



HAL
open science

Caractérisation des transformations physico-chimiques de nanocomposites après incinération et conséquences biologiques des émissions

Claire Longuet, Carine Chivas-Joly, Lara Leclerc, Gwendoline Sarry,
José-Marie Lopez-Cuesta, Jérémie Pourchez

► To cite this version:

Claire Longuet, Carine Chivas-Joly, Lara Leclerc, Gwendoline Sarry, José-Marie Lopez-Cuesta, et al.. Caractérisation des transformations physico-chimiques de nanocomposites après incinération et conséquences biologiques des émissions. *Environnement, Risques & Santé*, 2020, 19 (Supplément 1), pp.51-64. 10.1684/ers.2020.1413 . hal-02553191

HAL Id: hal-02553191

<https://imt-mines-ales.hal.science/hal-02553191>

Submitted on 25 May 2021

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.

Caractérisation des transformations physico-chimiques de nanocomposites après incinération et conséquences biologiques des émissions

CLAIRE LONGUET¹

CARINE CHIVAS-JOLY²

LARA LECLERC³

GWENDOLINE SARRY³

JOSÉ-MARIE LOPEZ-CUESTA¹

JÉRÉMIE POURCHEZ³

¹ C2MA, Polymers Composites and Hybrids (PCH)

IMT Mines Ales

6, avenue de Clavières

30319 Ales Cedex

France

<claire.longuet@

minesales.fr>

<jose-marie.lopez-cuesta@

mines-ales.fr>

² LNE, Nanocomposites and Nanometrology

29, avenue Roger

Hennequin

78197 Trappes Cedex

France

<carine.chivas@lne.fr>

³ Mines Saint-Etienne,

Univ Lyon, Univ Jean

Monnet, INSERM,

U 1059 Sainbiose

Centre CIS

F-42023 Saint-Etienne

France

<leclerc@emse.fr>

<gwendoline.sarry@

emse.fr>

<pourchez@emse.fr>

Résumé. Dans le rapport de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) de 2016 intitulé *Nanomaterials in waste streams*, 30 % des déchets sont incinérés. Ce processus peut affecter fortement les caractéristiques physico-chimiques de nanoparticules, éventuellement présentes dans ces déchets, induisant une modification potentielle de leur toxicité initiale. La répartition des nanoparticules dans les sous-produits formés (fumées et résidus provenant de l'incinération des nanocomposites) reste incertaine. Dans le projet Nano Tox'in, des nanocomposites ont été incinérés à l'échelle de laboratoire. Les objectifs étaient de faire une étude complète des propriétés physico-chimiques et des sous-produits associés et d'évaluer l'impact sur la toxicité *in vitro* de la transformation des nanoparticules initiales des nanocomposites en particules libérées (*particles matter* [PM]) dans les aérosols et dans les résidus (mâchefers). Nous avons pu montrer que les nanoparticules étaient principalement concentrées dans les mâchefers. Nos résultats ont également confirmé que le profil toxicologique des PM est directement régi par la toxicité de la matrice polymère hôte, tandis que celui des mâchefers semble directement lié à la toxicité intrinsèque des nanoparticules. La taille, la chimie et le taux des nanoparticules ainsi que la nature de la matrice ont donc un impact sur la toxicité *in vitro*. Le nouveau projet, NanoDetox, va nous permettre d'étudier l'impact des mélanges de déchets (représentatif de flux de déchets) et d'évaluer les transformations physico-chimiques ainsi que les effets de synergies/antagonismes liés aux nanoparticules sur la toxicité *in vitro* des suies et/ou les mâchefers.

Mots clés : aérosols ; cytotoxicité ; incinération ; mâchefers ; nanocomposites ; résidus ; TNF- α .

Abstract

Incineration of nanomaterials: physical and chemical transformations and biological consequences of emissions

*According to the 2016 OECD report "Nanomaterials in waste streams", 30 % of waste is incinerated. This process can strongly affect the physical and chemical properties of any nanoparticles in the waste matter, possibly modifying their initial toxicity. Little is known about the spread of nanoparticles in the resulting by-products (smoke and residues from the incineration of the nanomaterials). In the Nano Tox'in project, nanomaterials were incinerated in a laboratory with a two-fold aim: to study their physical and chemical properties and their by-products in detail, and to assess the impact on the *in vitro* toxicity of the transformation of the nanomaterials' initial nanoparticles into released particulate matter (PM) in aerosols and in the residues (ash). We showed that the nanoparticles were mainly concentrated in the ash. Our results also confirmed that the toxicological profile of the PM is directly related to the toxicity of the polymer matrix host, while that of the ash seems directly linked to the intrinsic toxicity of the nanoparticles. The size, chemistry, and*

rate of nanoparticles along with the nature of the matrix therefore affect the in vitro toxicity. The new project, NanoDetox, will enable us to study the impact of mixed waste (representing the waste streams) and assess the physical and chemical transformations and the effects of synergies and antagonisms of nanoparticles on the in vitro toxicity of soot and/or ash.

Key words: aerosols; ash; cytotoxicity; incineration; nanomaterials; residues; TNF- α .

Les nanomatériaux sont de plus en plus présents dans les produits manufacturés [1]. Les nanoparticules introduites peuvent jouer un rôle sur le renforcement mécanique, la coloration, l'ignifugation ou la catalyse chimique. Ces nouvelles fonctionnalités sont liées aux propriétés spécifiques (taille, forme, surface spécifique, chimie) des nanoparticules. Cependant, ces propriétés spécifiques impliquent également un risque potentiel pour la santé humaine ou l'environnement. Leur taille leur permet de franchir les barrières biologiques [2] et leur réactivité peut, dans certains cas, avoir des effets néfastes sur la santé [3, 4]. L'évaluation des risques nécessite des études sur la toxicité des nanoparticules, or celles-ci donnent des résultats parfois contradictoires [5], le comportement biologique des nanoparticules étant difficile à appréhender et donc à prédire. Ce comportement biologique dépendant des caractéristiques physico-chimiques, il est nécessaire de réaliser au préalable une caractérisation très détaillée des nanoparticules avant de procéder à leur évaluation toxicologique, comme le préconise la norme ISO/TR 13014 [6].

L'incorporation de nanoparticules dans des matrices de polymères permet de formuler des nanocomposites présentant un champ d'application amélioré. Toutefois, aucune indication spécifique n'est actuellement disponible pour identifier la présence de nanoparticules dans les composites actuellement sur le marché. Par conséquent, le processus de recyclage de produits de consommation contenant des nanoparticules, *via* des canaux de récupération spécifiques, est à l'heure actuelle peu répandu et ils se retrouvent, par conséquent, dans les flux de déchets à incinérer. Des études récentes ont considéré que le principal scénario de fin de vie des nanocomposites est leur dégradation thermique dans une installation d'incinération des déchets [7-13].

L'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) a récemment publié un rapport [14] traitant de la quantité de nanomatériaux entrant dans chaque type d'installation de traitement des déchets et des risques associés d'exposition humaine et environnementale. Ce rapport souligne un besoin de connaissances sur le devenir des nanoparticules lors de la gestion des déchets. Dans le domaine spécifique de l'incinération, l'une des principales questions était l'efficacité des traitements des gaz de combustion pour l'élimination des nanoparticules [15]. Des travaux antérieurs [16, 17] ont

montré que certaines nanoparticules peuvent ne pas être affectées par les processus d'incinération des déchets ou les filtres et dispositifs installés dans le système de traitement des gaz de combustion. Il faut néanmoins être conscient que les caractéristiques physico-chimiques et, de ce fait, les risques potentiels associés aux nanoparticules peuvent être modifiés par le processus d'incinération [15]. Par conséquent, les données toxicologiques basées sur les nanoparticules initialement introduites dans les produits manufacturés ne semblent pas les plus pertinentes pour prédire la toxicité des nanoparticules après incinération. Il est, en effet, possible qu'une nanoparticule, initialement non toxique ou faiblement toxique lors de son utilisation dans la formulation du nanocomposite, puisse être transformée au cours de l'incinération et devenir toxique, et *vice versa*. De plus, à notre connaissance, il existe très peu d'études se focalisant sur les transformations physico-chimiques possibles des nanomatériaux au cours du processus d'incinération de produits contenant des nano-objets.

