lee J.-S. and Jeong J. (2019). Bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effect on the toxicity of Au ions in zebrafish embryos. *Nanoscale* **11**(7): 3173-3185. https://doi.org/10.1039/C8NR09321K.

Lehner, R., Weder C., Petri-Fink A. and Rothen-Rutishauser B. (2019). Emergence of Nanoplastic in the Environment and Possible Impact on Human Health. *Environ. Sci. Technol.* https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05512.

Lenz, R., Enders K. and Nielsen T. G. (2016). Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**(29): E4121. https://doi.org/10.1073/pnas.1606615113.

Li, P., Li Q., Hao Z., Yu S. and Liu J. (2020a). Analytical methods and environmental processes of nanoplastics. *J. Environ. Sci. (China)* **94**: 88-99. https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.03.057.

Li, Q.-c., Lai Y.-j., Yu S.-j., Li P., Zhou X.-x., Dong L.-j., Liu X., Yao Z.-w. and Liu J.-f. (2021). Sequential Isolation of Microplastics and Nanoplastics in Environmental Waters by Membrane Filtration, Followed by Cloud-Point Extraction. *Anal. Chem.* **93**(10): 4559-4566. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04996.

Li, X., He E., Xia B., Van Gestel C. A. M., Peijnenburg W. J. G. M., Cao X. and Qiu H. (2020b). Impact of CeO2 nanoparticles on the aggregation kinetics and stability of polystyrene nanoplastics: Importance of surface functionalization and solution chemistry. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116324.

Li, Z., Feng C., Wu Y. and Guo X. (2020c). Impacts of nanoplastics on bivalve: Fluorescence tracing of organ accumulation, oxidative stress and damage. *J. Hazard. Mater.* **392**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122418.

Lim, J., Yeap S. P., Che H. X. and Low S. C. (2013). Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. *Nanoscale Research Letters* **8**(1): 381. https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-381.

Liu, Y., Hu Y., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2019). Aggregation kinetics of UV irradiated nanoplastics in aquatic environments. *Water Res.* **163**: 114870. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114870.

Liu, Y., Huang Z., Zhou J., Tang J., Yang C., Chen C., Huang W. and Dang Z. (2020). Influence of environmental and biological macromolecules on aggregation kinetics of nanoplastics in aquatic systems. *Water Res.* **186**. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116316.

Lobelle, D. and Cunliffe M. (2011). Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Mar. Pollut. Bull.* **62**(1): 197-200. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.10.013.

Long, T. C., Saleh N., Tilton R. D., Lowry G. V. and Veronesi B. (2006). Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity. *Environ. Sci. Technol.* **40**(14): 4346-4352. https://doi.org/10.1021/es060589n.

Lovell, P. and El-Aasser M., (1997). Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers, Wiley.ISBN: 978-0-471-96746-0

Lowry, G. V., Hill R. J., Harper S., Rawle A. F., Hendren C. O., Klaessig F., Nobbmann U., Sayre P. and Rumble J. (2016). Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS. *Environ. Sci.: Nano* **3**(5): 953-965. https://doi.org/10.1039/C6EN00136J.

- M -

Magrì, D., Sánchez-Moreno P., Caputo G., Gatto F., Veronesi M., Bardi G., Catelani T., Guarnieri D., Athanassiou A., Pompa P. P. and Fragouli D. (2018). Laser ablation as a versatile tool to mimic polyethylene terephthalate nanoplastic pollutants: Characterization and toxicology assessment. *ACS Nano* **12**(8): 7690-7700. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01331.

Magrì, D., Veronesi M., Sánchez-Moreno P., Tolardo V., Bandiera T., Pompa P. P., Athanassiou A. and Fragouli D. (2021). PET nanoplastics interactions with water contaminants and their impact on human cells. *Environ. Pollut.* **271**. 10.1016/j.envpol.2020.116262.

Mainard, M. and Jacob D. (2016). Comprendre la mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. *Photoniques* **83**: 40-44. https://doi.org/10.1051/photon/20168340.

