

Université de Montréal

Analyse qualitative et quantitative des nanoparticules d'argent dans des matrices alimentaires à l'aide de l'ICP-MS en mode particule unique

Par

Nesrine Amiri

Département de Chimie, Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Chimie

Novembre 2022

© Nesrine Amiri, 2022

Université de Montréal

Département de Chimie, Faculté des arts et des sciences

Ce mémoire intitulé

Analyse qualitative et quantitative des nanoparticules d'argent dans des matrices alimentaires à l'aide de l'ICP-MS en mode particule unique

Présenté par

Nesrine Amiri

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Patrick Hayes

Président-rapporteur

Kevin James Wilkinson

Directeur de recherche

Karen Waldron

Membres du jury

Résumé

Les nanoparticules d'argent (Ag NPs) sont considérablement utilisées dans l'industrie alimentaire. Elles sont fortement appliquées comme enrobages d'emballages alimentaires afin d'assurer une meilleure qualité des aliments et une plus longue durée de conservation sur les étagères des supermarchés. En revanche, les risques associés aux Ag NPs sont inquiétants. Leurs effets potentiels sur les humains et sur l'environnement suscitent un grand intérêt scientifique. C'est pourquoi il est important de valider des méthodes analytiques pour détecter, caractériser et quantifier les Ag NPs dans la nourriture mise en contact avec ce type de contenant. Les méthodes permettront de mieux comprendre la migration de l'argent vers les aliments directement ingérés par l'humain. La spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif en mode particule unique (SP-ICP-MS) est une technique prometteuse pour caractériser et quantifier de petites particules (de quelques nanomètres) à de faibles concentrations (dans l'ordre du ng L^{-1}). Contrairement aux techniques analytiques conventionnelles, telles que les techniques de microscopie et de diffusion de la lumière, le SP-ICP-MS distingue la forme ionique de la forme particulaire de l'analyte. Cette présente étude valide une méthode pour la caractérisation et la quantification des Ag NPs et de l'argent ionique dans deux boissons et trois simulants: jus d'orange, préparation en poudre pour nourrissons, eau Milli-Q, acide acétique à 3% et éthanol à 10%. De plus, une meilleure compréhension du devenir et de la migration de l'argent provenant d'emballages alimentaires nano-activés a pu être obtenue. En effet, les milieux acides et les traitements thermiques ont engendré de plus grands relargages d'argent, sous forme ionique, contrairement aux milieux dits « lipophiles » tels que la préparation pour nourrissons et l'éthanol. En conclusion, ce mémoire nous démontre que les voies de libération des NPs des contenants nano-activés ne sont pas encore très bien comprises. De plus amples études doivent être entreprises afin de pouvoir établir des modèles de migration clairs et afin de mieux comprendre les risques associés à leurs utilisations.

Mots-clés : nanoparticules d'argent, emballages alimentaires, boissons, ICP-MS en mode particule simple.

Abstract

Silver nanoparticles (Ag NPs) are increasingly used in the food industry. They are integrated into coatings of various food packaging to help ensure longer product shelf life. However, the risks associated with Ag NPs are currently not well known and their potential effects on humans are causing growing concern. Furthermore, it is not clear whether NPs have greater or lesser risk than dissolved silver ions or bulk phase Ag. Consequently, it is necessary to detect and to characterize the release of silver from silver-enhanced containers into real food matrices using sensitive analytical techniques that allow one to distinguish between silver ions and nanoparticles. Single particle ICP-MS is a promising technique to count and size small particles at low concentrations. Compared to other conventional instrumentation, it can distinguish between ionic and particulate forms of the analyte. This thesis focused firstly on the validation of an analytical method for the analysis of Ag NPs and ionic silver in three different food simulants (Milli-Q water, 10% ethanol and 3% acetic acid) and in two drinks (orange juice and infant milk formula). A better understanding of the aging and of the migration of silver has been reached in these matrices. Essentially, acidic media caused significant NP oxidation whereas organic macromolecules like lipids, proteins and polysaccharides appeared to increase the stability of the NPs. Subsequently, a migration study from silver-enhanced containers showed significant release of dissolved Ag in 3% acetic acid and a lower release in milk formula. Also, heating led to a considerable release of silver from the container. To conclude, further studies are needed to obtain clear release models to better understand the risk on humans and on the environment.

Keywords: silver nanoparticles, food packaging, drinks, single particle ICP-MS.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des sigles et abréviations.....	xii
Remerciements.....	xvi
Chapitre 1 – Introduction.....	1
1.1 L'émergence de la nanotechnologie.....	1
1.2 La nanotechnologie dans le secteur alimentaire.....	3
1.2.1 L'application des nanoparticules d'argent dans les emballages alimentaires.....	3
1.2.2 La migration des nanoparticules d'argent vers la nourriture.....	4
1.3 La toxicité des nanoparticules d'argent.....	6
1.4 Le devenir des nanoparticules d'argent.....	7
1.4.1 Les transformations physiques.....	7
1.4.2 Les transformations chimiques.....	9
1.4.3 Les transformations biologiques.....	9
1.5 L'analyse des nanoparticules d'argent.....	10
1.5.1 Méthodes de diffusion de la lumière.....	10
1.5.2 Méthodes microscopiques.....	11
1.5.3 Méthodes à plasma à couplage inductif.....	12

1.5.3.1 Spectroscopie à couplage à plasma inductif couplé à la spectrométrie de masse en mode particule unique (SP-ICP-MS).....	12
1.5.3.1.1 Système d'introduction.....	13
1.5.3.1.2 Source d'ionisation.....	14
1.5.3.1.3 Filtre de masse.....	14
1.5.3.1.4 Détection.....	17
1.5.3.1.5 Acquisition et traitement des données.....	17
1.6 Objectifs de la recherche.....	22
Chapitre 2 – Validation de la méthode analytique.....	23
2.1 Analyses par SP-ICP-MS.....	23
2.1.1 Préparation des échantillons.....	23
2.1.2 Acquisition de données par SP-ICP-MS.....	24
2.2 Validation de la méthode analytique en SP ICP-MS des boissons.....	25
2.2.1 Effet sur la sensibilité et l'efficacité de transport.....	25
2.2.2 Effet sur la linéarité.....	27
2.2.3 Paramètres de validation.....	30
2.3 Validation des analyses en SP-ICP-MS des simulants alimentaires.....	32
Chapitre 3 – Characterizing the nature of silver in beverages contained in silver-containing food containers using sector field single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS).....	34
3.1 Abstract.....	34
3.2 Introduction.....	35
3.3 Materials and method.....	37
3.3.1 Chemicals.....	37
3.3.2 Ag aging experiments.....	37

3.3.3 Ag release experiments.....	38
3.3.3.1 Food and containers informations.....	38
3.3.3.2 Validation of the release of ionic silver from containers with an ion-exchange resin	38
3.3.3.3 Release experiments.....	38
3.3.3.4 Release following microwave heating	38
3.3.4 Sample Analysis	39
3.4 Results and discussion.....	39
3.4.1 Aging of Ag NPs	39
3.4.2 Migration of Ag and Ag NP from the silver-enhanced containers.....	42
3.5 Acknowledgements	47
3.7 Supplementary information	47
Conclusions.....	51
Références bibliographiques.....	53

