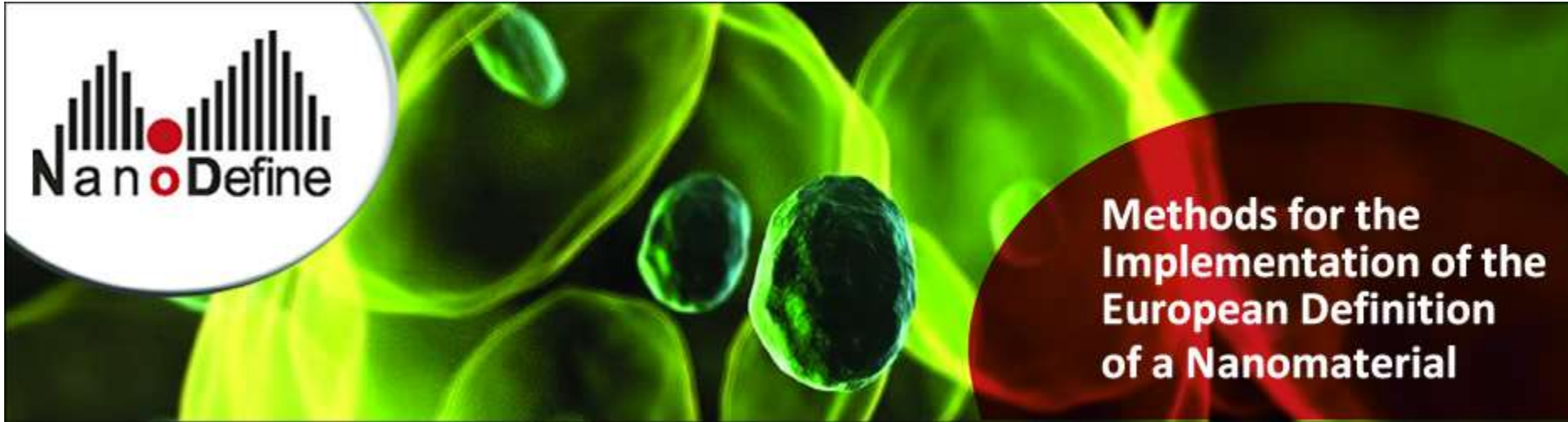


EVOLUTION DES TECHNIQUES DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

LES NOUVELLES RÉGLEMENTATIONS POUSSENT À INNOVER

- 1) Le Règlement Cosmétique 2009/1223 (du 30 novembre 2009) demande d'informer le consommateur par un étiquetage **[nano]** si le produit cosmétique mis sur le marché contient un nanomatériau.
 - 2) La Recommandation Européenne 2011/696/UE (du 18 octobre 2011) définit un matériau comme nanomatériau si au moins **50 %** de ses particules constitutives, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant **entre 1 et 100 nm**.
- *LES MATIÈRES PREMIÈRES : CETTE MATIÈRE PREMIÈRE CONSTITUE-T-ELLE UN NANOMATÉRIAU ?*
 - *LES PRODUITS FINIS : CE PRODUIT FINI CONTIENT-IL DES NANOMATÉRIAUX ?*

CADRE DU DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES TECHNIQUES DE PRÉPARATIONS LE PROJET EUROPÉEN NANODEFINE



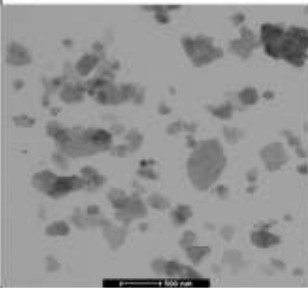
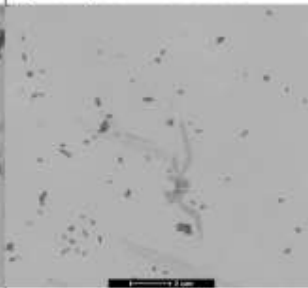
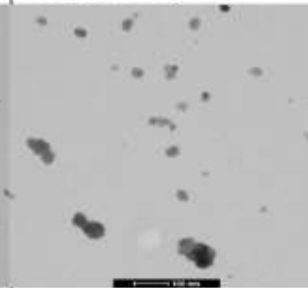
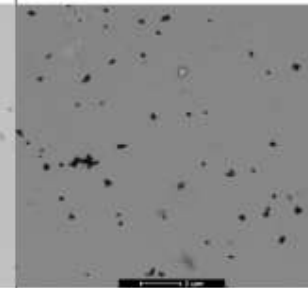
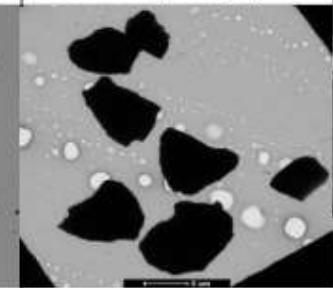
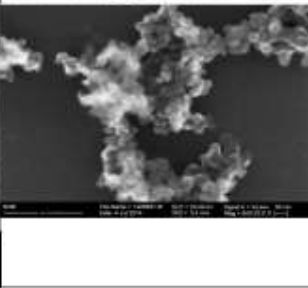
28 partenaires
4 ans

Développer des méthodes robustes et accessibles capables de mesurer le nombre de particules d'une taille comprise entre 1 et 100 nm et de le comparer au nombre de particules de tailles plus importantes.

CHOIX DE SUBSTANCES ET PRODUITS REPRÉSENTATIFS

Material ID	material	Subst. (S) / product (P)				chem. composition	shape	presence of different sized particles	trade form	dispersability of particles	type of matrix	disolvability of non-particulates	sensitive to	specific properties	
		pre-selected	nano (n) / coarse (c)	link to NANOREG WP2	Origin: manufactured (m); natural (n); incidental (I)										
IRMM-382	MWCNT	S	x	n	x	m	carbon	fiber	nano	powder	H ₂ O +SDS or +BSA	0	-	e-beam	
IRMM-380	Organic pigment	S	x	n		m	organic	particle	nano+(non-nano)	powder	solvent	0	-	heating+e-beam	
IRMM-386	Organic pigment	S		c		m	organic	particle	(nano)+non-nano	powder	solvent	0	-	heating+e-beam	
IRMM-384	CaCO ₃ (fine grade)	S	x	c		m	inorganic	rod / cigar	(nano)+non-nano	powder	isopropanole; H ₂ O +SHMP	0	-		
IRMM-383	Nano Steel	S	x	n		m	metal	platelets	nano+(non-nano)	powder	?	0	-		conductive
IRMM-387	BaSO ₄ (ultrafine grade)	S		n	x	m	inorganic	particle	nano+(non-nano)	powder	H ₂ O + SHMP	0	-		
IRMM-381	BaSO ₄ (fine grade)	S		c		m	inorganic	particle	non-nano	powder	H ₂ O + SHMP	0	-		
IRMM-385	Kaolin	S		c	x	n	inorganic	multiscale platelets	(nano)+non-nano	powder	H ₂ O + TSPP	0	-		
BAM-11	Zeolite powder	S		c		m	inorganic	particle	(nano)+non-nano	powder		0	-		functionalized
IRMM-389	Basic methacrylate copolymer particles (BMA)	S		c		m	organic	particle	non-nano	powder		0	-	heating+e-beam; humidity?	
IRMM-388	coated TiO ₂	S		c		m	inorganic/composite	core-shell	non-nano	powder		0	-		
BAM-12a/b	Food with SiO ₂ , (NanoLyse-material+ commercial dry pancake mix)	P	x	n		m	inorganic	particle	nano+(non-nano)	suspension/powder	n/a	organics	acids, bases	vacuum	
BAM-13a	TiO ₂ +surface treatment with aluminum compound formulated in sunscreen (w/ Fe ₂ O ₃ , micro-TiO ₂)	P	x	n		m	inorganic/composite	particle	nano + (non-nano)	cream	n/a	emulsion	ethanol		
BAM-13b	TiO ₂ +surface treatment with aluminum compound formulated in simplified sunscreen	P	x	n		m	inorganic/composite	particle	nano	cream	n/a	emulsion	ethanol		
BAM-14 BAM-14-1 BAM-14-2	Fe ₂ O ₃ in HDPE (+ raw HDPE + raw powder)	P		n		m	inorganic	particle	nano	granulate	n/a	polymer	none		
BAM-15	Al ₂ O ₃ in toothpaste	P		c		m	inorganic	particle	(nano)+non-nano	paste	n/a	mixture	water?		many diff. phases

CHOIX DE SUBSTANCES ET PRODUITS REPRÉSENTATIFS

IRMM-385	IRMM-386	IRMM-387	IRMM-388	IRMM-389	BAM-12a
RTM5	RTM8	RTM1	RTM3	RTM9	
Kaolin	pigment yellow 83 coarse	BaSO ₄ , ultrafine grade	coated TiO ₂	Basic methacrylate copolymer	food with SiO ₂ -tomato soup
					
powder	powder	powder	powder	powder	
flat	~spherical	~spherical	~spherical	~spherical	
yes	yes	yes	yes	yes	
	1	3	3	3	
{high_poly}	{high_poly}	{high_poly}	{high_poly}	{high_poly}	
ok	ok	ok	ok	ok	
ok	ok	ok	ok	ok	

IRMM-385	IRMM-386	IRMM-387	IRMM-388	IRMM-389	BAM-12a
	2.61	1.5	4.01 ± 0.0010	3.99 ± 0.0015	1.13 ²⁾
	41	25	149	58	1
	16	17	37	15	1
[-273,500]	[-273,100]	[-273,500]	[-273,500]	[-273,50]	
no	yes	no	no	yes	
{insulator}	{insulator}	{insulator}	{insulator}	{insulator}	
?	?	?	?	?	
no	no	no	yes	no	
?	?	?	?	?	
no	no	no	no	no	
	1.78 - 0.024i		1.641	2.8	1.3825

IRMM-385	IRMM-386	IRMM-387	IRMM-388	IRMM-389	BAM-12a
inorganic	organic	inorganic	inorganic	organic	

EVALUATION DES TECHNIQUES

-- : very poor
 - : poor;
 o : middle-rate;
 + : well;
 ++ : very well

AC Analytical Centrifugation
 AFM Atomic Force Microscopy
 ALS Angular Light Scattering
 BET Brunauer–Emmett–Teller method
 DLS Dynamic Light Scattering
 DMAS Differential Mobility Analyzing System
 FCS X-Ray Fluorescence Correlation Spectroscopy
 FFF Field Flow Fractionation
 OS Optical Spectroscopy
 PTA Particle Tracking Analysis
 SAXS Small-angle X-Ray Scattering
 SEC Size Exclusion Chromatography
 SEM Scanning Electron Microscopy
 SFM Scanning Force Microscopy
 SLS Static Light Scattering
 sp ICP-MS Single Particle Inductively Coupled Plasma
 TEM Transmission Electron Microscopy
 TRPS Tunable Resistive Pulse Sensing
 TSEM Scanning Electron Microscopy in Transmission Mode
 USSp Ultrasonic Spectroscopy
 XRD X-Ray Diffraction

		Size range						Direct counting CM	Convertibility to number weighted PSD / Quantitative accuracy	Access to the smallest dimension of each particle	Measurement of the material as it is	ISO standards available	Size Accuracy	Chemical selectivity	Access to primary particles?
		nm			µm										
		1-10	10-30	30-100	0.1-1	1-10	>10								
Counting	EM	SEM	-	(+)	++	++	++	++	++	+	--	o	+	++ ³	+
		TSEM	(+)	+	++	++	++	++	++	+	--	+	++	++ ³	+
		TEM	++	++	++	++	++	+	++	+	--	+	++	++ ³	++
	SFM	+	++	++	+	o	-	++	++	-	+	++	-	o	
	PTA	--	o	+	++	-	--	+	--	-	+	+	o	--	
	TRPS	--	--	o	+	+	--	++	--	-	++	++	-	--	
	sp ICP-MS	-	o	+	++	-	--	++	--	-	o	+	++	-	
	Fractionating	FFF	+	++	++	++	o	--	-	-	-	-	+	+ ⁴	-
AC		o	+	++	++	+	-	-	o	--	++	++	-	--	
DMAS		+	++	++	++	--	--	+	+	-	++	+	-	-	
SEC		o	+	+	+	o	--	-	o	--	-	+	-	--	
Ensemble	DLS	+	++	++	++	o	-	--	-	-	+	+	-	-	
	SAXS	+	+	+	-	--	--	--	-	o	++	+	o	+	
	USSp	-	+	++	+	o	o	--	-	-	++	+	-	--	
	XRD	+	+	+	-	--	--	--	-	+	+	o	+	+	
	ALS	-	o	+	++	++	++	--	-	-	++	+	-	-	
	OS	+	+	+	o	-	--	--	--	-	-	+	+	--	
	FCS	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	+	--	
Integral	BET	+	+	+	+	+	o	--	--	-	o	++	-	-	o

EVALUATION DES TECHNIQUES

-- : very poor
 - : poor;
 o : middle-rate;
 + : well;
 ++ : very well

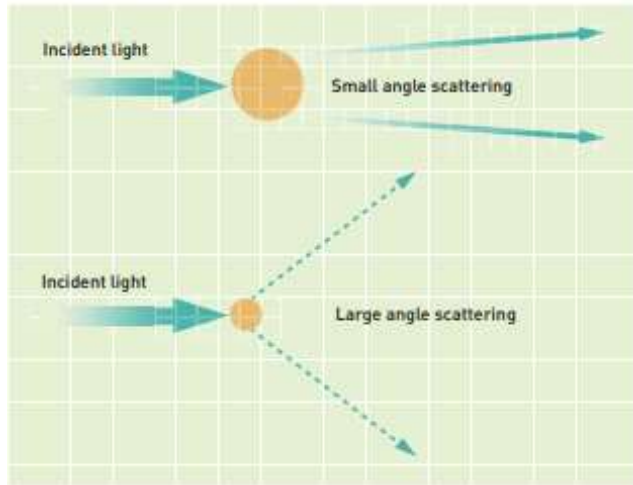
		Size range						Direct counting CM	
		nm			µm				
		1-10	10-30	30-100	0.1-1	1-10	>10		
Counting	EM	SEM	-	(+)	++	++	++	++	++
		TSEM	(+)	+	++	++	++	++	++
		TEM	++	++	++	++	++	+	++
	SFM	+	++	++	+	o	-	++	
	PTA	--	o	+	++	-	--	+	
	TRPS	--	--	o	+	+	--	++	
	sp ICP-MS	-	o	+	++	-	--	++	
Fractionating	FFF	+	++	++	++	o	--	-	
	AC	o	+	++	++	+	-	-	
	DMAS	+	++	++	++	--	--	+	
	SEC	o	+	+	+	o	--	-	
Ensemble	DLS	+	++	++	++	o	-	--	
	SAXS	+	+	+	-	--	--	--	
	USSp	-	+	++	+	o	o	--	
	XRD	+	+	+	-	--	--	--	
	ALS	-	o	+	++	++	++	--	
	OS	+	+	+	o	-	--	--	

AC Analytical Centrifugation
 AFM Atomic Force Microscopy
 ALS Angular Light Scattering
 DLS Dynamic Light Scattering
 DMAS Differential Mobility Analyzing System
 FFF Field Flow Fractionation
 OS Optical Spectroscopy
 PTA Particle Tracking Analysis
 SAXS Small-angle X-Ray Scattering
 SEC Size Exclusion Chromatography
 SEM Scanning Electron Microscopy
 SFM Scanning Force Microscopy
 sp ICP-MS Single Particle Inductively Coupled Plasma
 TEM Transmission Electron Microscopy
 TRPS Tunable Resistive Pulse Sensing
 TSEM Scanning Electron Microscopy in Transmission Mode
 USSp Ultrasonic Spectroscopy
 XRD X-Ray Diffraction

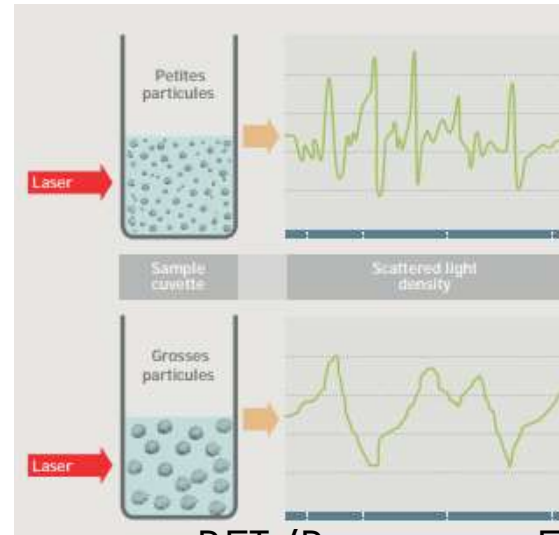
LES MATIÈRES PREMIÈRES : CETTE MATIÈRE PREMIERE CONSTITUE-T-ELLE UN NANOMATERIAU ?