Mao, Y., Li H., Huangfu X., Liu Y. and He Q. (2020). Nanoplastics display strong stability in aqueous environments: Insights from aggregation behaviour and theoretical calculations. *Environ. Pollut.* **258**: 113760. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113760.

Mariano, S., Tacconi S., Fidaleo M., Rossi M. and Dini L. (2021). Micro and Nanoplastics Identification: Classic Methods and Innovative Detection Techniques. *Frontiers in Toxicology* **3**(2). https://doi.org/10.3389/ftox.2021.636640.

Massos, A. and Turner A. (2017). Cadmium, lead and bromine in beached microplastics. *Environ. Pollut.* **227**: 139-145. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.034.

Materić, D., Kasper-Giebl A., Kau D., Anten M., Greilinger M., Ludewig E., Van Sebille E., Röckmann T. and Holzinger R. (2020). Micro-and Nanoplastics in Alpine Snow: A New Method for Chemical Identification and (Semi)Quantification in the Nanogram Range. *Environ. Sci. Technol.* **54**(4): 2353-2359. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07540.

Mattsson, K., Björkroth F., Karlsson T. and Hassellöv M. (2021). Nanofragmentation of Expanded Polystyrene Under Simulated Environmental Weathering (Thermooxidative Degradation and Hydrodynamic Turbulence). *Frontiers in Marine Science* **7**. https://doi.org/10.3389/fmars.2020.578178.

Mech, A., Rauscher H., Rasmussen K., Babick F., Hodoroaba V.-D., Ghanem A., Wohlleben W., Marvin H., Brüngel R., Friedrich C. M., Löschner K. and Gilliland D. (2020). The NanoDefine Methods Manual. Part 3: Standard Operating Procedures (SOPs). *Publications Office of the European Union* **EUR 29876 EN**. https://doi.org/10.2760/02910.JRC117501

Mintenig, S. M., Bäuerlein P. S., Koelmans A. A., Dekker S. C. and Van Wezel A. P. (2018). Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and microplastics in aqueous environmental samples. *Environ. Sci.: Nano* **5**(7): 1640-1649. https://doi.org/10.1039/c8en00186c.

Mitrano, D. M., Beltzung A., Frehland S., Schmiedgruber M., Cingolani A. and Schmidt F. (2019). Synthesis of metal-doped nanoplastics and their utility to investigate fate and behaviour in complex environmental systems. *Nat. Nanotechnol.* https://doi.org/10.1038/s41565-018-0360-3.

Mohee, R., Unmar G. D., Mudhoo A. and Khadoo P. (2008). Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions. *Waste Manage. (Oxford)* **28**(9): 1624-1629. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.07.003.

Molenaar, R., Chatterjee S., Kamphuis B., Segers-Nolten I. M. J., Claessens M. M. A. E. and Blum C. (2021). Nanoplastic sizes and numbers: Quantification by single particle tracking. *Environ. Sci.: Nano* **8**(3): 723-730. https://doi.org/10.1039/d0en00951b.

Muthukumar, T., Aravinthan A., Lakshmi K., Venkatesan R., Vedaprakash L. and Doble M. (2011). Fouling and stability of polymers and composites in marine environment. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **65**(2): 276-284. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.012.

- N -

Newman, S., Watkins E., Farmer A., Brink P. t. and Schweitzer J.-P. (2015). The Economics of Marine Litter. Marine Anthropogenic Litter. M. Bergmann, L. Gutow and M. Klages. Cham, Springer International Publishing**:** 367-394. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_14

Nguyen, B., Claveau-Mallet D., Hernandez L. M., Xu E. G., Farner J. M. and Tufenkji N. (2019). Separation and Analysis of Microplastics and Nanoplastics in Complex Environmental Samples. *Acc. Chem. Res.* **52**(4): 858-866. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00602.

Nolte, T. M., Hartmann N. B., Kleijn J. M., Garnæs J., van de Meent D., Jan Hendriks A. and Baun A. (2017). The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption. *Aquat. Toxicol.* **183**: 11-20. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.005.

- O -

O'Brien, R. W. and White L. R. (1978). Electrophoretic mobility of a spherical colloidal particle. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **74**(0): 1607-1626. https://doi.org/10.1039/F29787401607.