Liste des tableaux

Tableau 1. Limites analytiques de l'analyse des Ag NPs (40 nm, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, le jus d'orange et la préparation en poudre pour nourrissons après dilution.....	31
Tableau 2. Limites analytiques de l'analyse de l'argent ionique (5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, le jus d'orange et la préparation en poudre pour nourrissons après dilution.....	32
Tableau 3. Limites analytiques de l'analyse des Ag NPs (40 nm, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, de l'acide acétique à 3% et de l'éthanol à 10%.....	33
Tableau 4. Limites analytiques de l'analyse de l'argent ionique (5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, de l'acide acétique à 3% et de l'éthanol à 10%.....	33
Table 5. SDL, recoveries, LOD and LOQ of 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ of Ag NPs 40 nm in Milli-Q water, ethanol 10%, acetic acid 3%, orange juice and milk formula.....	51
Table 6. SDL, recoveries, LOD and LOQ of 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ of dissolved Ag in Milli-Q water, ethanol 10%, acetic acid 3%, orange juice and milk formula.....	51

Liste des figures

Figure 1. L'identification des nanomatériaux déclarés d'être utilisés dans différentes catégories de produits commerciaux. ⁴	1
Figure 2. Une simulation d'énergies de surface de différentes tailles de Ag NPs. ¹⁰	2
Figure 3. Les applications de la nanotechnologie dans les différentes sphères alimentaires : de l'agriculture à la nutrition en passant par la transformation alimentaire et l'emballage des produits. ¹⁶	3
Figure 4. Les mécanismes de toxicité proposés des différents nanoparticules. ^{22, 23}	4
Figure 5. Trois modèles de transfert d'argent vers la nourriture et les boissons provenant de nanocomposite de polymère (PNC) imprégnés de Ag NPs. ²⁶	5
Figure 6. Un diagramme schématisant les sources potentielles de relargage et les transformations physiques, chimiques et biologiques des NMs dans l'environnement. ³⁹	7
Figure 7. Schéma des principales composantes de l'ICP-MS à simple quadripôle : système d'introduction de l'échantillon par nébulisation, système d'ionisation par plasma, interface, analyseur (quadripôle) et détecteur. (Modifié de Nisi et al. ⁵⁶).....	13
Figure 8. Schéma d'un analyseur de type quadripôle. ⁶³	15
Figure 9. Schéma d'un ICP lié à l'analyseur à secteur magnétique couplé à un analyseur électrostatique. ⁶⁶	16
Figure 10. Schéma d'un ICP couplé à un analyseur de temps de vol (TOF) orthogonal. ⁶⁷	17
Figure 11. Le cheminement (du système de nébulisation à la spectrométrie de masse) des deux types de signaux obtenus lors d'une analyse par ICP-MS en mode particule simple : continu (fraction dissoute) et pics intenses (fraction nanoparticulaire). ⁶⁸	18
Figure 12. Le signal obtenu par ICP-MS en mode particule unique en fonction du temps d'intégration pour des Au NPs à 60 nm d'un échantillon certifié (NIST™ 8013) ayant une concentration en nombre de 248,000 particules/mL. ⁷⁰	18

Figure 13. Schéma de traitement des données pour la quantification en nombre (A) et la caractérisation (A et B) des nanoparticules à l'aide de l'ICP-MS en mode particule unique. (Modifié par Pace et al.⁶¹).....20

Figure 14. Courbes d'étalonnage de l'argent dans 2% d'acide nitrique. 1% de jus d'orange est ajoutée dans la courbe en rouge.26

Figure 15. Comparaison de la sensibilité instrumentale, en cps/ng L⁻¹, de l'analyse de l'argent par SP-ICP-MS dans 2% HNO₃ uniquement et suite de l'ajout de 1% de jus d'orange (n = 10).....26

Figure 16. Comparaison de l'efficacité de transport, en uL/sec, de l'analyse de l'argent par SP-ICP-MS en utilisant des étalons préparés dans 2% d'acide nitrique et dans la matrice de jus d'orange, 1% (v/v), (n = 10).27

Figure 17. Concentrations mesurées de l'argent ionique et des nanoparticules d'argent de 40 nm en fonction de la concentration totale de l'argent dans l'eau Milli-Q, dans le jus d'orange et dans la préparation en poudre pour nourrissons.....29

Figure 18. Aging of Ag NPs 40 nm in (A) Milli-Q water, (B) 10% ethanol, (C) 3% acetic acid, (D) orange juice and (E) milk formula for four weeks in a refrigerator: a comparison of the NPs and dissolved fractions to the total Ag mass and size distributions of the NPs fraction.....42

Figure 19. Long-term migration of dissolved silver from Rubbermaid containers for 40 days into Milli-Q water, 3% acetic acid, 10% ethanol, orange juice and infant milk formula using single particle ICP-MS.43

Figure 20. Migration of silver from the Rubbermaid containers into (a) filtered and (b) unfiltered orange juice after 4 days. Analysis performed using single particle ICP-MS.44

Figure 21. Short term release of dissolved silver from Rubbermaid containers after one cycle of 3 minutes (a) without heating and (b) with heating (microwave 800 watts) into milli-Q water.45

Figure 22. Migration of silver from Rubbermaid containers into Milli-Q water after multiple cycles of 3 minutes (a) without heating and (b) with heating (microwave 800 watts).....46

Figure 23. Rubbermaid[®] containers using a Silver Shield Technology. Surface areas of contact, from left to right, are respectively: 305 cm², 190 cm² and 125 cm². Containers were purchased from Amazon.ca (Canada).....47

Figure 24. Piko Bello baby feeding bottles coated with silver nanoparticles. The surface area of contact is 707 cm². Containers were purchased from DHgate.com (China).48

Figure 25. Aging of dissolved silver in (a) Milli-Q water, (b) 10% ethanol, (c) 3% acetic acid, (d) orange juice and (e) milk formula for four weeks in a refrigerator: a comparison of the NPs and dissolved fractions to the total Ag mass.48

Figure 26. Time resolved signal (raw data) for ¹⁰⁷Ag in (A) Milli-Q water; (B) 10% ethanol, (C) 3% acetic acid, (D) orange juice and (F) milk formulation. Samples are shown before (a) and after (b) being put in contact with Ag enhanced containers. Measurements were acquired on a magnetic sector SP-ICP-MS with a 50 μs dwell time on samples that had been diluted 100x and 400x for milk infant formula.....49

Figure 27. Time resolved signal (raw data) for ¹⁰⁷Ag of 10 ng L⁻¹ Ag NPs 20 nm in Milli-Q water. Measurements were acquired on a magnetic sector SP-ICP-MS with a 50 μs dwell time.50

Liste des sigles et abréviations

μm : Micromètre

μs : Microseconde

AC : Courant alternatif (*Alternating current*)