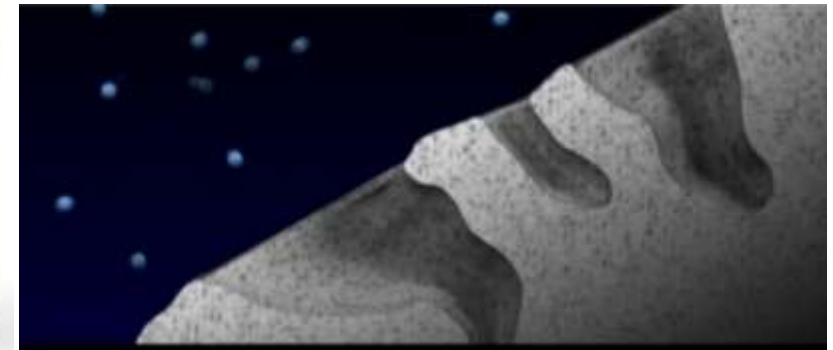
Le granulomètre à diffraction laser (ALS angular laser scattering)



Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

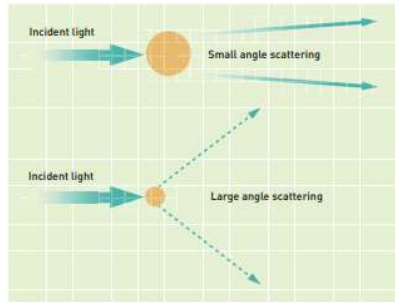
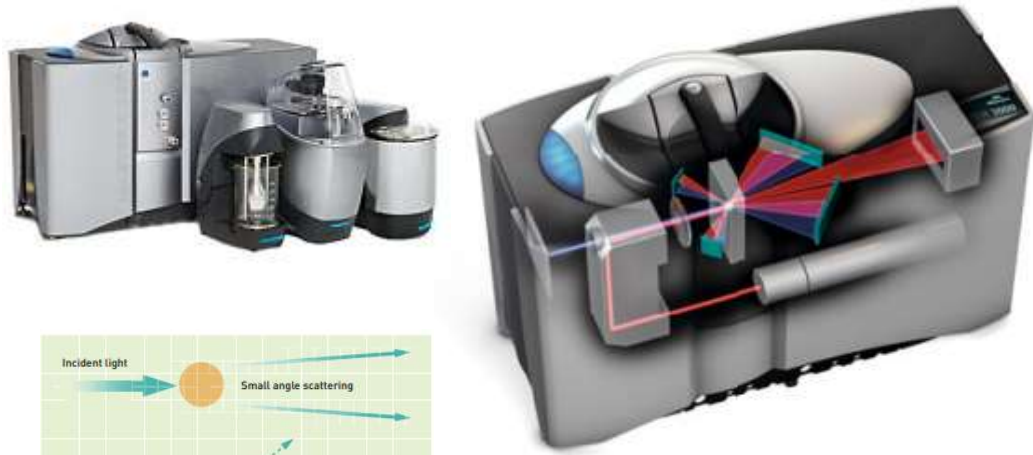


BET (Brunauer, Emmett et Teller)

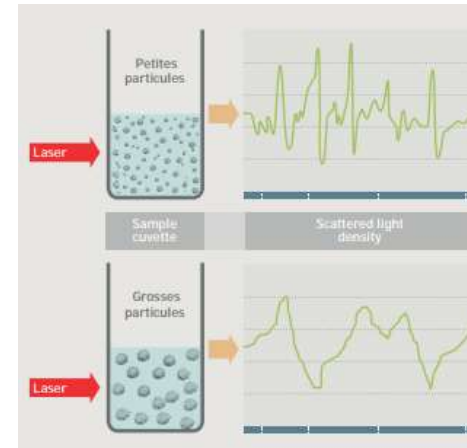


TECHNIQUES COURANTES DE PREMIÈRE INTENTION

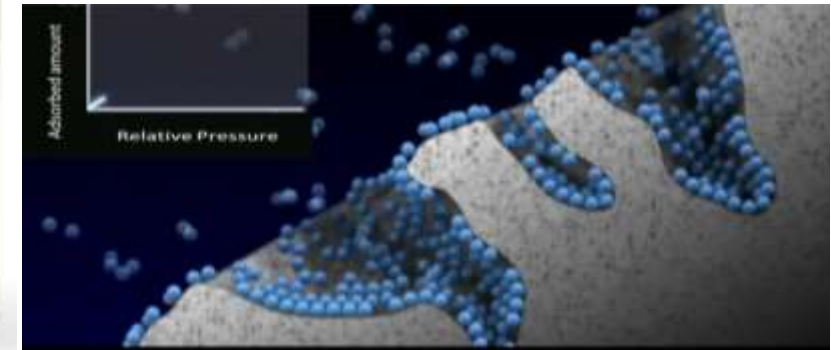
Le granulomètre à diffraction laser (ALS)



Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

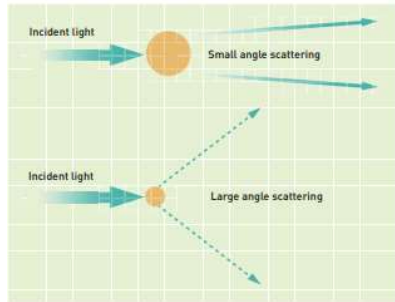
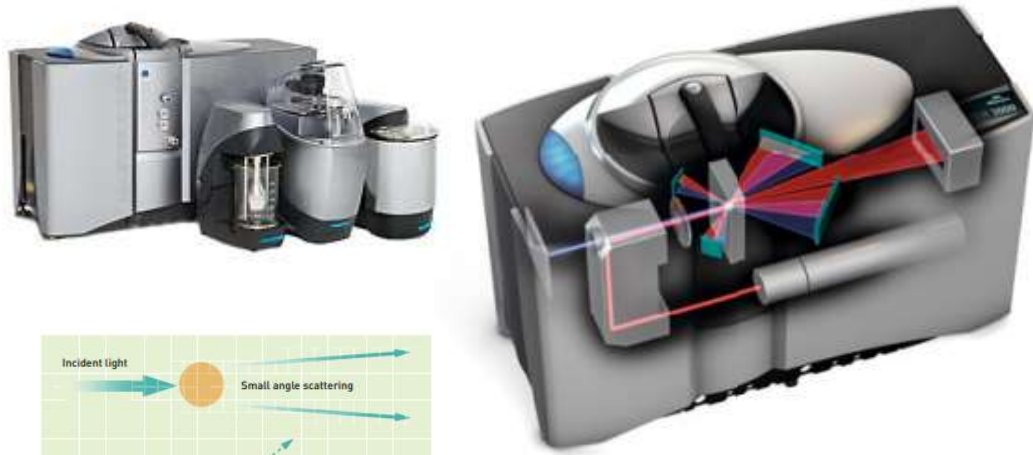


BET (Brunauer, Emmett et Teller)

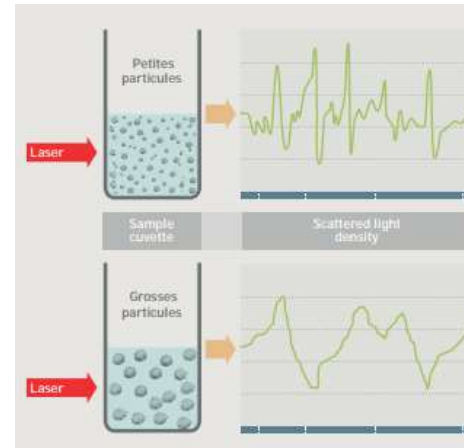


TECHNIQUES COURANTES DE PREMIÈRE INTENTION

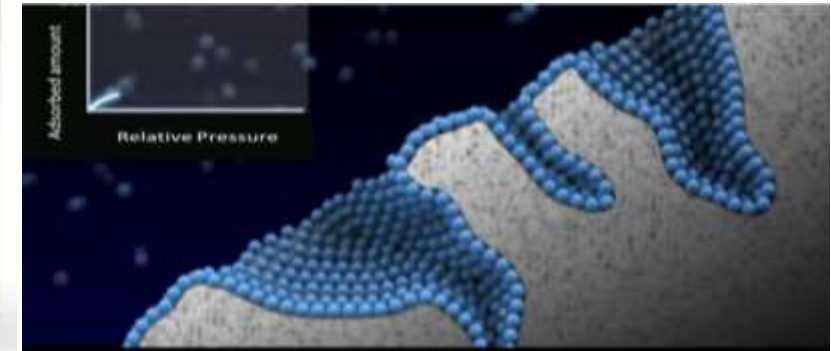
Le granulomètre à diffraction laser (ALS)



Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

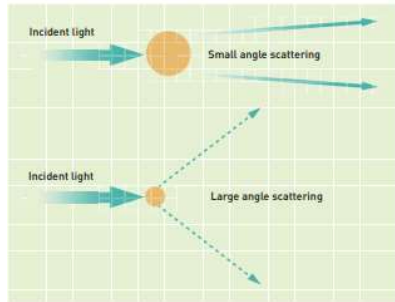
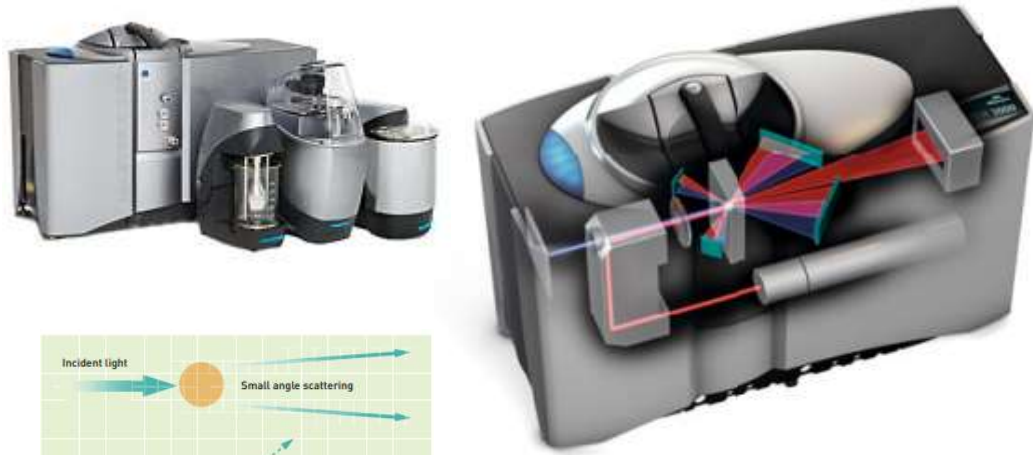


BET (Brunauer, Emmett et Teller)

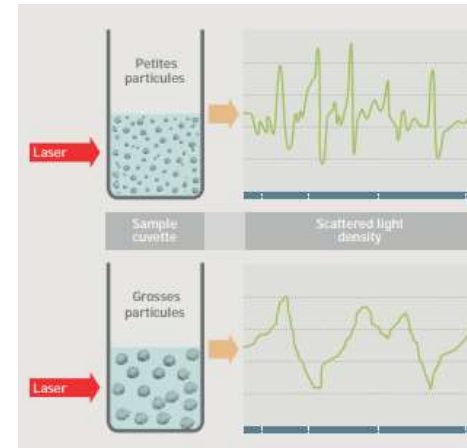


TECHNIQUES COURANTES DE PREMIÈRE INTENTION

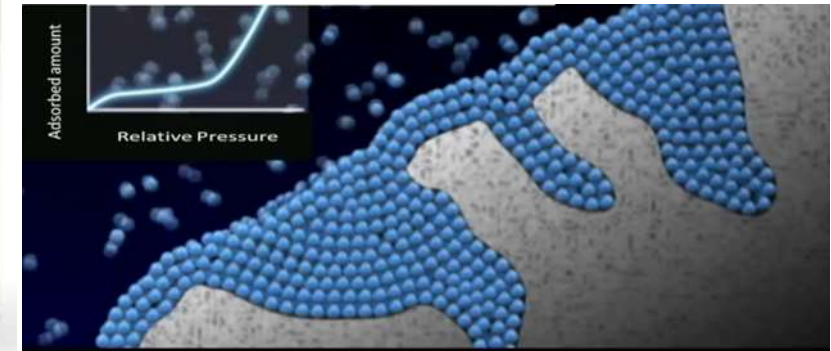
Le granulomètre à diffraction laser (ALS)



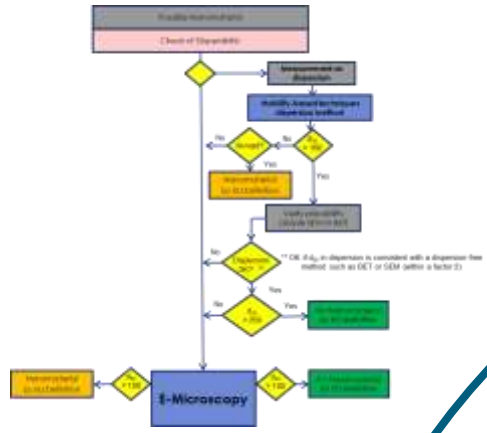
Diffusion dynamique de la lumière (DLS)



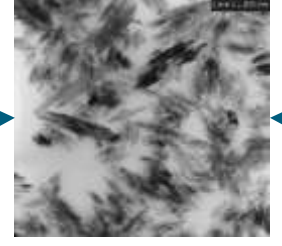
BET (Brunauer, Emmett et Teller)



ET LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE DANS TOUT ÇA?