En effet, dans la littérature, les études sont généralement limitées aux processus de dégradation thermique des « nano-produits » comme les nanocomposites. Certains travaux ont mentionné des émissions de polluants résultant d'un incendie accidentel de nanocomposites [18, 19], et d'autres étaient axés sur la caractérisation de la fumée et sur la toxicité due au feu [20], tandis que peu d'études portent sur l'évaluation de la taille des particules et leur concentration dans l'aérosol généré lors de la décomposition thermique de nanocomposites [21, 22]. Certains travaux ont mis l'accent sur l'effet du taux de nanoparticules ainsi que sur la température de combustion [23-25] pouvant jouer sur le devenir et la transformation éventuelle des nano-objets initialement incorporés dans la matrice polymère, lorsqu'ils ne sont pas détruits lors de l'incinération. Sotiriou *et al.* [26] ont souligné la friabilité des résidus et, de ce fait, la production de résidus qui soulève la question de la libération potentielle de nanoparticules dans l'environnement. Vejerano *et al.* [27] se sont concentrés sur les déchets contenant des nanomatériaux pour une incinération à l'échelle du laboratoire. Les auteurs ont noté que la majorité des nanoparticules se trouvaient dans les résidus (mâchefers). De leur côté, Singh *et al.* [25] ont présenté les facteurs clés influençant le rejet de nanoparticules, tels que la température et la charge en nanoparticules.

Enfin, Ounoughène *et al.* [28] ont souligné la nécessité de développer des outils analytiques afin de quantifier la nanostructure dans les déchets, les mâchefers et les aérosols.

Les connaissances fondamentales sur la décomposition thermique des nanocomposites sont donc parcelaires et insuffisantes pour l'évaluation de risque. Plus spécifiquement, certains points clés devraient être étudiés plus en détail, tels que les modifications physico-chimiques des nanoparticules lors du processus d'incinération, leur libération en tant que composants de sous-produits (*i.e.* suies [*particles matter* {PM}] et mâchefers [résidus]), et enfin la toxicité associée à ces substances. Ce travail vise donc à fournir des nouvelles connaissances en termes d'identification de la modification de nanoparticules et de leurs risques associés lors de la dégradation thermique de nanocomposites industriels.

Matériaux et méthodes

Formulations et description des échantillons

Le poly(éthylène-vinyl acétate) utilisé est le Repsol EVA PA 440 de Gazechim. Les nanoparticules d'alumine ont été achetées chez Evonick (AluC noté Al_2O_3) et deux boehmites ont été fournies par Saint-Gobain (*tableau 1*). Les boehmites présentaient deux formes différentes :

plaquettaires ou sphériques, notées respectivement AIO(OH)-p et AIO(OH)-s (*figure 1*).

La première étape pour faciliter la mise en œuvre de la formulation a été la préparation d'un mélange-maître en solubilisant l'EVA dans du tétrahydrofurane (THF) à 50 °C avant de disperser les nanoparticules à l'aide d'un agitateur magnétique. Après évaporation du THF, le film de mélange-maître composite a été récupéré et broyé. Le mélange-maître a été ensuite dilué en utilisant une extrudeuse à bi-vis co-rotative (Clextral, profil standard, longueur = 1 200 mm, vitesse = 200 tr/min, diamètre de la vis = 20 mm, T = 120-170 °C et débit = 9 kg/h) pour atteindre un taux de 5 % en masse de nanoparticules. Les échantillons ont été moulés par injection (Krauss Maffei KM 50 t, T = 170-180 °C, température du moule = 25 °C) pour obtenir des échantillons (100 × 100 × 4 mm³). Les granulés d'échantillon ont été séchés à 70 °C pendant huit heures avant le moulage par injection.

Caractérisations chimiques, physico-chimiques et morphologiques

La schématisation des caractérisations nécessaires pour l'évaluation suivant la norme ISO/TR 13014:2012 pour les études toxicologiques est présentée dans la *figure 2*.

Diffraction des rayons X

Des analyses par diffraction des rayons X (DRX) des nanoparticules ont été effectuées sur un diffractomètre à rayons X Bruker en utilisant le rayonnement $Cu K\alpha$.

Tableau 1. Résumé des caractérisations réalisées sur les particules sélectionnées dans le cadre de l'étude.

Table 1. Summary of the characterizations of the particles examined in the study.

	Paramètres analysés	AIO(OH)-s	AIO(OH)-p	Al_2O_3
DLS	Diamètre hydrodynamique (nm)	98,4 ± 0,9	215,2 ± 1,6	215,2 ± 1,6
MEB	Diamètre médian (nm)	29,5	33,6	30,5
	Forme	Sphérique	Plaquettaire	Sphérique
AFM	Agglomération	Distribution homogène des particules	Distribution homogène des particules	Organisation en chaîne de particules pseudo-sphériques
DRX	Amorphe ou structure cristalline	Structure cristalline de la boehmite	Structure cristalline de la boehmite	Structure cristalline de l'alumine
BET	Surface spécifique (m ² /g)	128	81	103
	Diamètre équivalent (nm)	15,6	16,5	13,2
Charge de surface	Potentiel zêta à pH neutre (mV)	+35	+45,3	+6,7
	Point isoélectrique	10	10	6,2
Impuretés chimiques	Fe (ppm)	36 ± 0,5	40 ± 1	15,5 ± 3
	Na (ppm)	238 ± 13	1 767 ± 17	221 ± 19

DLS : *dynamic light scattering* ; MEB : microscopie électronique à balayage ; AFM : microscopie à force atomique ; DRX : diffraction des rayons X ; BET : Brunauer-Emmett-Teller.

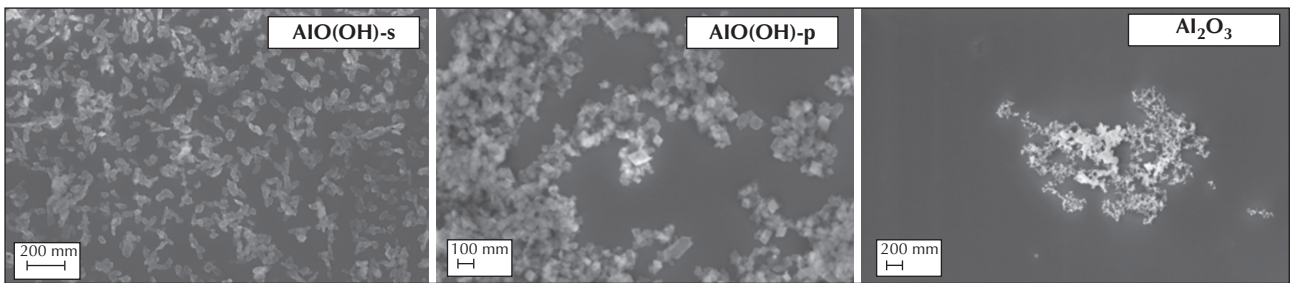


Figure 1. Photos en microscopie électronique à balayage des différentes particules choisies.

Figure 1. Scanning electron microscope images of the various particles considered.

Mesure du potentiel zêta

La dispersion optimale des nanoparticules sur un substrat dépend du potentiel zêta de la suspension initiale. Les nanoparticules sont bien dispersées lorsque la suspension est stable et la valeur absolue du potentiel zêta est supérieure à 30 mV. Pour

chaque échantillon, les mesures du potentiel zêta en fonction du pH ont été effectuées en maintenant la force ionique constante avec une solution de perchlorate de sodium, de l'acide perchlorique et de l'hydroxyde de sodium (concentration 0,1 mol/l).

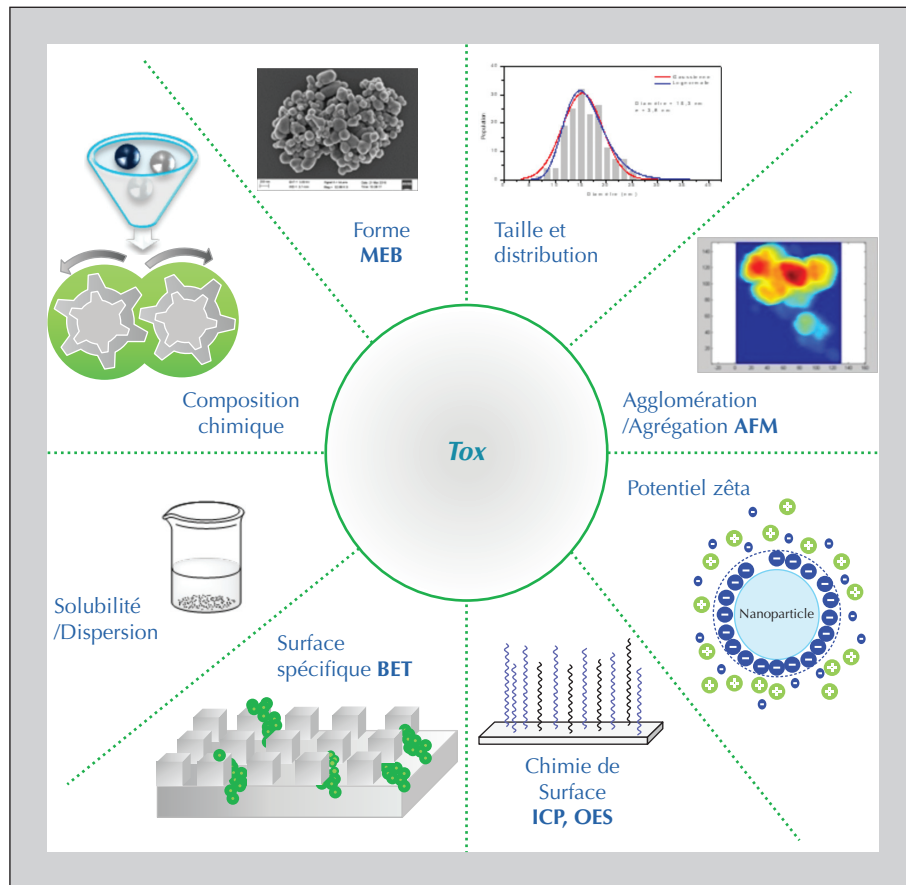


Figure 2. Paramètres préalables primordiaux pour des études toxicologiques (ISO-TC 229-ISO/TR 13014:2012).