AFM : Microscopie à force atomique (*Atomic force microscopy*)

C_{NP} : Concentration des nanoparticules en nombre

Cps : Compte par seconde

D : Débit

DC : Courant continu (*Direct current*)

DLS : Diffusion dynamique de la lumière (*Dynamic light scattering*)

D_{NP} : Diamètre d'une nanoparticule

EC : Commission Européenne (*European Commission*)

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (*Food and Agriculture Organization*)

FFF : Fractionnement par couplage flux-force (*Field flow fractionation*)

$f(l)$: fréquence de pulsion

HDC : Chromatographie hydrodynamique (*Hydrodynamic chromatography*)

I : Force ionique

ICP : Plasma à couplage inductif (*Inductively coupled plasma*)

ICP-MS : Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (*Inductively coupled plasma mass spectrometry*)

ICP-OES : Spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (*Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*)

I_L : Intensité de seuil

I_{NP} : Intensité d'une impulsion

LOD : Limite de détection (*Limit of detection*)

LOQ : Limite de quantification (*Limit of quantification*)

m/z : Masse sur charge

MALS : Diffusion de la lumière multi-angle (*Multiangle light scattering*)

MS : Spectromètre de masse (*Mass spectrometry*)

N_d : Nombre de particules détectées

N_i : Nombre de particules introduites

NIST : Institut national des normes et de la technologie (*National Institute of Standards and Technology*)

nm : Nanomètre

NM : Nanomatériau

NP : Nanoparticule

OM : Matière organique (*Organic matter*)

PNC : Nanocomposite de polymère (*Polymer nanocomposite*)

R : taux de récupération

S : Sensibilité

SEM : Microscopie électronique à balayage Microscopie électronique à balayage (*Scanning electron microscopy*)

SF : Secteur magnétique (*Field sector*)

S_m : Sensibilité massique

SP-ICP-MS : Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif en mode particule simple
(*Single particle Inductively coupled plasma mass spectrometry*)

t : Temps

TE : Efficacité de transport (*Transport efficiency*)

TEM : Microscopie électronique à transmission (*Transmission electron microscopy*)

TOF : Temps de vol (*Time of flight*)

v : volume

WHO : Organisation mondiale de la santé (*World Health Organization*)

ζ : Potentiel zêta

χ_m : Fraction de masse molaire de l'élément dans la nanoparticule

ρ : Densité d'un élément

σ : Écart-type

« Desire makes slaves out of kings and patience makes kings out of slaves »

Al Ghazali

Remerciements

Je tiens tout d'abord à vous remercier chaleureusement, Professeur Wilkinson, pour votre confiance dans ce projet de maîtrise. Votre soutien, vos conseils et votre écoute m'ont été d'une très grande aide. Merci d'avoir toujours été disponible à répondre à mes questions et mes incertitudes et avec bienveillance!

Madjid, je te suis très reconnaissante envers toi. Ton grand soutien technique et tes conseils dans ce projet m'ont été très bénéfiques. Merci pour ta patience et ta bonne humeur! T'avoir à mes côtés au laboratoire est toujours un soulagement. Encore merci!

Un gros merci à tous les membres du groupe de recherche! Merci à Ibrahim, à Agil, à Zhizhong et à Juliana pour votre aide, vos conseils et le partage de vos connaissances. Cela a fait une très grande différence dans mon parcours! Merci à Marie-Hélène, Alexandre, Houssame et Reinaldo. Discuter avec vous, sur tout et n'importe quoi, était toujours un grand plaisir! Je vous souhaite une belle continuité dans vos parcours de vie!

Merci de tout cœur à mes proches, merci pour toutes vos belles pensées et vos encouragements. Je ne remercierai jamais assez mes parents. Vous aviez fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, surtout ma maman d'amour. Tu as toujours été là pour moi à me guider et à m'encourager d'aller de l'avant. Que Dieu te récompense dans ce bas monde et dans l'au-delà. Merci à mon frerot Ilyès et à ma sœurette Yasmine. Votre amour et votre soutien émotionnel me vont toujours droit au cœur! Je vous aime très fort.

Je ne saurais être assez reconnaissante pour tous les bienfaits.

* الحمد لله *

Chapitre 1 – Introduction

1.1 L'émergence de la nanotechnologie

Les nanomatériaux (NMs), des matériaux de petites tailles de l'ordre des nanomètres, sont les principaux produits de la nanotechnologie. Ils sont utilisés dans divers domaines et résous plusieurs problématiques. Par exemple, les nanoparticules (NPs) de cuivre empêchent la corrosion de matériaux de construction tels que l'acier.¹ Les NPs de TiO₂ sont souvent utilisées comme exhausteur de saveurs, de couleurs et de textures dans différents produits alimentaires et même cosmétiques.² Puisqu'elles ont des propriétés antibactériennes distinctes, une multitude de nanoparticules métalliques telles que les Ag NPs et les ZnO NPs sont appliquées dans le domaine médical afin de lutter entre autres contre la résistance d'antibiotiques.³

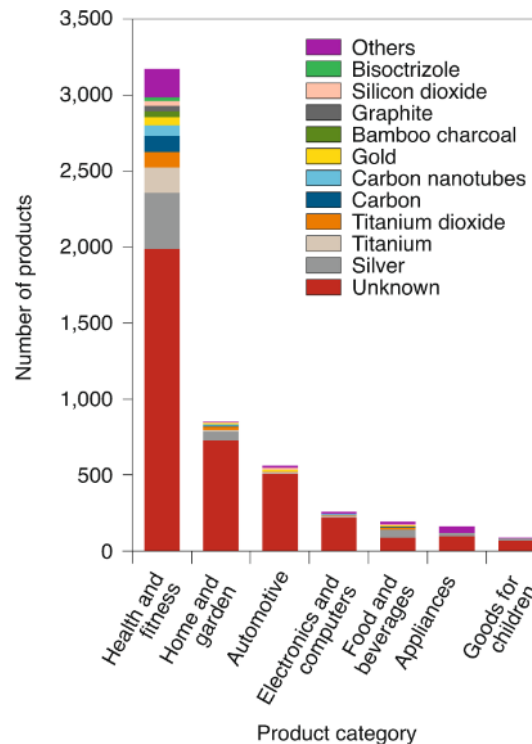


Figure 1. L'identification des nanomatériaux déclarés d'être utilisés dans différentes catégories de produits commerciaux.⁴

En 2020, plus de 5000 NMs commerciaux ont été répertoriés en Europe (Figure 1). Ce grand nombre a conduit à plusieurs publications scientifiques cherchant à comprendre leurs impacts

environnementaux et leurs effets sur la santé humaine.⁵⁻⁷ En 2011, la Commission européenne (EC) définit clairement les NMs afin de pouvoir adopter des réglementations spécifiques à cette nouvelle classe de contaminants émergents⁸. La EC conçoit les NMs comme étant des matériaux naturels, accidentels ou manufacturés contenant des particules liées, agrégées ou agglomérées, dont au moins 50% ont une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm.⁹

C'est ainsi que les tailles nanométriques des NMs leur confèrent des propriétés spécifiques et uniques. Des études ont démontré que de petits diamètres engendrent aux particules de plus grandes aires de surface et, donc, de plus grandes énergies de surface (Figure 2).¹⁰ De plus, des propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques qui diffèrent souvent de celles des matériaux de plus grande échelle ont été observées.¹¹ Effectivement, la structure électronique confinée des NMs accorde des particularités uniques telles que des propriétés magnétiques, électriques, antibactériennes et photocatalytiques qui sont propres à la dimension nanométrique.¹¹⁻¹⁴ En ce qui concerne les nanoparticules d'argent, le nanomatériau le plus communément utilisé, une forte corrélation inverse a été observée entre leur taille et leur activité antibactérienne.¹⁰ Ainsi, comparativement aux plus grosses NPs, les petites ont d'excellentes propriétés, et ce, en raison de leurs importantes énergies de surface.