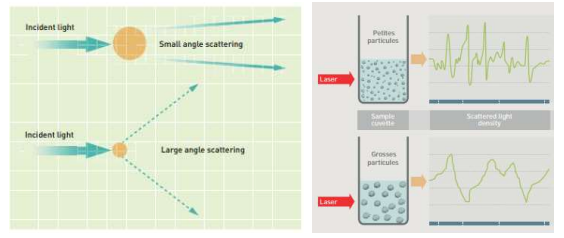
MET/MEB



Pour distinguer entre particule et agrégat de particules

Pour distinguer entre particule poreuse et agrégat de particules

ALS; DLS



Nanomatériau?

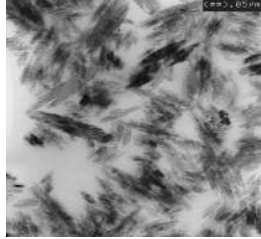
Méthodes globales

BET



ET LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE DANS TOUT ÇA?

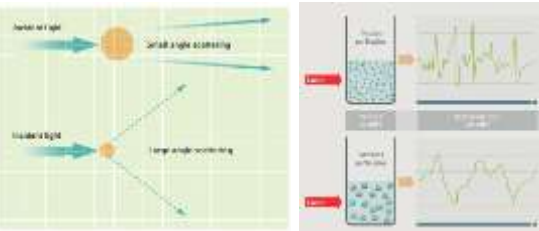
MET/MEB



Qualité du dépôt

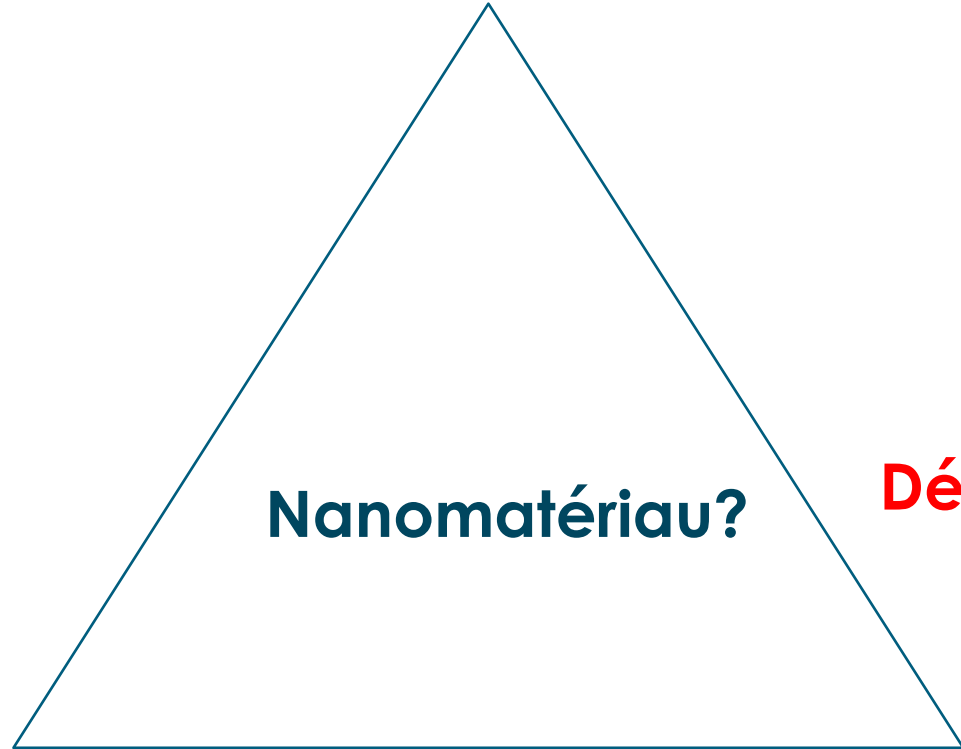
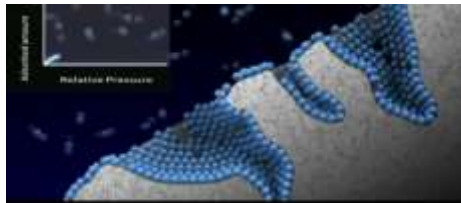
Dispersion

ALS; DLS



Dégazage

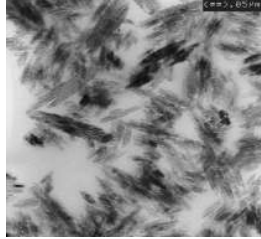
BET



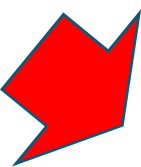
Méthodes globales

ET LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE DANS TOUT ÇA?

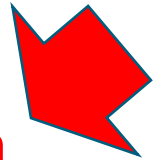
MET/MEB



Qualité du dépôt

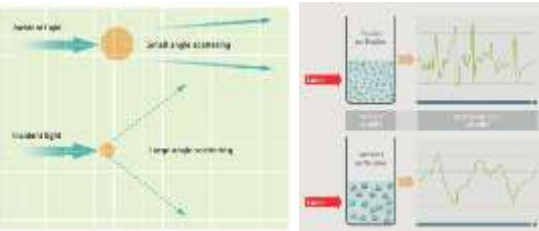


Représentativité de l'échantillon



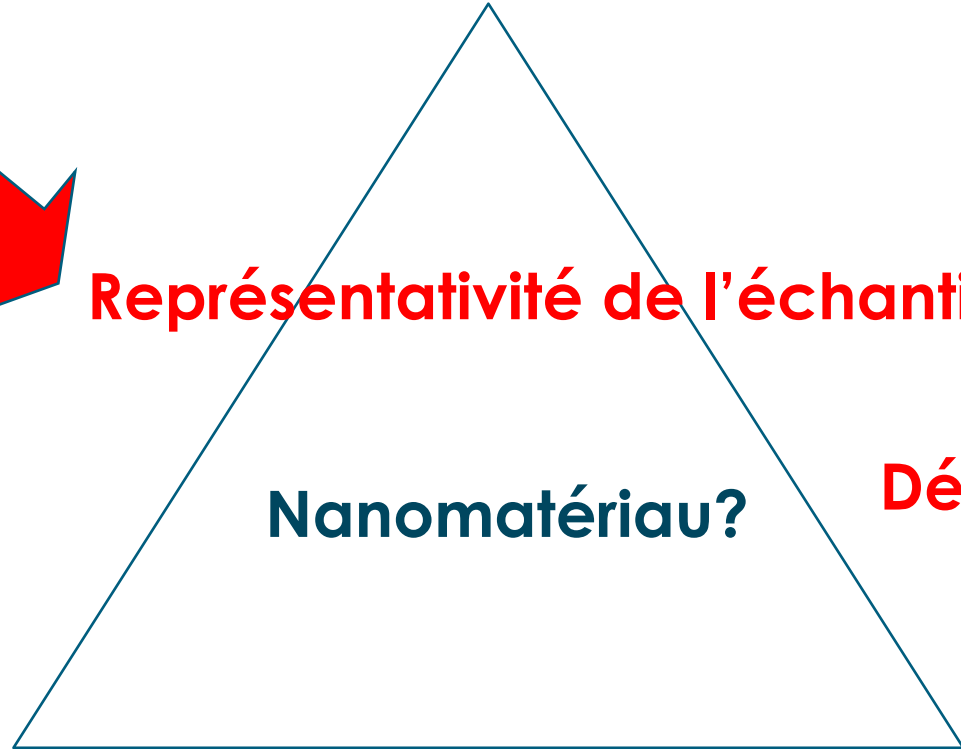
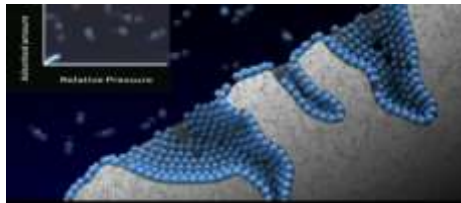
Dispersion

ALS; DLS



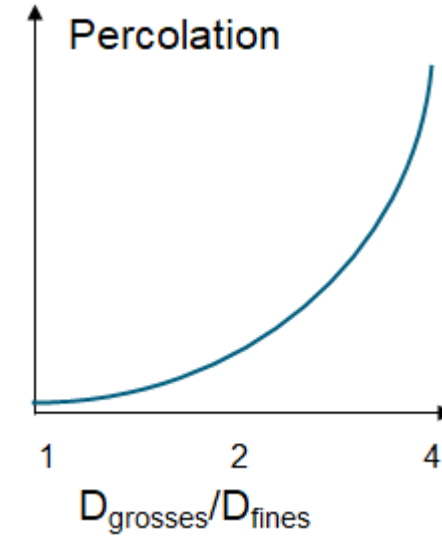
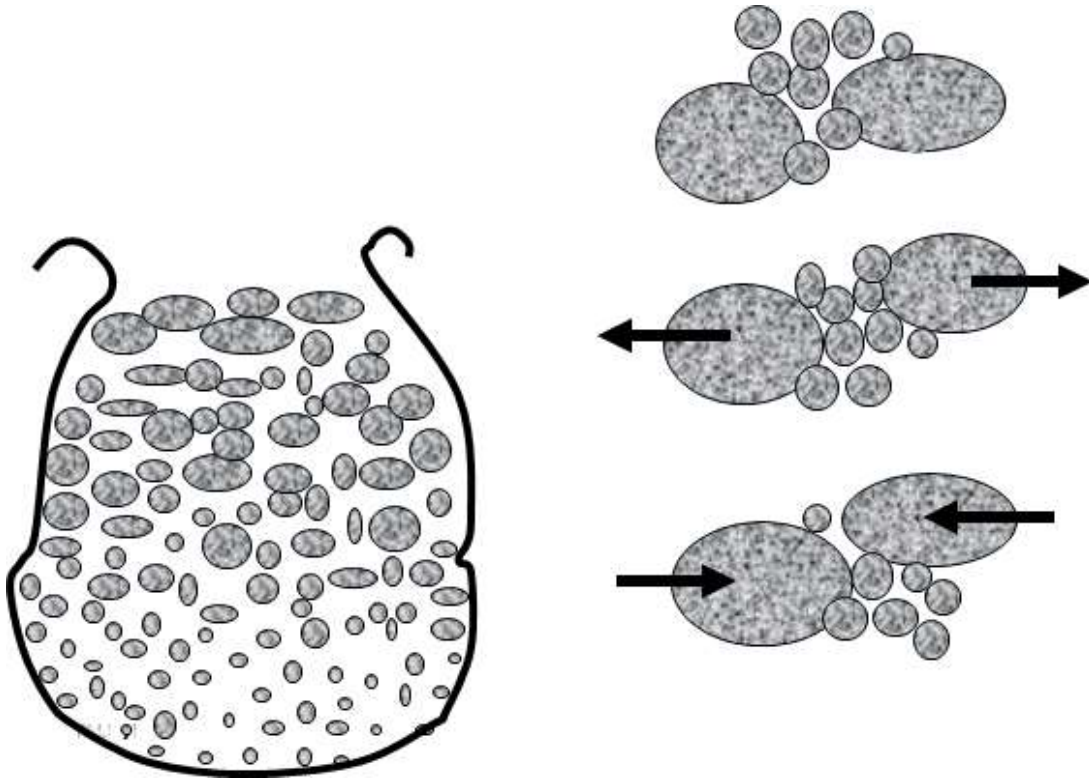
Dégazage

BET



Méthodes globales

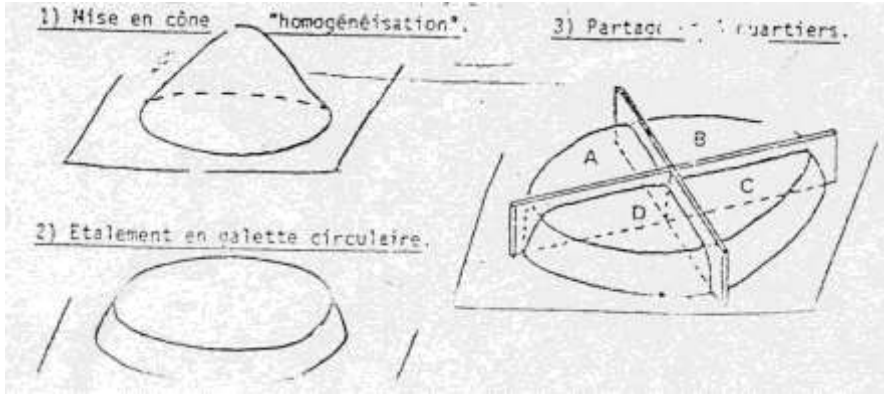
LA REPRÉSENTATIVITÉ DE L'ÉCHANTILLON LE PHÉNOMÈNE DE PERCOLATION



Les petites particules descendent vers le fond du sac

Plusieurs solutions pour échantillonner

1



2



3

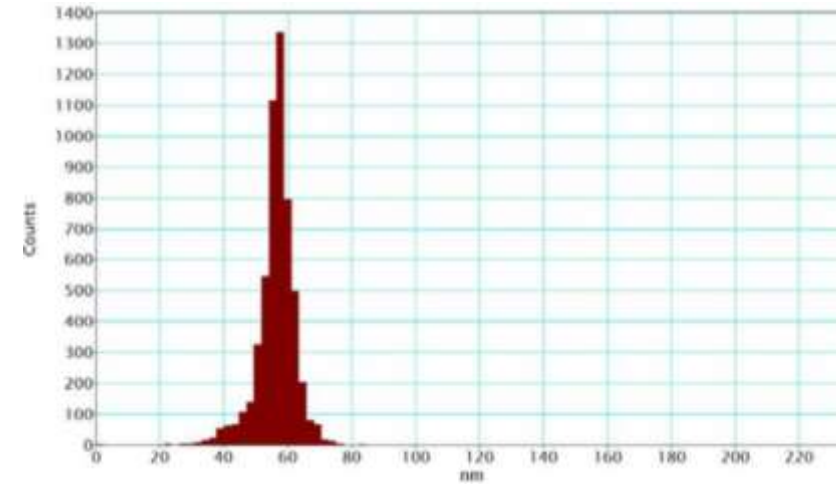
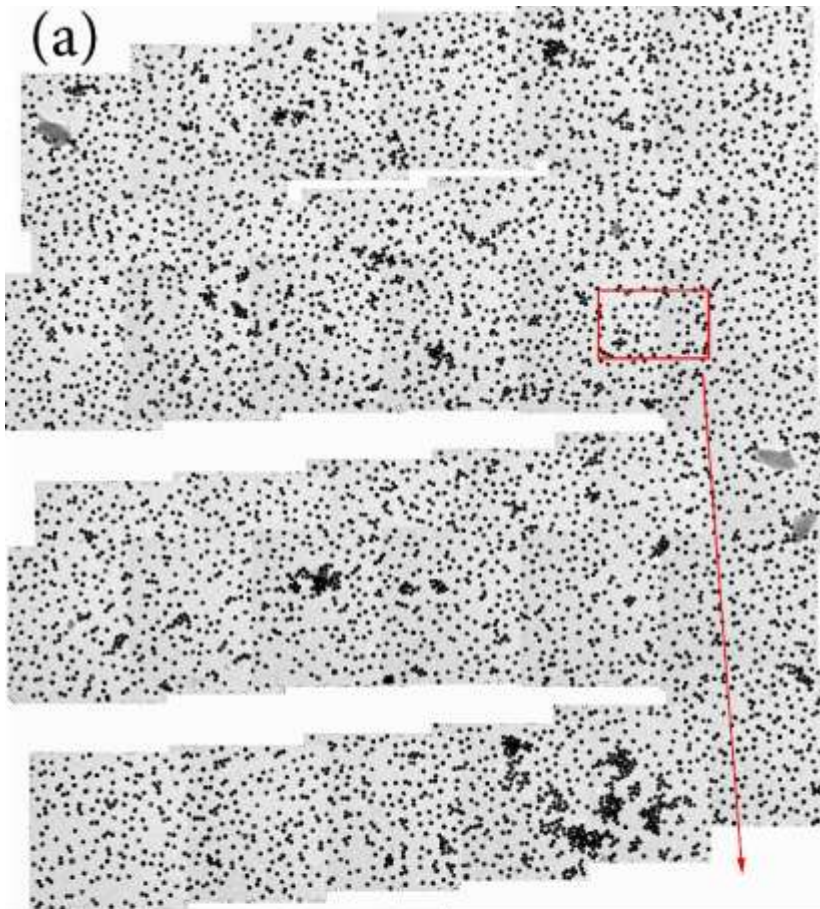