Oncsik, T., Trefalt G., Csendes Z., Szilagyi I. and Borkovec M. (2014). Aggregation of Negatively Charged Colloidal Particles in the Presence of Multivalent Cations. *Langmuir* **30**(3): 733-741. https://doi.org/10.1021/la4046644.

Oriekhova, O. and Stoll S. (2018). Heteroaggregation of nanoplastic particles in the presence of inorganic colloids and natural organic matter. *Environ. Sci.: Nano* **5**(3): 792-799. https://doi.org/10.1039/c7en01119a.

Owens, D. K. and Wendt R. C. (1969). Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **13**(8): 1741-1747. https://doi.org/10.1002/app.1969.070130815.

- P -

Palshin V.A., Danilovtseva E. N., M.S. S., Zelinskiy S. N. and Annenkov V. V. (2020). Fluorescent nanoplastics particles: synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology* **3**(5): 1067-1072. https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067.

Pegram, J. E. and Andrady A. L. (1989). Outdoor weathering of selected polymeric materials under marine exposure conditions. *Polym. Degrad. Stab.* **26**(4): 333-345. https://doi.org/10.1016/0141-3910(89)90112-2.

Pessoni, L., Veclin C., Hadri H. E., Cugnet C., Davranche M., Pierson-Wickmann A.-C., Gigault J., Grassl B. and Reynaud S. (2019). Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2253-2258. https://doi.org/10.1039/C9EN00384C.

Pikuda, O., Xu E. G., Berk D. and Tufenkji N. (2019). Toxicity Assessments of Micro- and Nanoplastics Can Be Confounded by Preservatives in Commercial Formulations. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **6**(1): 21-25. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00614.

Pinto da Costa, J., Reis V., Paço A., Costa M., Duarte A. C. and Rocha-Santos T. (2019). Micro(nano)plastics – Analytical challenges towards risk evaluation. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **111**: 173-184. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.013.

PlasticsEurope. (2020). Plastics - the Facts 2020. editeur:

Pradel, A., Ferreres S., Veclin C., El Hadri H., Gautier M., Grassl B. and Gigault J. (2021). Stabilization of Fragmental Polystyrene Nanoplastic by Natural Organic Matter: Insight into Mechanisms. *ACS ES&T Water*: 1198-1208. https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00283.

Pradel, A., Hadri H. E., Desmet C., Ponti J., Reynaud S., Grassl B. and Gigault J. (2020). Deposition of environmentally relevant nanoplastic models in sand during transport experiments. *Chemosphere* **255**: 126912. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126912.

- Q -

Qu, M. and Wang D. (2020). Toxicity comparison between pristine and sulfonate modified nanopolystyrene particles in affecting locomotion behavior, sensory perception, and neuronal development in Caenorhabditis elegans. *Sci. Total Environ.* **703**: 134817. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134817.

- R -

Geyer, R., Jambeck J. R. and Law K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* **3**(7): e1700782. https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782.

Ramirez Arenas, L., Ramseier Gentile S., Zimmermann S. and Stoll S. (2020). Coagulation of TiO2, CeO2 nanoparticles, and polystyrene nanoplastics in bottled mineral and surface waters. Effect of water properties, coagulant type, and dosage. *Water Environ. Res* **92**(8): 1184-1194. https://doi.org/10.1002/wer.1313.

Redondo-Hasselerharm, P., Gort G., Peeters E. and Koelmans A. (2020). Nano-and microplastics affect the composition of freshwater benthic communities in the long term. *Science advances* **6**(5): eaay4054. https://doi.org/10.1126/sciadv.aay4054.

Reichel, J., Graßmann J., Letzel T. and Drewes J. E. (2020). Systematic Development of a Simultaneous Determination of Plastic Particle Identity and Adsorbed Organic Compounds by Thermodesorption-Pyrolysis GC/MS (TD-Pyr-GC/MS). *Molecules (Basel, Switzerland)* **25**(21). https://doi.org/10.3390/molecules25214985.