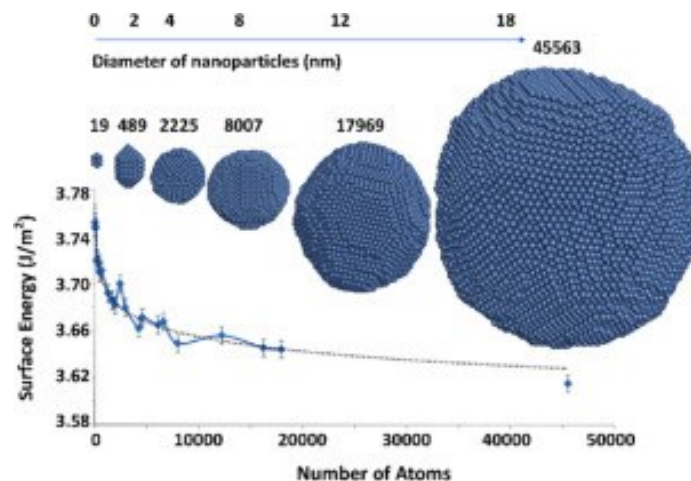


Figure 2. Une simulation d'énergies de surface de différentes tailles de Ag NPs. ¹⁰

1.2 La nanotechnologie dans le secteur alimentaire

Le secteur de l'alimentation est une industrie mondiale de plusieurs trillions de dollars.¹⁵ Les compagnies agroalimentaires cherchent constamment des approches accordant de meilleures efficacités de production et de plus grandes sécurités alimentaires. La figure 3 illustre les différentes applications potentielles de la nanotechnologie dans cette industrie. Le secteur le plus actif est la conception d'emballages alimentaires. Déjà en 2008, le marché était comptabilisé à 4,13 milliards de dollars américains pour l'emballage imprégné de nanomatériaux (nano-activé).¹⁶

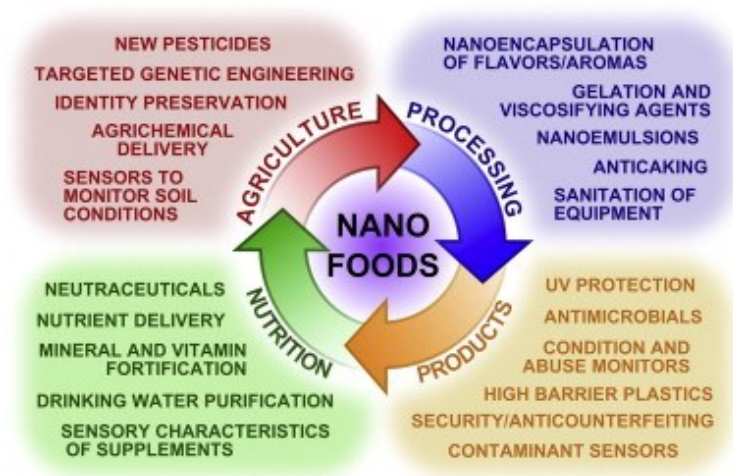


Figure 3. Les applications de la nanotechnologie dans les différentes sphères alimentaires : de l'agriculture à la nutrition en passant par la transformation alimentaire et l'emballage des produits.¹⁶

1.2.1 L'application des nanoparticules d'argent dans les emballages alimentaires

Les emballages alimentaires sont des matériaux particulièrement utilisés pour assurer d'un transport et d'un entreposage adéquat des aliments. Dans le but d'obtenir une plus grande durée de vie et une meilleure qualité des aliments dans les commerces, les propriétés distinguables des nanomatériaux peuvent contribuer à l'amélioration des propriétés physico-chimiques des emballages telles que les propriétés de barrière, mécaniques et de résistance à la chaleur.^{16, 17} C'est ainsi qu'une variété de nanomatériaux y sont introduits tels que les nanoparticules d'argent.^{15, 18-20} En fait, ces NPs ne sont pas liées de façon covalente avec le polymère, elles y sont plutôt imprégnées sur la surface.²¹ Actuellement, plusieurs dizaines de contenants et de films

alimentaires sont répertoriés et mis sur le marché.¹⁷ Étant donné leur excellente activité antibactérienne, leur présence minimise remarquablement la dégradation des produits et maximise la fraîcheur.²⁰ Leur mode d'action peut s'expliquer par différents mécanismes tels que l'interaction directe avec la bactérie et la génération de dérivés réactifs de l'oxygène tels que les ions d'argent qui sont grandement connus pour leur toxicité (Figure 4).²²

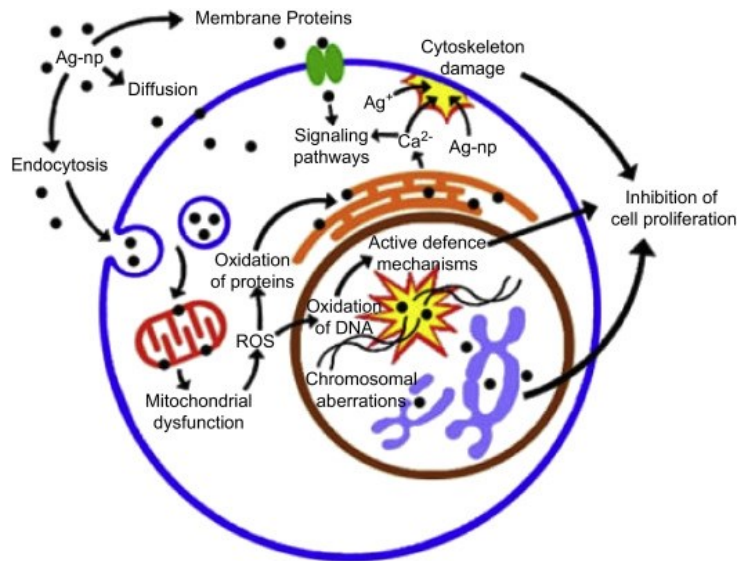


Figure 4. Les mécanismes de toxicité proposés des différents nanoparticules.^{22, 23}