Homogénéisation par roulement (30s, $\frac{3}{4}$ plein)

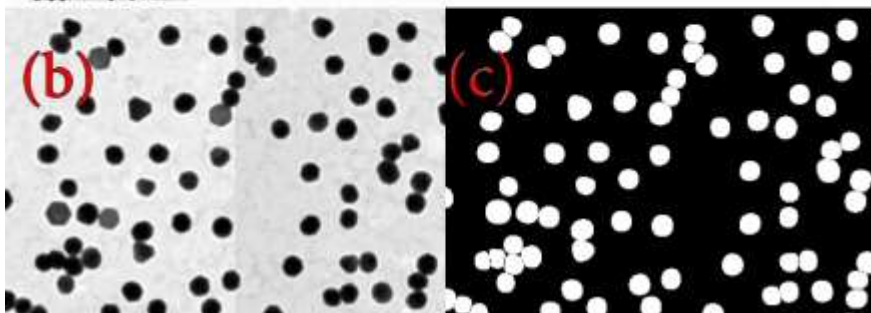
LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

CE QUE L'ON VEUT POUVOIR FAIRE

Projet Européen NanoDefine
Deliverable 2.8
Grant agreement 604347
Toni Uusimäki (EAWAG)



Distribution en tailles des particules,
à partir de 5557 particules mesurées.



- (a) mosaïque
- (b) champ initial
- (c) segmentation

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

DÉPÔT D'UNE GOUTTE DE SUSPENSION APRÈS FONCTIONNALISATION 'CHIMIQUE' DE LA SURFACE

Deux classiques revisités pour le dépôt de gouttes :

Poly-L-Lysine (PLL)

Adhesion of cells to surfaces coated with polylysine
Applications to electron microscopy , journal of cell biology – 1975

- Retient les particules chargées négativement.

Bleu alcian:

- Retient les particules chargées négativement.

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

DÉPÔT D'UNE GOUTTE DE SUSPENSION ET FONCTIONNALISATION 'PHYSIQUE' DE LA SURFACE

Glow Discharge



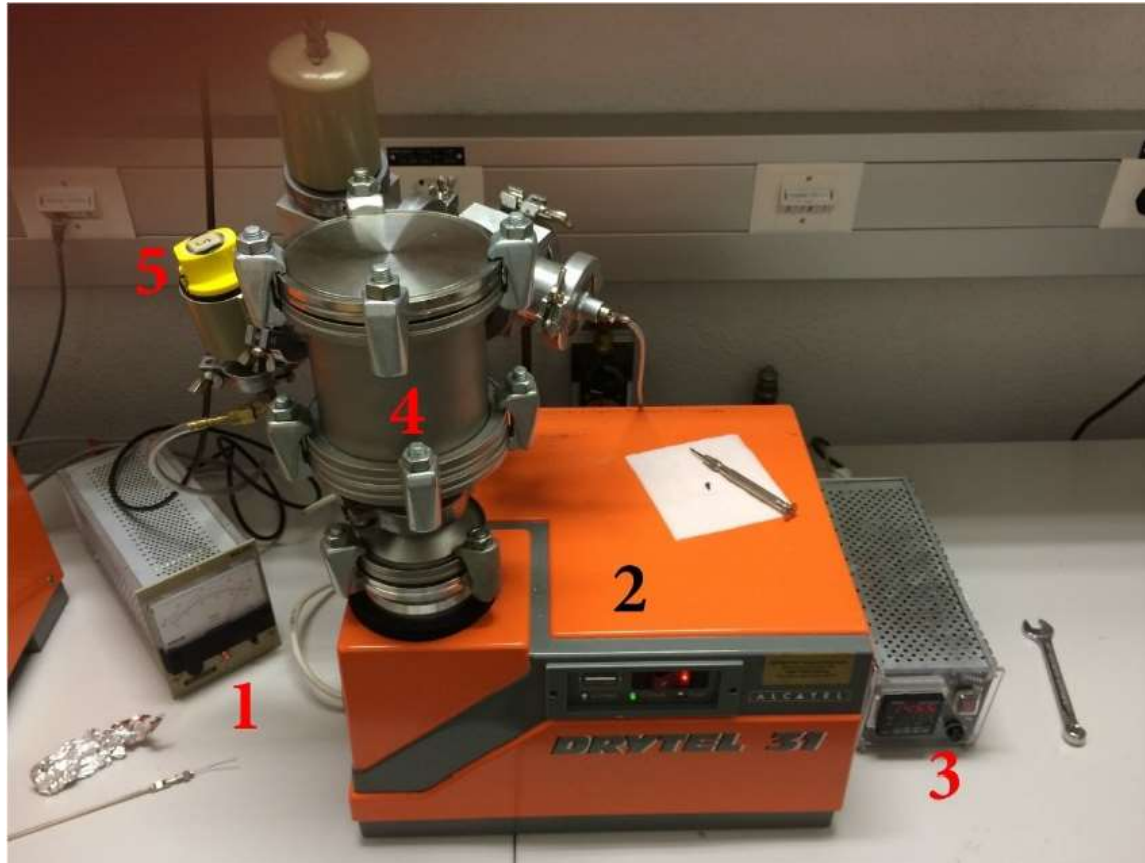
Le film de carbone recouvrant les grilles se charge négativement sous l'action du plasma.

- Retient les particules chargées positivement

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

DÉPÔT D'UNE GOUTTE DE SUSPENSION ET FONCTIONNALLISATION 'PHYSIQUE' DE LA SURFACE

High Vacuum Baking (EAWAG)



- Retient les particules chargées positivement
≈ Glow Discharge

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

DÉPÔT D'UNE GOUTTE DE SUSPENSION ET FONCTIONNALISATION

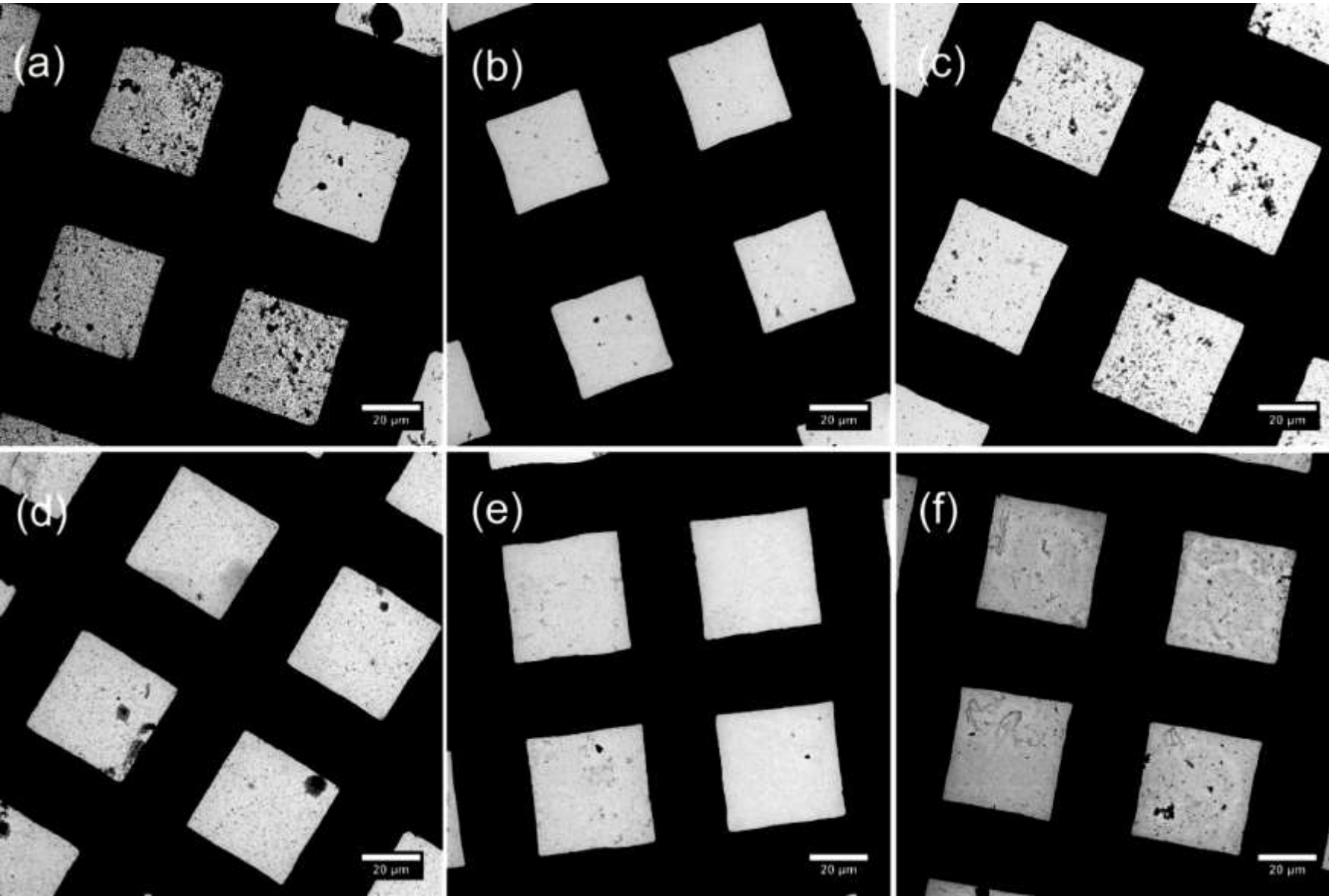


Image TEM faible mag pour distribution trimodale de SiO₂

(a) Pas de traitement.

(b) Glow discharged.

(c) PLL

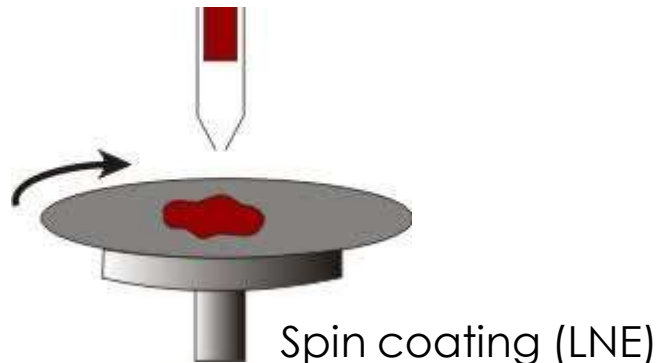
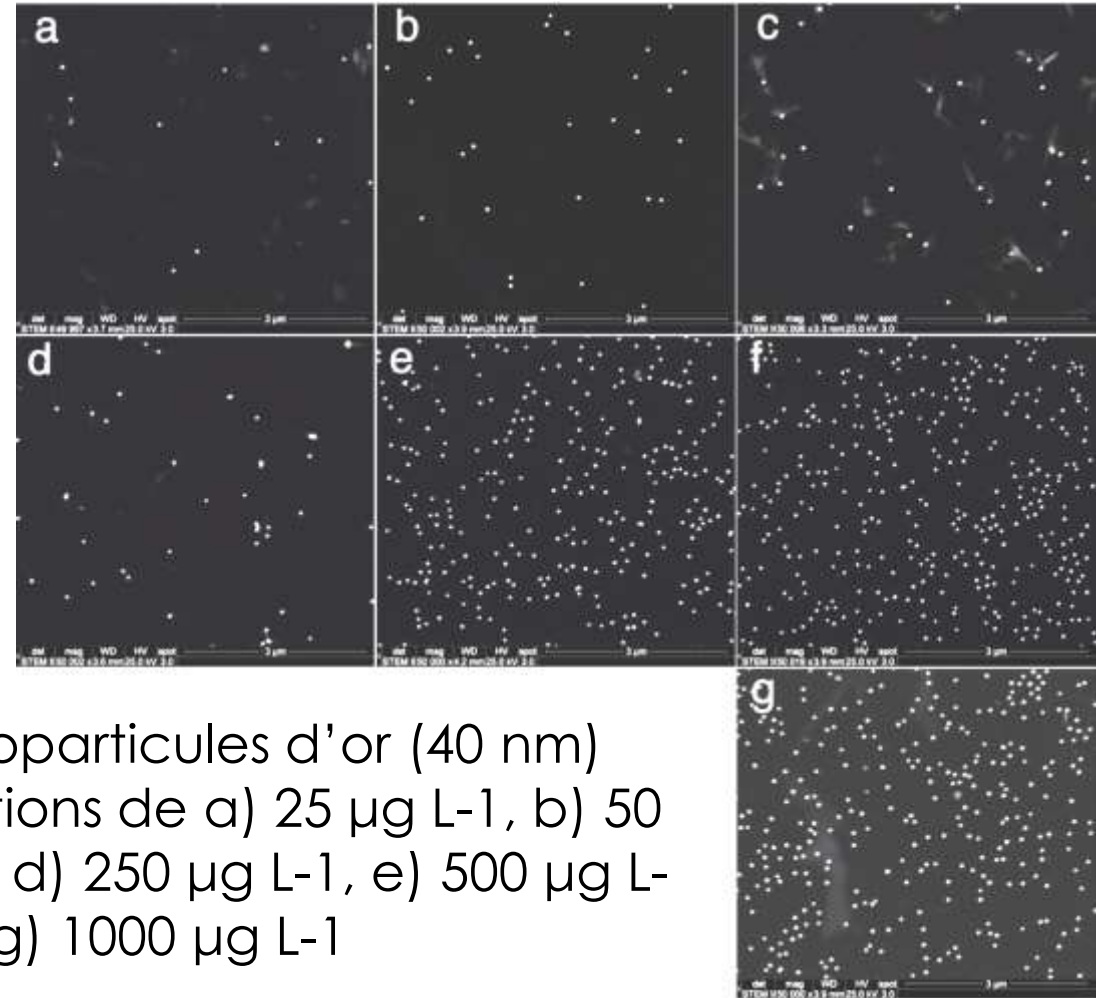
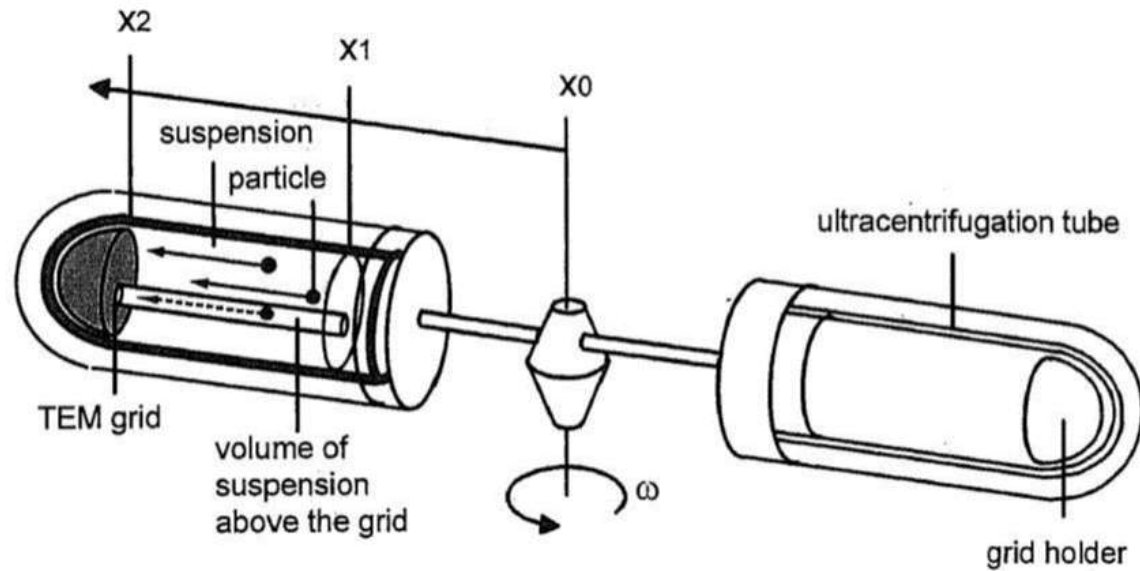
(d) Glow discharged + PLL coated.