Rodríguez-Hernández, A. G., Muñoz-Tabares J. A., Aguilar-Guzmán J. C. and Vazquez-Duhalt R. (2019). A novel and simple method for polyethylene terephthalate (PET) nanoparticle production. *Environ. Sci.: Nano* **6**(7): 2031-2036. https://doi.org/10.1039/c9en00365g.

Rowenczyk, L., Dazzi A., Deniset-Besseau A., Beltran V., Goudounèche D., Wong-Wah-Chung P., Boyron O., George M., Fabre P., Roux C., Mingotaud A. F. and Halle A. T. (2020). Microstructure Characterization of Oceanic Polyethylene Debris. *Environ. Sci. Technol.* **54**(7): 4102-4109. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07061.

Ryan, P. G., Moore C. J., van Franeker J. A. and Moloney C. L. (2009). Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 1999-2012. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0207.

- S -

Saavedra, J., Stoll S. and Slaveykova V. I. (2019). Influence of nanoplastic surface charge on eco-corona formation, aggregation and toxicity to freshwater zooplankton. *Environ. Pollut.* **252**: 715-722. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.135.

Sander, M., Kohler H.-P. E. and McNeill K. (2019). Assessing the environmental transformation of nanoplastic through 13C-labelled polymers. *Nat. Nanotechnol.* **14**(4): 301-303. https://doi.org/10.1038/s41565-019-0420-3.

Schimpf, M. E., Caldwell K. and Giddings C., (2000). Field-Flow Fractionation Handbook, Wiley IEEE.ISBN : 978-0-471-18430-0

Schmidt, C., Krauth T. and Wagner S. (2017). Export of Plastic Debris by Rivers into the Sea. *Environ. Sci. Technol.* **51**(21): 12246-12253. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02368.

Schwaferts, C., Niessner R., Elsner M. and Ivleva N. P. (2019). Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment. *TrAC, Trends Anal. Chem.* https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.014.

Shah, A. A., Hasan F., Hameed A. and Ahmed S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnol. Adv.* **26**(3): 246-265. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005.

Shams, M., Alam I. and Chowdhury I. (2020). Aggregation and stability of nanoscale plastics in aquatic environment. *Water Res.* **171**: 115401. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115401.

Singh, B. and Sharma N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.* **93**(3): 561-584. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.

Singh, N., Bhagat J., Tiwari E., Khandelwal N., Darbha G. K. and Shyama S. K. (2021). Metal oxide nanoparticles and polycyclic aromatic hydrocarbons alter nanoplastic's stability and toxicity to zebrafish. *J. Hazard. Mater.* **407**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124382.

Singh, N., Tiwari E., Khandelwal N. and Darbha G. K. (2019). Understanding the stability of nanoplastics in aqueous environments: effect of ionic strength, temperature, dissolved organic matter, clay, and heavy metals. *Environ. Sci.: Nano* **6**(10): 2968-2976. https://doi.org/10.1039/c9en00557a.

Slomkowski, S., Alemán J. V., Gilbert R. G., Hess M., Horie K., Jones R. G., Kubisa P., Meisel I., Mormann W., Penczek S. and Stepto R. F. T. (2011). Terminology of polymers and polymerization processes in dispersed systems (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl. Chem.* **83**(12): 2229-2259. https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-06-03.

Song, Z., Yang X., Chen F., Zhao F., Zhao Y., Ruan L., Wang Y. and Yang Y. (2019). Fate and transport of nanoplastics in complex natural aquifer media: Effect of particle size and surface functionalization. *Sci. Total Environ.* **669**: 120-128. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.102.

Sorasan, C., Edo C., González-Pleiter M., Fernández-Piñas F., Leganés F., Rodríguez A. and Rosal R. (2021). Generation of nanoplastics during the photoageing of low-density polyethylene. *Environ. Pollut.* **289**: 117919. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117919.

Strungaru, S.-A., Jijie R., Nicoara M., Plavan G. and Faggio C. (2019). Micro- (nano) plastics in freshwater ecosystems: Abundance, toxicological impact and quantification methodology. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **110**: 116-128. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.025.