Plusieurs recherches ont détecté et quantifié le relargage des NMs des emballages vers des simulants alimentaires tels que l'éthanol, l'acide acétique, l'huile végétale et l'eau, mis en contact, et ce, dans différentes conditions.^{21, 24} Par conséquent, une exposition continue pourrait engendrer des effets néfastes sur la santé et sur l'écosystème.²⁵ À ce jour, aucune réglementation n'a été posée par les gouvernements, en dépit de la grande préoccupation du public et des scientifiques et les mises en garde de différentes organisations mondiales telles que l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (WHO).¹⁷

1.2.2 La migration des nanoparticules d'argent vers la nourriture

Plusieurs recherches démontrent que les NMs imprégnés dans les emballages alimentaires vont inévitablement être relargués dans les environnements mis en contact. Ce relargage dépend de plusieurs facteurs : la nature physico-chimique de la matrice alimentaire, l'exposition à la lumière,

la température ainsi que le temps d'entreposage.²⁶ C'est ainsi qu'une migration de l'argent provenant des Ag NPs imprégnées dans les contenants polymériques a été démontrée.¹⁷ D'un côté, les traitements thermiques ainsi que le faible pH des matrices mises en contact ont engendré de plus grands relargages d'argent, principalement sous forme Ag^+ .^{27, 28} D'un autre côté, les milieux alcalins ou bien les milieux constitués de matière grasse vont plutôt générer de faibles migrations et, donc, il y aura préservation des Ag NPs à la surface du polymère.^{21, 29} Finalement, toutes ces recherches se concluent par un intérêt fort de poursuivre ces tests de migration en utilisant des matrices alimentaires réelles. En effet, une étude confirme que la présence de macromolécules dans les aliments complexifie le devenir des NPs (Figure 5).²⁶ Ainsi, l'analyse de vrais aliments accordera une meilleure compréhension que celle obtenue présentement. La figure 5C présente un modèle complexe de transfert de l'argent ionique et nanoparticules dans une matrice alimentaire : (i) l'accélération de l'oxydation de Ag NPs enrobé sur le polymère par un milieu acide et de petites NPs, (ii) la diffusion de la forme oxydée des Ag NPs (Ag^+), (iii) la réduction des Ag^+ en Ag NPs due à l'existence d'agent réducteur (protéines, citrates) dans la matrice alimentaire, (iv) la dissolution des Ag NPs formées et (v) la sédimentation, l'agrégation et une modification de surface en raison des ingrédients de la matrice qui peuvent s'adsorber.²⁶

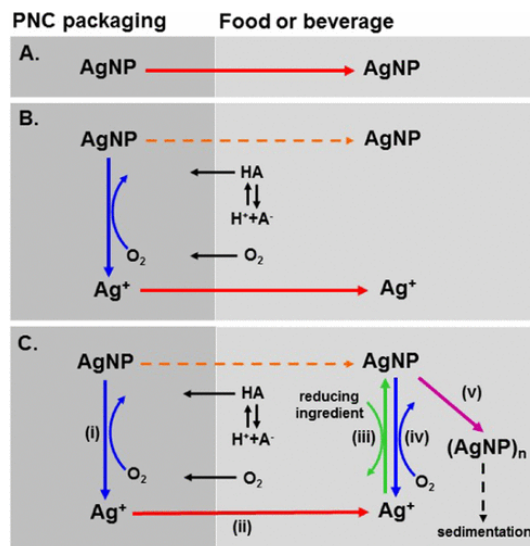


Figure 5. Trois modèles de transfert d'argent vers la nourriture et les boissons provenant de nanocomposite de polymère (PNC) imprégnés de Ag NPs. (A) Migration classique incluant la diffusion des Ag NPs complètes. (B) Oxydation de la particule d'argent et l' Ag^+ est diffusé dans l'aliment. (C) Oxydation des particules dans lequel des ingrédients alimentaires aux propriétés réductrices transforment l' Ag^+ libéré en AgNPs. Le sort des AgNPs reformés dépend de la composition des aliments et des boissons, des conditions de stockage et du temps.²⁶

C'est ainsi que les propriétés physico-chimiques de l'aliment mis en contact (force ionique, pH, matière organique, etc.), les conditions du milieu (exposition à la lumière, température, etc.) et le processus de fabrication des contenants nano-activés sont les principaux facteurs qui influencent la migration des NMs.³⁰ Par ailleurs, il y a, à ce jour, une lacune dans la compréhension du relargage des NM à cause du manque d'information sur les processus de fabrication des emballages et la complexité des matrices alimentaires.

1.3 La toxicité des nanoparticules d'argent

En 2013, les FAO et WHO ont rectifiés leur rapport publié en 2010 pour prévenir que la nanotechnologie comportait potentiellement un risque pour le secteur alimentaire.³¹ Une accumulation de nanoparticules non négligeable dans les terrains agricoles et dans les aliments consommés démontre un risque toxicologique fort probable sur la santé humaine et sur l'environnement. Malgré les différences chimiques et physiques des nombreux nanomatériaux exploités, les principes toxicologiques sont semblables pour tous. Leur chimie de surface, leur petite taille et leur nombre élevé confèrent à la fois des propriétés spécifiques et voulues et, cependant, indésirées. En fait, les nanoparticules de petit diamètre et en concentration non négligeable interagissent facilement avec les cellules et les composants subcellulaires des organismes vivants, ce qui provoque différents types de toxicité.³² De nombreuses études révèlent que l'exposition des nanoparticules par voie orale et par inhalation dans l'organisme humain engendre une accumulation et une persistance de ces dernières dans les tissus biologiques.^{33,34} Ainsi, la présence de certaines macromolécules naturelles dans l'organisme peut entraîner une modification importante de la composition, de la taille, des propriétés interfaciales, de l'état d'agrégation et de l'environnement physique.³⁴ Par ailleurs, l'assimilation des nanoparticules par le tube digestif humain est aussi influencée par la matrice alimentaire. Des études ont démontré que l'absorption des nanoparticules d'argent augmente dans les matrices contenant des carbohydrates, des protéines et des lipides.³⁵ Ainsi, par leur petite taille, les Ag NPs s'insèrent facilement dans les membranes cellulaires et libèrent, par la suite, des ions d'argent lorsqu'il y a un processus de dissolution.^{36, 37} Ces ions interagissent ainsi avec les gènes en les modifiant et engendrent la mort des cellules.³⁷ Il est donc important de pouvoir connaître la

spéciation et la quantification des Ag NPs dans la nourriture mise en contact avec les emballages alimentaires nano-activés afin de mieux prédire leur toxicité.