(e) Bleu alcian

(f) High vacuum baked

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

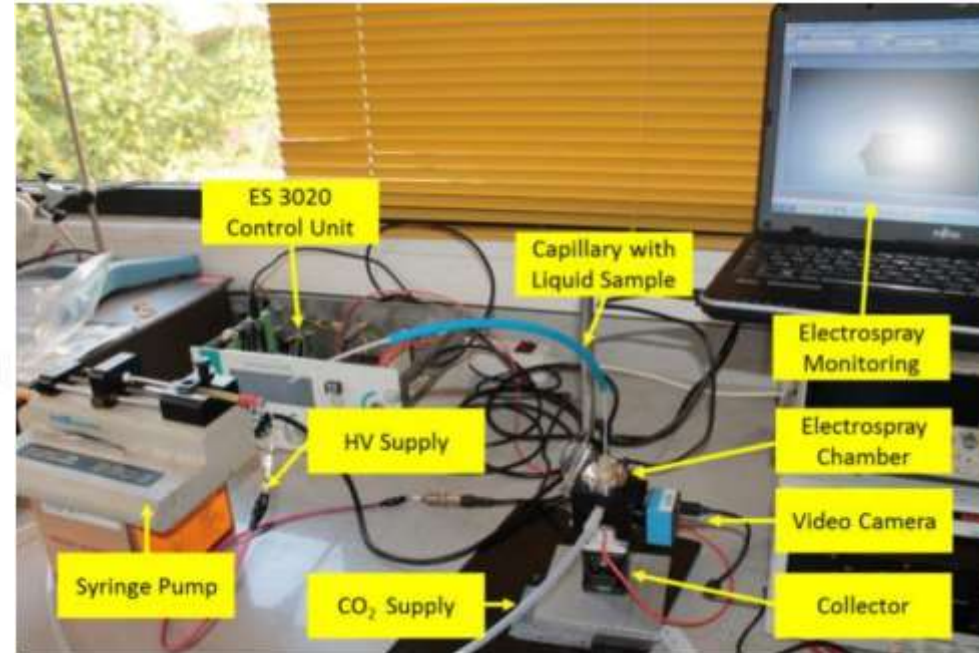
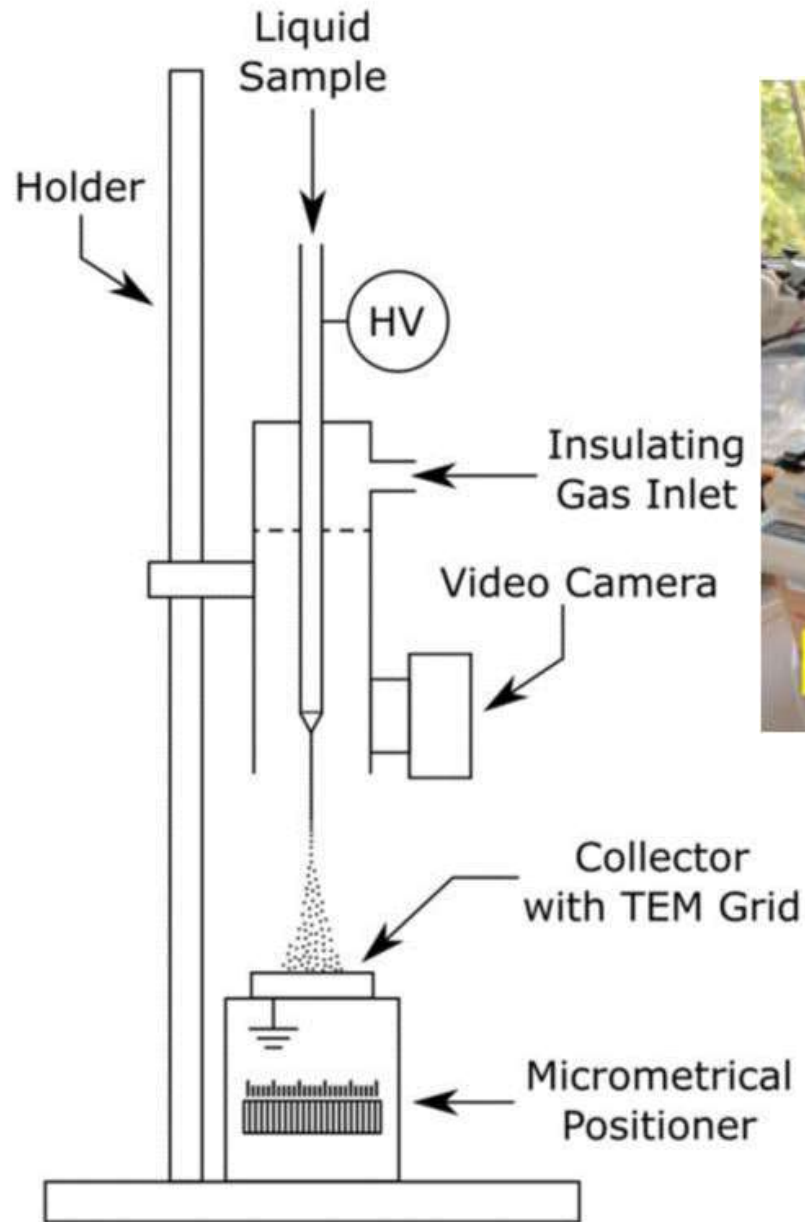
DÉPÔT PAR CENTRIFUGATION



Images MEB de nanoparticules d'or (40 nm) pour des concentrations de a) 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, b) 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, c) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, d) 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, e) 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, f) 750 $\mu\text{g L}^{-1}$, and g) 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE ELECTROSPRAY

RAMEM Ltd



Material
(NanoDefine ID)

Au NPs (ID-16)

Tri-modal SiO₂
(ERM FD102)

Mono-modal
SiO₂ (FD304)

PSL Tri-modal
(ID-20)

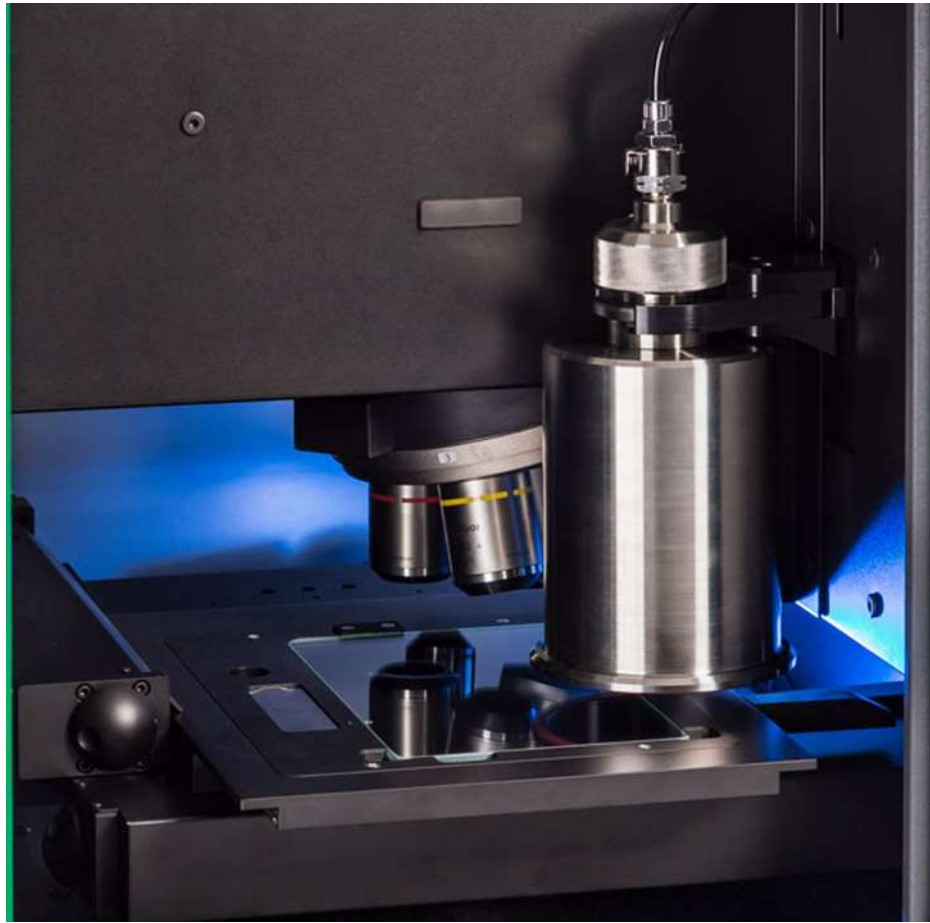
BaSO₄ - fine
grade (IRMM-
381)

BaSO₄ - ultrafine
grade (IRMM-
387)

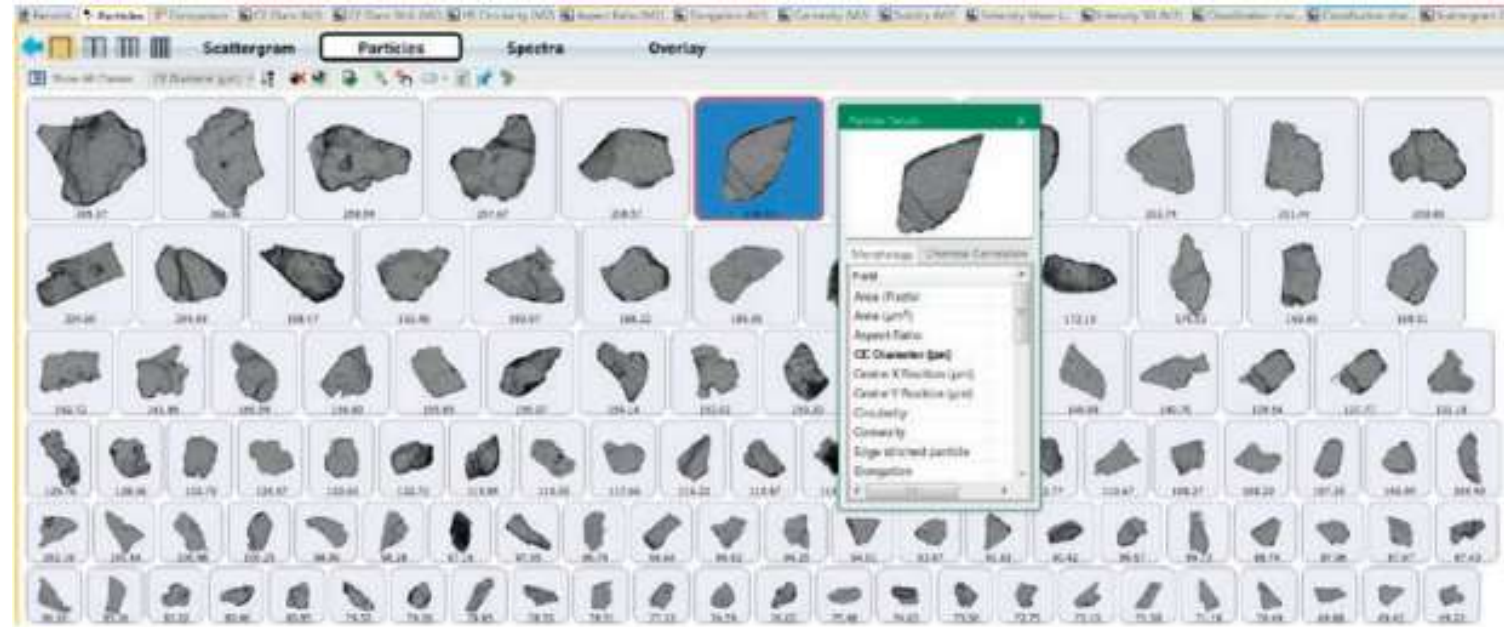
Kaolin (IRMM-
385)

LA QUALITÉ DU DÉPÔT POUR LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

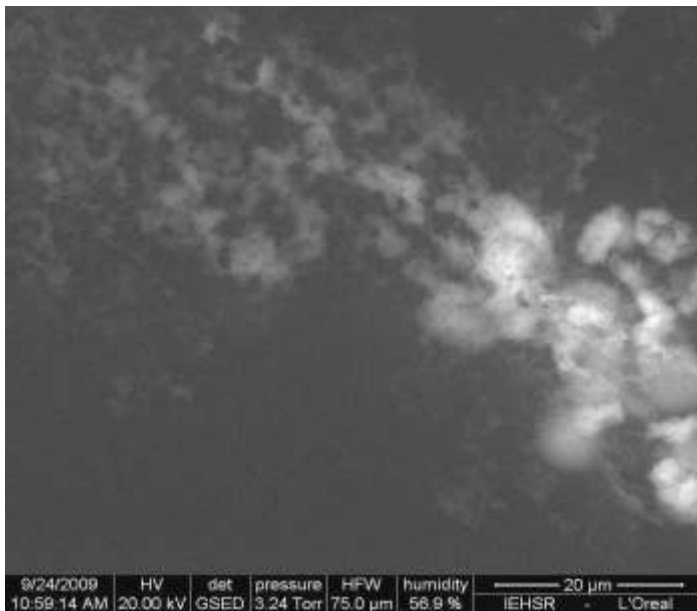
DISPERSION DES POUDRES SÈCHES



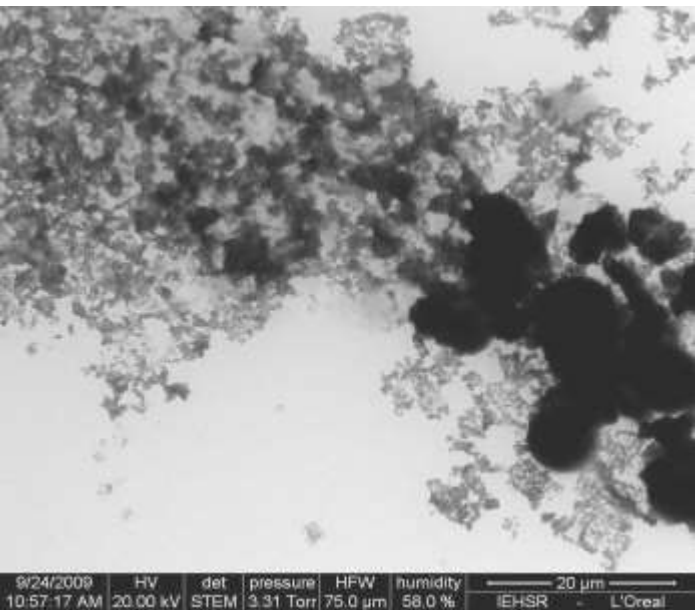
Morphologi 4 (Malvern) :
Dispersion des poudres sèches
par flux gazeux.