Figure 2. Preliminary parameters essential for toxicology studies (ISO-TC 229-ISO/TR 13014:2012).

Microscopie électronique à balayage

Les images en microscopie électronique à balayage (MEB) ont été réalisées avec un Zeiss ULTRA-Plus, équipé d'un microscope FEG (*field emission gun*) et d'un détecteur SE à lentille. Toutes les images ont été réalisées avec des électrons secondaires recueillis par le détecteur InLens. La taille des particules a été déterminée et cette grandeur (diamètre équivalent en surface, $D_{area-eq}$) est définie comme le diamètre d'une sphère qui aurait une surface projetée.

Réponses cellulaires *in vitro*

Lignée cellulaire et conditions de culture

La lignée cellulaire RAW 264.7, dérivée de macrophages péritonéaux murins (MA) transformés par le virus de la leucémie murine Abelson (AML), a été fournie par la collection de biologie cellulaire ATCC (Promochem LGC, Molsheim). Les cellules ont été cultivées dans un milieu de Dulbecco Eagle modifié (DMEM, VWR, France), complété avec 10 % de sérum de veau fœtal (SVF, VWR, France), 1 % de pénicilline-streptomycine (pénicilline 10 000 unités/ml, streptomycine 10 mg/ml ; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) et incubés à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de dioxyde de carbone. La viabilité cellulaire a été déterminée par coloration vitale au bleu trypan (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France). Pour chaque expérience, comme décrit par Leclerc *et al.* [29, 30], des cellules ont été préparées dans des plaques à 96 puits (100 000 cellules/puits) dans 25 µl de DMEM complet (DMEMc).

Des suspensions (de nanoparticules pour les charges initiales, de suies ou de mâchefers issus de l'incinération des nanocomposites) ont été préparées à une concentration de 1 200 µg/ml dans de l'eau milliQ. Des dilutions dans du DMEMc ont été ajoutées à la culture et incubées pendant 90 minutes ou 24 heures à 37 °C dans une atmosphère à 5 % de CO₂. La stabilité de la taille des suspensions a été vérifiée à l'aide de la technique de diffusion dynamique de la lumière (NanoZetasizer, instrument Malvern) avant l'ajout à la suspension cellulaire. Différentes doses ont été testées : 11,25, 22,5, 45 et 90 µg de nanoparticules par millilitre. Des contrôles négatifs, correspondant aux cellules incubées seules, ont été inclus. Trois expériences indépendantes ont été réalisées pour chaque condition. Grâce à notre expertise sur l'étude des biais [31] pouvant potentiellement intervenir par la présence de nanoparticules lors des lectures optiques des tests toxicologiques, nous nous sommes assurés de l'absence de la présence de particules lors des quantifications des biomolécules d'intérêt dans les surnageants (sédimentation naturelle dans les puits de culture après 24 heures d'exposition ou réalisation préalablement à la mesure de centrifugation sur plaques avant la lecture optique).

Essais de cytotoxicité

L'activité du lactate déshydrogénase (LDH) libéré à partir de cellules à membranes endommagées dans le surnageant de culture a été évaluée après une incubation de 24 heures de cellules avec les différentes suspensions étudiées (suspension de nanoparticules pour les charges initiales, de suies ou de mâchefers issus de l'incinération des nanocomposites). Le test d'intégrité membranaire homogène CytoTox-ONE™ (Promega, Charbonnières-Bains, France) a été utilisé conformément aux instructions du fabricant [32, 33]. La détection a été effectuée à l'aide d'un fluoromètre (Fluoroskan Ascent, Thermolabsystems), avec des longueurs d'onde d'excitation/d'émission définies à 530/590 nm. L'activité de la LDH libérée a été rapportée à celle de la LDH cellulaire totale (mesurée après la lyse des cellules contrôle) et exprimée en pourcentage du contrôle.

Réponse pro-inflammatoire

La production de facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α) a été évaluée dans le surnageant de culture. Après une incubation de 24 heures avec les différentes suspensions étudiées (suspension de nanoparticules pour les charges initiales, de suies ou de mâchefers issus de l'incinération des nanocomposites), la libération de TNF-α a été évaluée dans le surnageant de culture à l'aide d'un kit commercial d'immunosorbant lié à une enzyme (ELISA ; dosage immunologique TNF-α de souris Quantikine®, systèmes de recherche et développement). La densité optique de chaque puits a été déterminée selon les instructions du fabricant en utilisant un lecteur de microplaques (Multiskan RC, Thermolabsystems) réglé à 450 nm [32, 33]. Une courbe standard a été établie et les résultats ont été exprimés en picogrammes de TNF-α par millilitre de surnageant.

Méthode

La présente étude porte en particulier sur les nanocomposites, car ces dernières années, des charges inorganiques ont été largement incorporées en tant que renfort dans des matrices polymères afin d'en améliorer les propriétés mécaniques ou leur comportement au feu. Nous nous sommes concentrés sur des nanocomposites issus de l'industrie de la câblerie, tels que les nanoparticules à base d'alumine incorporées dans une matrice de poly(éthylène-vinyl acétate), noté EVA. Nous proposons une approche interdisciplinaire combinant caractérisation physico-chimique des nanoparticules en « milieux complexes », réaction au feu des nanocomposites, métrologie des aérosols et évaluation toxicologique, pour la première fois au meilleur de nos connaissances, des aérosols (suies) et des résidus (mâchefers). La contribution principale de cet article est de répondre aux questions suivantes :

– Quelle est la répartition des nanoparticules dans les différents sous-produits (c'est-à-dire les suies [PM] et les mâchefers [résidus]) générées par l'incinération de nanocomposites ?

– Comment les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, initialement introduites pour formuler le nanocomposite dans une matrice polymère donnée, peuvent-elles impacter les propriétés toxicologiques des sous-produits générés par l'incinération de ces nanocomposites ?

– Existe-t-il un impact sur la santé, lié à la présence de nanoparticules dans des sous-produits d'incinération de nanocomposites ? Et particulièrement par rapport :

- au risque induit par la décomposition thermique de la matrice polymère seule (sans nanoparticule) ;
- au risque des nanoparticules initiales (figure 3).

Les aérosols forment un mélange complexe de particules appelées suies ou PM et les mâchefers (résidus) contiennent des produits très différents tels que des cendres volantes et les cendres lourdes.

La méthode d'incinération à l'échelle laboratoire développée lors de la thèse d'Ounoughène a été exploitée dans cette étude pour générer les PM et les mâchefers et ainsi permettre l'évaluation des modifications physico-chimiques [21, 23].

Pour l'évaluation toxicologique, les suies et les mâchefers issus de l'incinération ont été dispersées dans de l'eau milliQ pour obtenir une suspension-mère à une concentration de 12 mg/100 ml. L'obtention de cette dispersion a nécessité la mise en place d'un protocole spécifique [34] compte tenu des contraintes liées à la présence de suie carbonée, plus ou moins grasse, ou à une phase liquide modifiant l'état d'agrégation local des particules. Il faut noter que l'incinération d'EVA ne conduit pas à un processus de carbonnement (c'est-à-dire qu'aucun résidu [mâchefer] n'a été obtenu après l'incinération du composite à matrice EVA sans nanoparticules).

Résultats

Transformation chimique, physico-chimique et morphologique des nanoparticules dans les suies et les mâchefers

La figure 4 montre les images MEB permettant de visualiser le devenir des nanoparticules (dans les suies [PM] et/ou les mâchefers) après l'incinération de nanocomposites à base d'EVA. L'irradiation utilisée dans l'essai de simulation d'incinération (75 kW/m²) équivaut à 850 °C, or la décomposition complète de l'EVA se situe autour de 480 °C. En effet, l'EVA brûle rapidement en générant une forte émission de fumée sans laisser de résidu de carbonnement pendant le processus d'incinération, d'où l'absence de résidu et l'observation uniquement de suies.