1.4 Le devenir des nanoparticules d'argent

Considérant la possible toxicité des Ag NPs, il est devenu essentiel de comprendre leur devenir dans les compartiments environnementaux, biologiques et alimentaires. En fait, ces particules peuvent subir plusieurs transformations de type physique, chimique ou bien biologique, ce qui affectera la stabilité colloïdale, soit la toxicité, la mobilité et la biodisponibilité des NPs. Comme l'illustre la figure 6, cette stabilité dépend de plusieurs facteurs tels que les conditions du milieu (le pH, la force ionique, la matière organique en suspension, l'exposition à la lumière et la température) et la nature physico-chimique des NPs (la taille, la morphologie, la composition chimique, la charge de surface et l'enrobage).^{38, 39}

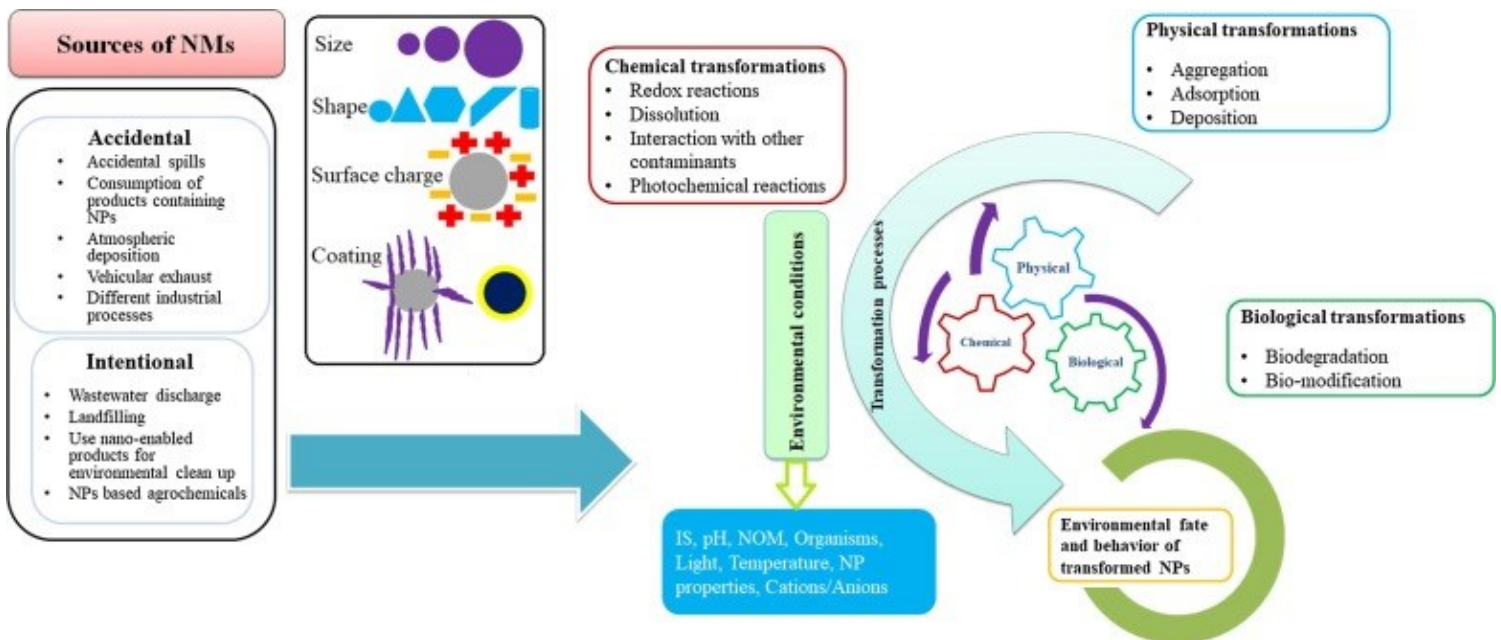


Figure 6. Un diagramme schématisant les sources potentielles de relargage et les transformations physiques, chimiques et biologiques des NMs dans l'environnement.³⁹

1.4.1 Les transformations physiques

Les transformations physiques se résument principalement par des processus d'agglomération, de sédimentation et d'adsorption.³⁹ La haute énergie de surface des NMs explique leurs interactions favorables avec le milieu environnant. Dans une matrice complexe, il y a deux types

d'agglomération, soit l'homoagglomération (une interaction entre les NMs de même nature) ou inorganique en suspension). Ces interactions admettent une augmentation de taille des particules, ce qui peut être suivi par un processus de sédimentation. En fait, le phénomène de l'agglomération dans les milieux naturels résulte de leur mouvement brownien.³⁹ Les particules sont constamment en mouvement, ce qui accroît la possibilité de collisions entre les NMs eux-mêmes et la matière en suspension. Lors d'une collision, il y a agglomération dans le cas où les forces de Van der Waals et les forces de répulsion soient équivalentes.³⁹ En réalité, on suppose qu'il y a principalement le phénomène d'hétéroagglomération puisque, dans les milieux naturels, la concentration des NMs est très faible, soit dans l'ordre des ng L^{-1} . D'autant plus, les agglomérats de particules sont considérés comme moins toxiques dans la mesure où elles sont moins réactives, moins mobiles et moins biodisponibles. Ce processus est alors dicté par les propriétés physico-chimiques des NMs et les conditions du milieu. C'est ainsi que le pH, la force ionique (I) et la matière organique (OM) d'un milieu dictent en partie les transformations physiques des NMs.

Le potentiel de surface des particules en suspension peut être estimé par le potentiel zêta (ζ) qui est défini comme le potentiel mesurable au plan de cisaillement entre la double couche électronique et la particule.⁴⁰ Elle est proportionnelle à l'amplitude de la force de répulsion. À de grandes valeurs de ζ , soit à des valeurs supérieures à $\pm 30\text{mV}$, on peut supposer que la suspension est stable. Quant à des valeurs qui tendent vers zéro, les particules sont instables et l'agglomération ainsi que la sédimentation peuvent être observées.³⁹

En ce qui regarde la force ionique, c'est-à-dire la mesure totale d'ions en solution, elle est proportionnelle à la concentration ainsi qu'à la charge des ions en solution. Une grande I viendra compresser la double couche électronique, ce qui fera diminuer le potentiel de surface, ainsi que le potentiel de zêta, et donc engendrerait un processus d'agglomération rapide et important.⁴¹ Finalement, la matière organique a principalement tendance à s'adsorber aux NMs inorganiques soit par interactions électrostatiques avec les groupements hydroxyles et la charge positive de la surface des NMs, soit par interactions hydrophiles ou en faisant des interactions π - π avec les OM aromatiques.⁴² C'est ainsi que la combinaison des charges électrostatiques et la stabilisation stérique influencée par OM stabilisent les NMs mis en suspension. En revanche,

contrairement aux OM aromatiques, il a été démontré que les OM aliphatiques ne permettent pas cette stabilité.⁴³ Ainsi, l'agglomération des NMs dans les milieux naturels dépend aussi des propriétés intrinsèques de la matière organique mise en suspension.