Sullivan, G. L., Gallardo J. D., Jones E. W., Hollliman P. J., Watson T. M. and Sarp S. (2020). Detection of trace sub-micron (nano) plastics in water samples using pyrolysis-gas chromatography time of flight mass spectrometry (PY-GCToF). *Chemosphere* **249**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126179.

Sun, H., Jiao R. and Wang D. (2021). The difference of aggregation mechanism between microplastics and nanoplastics: Role of Brownian motion and structural layer force. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115942.

- T -

Tallec, K., Blard O., González-Fernández C., Brotons G., Berchel M., Soudant P., Huvet A. and Paul-Pont I. (2019). Surface functionalization determines behavior of nanoplastic solutions in model aquatic environments. *Chemosphere*: 639-646. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.077.

ter Halle, A., Jeanneau L., Martignac M., Jardé E., Pedrono B., Brach L. and Gigault J. (2017). Nanoplastic in the North Atlantic subtropical gyre. *Environ. Sci. Technol.* **51**(23): 13689-13697. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03667.

ter Halle, A., Ladirat L., Gendre X., Goudouneche D., Pusineri C., Routaboul C., Tenailleau C., Duployer B. and Perez E. (2016). Understanding the Fragmentation Pattern of Marine Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* **50**(11): 5668-5675. 10.1021/acs.est.6b00594.

Thompson, R. C., Moore C. J., vom Saal F. S. and Swan S. H. (2009). Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**(1526): 2153-2166. https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053.

Tian, L., Chen Q., Jiang W., Wang L., Xie H., Kalogerakis N., Ma Y. and Ji R. (2019). A carbon-14 radiotracer-based study on the phototransformation of polystyrene nanoplastics in water versus in air. *Environ. Sci.: Nano* **6**(9): 2907-2917. https://doi.org/10.1039/c9en00662a.

Tian, L., Kolvenbach B., Corvini N., Wang S., Tavanaie N., Wang L., Ma Y., Scheu S., Corvini P. F. X. and Ji R. (2017). Mineralisation of 14C-labelled polystyrene plastics by Penicillium variabile after ozonation pre-treatment. *New Biotechnology* **38**: 101-105. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.07.008.

Town, R. M. and Van Leeuwen H. P. (2020). Uptake and Release Kinetics of Organic Contaminants Associated with Micro- A nd Nanoplastic Particles. *Environ. Sci. Technol.* **54**(16): 10057-10067. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02297.

Triebskorn, R., Braunbeck T., Grummt T., Hanslik L., Huppertsberg S., Jekel M., Knepper T. P., Krais S., Müller Y. K., Pittroff M., Ruhl A. S., Schmieg H., Schür C., Strobel C., Wagner M., Zumbülte N. and Köhler H.-R. (2019). Relevance of nano- and microplastics for freshwater ecosystems: A critical review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **110**: 375-392. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.023.

- U -

USEPA, (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, USEPA, Office of Water Washington, DC.1428904042

- V -

Valsesia, A., Desmet C., Ojea-Jiménez I., Oddo A., Capomaccio R., Rossi F. and Colpo P. (2018). Direct quantification of nanoparticle surface hydrophobicity. *Commun. Chem.* **1**(1): 53. https://doi.org/10.1038/s42004-018-0054-7.

van Oss, C. J. (1993). Acid—base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids Surf, A* **78**: 1-49. https://doi.org/10.1016/0927-7757(93)80308-2.

Varó, I., Perini A., Torreblanca A., Garcia Y., Bergami E., Vannuccini M. L. and Corsi I. (2019). Time-dependent effects of polystyrene nanoparticles in brine shrimp Artemia franciscana at physiological, biochemical and molecular levels. *Sci. Total Environ.* **675**: 570-580. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.157.

Velzeboer, I., Kwadijk C. J. A. F. and Koelmans A. A. (2014). Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes. *Environ. Sci. Technol.* **48**(9): 4869-4876. https://doi.org/10.1021/es405721v.

Verleysen, E., Wagner T., Lipinski H.-G., Kägi R., Koeber R., Boix-Sanfeliu A., De Temmerman P.-J. and Mast J. (2019). Evaluation of a TEM based Approach for Size Measurement of Particulate (Nano)materials. *Materials* **12**(14): 2274. https://doi.org/10.3390/ma12142274.