La morphologie des suies d'incinération des nanocomposites à base d'EVA est assez similaire à celle de l'EVA vierge. Les suies issues de l'incinération de l'EVA vierge consistent en une structure agglomérée avec des nanoparticules pseudosphériques. La présence de boehmite et d'alumine n'entraîne aucune modification importante de la structure des suies. L'analyse DRX (figure 5) a confirmé qu'il n'y avait pas de nanoparticules détectables à l'intérieur des suies. En revanche, des nanoparticules ont pu être détectées dans les échantillons issus des mâchefers, l'empreinte retrouvée pour les trois nanocomposites correspondant à celle de l'alumine précédemment analysée. La caractérisation des PM et des mâchefers par DRX montre la stabilité de l'alumine pendant le traitement thermique et la transformation des boehmites en alumine. En effet, les boehmites présentent une température de dégradation comprise entre 450 °C et 500 °C qui correspond à la déshydroxylation de AlO(OH). L'irradiation utilisée dans l'essai de simulation d'incinération (75 kW/m²) équivaut à 850 °C ;

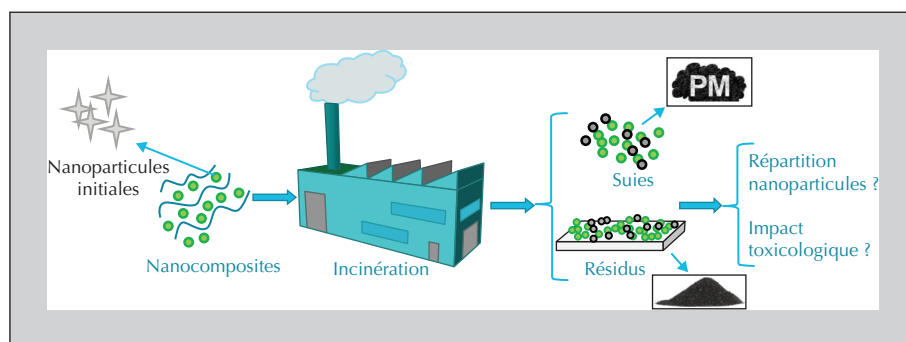


Figure 3. Schématisation de la structuration du projet Nano Tox'In.

Figure 3. Diagram showing the structure of the Nano Tox'In project.

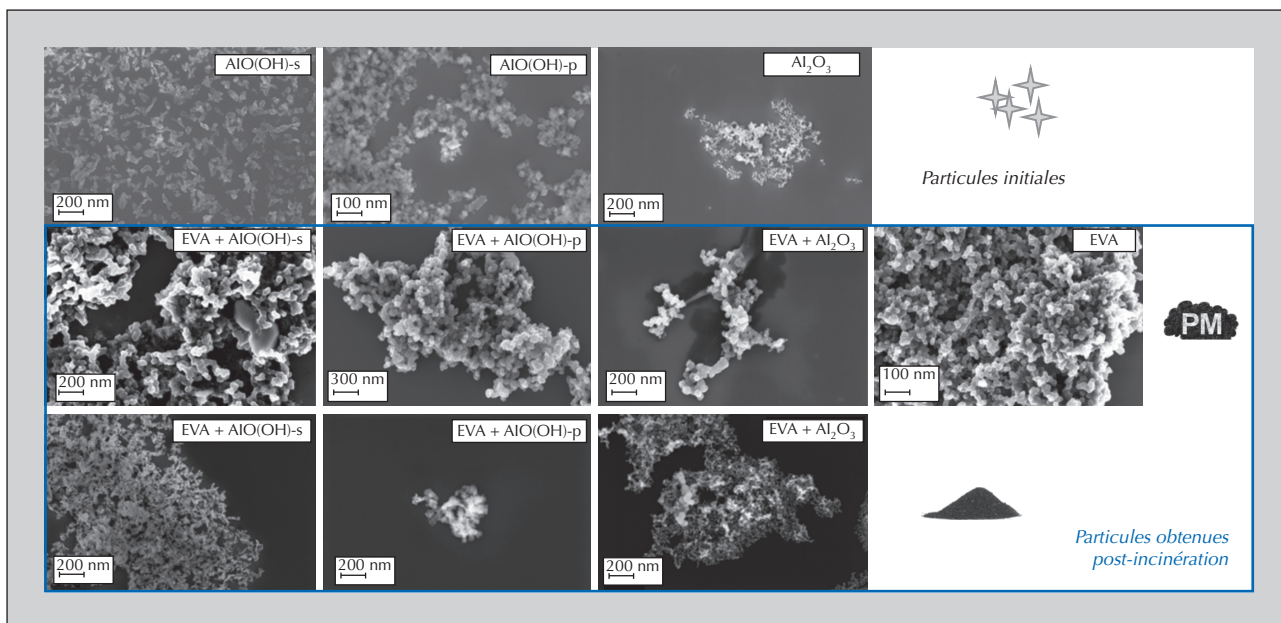


Figure 4. Images en microscopie électronique à balayage (MEB) des nanoparticules initiales, des suies (*particules matter* [PM]) et des mâchefers après l'incinération des nanocomposites à base d'EVA.

Figure 4. Scanning electron microscope images of initial nanoparticles, soot (*particules matter* [PM]), and ash after incineration of EVA-based nanomaterials.

les boehmites sont ainsi exposés à une température supérieure à celle nécessaire à leur conversion en alumine. Ces analyses ont démontré que la forme des particules n'a aucune influence sur la voie de dégradation des particules.

Une analyse morphologique plus fine des mâchefers des nanocomposites contenant les boehmites a été réalisée par MEB afin de vérifier la présence des nanoparticules en accord avec les modifications observées par DRX (*figure 6*).

Dans le nanocomposite contenant les boehmites une fraction de nanoparticules initiales a pu être isolée dans les mâchefers, quelle que soit la forme des nanoparticules de boehmite (AIO(OH)-p et AIO(OH)-s).

Toujours dans l'idée de confirmer la localisation des nanoparticules, des analyses par le biais d'ICP-OES ont été réalisées ; et de même que dans le cas de la DRX, on constate que les traces des éléments constitutifs des nanoparticules ne sont retrouvées que dans les mâchefers (*tableau 2*).

Afin de confirmer cette répartition suite à l'incinération des nanocomposites, il a été également considéré le comportement des produits prélevés dans les suies et les mâchefers en les comparant toujours avec les particules initiales par zétamétrie et en déterminant la taille des nanoparticules obtenues en se basant sur l'ISO 13014.

Afin d'estimer l'influence du pH sur l'état d'agrégation des nanoparticules, nous avons suivi la variation du

potentiel zêta permettant d'étudier les effets de la morphologie des nanoparticules et la présence de suie d'EVA absorbée en surface par ces différentes nanoparticules (*figure 7*).

On peut remarquer que le potentiel zêta des suies des nanocomposites est très proche de celui du comportement de la matrice EVA seule. Cela nous conduit à conclure que la présence de nanoparticules ne modifie pas la charge de surface de la suie.

En revanche, le potentiel zêta des mâchefers est affecté par la présence des nanoparticules ; l'évolution de la courbe, dans ce cas, est proche de celle des nanoparticules d'origine.

La mesure des tailles de particules initiales ainsi que celles récupérées dans les suies et dans les mâchefers (*tableau 3*) nous a permis de définitivement confirmer que la matrice a un rôle important en ce qui concerne la taille des suies. Par ailleurs, la taille des nanoparticules dans les mâchefers est proche de celle des nanoparticules initiales.

Évaluation des dangers des sous-produits d'incinération

Les réponses toxicologiques ont été évaluées en mesurant : la libération de LDH reflétant les dommages de la membrane cellulaire et la cytotoxicité résultante

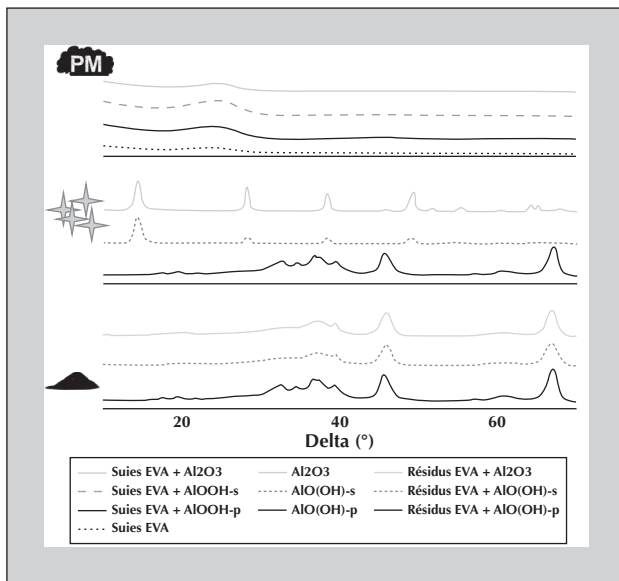


Figure 5. Analyses DRX de particules initiales (au milieu) et des particules issues des composites (suies en haut et mâchefers [résidus] en bas).

Figure 5. DRX analyses of initial particles (middle) and particles from composites (soot on top and ash [residues] on the bottom).

(figure 8), et la quantification du TNF- α reflétant la réponse pro-inflammatoire (figure 9).