1.4.2 Les transformations chimiques

Les transformations chimiques se font via des réactions d'oxydo-réduction, de dissolution, d'adsorption, de complexation, de dégradation et de photochimie. Les réactions rédox impliquent le transfert d'électron d'une molécule réductrice vers une molécule oxydante. Les conditions du milieu telles que le pH et la présence d'agent réducteur ou oxydant contrôlent ces réactions. L'oxydation des Ag NP (Ag^0) engendre la formation de Ag^+ , soit la forme dissoute de ce NM. Par conséquent, dans le cas de l'argent, l'oxydation entraîne forcément une dissolution, un processus de relargage d'ions ou de molécules hydrosolubles. Ce relargage impliquera une modification de la toxicité et de la persistance. Par ailleurs, la cinétique de dissolution dépend des propriétés intrinsèques des NMs (la composition chimique, l'agent d'enrobage, la chimie de surface, etc.) et des conditions environnantes (I, pH, OM).³⁹ En effet, à faible pH, la dissolution est favorisée. À grande I, elle est minimisée. La présence de OM stabilise la forme dissoute en faisant de l'adsorption. Finalement, pour ce qui est des réactions photochimiques telles que la photo-oxydation, la photo-réduction, la photolyse et la photocatalyse, elles entraîneront une variation de la nature de l'enrobage et de l'état d'oxydation des NMs.

1.4.3 Les transformations biologiques

L'existence de NMs dans les matrices alimentaires et environnementales engendre un contact inévitable avec les tissus biologiques, ce qui explique les possibles transformations biologiques. Ces transformations se résument par des réactions NM-cellule en passant par des réactions d'oxydo-réduction. Ces interactions se font avec les compartiments intra et extracellulaires.⁴⁴ Généralement, les réactions rédox affecteront le noyau et l'enrobage des NMs. Par exemple, il peut y avoir biodégradation de l'enrobage, ce qui vient modifier la chimie de surface et donc inhiber ou favoriser l'agglomération.³⁹ Ou bien, il peut avoir réduction ou oxydation du noyau du NM, ce qui va plutôt modifier et former des espèces plus ou moins solubles. Dans certains

organismes, une réduction de Ag^+ a été observée.⁴⁵ Alors que dans d'autres, il y a plutôt une dissolution oxydative des Ag NPs.⁴⁶

D'autre part, les interactions avec les macromolécules sont les transformations les plus notées dans les milieux biologiques. En effet, l'importante concentration dans les tissus biologiques des macromolécules (protéines, lipides, polysaccharides) et dans l'environnement (OM) va inévitablement provoquer des interactions. Ces interactions vont modifier la chimie de surface en s'adsorbant sur l'ensemble de la surface des NMs et ainsi créer des couronnes. Ces couronnes vont avoir différents effets potentiels. Ils peuvent faciliter l'entrée des NMs dans les cellules des organismes et ainsi engendrer de la bioaccumulation, provoquer de la floculation ou bien de l'agglomération.⁴⁴ Finalement, ce sont les propriétés physico-chimiques du milieu qui vont dicter les interactions avec les biomacromolécules.

1.5 L'analyse des nanoparticules d'argent

Afin d'évaluer la toxicité des NMs, il est nécessaire de les détecter, de les caractériser et de les quantifier dans les compartiments environnementaux et biologiques. C'est pour cela que plusieurs techniques analytiques ont été, à ce jour, développées telles que des méthodes de diffusion de la lumière, de microscopies et de spectroscopie à couplage inductif afin de déterminer d'importantes caractéristiques physiques telles que la distribution de taille, la morphologie, la composition chimique, la chimie de surface. Par ailleurs, des mesures quantitatives de la concentration des NMs ou leur forme dissoute peuvent aussi s'avérer nécessaires.

1.5.1 Méthodes de diffusion de la lumière

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) et la diffusion de la lumière multi-angle (MALS) sont les techniques de diffusion de la lumière les plus courantes pour la caractérisation des particules.^{47, 48} Elles sont principalement utilisées pour la détermination des diamètres hydrodynamiques ou de la distribution de tailles des NPs en suspension. Un laser de lumière monochromatique frappe les particules sphériques en mouvement continu et aléatoire (mouvement brownien) en solution, ce qui provoque un décalage d'intensité de lumière diffusée

en fonction du temps.⁴⁸ Ce décalage est directement proportionnel au coefficient de diffusion qui lui est relié à la taille des particules. C'est ainsi que la DLS peut caractériser des particules de 2 à 3000 nm.⁴⁹ Le manque de spécificité chimique et des limites élevées de détection en nombre de particules ($> \mu\text{g L}^{-1}$) sont les principales limitations de cette technique. Par ailleurs, en raison de l'hétérogénéité d'échantillons complexes, une séparation préalable des échantillons peut être utilisée avec des méthodes de fractionnement par couplage flux-force (FFF) et de chromatographie hydrodynamique (HDC).⁵⁰ En revanche, en DLS, il n'est pas possible d'avoir une quantification spécifique à un élément des NMs, et ce, à de faibles concentrations, soit à des concentrations réellement observées dans les compartiments environnementaux et dans les tissus biologiques (ng L^{-1}).

1.5.2 Méthodes microscopiques

Les méthodes de microscopies englobent entre autres la microscopie électronique à balayage (SEM), la microscopie électronique à transmission (TEM) et la microscopie à force atomique (AFM). Elles caractérisent des NMs d'échantillons à l'état solide, et ce, afin de déterminer la taille, la morphologie, la structure et l'état de dispersion et d'agrégation, des caractéristiques physico-chimiques essentielles à l'évaluation de leur toxicité.⁵¹ Elles ont aussi été utilisées pour confirmer la présence de nanoparticules d'argent dans les emballages et simulants alimentaires.^{21, 52, 53}

Les techniques de microscopie électronique (SEM et TEM) fournissent toutes les deux des informations sur la taille et la morphologie des NMs. Leurs différentes limites de détection et le nombre de dimensions de l'image finale obtenue les distinguent. En effet, la TEM a une limite de détection en taille inférieure à celle obtenue en SEM, soit de 1 nm pour TEM ET 10 nm pour SEM.⁵⁴ Leur fonctionnement se base sur l'interaction entre un faisceau d'électrons et l'échantillon. En SEM, il y a un balayage d'un faisceau électronique sur la surface de l'échantillon. Les électrons réfléchis, nommés électrons secondaires, sont alors détectés et convertis en imagerie trois dimensions. Le TEM détecte plutôt les électrons traversant l'échantillon. La différence de densité électronique d'une surface admettra une différence d'absorption électronique, ce qui sera par la suite converti en imagerie deux dimensions.

Ce qui a trait à la technique de AFM, elle consiste à détecter la flexion d'un porte-à-faux qui est composé d'une pointe de quelques nanomètres en faisant un balayage sur la surface de l'échantillon. Les forces répulsives et attractives sont mesurées par une déflexion d'un levier par faisceau laser et converties en image. C'est ainsi que la topographie de l'échantillon est obtenue, soit la taille des NMs jusqu'à des niveaux subnanométriques, soit de 0,5 nm.⁵⁴

Finalement, bien que les méthodes microscopiques fournissent des informations importantes à la compréhension des propriétés physico-chimiques des NMs, elles y présentent des limitations : la nécessité d'avoir des échantillons concentrés ($\mu\text{g L}^{-1}$ - mg L^{-1}) et le manque d'information sur la quantification des NMs et de la fraction dissoute et sur la chimie de surface.