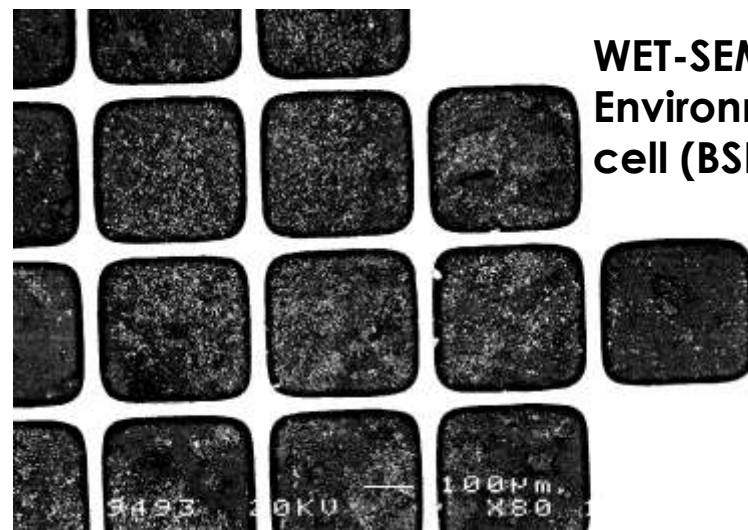
LES PRODUITS FINIS : CE PRODUIT COSMETIQUE CONTIENT-IL DES NANOMATERIAUX ?



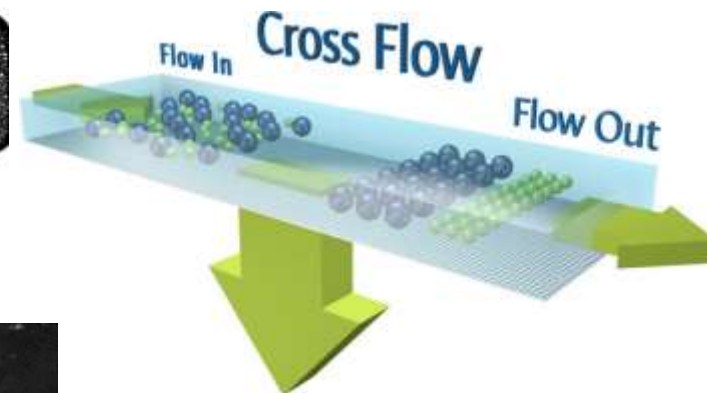
Thin film
ESEM/GSED



Thin film
ESEM/WET-STEM

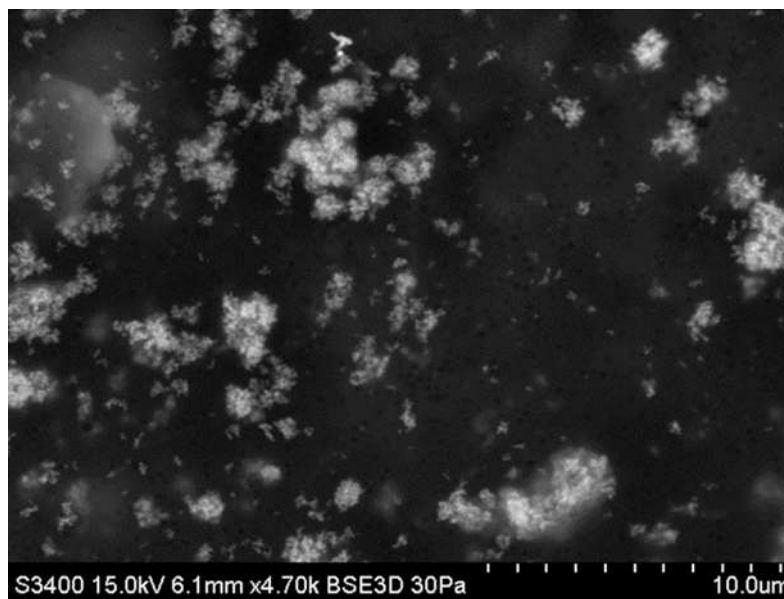


WET-SEM :
Environnemental
cell (BSE)



(Field-Flow Fractionation (FFF))

➔ **Nécessité
d'extraire
les particules
pour
imagerie/comptage**

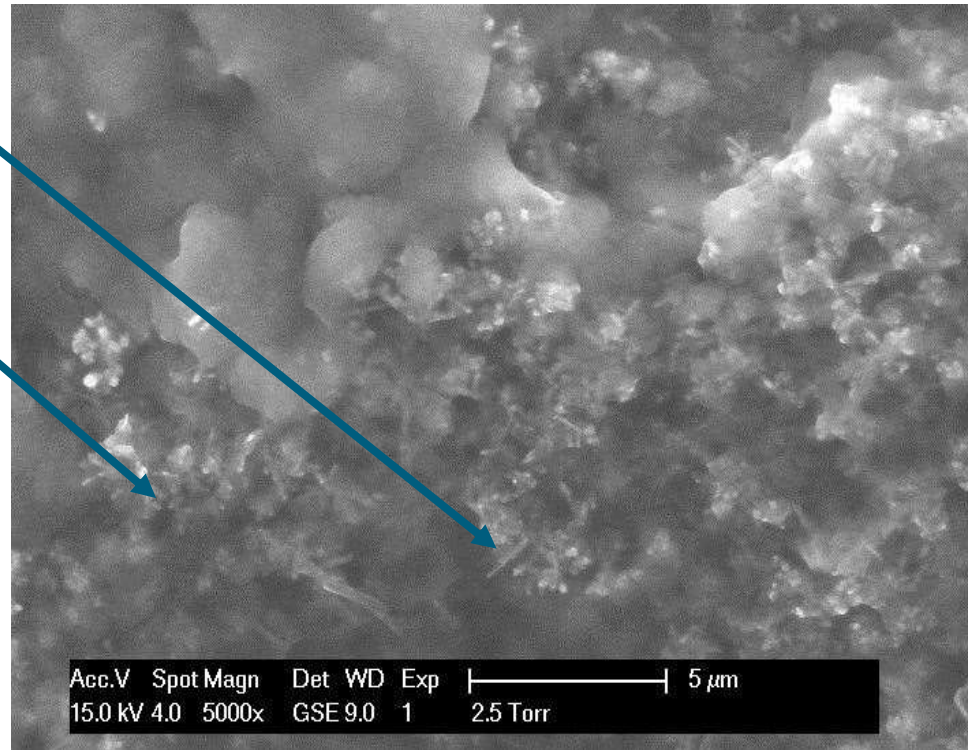
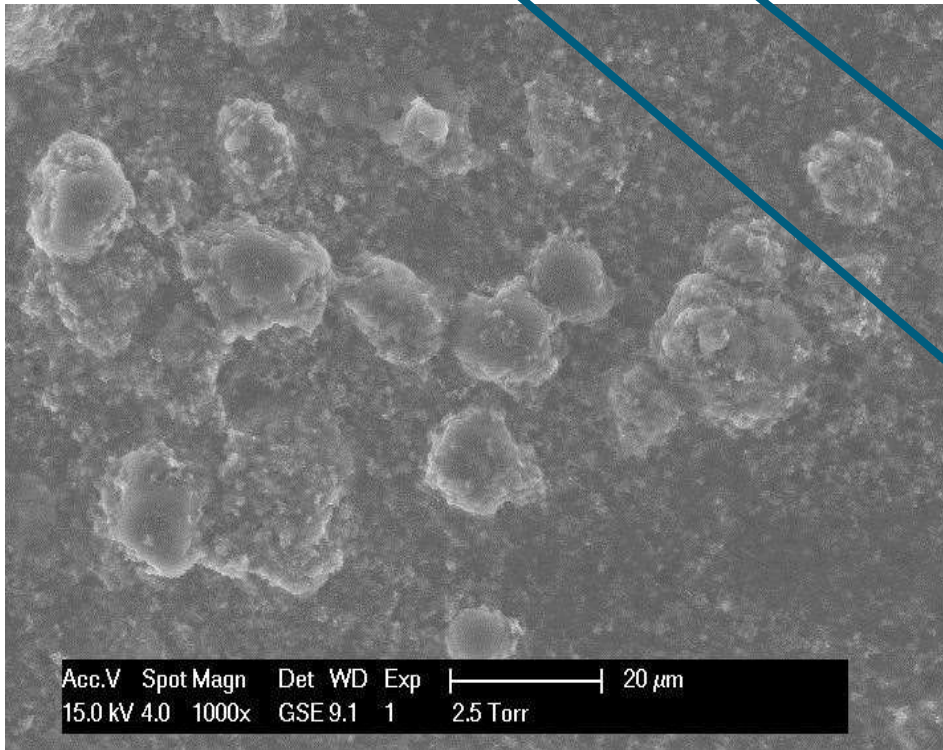


Cryo-SEM of a
Freeze_fracture (BSE)

GRANULOMÉTRIE DE PARTICULES DANS UN PRODUIT COSMÉTIQUE

OBSERVATION PAR ESEM

Oxydes de titane et de fer dans une matrice complexe organique.

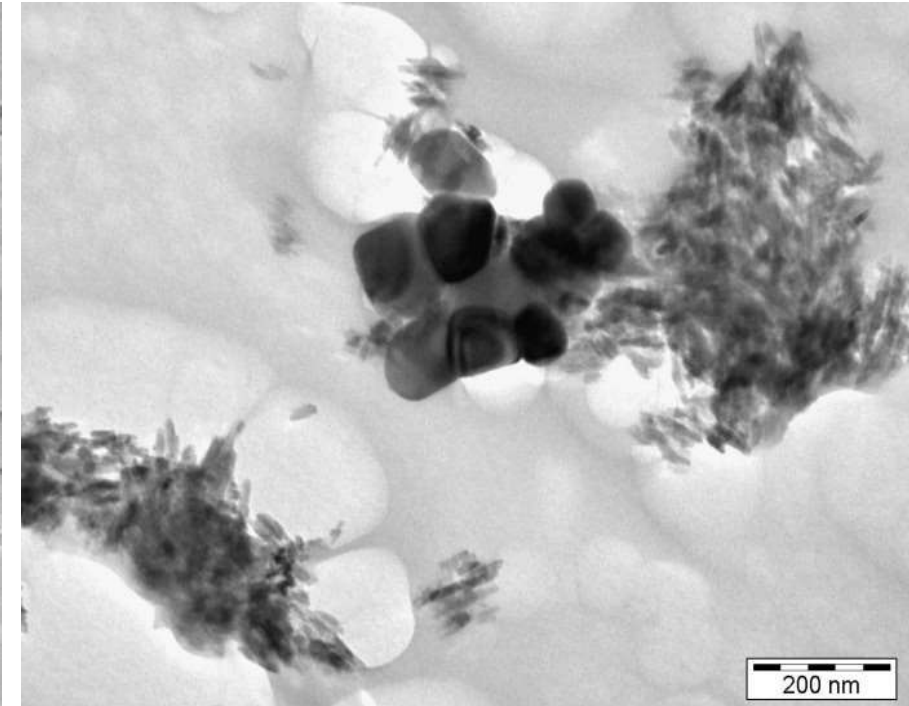
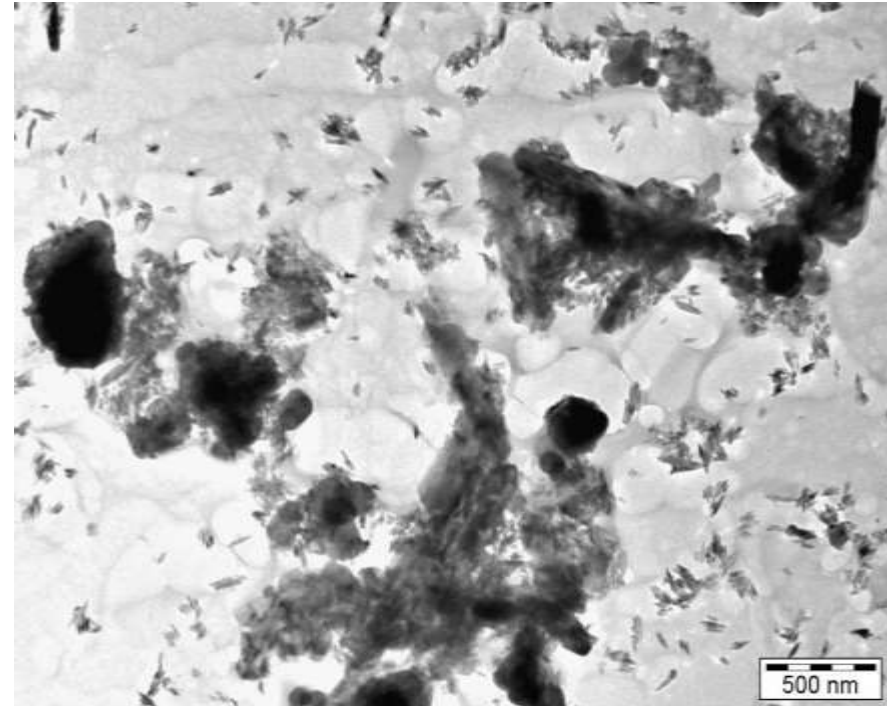


GRANULOMÉTRIE DE PARTICULES DANS UN PRODUIT COSMÉTIQUE

EXTRACTION À TEMPÉRATURE AMBIANTE



Dilution éthanol/centrifugation



Observation de l'extrait par MET : on identifie 4 populations de minéraux, correspondant à deux oxydes de titane et deux oxydes de fer