Cytotoxicité

En ce qui concerne le niveau de cytotoxicité, deux comportements sont observés lorsque les cellules sont incubées 24 heures avec les nanoparticules initiales (figure 9) :

– quelle que soit leur forme (AlO(OH)-p et AlO(OH)-s), les nanoparticules de boehmite ne présentaient pas de cytotoxicité, comme le montre le niveau de LDH libéré qui reste équivalent au contrôle négatif (macrophages

incubés sans nanoparticules). Ce résultat corrobore la conclusion selon laquelle les nanoparticules à base de boehmite étudiées ne sont pas cytotoxiques, dans les conditions de la présente étude ;

– les particules d'alumine ont montré un comportement cytotoxique modéré après 24 heures de contact avec les macrophages uniquement pour la dose la plus élevée utilisée (à savoir 90 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Ce profil peut être qualifié d'« intermédiaire » si on compare les niveaux de LDH à la faible réponse cytotoxique observée pour les nanoparticules de boehmite.

Les résultats biologiques de l'incinération sont décrits comme ci-dessous :

– les mâchefers (résidus) montrent une cytotoxicité équivalente à celle observée pour les nanoparticules initiales utilisées comme charge et introduite dans la formulation du nanocomposite. Ce résultat est en accord avec la conclusion précédente, la cytotoxicité des mâchefers semble principalement régie par la cytotoxicité intrinsèque des nanoparticules introduites dans le nanocomposite ;

– le profil cytotoxique des particules aérosolisées prélevées dans les suies issues de l'incinération des nanocomposites (incorporant les nanoparticules de boehmite ou d'alumine) est similaire à la réponse cytotoxique des suies issues de l'incinération de la matrice EVA ne contenant pas de nanoparticules. En effet, nous observons dans tous les cas une réponse cytotoxique intermédiaire pour la dose la plus élevée (à savoir 90 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Ce résultat indique que la cytotoxicité des suies résultant de l'incinération des nanocomposites semble principalement régie par la cytotoxicité induite par les particules issues de la dégradation thermique de la matrice EVA, et non par la présence potentielle dans ces suies de nanoparticules utilisées dans la formulation des nanocomposites.

Réponse pro-inflammatoire

Les mêmes observations ont été faites pour la réponse pro-inflammatoire, lorsque les cellules sont

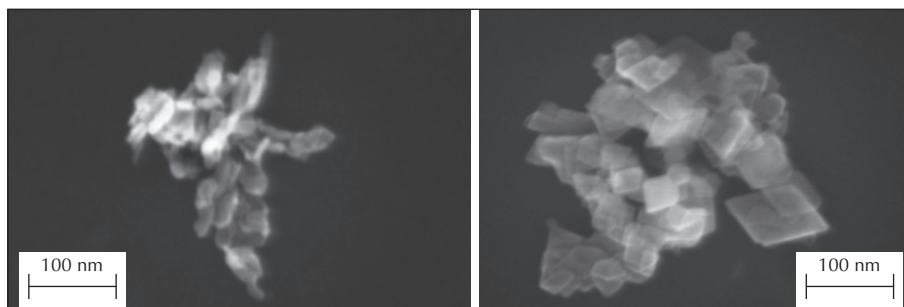


Figure 6. Focus sur les mâchefers d'EVA contenant les boehmites (AlO(OH)-p [à droite] et AlO(OH)-s [à gauche]).

Figure 6. Focus on EVA ash containing the boehmites (AlO(OH)-p [right] and AlO(OH)-s [left]).

incubées 24 heures avec les nanoparticules initiales (figure 9) :

- les nanoparticules de boehmite (AlO(OH)-p) et AlO(OH)-s) ne présentent aucune réponse pro-inflammatoire, car la concentration en TNF- α reste similaire à celle

observée pour le contrôle négatif (à savoir une incubation cellulaire en l'absence de nanoparticules) ;

- un profil pro-inflammatoire modéré pour les nanoparticules d'alumine est observé avec une augmentation significative, mais assez faible, de la réponse du TNF- α

Tableau 2. Analyses ICP-OES.

Table 2. ICP-OES analyses.

	Al (ppm/g d'échantillon)	Localisation du prélèvement
AlO(OH)-s	275 103 ± 1 600	Particules initiales
AlO(OH)-p	265 406 ± 9 996	
Al ₂ O ₃	267 650 ± 6 424	
EVA	< LoB	Aérosols/suies
EVA + AlO(OH)-s	< LoB	
EVA + AlO(OH)-p	< LoB	
EVA + Al ₂ O ₃	< LoB	
EVA + AlO(OH)-s	129 ± 1	Résidus/mâchefers
EVA + AlO(OH)-p	185 ± 0,9	
EVA + Al ₂ O ₃	49,6 ± 0,7	

EVA : éthylène-vinyl acétate.

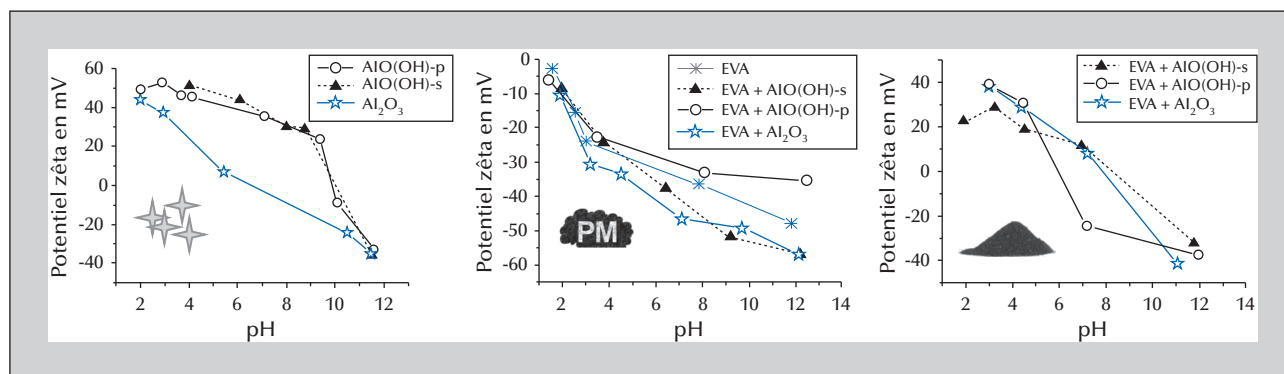


Figure 7. Mesure de la variation du potentiel zêta en fonction du pH sur les nanoparticules initiales (à gauche), les suies (au milieu) et les mâchefers (à droite).

Figure 7. Measurement of the variation in zeta potential as a function of the pH of the initial particles (left), soot (middle) and ash (right).

Tableau 3. Tailles des nanoparticules initiales et issues de l'incinération.

Table 3. Size of initial nanoparticles and those after incineration.

Taille en nm	Sans NP	AlO(OH)-s	AlO(OH)-p	Al ₂ O ₃
Nanoparticules initiales (NP)	–	33,6	29,5	30,5
Suies (EVA + NP)	48,6	43,5	48,6	42
Mâchefers (EVA + NP)	–	46,6	26,4	< 10

EVA : éthylène-vinyl acétate.