Vicentini, D. S., Nogueira D. J., Melegari S. P., Arl M., Köerich J. S., Cruz L., Justino N. M., Oscar B. V., Puerari R. C., da Silva M. L. N., Simioni C., Ouriques L. C., Matias M. S., de Castilhos Junior A. B. and Matias W. G. (2019). Toxicological Evaluation and Quantification of Ingested Metal-Core Nanoplastic by Daphnia magna Through Fluorescence and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometric Methods. *Environ. Toxicol. Chem.* **38**(10): 2101-2110. https://doi.org/10.1002/etc.4528.

Voïtchovsky, K., Kuna J. J., Contera S. A., Tosatti E. and Stellacci F. (2010). Direct mapping of the solid-liquid adhesion energy with subnanometre resolution. *Nat. Nanotechnol.* **5**(6): 401-405. https://doi.org/10.1038/nnano.2010.67.

von Moos, N., Burkhardt-Holm P. and Köhler A. (2012). Uptake and Effects of Microplastics on Cells and Tissue of the Blue Mussel Mytilus edulis L. after an Experimental Exposure. *Environ. Sci. Technol.* **46**(20): 11327-11335. https://doi.org/10.1021/es302332w.

- W -

Wahl, A., Le Juge C., Davranche M., El Hadri H., Grassl B., Reynaud S. and Gigault J. (2021). Nanoplastic occurrence in a soil amended with plastic debris. *Chemosphere* **262**. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127784.

Wan, J.-K., Chu W.-L., Kok Y.-Y. and Lee C.-S., (2019a). Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae https://doi.org/10.1007/398_2018_14

Wan, T., Lu S., Cheng W., Ren J., Wang M., Hu B., Jia Z., Li Y. and Sun Y. (2019b). A spectroscopic and theoretical investigation of interaction mechanisms of tetracycline and polystyrene nanospheres under different conditions. *Environ. Pollut.*: 398-405. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.049.

Wang, J., Zhao X., Wu A., Tang Z., Niu L., Wu F., Wang F., Zhao T. and Fu Z. (2021a). Aggregation and stability of sulfate-modified polystyrene nanoplastics in synthetic and natural waters. *Environ. Pollut.* **268**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114240.

Wang, L., Wu W.-M., Bolan N. S., Tsang D. C. W., Li Y., Qin M. and Hou D. (2021b). Environmental fate, toxicity and risk management strategies of nanoplastics in the environment: Current status and future perspectives. *J. Hazard. Mater.* **401**. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123415.

Wang, P. H. and Pan C.-Y. (2001). Emulsion copolymerization of styrene with acrylic or methacrylic acids – distribution of the carboxylic group. *Colloid. Polym. Sci.* **279**(1): 98-103. https://doi.org/10.1007/s003960000407.

Weinstein, J. E., Crocker B. K. and Gray A. D. (2016). From macroplastic to microplastic: Degradation of high-density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environ. Toxicol. Chem.* **35**(7): 1632-1640. https://doi.org/10.1002/etc.3432.

Wiesner, M. R. and Bottero J.-Y., (2017). Environmental Nanotechnology: Applications and Impacts of Nanomaterials, Second Edition. New York, McGraw-Hill Education.9780071828444 ISBN : 9780071828444

Wu, J., Jiang R., Lin W. and Ouyang G. (2019). Effect of salinity and humic acid on the aggregation and toxicity of polystyrene nanoplastics with different functional groups and charges. *Environ. Pollut.* **245**: 836-843. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.055.

- Y -

Ye, S. and Andrady A. L. (1991). Fouling of floating plastic debris under Biscayne Bay exposure conditions. *Mar. Pollut. Bull.* **22**(12): 608-613. https://doi.org/10.1016/0025-326X(91)90249-R.

Yin, K., Wang Y., Zhao H., Wang D., Guo M., Mu M., Liu Y., Nie X., Li B., Li J. and Xing M. (2021). A comparative review of microplastics and nanoplastics: Toxicity hazards on digestive, reproductive and nervous system. *Sci. Total Environ.* **774**. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145758.