GRANULOMÉTRIE DE PARTICULES DANS UN PRODUIT COSMÉTIQUE

EXTRACTION À CHAUD DANS UN SOXHLET

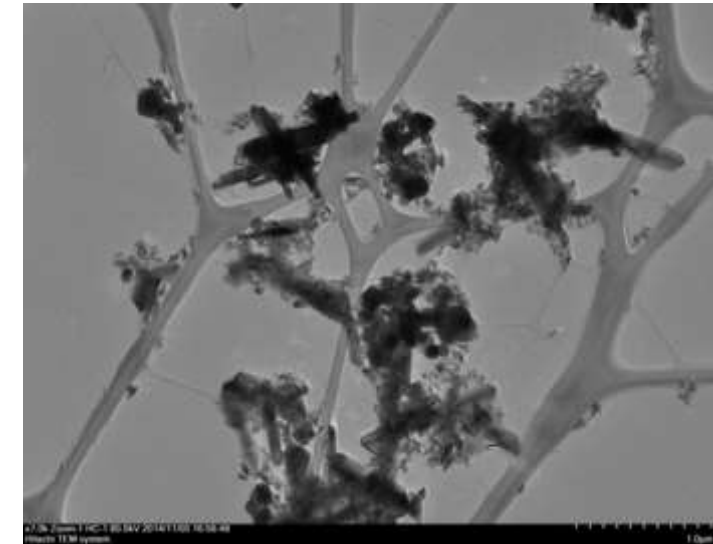


BUCHI extraction système B811

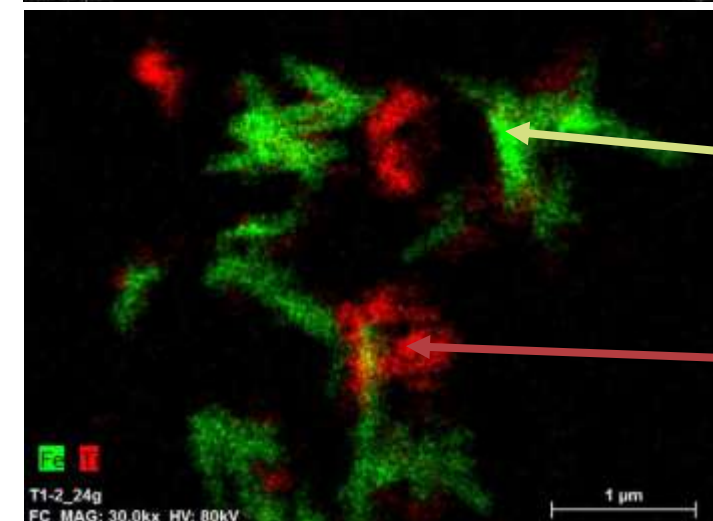
Extraction au toluène à 110,6°C et extraction à l'alcool absolue à 78,4°C



Résidus solides après extractions



MET



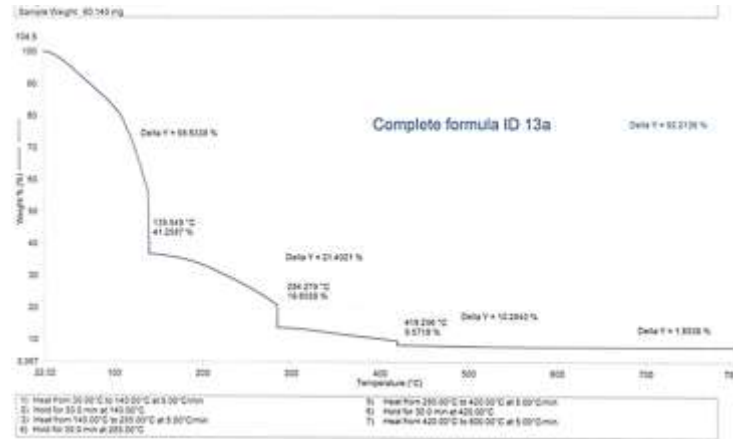
Fer

Titane

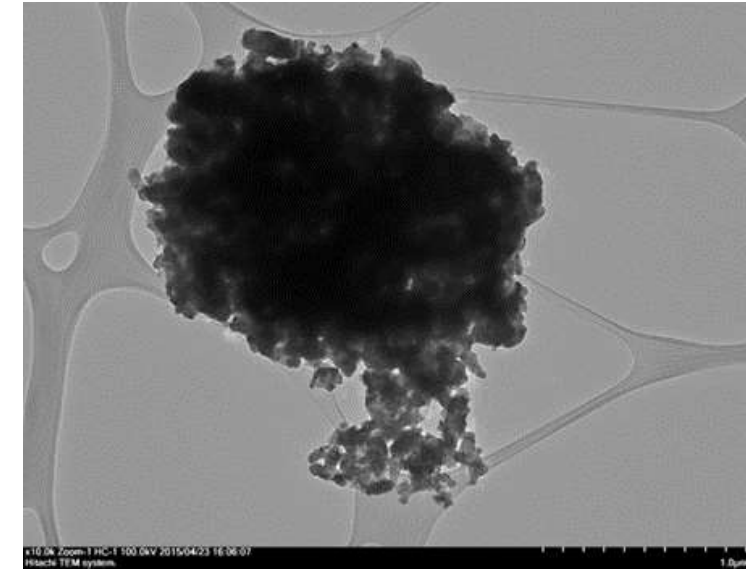
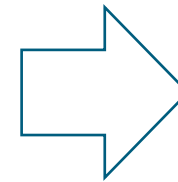
MET et EDS