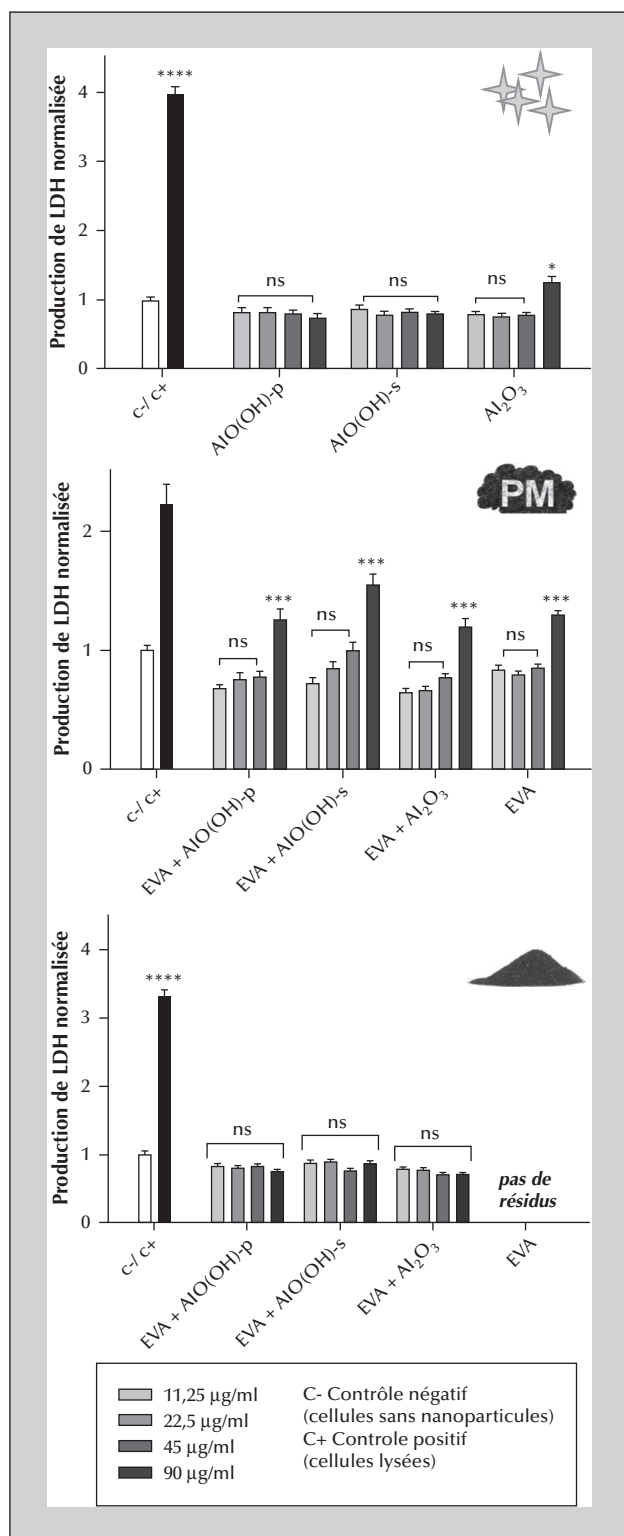


Figure 8. Cytotoxicité des nanoparticules initiales, des mâchefers et des suies, étudiée à l'aide du test LDH sur les macrophages RAW 264.7. Les résultats sont des moyennes de trois expériences indépendantes. Contrôle négatif (noté C-) : cellules sans

uniquement à la dose la plus élevée utilisée (c'est-à-dire 90 µg/ml).

Après incinération :

- la réponse pro-inflammatoire induite par les mâchefers (résidus) est rigoureusement similaire au profil pro-inflammatoire observé pour les nanoparticules initiales utilisées pour formuler les nanocomposites. Ce résultat indique que la réponse pro-inflammatoire des mâchefers induite par l'incinération de nanocomposites semble principalement régie par le profil pro-inflammatoire des nanoparticules initialement utilisées pour formuler les nanocomposites ;
- les profils pro-inflammatoires des particules aérosolisées de suies montrent des profils relativement similaires pour tous les échantillons, avec un profil pro-inflammatoire modéré qui est significatif uniquement pour la dose d'exposition la plus élevée. Par ailleurs, nous pouvons remarquer que la combustion de la matrice EVA ne contenant pas de nanoparticules montre le profil pro-inflammatoire, à la dose la plus élevée, le plus important de tous les échantillons de suies. Ainsi, le profil pro-inflammatoire des suies semble principalement régi par la propriété pro-inflammatoire des particules aérosolisées de suie générées par la dégradation thermique de la matrice EVA.

Discussion

La répartition des nanoparticules se fait principalement dans les mâchefers plutôt que dans les suies

Au cours de l'incinération, les nanoparticules introduites initialement pour formuler les nanocomposites pourraient se répartir entre les aérosols issus de la combustion et les mâchefers. L'identification de la répartition et de la persistance des nanoparticules dans les sous-produits lors de la dégradation thermique est cruciale pour évaluer le transport, le devenir, l'exposition et la toxicité induite par les nanoparticules au cours de l'incinération de nanocomposites. L'une des principales conclusions de l'étude est de démontrer clairement que la majorité des nanoparticules ont été retrouvées dans les

nanoparticules ; contrôle positif (noté C+) : lyse des cellules ; significativement différent du contrôle négatif : **** : $p < 0,0001$ et * : $p < 0,05$; NS : non significativement différent ($p > 0,05$).

Figure 8. Cytotoxicity of initial nanoparticles, ash, and soot, studied with the LDH test on RAW 264.7 macrophages. The results are the mean of three independent experiments. Negative control (C-) : cells without nanoparticles; positive control (C+) : cell lysis; significantly different from the negative control: ****: $P < 0.0001$ and *: $P < 0.05$, NS: not significantly different ($P > 0.05$).

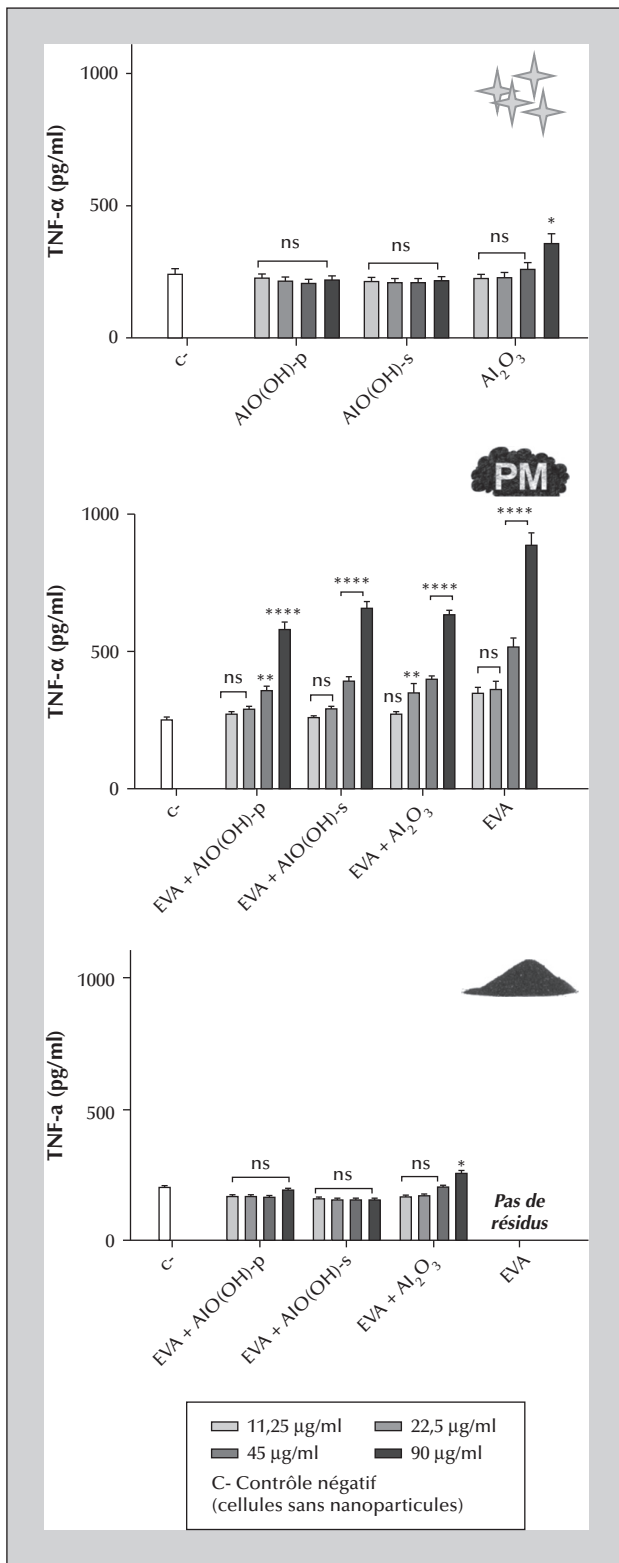


Figure 9. Réponse pro-inflammatoire des nanoparticules initiales, des mâchefers et des suies, étudiée à l'aide de la production de TNF- α sur les macrophages RAW 264.7. Les résultats sont des

mâchefers grâce aux observations qualitatives MEB (figure 6) et au dosage quantitatif d'Al par ICP-OES (tableau 2).

Des conclusions similaires ont été rapportées par différents auteurs pour des nanoparticules et des matrices polymères très différentes de celles qui ont été utilisées dans cette étude [16, 25-27]. Par exemple, Walser *et al.* ont étudié la dégradation thermique de nanoparticules de CeO₂ dans une usine d'incinérateur à grande échelle. Ils ont démontré que les nanoparticules de CeO₂ ne s'échappaient pas dans les gaz de combustion, tout en observant que les nanoparticules de CeO₂ étaient liées aux résidus du fond [16]. De plus, Vejerano *et al.* ont étudié l'incinération de nanoparticules (Ag, NiO, TiO₂, CeO₂, C₆₀, Fe₂O₃, CdSe) lorsqu'elles sont ajoutées à des déchets de substitution [27]. Ils ont montré que la plupart des nanoparticules restaient dans les résidus (mâchefers) et très peu d'entre elles se retrouvaient dans les aérosols libérés. Enfin, Singh *et al.* ont étudié le polypropylène, le polycarbonate et l'EVA pour formuler des nanocomposites comprenant des nanoparticules de TiO₂ ou des nanotubes de carbone [25]. Ils ont montré que la libération de nanoparticules dans les aérosols était assez faible pour des pourcentages différents de nanoparticules dans une matrice polymère et divers scénarios de combustion. Cependant, il semble que la quantité de nanoparticules dans les aérosols puisse être affectée par la quantité de nanoparticules initiales.