Yu, S., Shen M., Li S., Fu Y., Zhang D., Liu H. and Liu J. (2019). Aggregation kinetics of different surface-modified polystyrene nanoparticles in monovalent and divalent electrolytes. *Environ. Pollut.* **255**(Pt 2): 113302. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113302.

- Z -

Zalasiewicz, J., Waters C. N., Ivar do Sul J. A., Corcoran P. L., Barnosky A. D., Cearreta A., Edgeworth M., Gałuszka A., Jeandel C., Leinfelder R., McNeill J. R., Steffen W., Summerhayes C., Wagreich M., Williams M., Wolfe A. P. and Yonan Y. (2016). The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. *Anthropocene* **13**: 4-17. https://doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.002.

Zhang, B., Chao J., Chen L., Liu L., Yang X. and Wang Q. (2021a). Research progress of nanoplastics in freshwater. *Sci. Total Environ.* **757**. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143791.

Zhang, K., Hamidian A. H., Tubić A., Zhang Y., Fang J. K. H., Wu C. and Lam P. K. S. (2021b). Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environ. Pollut.* **274**. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116554.

Zhou, X.-X., Hao L.-T., Wang H.-Y.-Z., Li Y.-J. and Liu J.-F. (2019). Cloud-Point Extraction Combined with Thermal Degradation for Nanoplastic Analysis Using Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **91**(3): 1785-1790. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04729.

ECOLE DOCTORALE :
Sciences Exactes et leurs Applications ED211

LABORATOIRE :
IPREM UMR5254 – CNRS/UPPA

Abstract :

Environmental pollution from plastic waste is a global problem. The impact of nanoplastics in the ocean is greatly influenced by their aggregation properties. This aggregation is generally controlled by the intrinsic properties of nanoplastics as well as those of the surrounding environment. We studied the parameters affecting this property by first setting up a systematic method to characterize nanoplastics (size distribution, shape, functionality, appearance and surface hydrophobicity). Nanoplastic model materials have been then elaborated from two different processes: i) bottom-up approach: soap free and free of additives emulsion polymerization; ii) top-down approach: mechanical degradation of microplastics. The methods allow the control of the nanoplastic properties (composition, morphology, surface condition) and the model materials were characterized using the methods developed and optimized within this work (electronic microscopy, atomic force microscopy, potentiometric titration, dynamic and static light scattering, zetametry). Finally, we studied the homoaggregation phenomenon in the marine environment and highlighted the parameters affecting the behavior from intrinsic properties of nanoplastics as well as those of the surrounding medium.

Résumé :

La pollution de l'environnement par les déchets plastiques est un problème mondial. L'impact des nanoplastiques dans l'océan est grandement influencé par leurs propriétés d'agrégation. Cette agrégation est généralement contrôlée par les propriétés intrinsèques des nanoplastiques ainsi que celles du milieu environnant. Pour étudier ce phénomène et les facteurs qui l'influencent, nous nous sommes d'abord intéressés à la mise en place d'une méthode systématique permettant de caractériser les nanoplastiques (distribution de taille, forme, fonctionnalité, aspect et hydrophobie de surface), puis nous avons élaboré des nanoplastiques modèles issus de deux procédés différents : *i)* méthode ascendante : polymérisation en émulsion sans tensio-actif ni additif ; *ii)* méthode descendante : dégradation mécanique de microplastique. Ces deux voies permettent de contrôler les propriétés des nanoplastiques (composition, morphologie, état de la surface). Ces modèles ont été caractérisés grâce aux méthodes développées et optimisées (microscopie électronique, microscopie à force atomique, titrage potentiométrique, diffusion dynamique et statique de la lumière, zêta-métrie). Enfin, nous avons étudié l'homoagrégation de nanoplastiques en milieu marin et déterminé les paramètres influents tant au niveau des propriétés intrinsèques des nanoplastiques que de celles du milieu.

Ce travail a bénéficié d'une aide du gouvernement français au titre du Programme d'Investissement d'Avenir – I-Site E2S UPPA