GRANULOMÉTRIE DE PARTICULES DANS UN PRODUIT COSMÉTIQUE

EXTRACTION PAR COMBUSTION

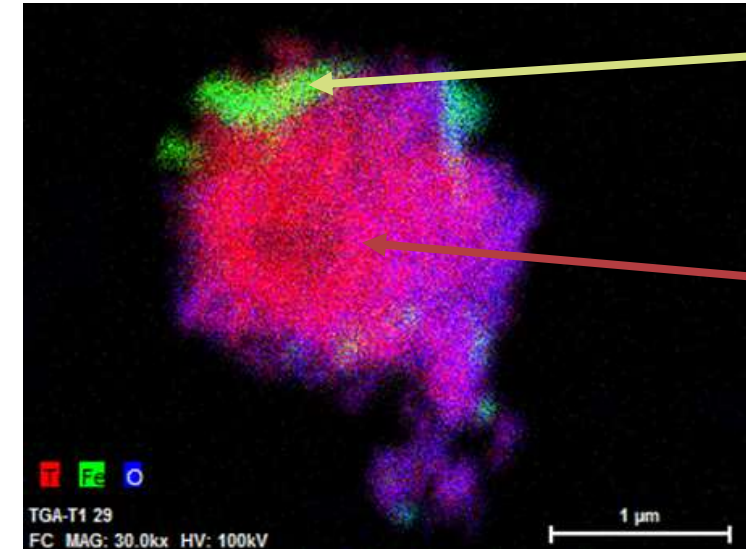


Combustion sous air suivie par thermogravimétrie



fusion

MET

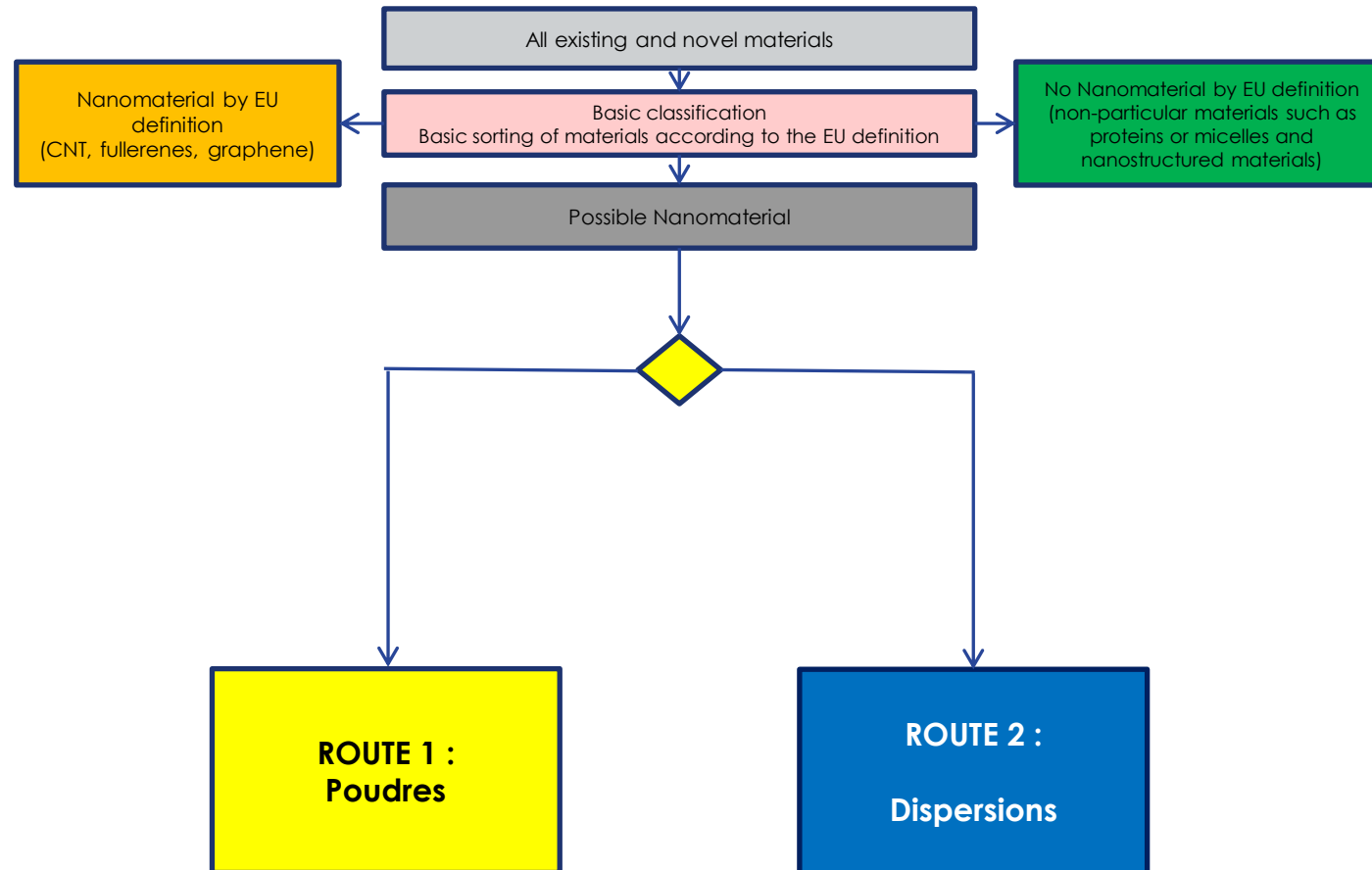


Fer

Titane

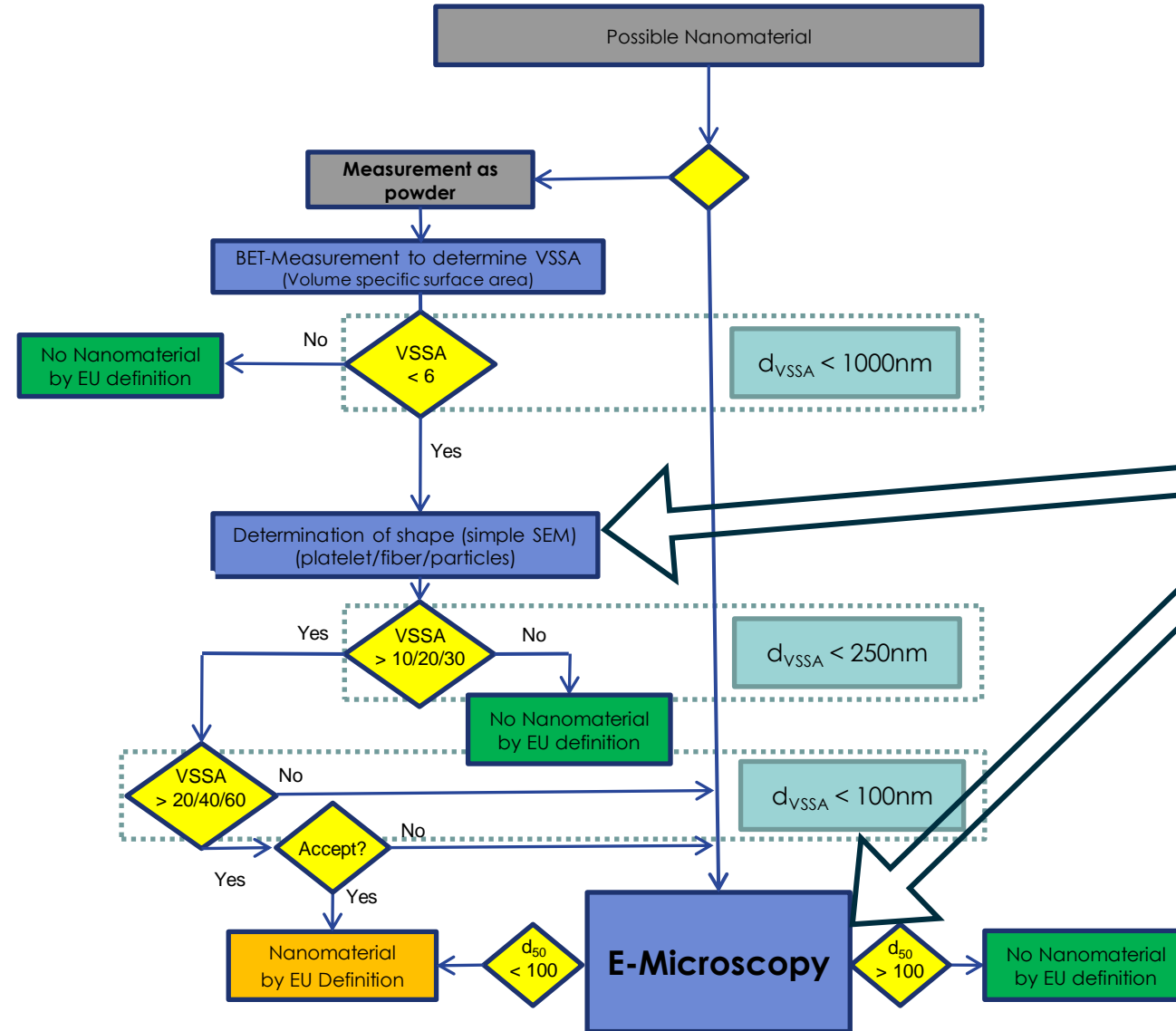
MET et EDS

L'ARBRE DE DÉCISION NANODEFINIE APRÈS EXTRACTION DES PARTICULES



L'ARBRE DE DÉCISION NANODEFINE APPLIQUÉ AUX PARTICULES EXTRAITES

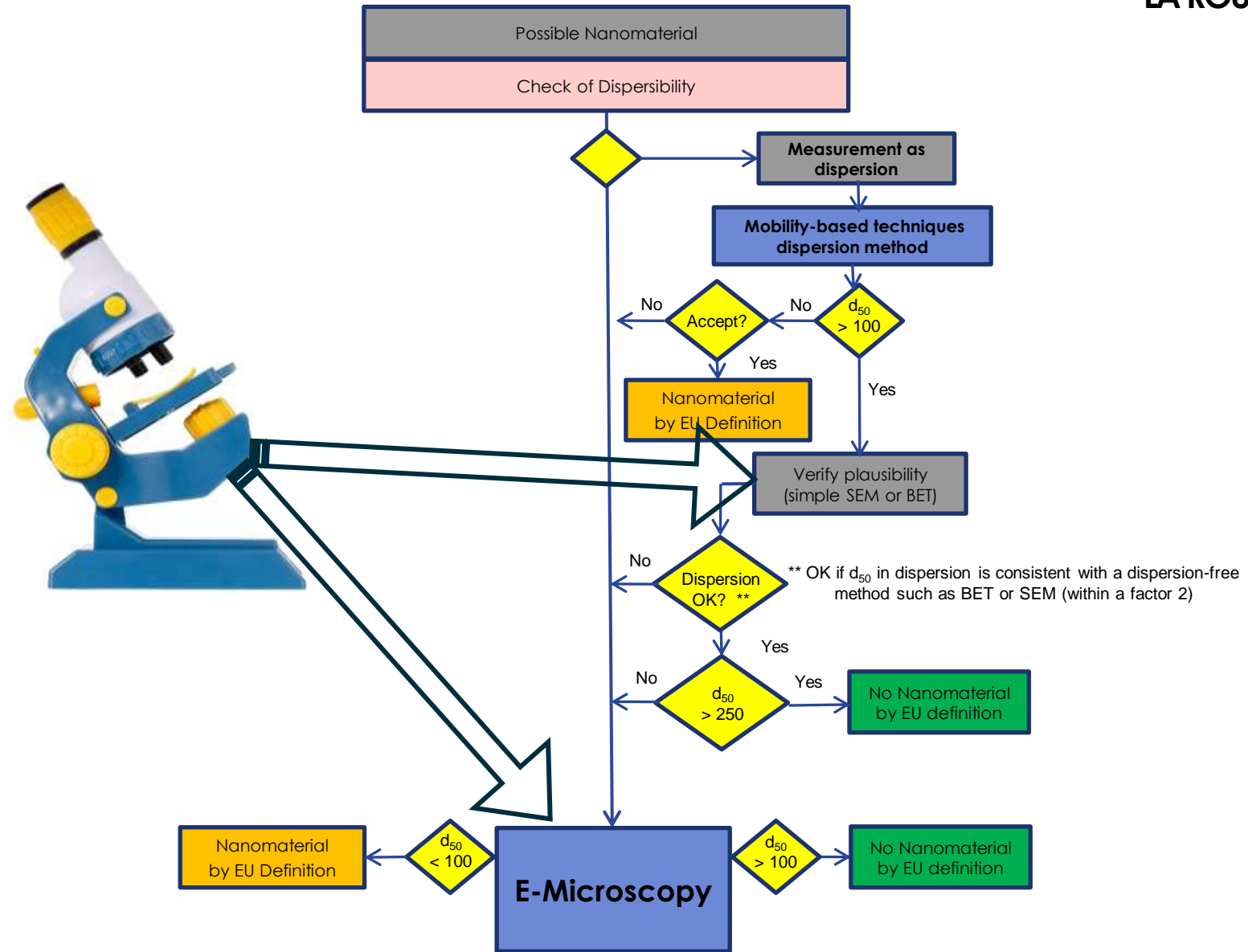
LA ROUTE DES POUDRES



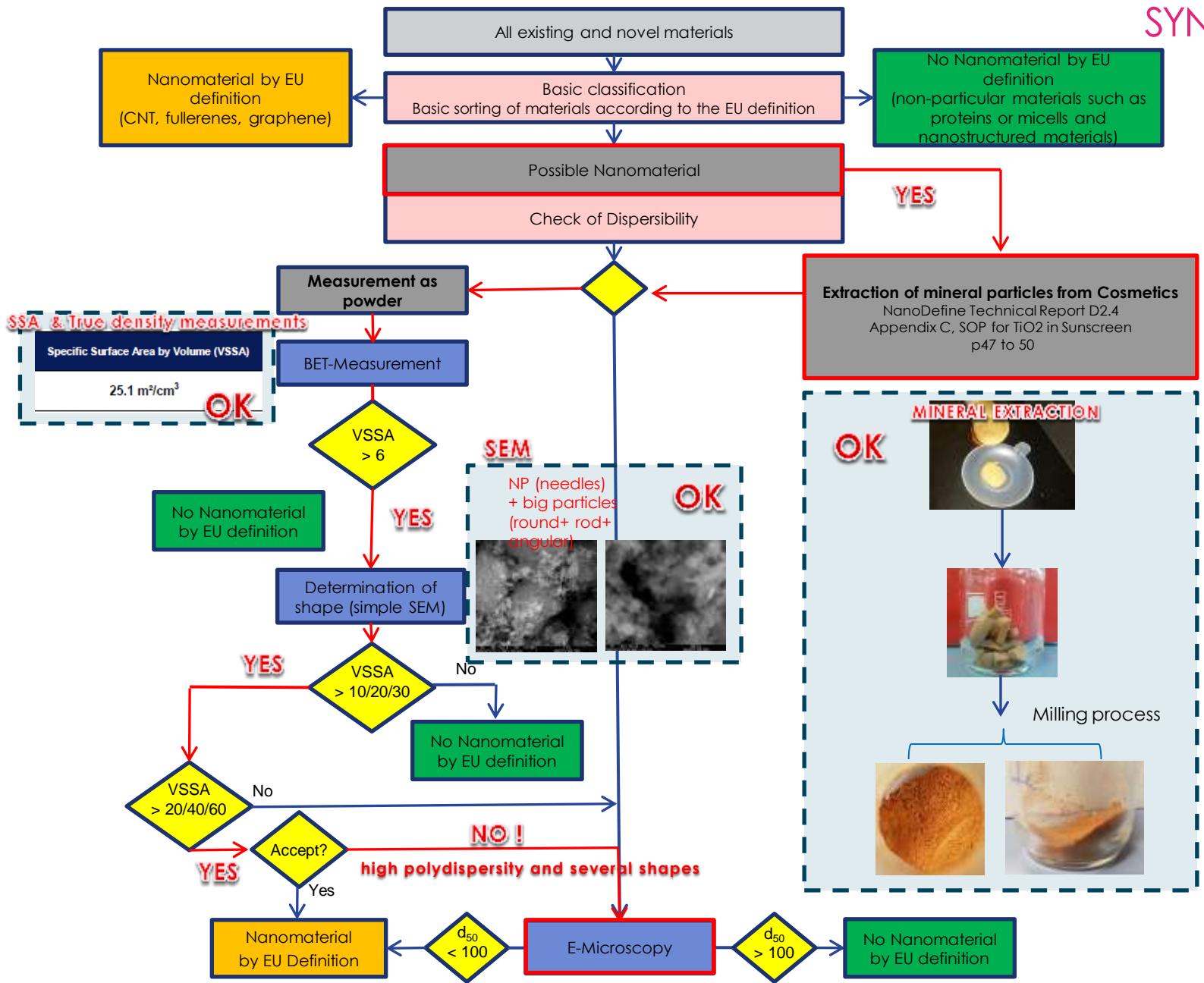
GN MEBA JUSSIEU DECEMBRE 2018

L'ARBRE DE DÉCISION NANODEFINE APPLIQUÉ AUX PARTICULES EXTRAITES

LA ROUTE DES DISPERSIONS



ROUTE 1 :
Measurement as powder

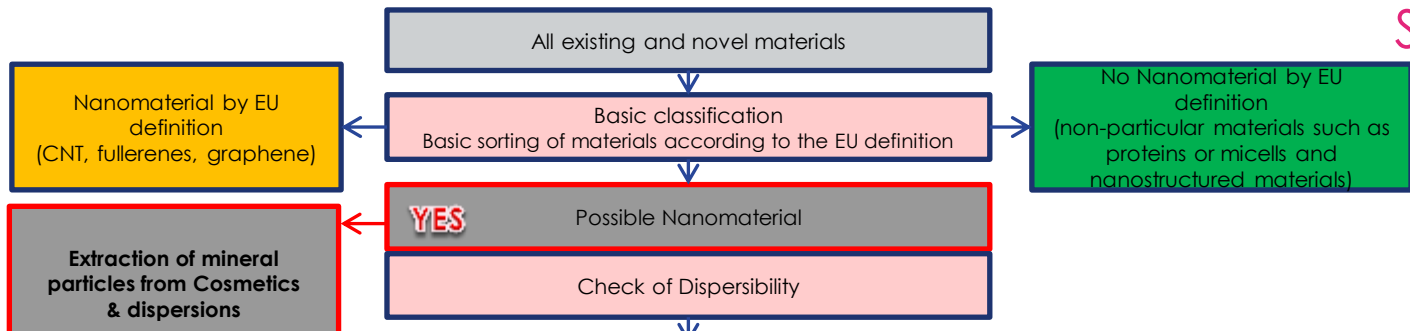


1
Classification
by Screening
Methods

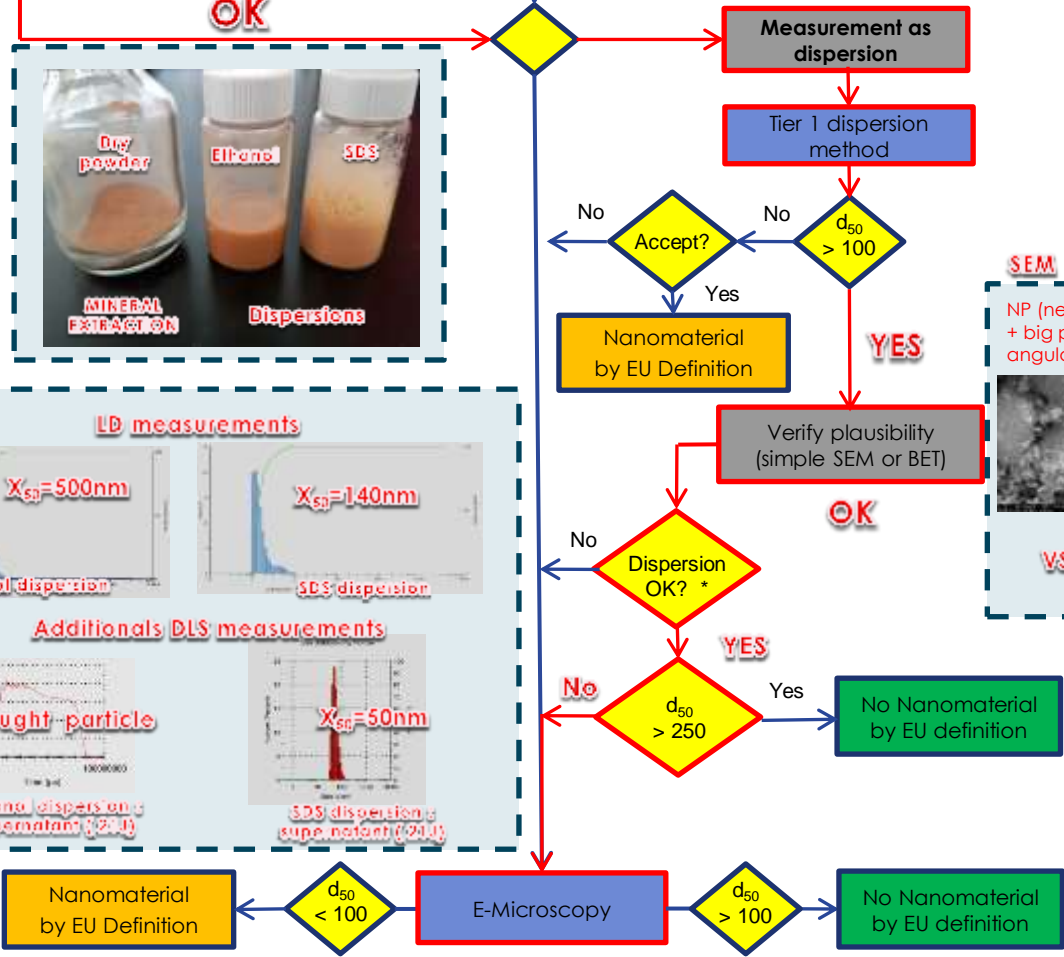
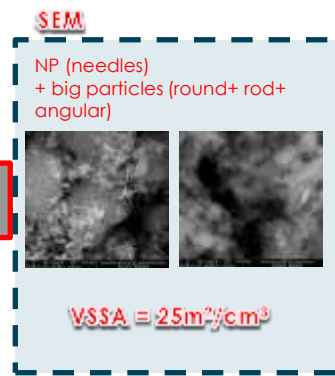
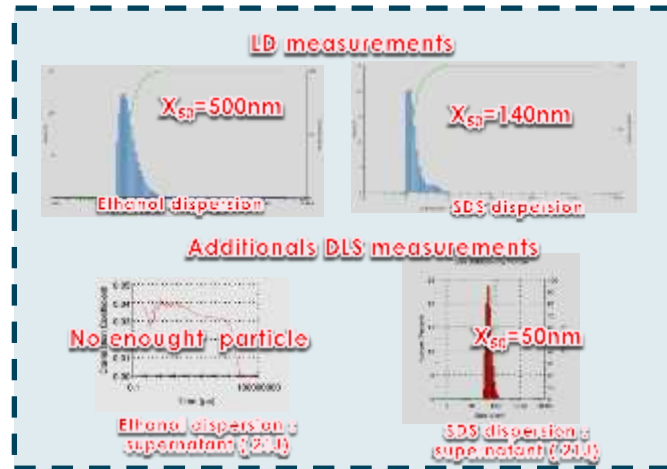
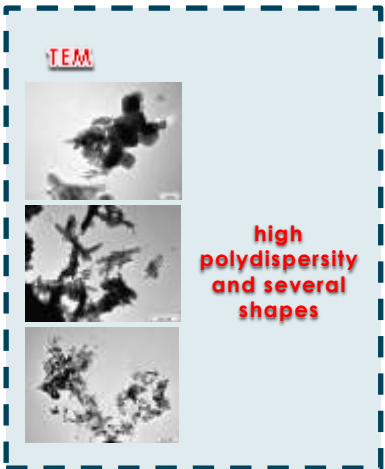
2
Decision-
making from
screening
methods down
to 200nm
minimal
dimension

#3 :
Final
verification for
borderline
cases around
100nm

**ROUTE 2 :
Measurement as dispersion**



* OK if d_{50} in dispersion is consistent with a dispersion-free method such as BET or SEM (within a factor 2)



1
Classification by Screening Methods

2
Decision-making from screening methods down to 200nm minimal dimension

#3 :
Final verification for borderline cases around 100nm

LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE S'AVÈRE INCONTOURNABLE DANS LA TRÈS GRANDE MAJORITÉ DES CAS