Même si très peu d'études se sont penchées sur la caractérisation physico-chimique des mâchefers lors de l'incinération des nanocomposites, nos résultats permettent d'affirmer que les nanoparticules se trouvent principalement dans les mâchefers, en ce qui concerne les nanocomposites à matrice EVA contenant des nanoparticules de boehmite ou d'alumine, représentant les matériaux utilisés du secteur de la câblerie. Ces nouvelles données viennent enrichir les données actuelles de la littérature. Une hypothèse principale pour expliquer cette répartition est que, lorsque la température de dégradation thermique est suffisante pour décomposer complètement la matrice polymère hôte, le processus d'incinération laisse des nanoparticules intactes dans les résidus (mâchefers), quel que soit le taux d'incorporation.

moyennes de trois expériences indépendantes exprimés en pg/ml. Contrôle négatif (noté C-): cellules sans nanoparticules; significativement différent du contrôle négatif: ****: $p < 0,0001$ et *: $p < 0,05$; NS: non significativement différent ($p > 0,05$).

Figure 9. Pro-inflammatory response of initial nanoparticles, ash, and soot, studied with the production of TNF- α on the RAW 264.7 macrophages. The results are the mean of three independent experiments expressed in pg/ml. Negative control (C-): cells without nanoparticles; significantly different from the negative control ****: $P < 0.0001$ and *: $P < 0.05$; NS: not significantly different ($P > 0.05$).

Le profil de risque de toxicité des suies semble principalement régi par celui intrinsèque de la matrice polymère hôte

L'influence des nanoparticules sur la toxicité des aérosols générés (suies) lors de l'incinération de nanocomposites est très mal connue. Deux autres études traitent la question [19, 35]. Vejerano *et al.* ont utilisé la lignée cellulaire épithéliale de poumon humain A549 et ont mesuré le stress oxydatif, la cytotoxicité et la génotoxicité induits par l'exposition de PM libérées par l'incinération de nanomatériaux [27]. Leurs résultats semblent montrer que les nanoparticules dans les déchets ne modifient pas le potentiel oxydatif des particules en suspension, ni la cytotoxicité ni la génotoxicité. En outre, ils ont démontré que les molécules de sous-produits de combustion polymères-matrices adsorbées sur les particules brutes jouent un rôle majeur dans le stress oxydatif résultant. Enfin, ils ont conclu que les particules produites par l'incinération de nanocomposites n'exacerbent pas le risque que représentent les particules par rapport à l'incinération de matrices polymères sans nanoparticules. Watson-Wright *et al.* ont utilisé de petites cellules épithéliales des voies respiratoires pour évaluer le stress oxydatif, la viabilité cellulaire et les dommages à l'ADN induits par la décomposition thermique de thermoplastiques nano-chargé [35]. Ils ont montré que les différences de matrice polymère hôte (polyuréthane [PU], polycarbonate [PC], polypropylène [PP], polyéthylène [PE] et EVA) et la composition chimique de nano-objets (nanotubes de carbone ou CNT, oxyde de titane ou de fer) semblent renforcer la toxicité des aérosols émis et collectés lors de la décomposition thermique de thermoplastiques contenant des nanoparticules. Cependant, les effets de nanoparticules sur l'augmentation de la toxicité des particules n'ont été observés que lorsque certaines particules de nanocomposites incinérés étaient exposées à des cellules, et en particulier en utilisant une matrice PU contenant des nanotubes de carbone, une matrice PE contenant une teneur élevée en oxyde de fer ou une matrice en EVA contenant une teneur élevée en oxyde de titane. En revanche, dans notre étude, le profil toxicologique des aérosols produits *via* l'incinération d'une matrice EVA, contenant divers types de nano-objets (alumine, boehmite) semble régi principalement par la propriété toxicologique intrinsèque de la dégradation thermique de la matrice EVA hôte. Ainsi, même si nos conclusions se limitent à une seule composition de nanocomposites, pertinente du point de vue industriel pour l'industrie de la câblerie, nos résultats sont tout à fait conformes à la tendance observée par Vejerano *et al.* utilisant des formulations variées de nanocomposites [27]. Bien entendu, les études sur ce sujet étant très rares, ces résultats soulignent principalement la nécessité de poursuivre les études consacrées aux nanocomposites incinérés et aux sous-produits associés. En particulier, ces

conclusions se limitent à la nature chimique de la matrice polymère et des nanoparticules choisies dans le cadre de cette étude et davantage de preuves sont nécessaires pour étendre les conclusions (par exemple, utiliser une concentration plus élevée de nanoparticules, etc.).

Le profil de risque de toxicité des mâchefers semble principalement régi par celui intrinsèque des nanoparticules initiales

La présence d'une grande quantité de nanoparticules initiales dans les mâchefers issus de la thermodécomposition des nanocomposites indique que ce sous-produit devrait être priorisé en termes d'études toxicologiques. Nos résultats montrent clairement que la réponse pro-inflammatoire et la cytotoxicité des mâchefers semblent principalement régies par le profil toxicologique intrinsèque des nanoparticules initiales. En effet, bien que des transformations physiques et chimiques des nanoparticules initiales puissent être subies lors de l'incinération des nanocomposites, ces modifications ne modifient pas le danger des nanoparticules. En outre, la matrice hôte-polymère semble avoir un impact mineur sur l'activité biologique des mâchefers associés. En fait, lorsque la température du processus d'incinération est supérieure à la température de décomposition totale de la matrice polymère hôte, les mâchefers sont presque exclusivement composés des nanoparticules initiales pouvant être légèrement modifiées du point de vue des caractéristiques physico-chimiques. L'irradiation utilisée dans les essais de simulation d'incinération (75 kW/m^2) équivalant à $850 \text{ }^\circ\text{C}$ et la décomposition complète de l'EVA se situant autour de $480 \text{ }^\circ\text{C}$ permettent de ne pas observer de mâchefers.

Impact environnemental et perspectives

Cette étude vise à améliorer notre compréhension de la libération éventuelle de nanoparticules incluses dans une matrice EVA lors du processus d'incinération, et à caractériser, le plus finement possible, les propriétés physico-chimiques et toxicologiques des sous-produits associés. Premièrement, nos résultats sensibilisent sur le fait que la quantité de nanoparticules provenant d'incinérateurs industriels risque de croître au cours de la prochaine décennie. Bien que la décomposition thermique de polymères vierges, tels que l'EVA, n'induisent pas de résidus (mâchefers) significatifs, l'incinération de nanocomposites génère quand même des résidus à forte teneur en nanoparticules. En revanche, même si les résultats semblent dépendre du type et du taux de charge des nanoparticules, ainsi que de la nature de la matrice polymère utilisée dans les nanocomposites, dans la plupart des cas, le profil toxicologique des particules

ne semble pas être exacerbé par la présence initiale de nanoparticules. En d'autres termes, une stratégie de gestion des déchets pour l'incinération doit être considérée comme une priorité. Elle consiste à étudier plus en détail le fractionnement des charges en sous-produits, les transformations physico-chimiques potentielles des nanoparticules dans les scories et l'évaluation du risque des déchets correspondant aux mâchefers. Un scénario potentiellement inquiétant pourrait être le transport de mâchefers dans l'environnement après leur élimination dans des décharges suite à l'incinération de nanocomposites. Si de futures études confirment que les transformations physico-chimiques potentielles des nanoparticules dans les mâchefers n'affectent pas le résultat biologique par rapport aux nanoparticules initiales, cette connaissance devrait être exploitée par l'industrie pour concevoir des nanocomposites plus sûrs (présentant un effet nocif minimal) prenant en compte tout le cycle de vie des produits, y compris l'étape d'incinération.

Conclusion

La présence de « nano-déchets » augmente et les nanoparticules initialement incorporées dans une matrice polymère vont inévitablement pénétrer dans le flux de déchets. À ce jour, le principal scénario de fin de vie des nanocomposites est leur incinération. Nos travaux, récemment publiés dans des journaux à comité de relecture [36, 37], ont parfaitement montré que, quelle que soit la chimie des nanoparticules (l'alumine et la boehmite), la plupart d'entre elles restaient dans les

mâchefers et semblaient, en règle générale, conserver leur taille et leur morphologie. De plus, nos résultats toxicologiques *in vitro* ont clairement démontré que la réponse pro-inflammatoire et le comportement cytotoxique des mâchefers sont principalement régis par le profil toxicologique intrinsèque des nanoparticules initiales. Enfin, le profil toxicologique des suies est induit par celui de la matrice polymère hôte, sans impact des nanoparticules.

En termes d'impact sur l'environnement, l'absence de nanoparticules dans les aérosols d'incinération de nos formulations, pour les nanoparticules à base d'aluminium, associé à l'efficacité des filtres des installations d'incinération, suggère que le rejet de nanoparticules en suspension dans l'atmosphère devrait être négligeable. En revanche, l'enrichissement en nanoparticules des résidus est possible si de grandes quantités de nanocomposites très chargés en nanoparticules sont incinérées. De ce fait, les résidus devraient être considérés comme une source potentielle d'exposition aux nanoparticules, si nous considérons la dégradation thermique des nanocomposites comme la stratégie majeure de gestion de ces déchets.

Remerciements et autres mentions

Les auteurs remercient l'Agence française de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME) pour l'aide financière accordée au projet Nano Tox'in par la subvention n° 1506C0054. Nous remercions sincèrement S. Delcour du LNE pour l'incinération des nanocomposites. Merci à B. Gallard et L. Dumazert de l'IMT pour le support technique.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

Références

1. Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, *et al.* Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotechnol* 2015 ; 6 : 1769-80.
2. Brun E, Carrière M, Mabondzo A. *In vitro* evidence of dysregulation of blood-brain barrier function after acute and repeated/long-term exposure to TiO₂ nanoparticles. *Biomaterials* 2012 ; 33 : 886-96.
3. Dreher K, Bucher J, Colvin V, *et al.* *Nanotechnology and the environment*. National Science Foundation, U.S. Environmental Protection Agency. Nanotechnology grand challenge in the environment research planning workshop, session E: "nanotechnology implications in health and the environment", Arlington, 2003, 31-36.
4. OECD Environment, Health and Safety Publications. *Series on the safety of manufactured nanomaterials*. No. 72, *Toxicokinetics of manufactured nanomaterials: report from the OECD expert meeting*. OECD ENV/JM/MONO(2016)24, 2016.
5. Schürs F, Lison D. More coherence and structure in the way research is conducted should be introduced in nanotoxicology, and all stakeholders must do their part. *Nat Nanotechnol* 2012 ; 7 (9) : 546-8.
6. ISO. *ISO/TF 13014: nanotechnologies – Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment*. ISO, 2012.
7. Sotiriou GA, Singh D, Zhang F, *et al.* An integrated methodology for the assessment of environmental health implications during thermal decomposition of nano-enabled products. *Environ Sci Nano* 2015 ; 2 : 262-72.
8. Adam V, Nowack B. European country-specific probabilistic assessment of nanomaterial flows towards landfilling,

- incineration and recycling. *Environ Sci Nano* 2017 ; 4 : 1961-73.
9. Singh D, Sotiriou GA, Zhang F, *et al.* End-of-life thermal decomposition of nano-enabled polymers: effect of nanofiller loading and polymer matrix on by-products. *Environ Sci Nano* 2016 ; 3 : 1293-305.
10. Gottschalk F, Sonderer T, Scholz RW, Nowack B. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ Sci Technol* 2009 ; 43 : 9216-22.
11. Mueller NC, Nowack B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ Sci Technol* 2008 ; 42 : 4447-53.
12. Mueller NC, Buha J, Wang J, Ulrich A, Nowack B. Modeling the flows of engineered nanomaterials during waste handling. *Environ Sci Process Impacts* 2013 ; 15 : 251-9.
13. Caballero-Guzman A, Sun T, Nowack B. Flows of engineered nanomaterials through the recycling process in Switzerland. *Waste Manag* 2015 ; 36 : 33-43.
14. OECD. *Nanomaterials in waste streams – Current knowledge on risks and impacts*. OECD, 2016.
15. Roes L, Patel MK, Worrell E, Ludwig C. Preliminary evaluation of risks related to waste incineration of polymer nanocomposites. *Sci Total Environ* 2012 ; 417-418 : 76-86.
16. Walser T, Limbach LK, Brogioli R, *et al.* Persistence of engineered nanoparticles in a municipal solid-waste incineration plant. *Nat Nanotechnol* 2012 ; 7 : 520-4.
17. Marcoux M-A, Matias M, Olivier F, Keck G. Review and prospect of emerging contaminants in waste – Key issues and challenges linked to their presence in waste treatment schemes: general aspects and focus on nanoparticles. *Waste Manag* 2013 ; 33 : 2147-56.
18. Chivas-Joly C, Motzkus C, Guillaume E, *et al.* Influence of carbone nanotubes on fire behaviour and aerosols emitted during combustion of thermoplastics. *Fire Mater* 2014 ; 38 (1) : 46-62.
19. Chivas-Joly C, Longuet C, Motzkus C, Lopez-Cuesta JM. Influence of the composition of PMMA nanocomposites on gaseous effluents emitted during combustion. *Polymer Degrad Stab* 2015 ; 113 : 197-207.
20. Stec AA, Rhodes J. Smoke and hydrocarbon yields from fire retarded polymer nanocomposites. *Polymer Degrad Stab* 2011 ; 96 (3) : 295-300.
21. Lopez-Cuesta J-M, Longuet C, Chivas-Joly C. Polymer nanocomposites and other materials containing nanoparticles. In : Njuguna J, Pielichowski K, Zhu H, editors. *Health and environmental safety of nanomaterials*. Cambridge : Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering No. 49, 2013.
22. Rhodes J, Smith C, Stec AA. Characterisation of soot particulates from fire retarded and nanocomposite materials, and their toxicological impact. *Polymer Degrad Stab* 2011 ; 96 : 277-84.
23. Ounoughène G, Le Bihan O, Chivas-Joly C, *et al.* Behavior and fate of halloysite nanotubes (HNTs) when incinerating PA6/HNTs nanocomposite. *Environ Sci Technol* 2015 ; 49 (9) : 5450-7.
24. Ounoughène G. *Étude des émissions liées à la décomposition thermique de nanocomposites : application à l'incinération* (PhD). Nantes : École des Mines de Nantes, 2015.
25. Singh D, Sotiriou GA, Zhang F, *et al.* End-of-life thermal decomposition of nano-enabled polymers: effect of nanofiller loading and polymer matrix on by-products. *Environ Sci Nano* 2016 ; 3 : 1293-305.
26. Sotiriou GA, Singh D, Zhang F, *et al.* Thermal decomposition of nano-enabled thermoplastics: possible environmental health and safety implications. *J Hazard Mater* 2016 ; 305 : 87-95.
27. Vejerano EP, Leon EC, Holder AL, Marr LC. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration. *Environ Sci Nano* 2014 ; 1 : 133.
28. Ounoughène G, Lebihan O, Debray B, *et al.* Thermal disposal of waste containing nanomaterials: first investigations on a methodology for risk management. *J Phys Conf Ser* 2017 ; 838 (1) : 1012024.
29. Leclerc L, Boudard D, Pourchez J, *et al.* Quantification of microsized fluorescent particles phagocytosis to a better knowledge of toxicity mechanisms. *Inhal Toxicol* 2010 ; 22 : 1091-100.
30. Leclerc L, Rima W, Boudard D, *et al.* Size of submicrometric and nanometric particles affect cellular uptake and biological activity of macrophages *in vitro*. *Inhal Toxicol* 2012 ; 24 : 580-8.
31. Forest V, Figarol A, Boudard D, Cottier M, Grosseau P, Pourchez J. Adsorption of lactate dehydrogenase enzyme on carbon nanotubes: how to get accurate results about the cytotoxicity of these nanomaterials. *Langmuir* 2015 ; 31 (12) : 3635-43.
32. Figarol A, Pourchez J, Boudard D, *et al.* Biological response to purification and acid functionalization of carbon nanotubes. *J Nanopart Res* 2014 ; 16 (7) : 1-12.
33. Forest V, Pailleux M, Pourchez J, *et al.* Toxicity of boehmite nanoparticles: impact of the ultrafine fraction and of the agglomerates size on cytotoxicity and pro-inflammatory response. *Inhal Toxicol* 2014 ; 26 (9) : 545-53.
34. Bouzakher Ghomrasni N, Chivas-Joly C, Devoille L, Hocheplied JF, Feltin N. Challenges in sample preparation for measuring nanoparticles size by scanning electron microscopy from suspensions, powder form and complex media. *Powder Technol* 2020 ; 359 : 226-37.
35. Watson-Wright C, Singh D, Demokritou P. Toxicological implications of released particulate matter during thermal decomposition of nano-enabled thermoplastics. *NanoImpact* 2017 ; 5 : 29-40.
36. Chivas-Joly C, Longuet C, Pourchez J, Leclerc L, Sarry G, Lopez-Cuesta J-M. Physical, morphological and chemical modification of Al-based nanofillers in by-products of incinerated nanocomposites and related biological outcome. *Hazard Mater* 2019 ; 365 : 405-12.
37. Pourchez J, Chivas-Joly C, Longuet C, Leclerc L, Sarrya G, Lopez-Cuesta J-M. End-of-life incineration of nanocomposites: new insights into nanofiller partitioning into by-products and biological outcomes of airborne emission and residual ash. *Environ Sci Nano* 2018 ; 5 : 1951-64.