1.5.3 Méthodes à plasma à couplage inductif

Depuis ces dernières décennies, les méthodes de spectroscopie couplée à un plasma à couplage inductif (ICP) sont principalement développées afin de pouvoir quantifier adéquatement les NMs inorganiques. La détection peut se faire par différentes manières telles que par émission optique (ICP-OES) ou bien par spectrométrie de masse (ICP-MS). Les avantages de ces techniques sont la sélectivité, l'exactitude, la précision et la sensibilité. Dépendamment du type de détecteur, de l'élément à analyser et de la complexité de la matrice de l'échantillon, les NMs peuvent être quantifiés jusqu'à des concentrations inférieures à des $\mu\text{g L}^{-1}$.⁵⁵ Bien qu'elle accorde une grande sensibilité et une rapidité d'analyse (quelques secondes), le manque d'information sur la caractérisation des NMs fut le principal désavantage de cette technique puisque la détermination de la taille et la distinction entre la partie dissoute et nanoparticulaire ne se faisaient pas. C'est ainsi que pour remédier à cette problématique, l'analyse par ICP-MS peut se faire en utilisant de courts temps d'intégration de quelques μs (20 μs - 3 ms). Cette technique est alors appelée ICP-MS en mode particule unique (SP-ICP-MS).

1.5.3.1 Spectroscopie à couplage à plasma inductif couplé à la spectrométrie de masse en mode particule unique (SP-ICP-MS)

La SP-ICP-MS est devenue une technique analytique innovante pour la quantification et la caractérisation en taille des NMs. La figure 7 illustre les différents constituants de l'ICP-MS : le système d'introduction de l'échantillon dans le système, la source d'ionisation, l'analyseur ainsi

que le détecteur. Lors de l'analyse, il est possible d'optimiser certains paramètres afin d'assurer entre autres une meilleure sensibilité et de basses limites de détection. Les sous sections qui suivent présentent les spécificités des différentes composantes du SP-ICP-MS et l'acquisition des données.

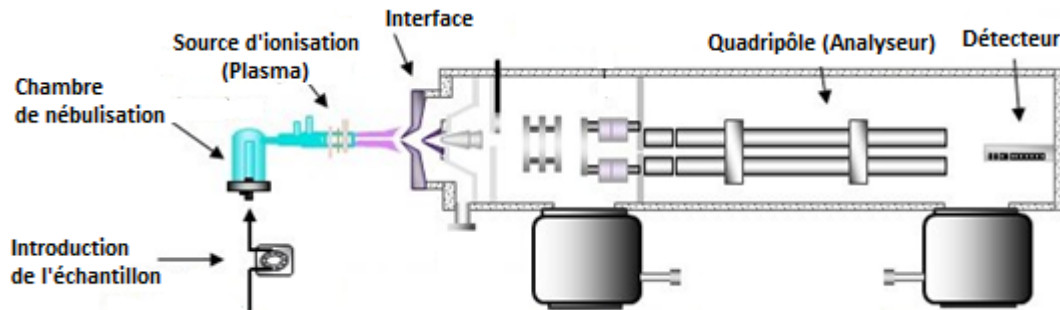


Figure 7. Schéma des principales composantes de l'ICP-MS à simple quadripôle : système d'introduction de l'échantillon par nébulisation, système d'ionisation par plasma, interface, analyseur (quadripôle) et détecteur. (Modifié de Nisi et al. ⁵⁶).

1.5.3.1.1 Système d'introduction

En SP-ICP-MS, l'échantillon à analyser est principalement sous forme liquide, quoique quelques applications rares sont maintenant possibles pour introduire des gaz ou des solides (ablation laser). L'échantillon liquide est introduit dans l'instrument à l'aide de pompes péristaltiques par un système de nébulisation afin d'assurer une introduction constante. Arrivé dans le nébuliseur, grâce à l'application d'un faible débit d'un gaz inerte, principalement de l'argon, l'échantillon est nébulisé et acheminé vers une chambre de nébulisation. Il existe différents modèles de chambre de nébulisation (ex: cyclonique, Scott).⁵⁷ Leur différence d'efficacité de nébulisation est due à leur géométrie. Il a été démontré que le modèle cyclonique permet une meilleure sensibilité et de plus basses limites de détection lors des analyses par ICP-MS.⁵⁸ C'est ainsi que la chambre de nébulisation permet l'obtention de plus fines gouttelettes ($< 10 \mu\text{m}$)⁵⁷ qui sont, par la suite, acheminées vers le plasma. La production d'un aérosol permet une introduction constante de l'échantillon, ce qui augmente la sensibilité et permet une meilleure séparation des signaux correspondant aux NPs détectées.⁵⁹ De plus, afin d'assurer l'obtention d'un aérosol stable, il est possible de refroidir la chambre de nébulisation, ce qui viendra condenser les grosses gouttelettes.

La nébulisation d'un échantillon est définie comme l'efficacité de nébulisation ou bien l'efficacité de transport (TE). Elle correspond au rapport du nombre de NPs introduit dans le plasma sur celui introduit dans le nébuliseur.⁶⁰ Elle se situe généralement entre 1 à 5%.⁶¹ Ce paramètre est nécessaire à la détermination de la distribution et de la concentration en masse et en nombre de l'échantillon (détaillé à la Figure 13). C'est ainsi que TE est obtenue avec une suspension de nanoparticules d'or de taille ultra-uniforme et ayant une concentration en nombre connue. En fait, elle correspond à la fréquence de pulsion ($f(I)$, en nombre de particules/ms) relatif à chaque nanoparticule détectée sur le nombre de NPs injecté dans le système de nébulisation (N_i , en nombre de particules/ms), soit le produit du débit d'introduction de l'échantillon (D , en mL/ms) et la concentration en nombre des nanoparticules (C_{NP} , en particules/mL)⁶¹ :

$$TE = \frac{f(I)}{N_i} = \frac{f(I)}{D \times C_{NP}} \quad \text{Équation 1}$$

1.5.3.1.2 Source d'ionisation

Afin d'analyser les NPs par spectrométrie de masse, il est nécessaire de les ioniser. La source d'ionisation utilisée en ICP-MS est un plasma. Le plasma est composé d'une bobine radiofréquence entourant la torche. Il y a génération d'un champ magnétique en raison du courant électrique qui parcourt la bobine. L'application de hauts voltages génère l'ionisation des atomes du gaz, principalement l'argon. Les électrons expulsés de l'argon vont être accélérés par le champ magnétique et entrer en collision avec les autres atomes d'argon, ce qui va, dans un premier temps, amplifier la circulation de Ar^+ et, dans un deuxième temps, créer un plasma de haute température capable d'ioniser presque tous les éléments du tableau périodique.⁵⁷ C'est ainsi que les gouttelettes obtenues par nébulisation vont premièrement s'évaporer, deuxièmement s'atomiser et finalement s'ioniser.

1.5.3.1.3 Filtre de masse

Les ions formés par le plasma doivent être ensuite extraits dans un spectromètre de masse (MS) via une interface en raison de la grande variation de pression dans ces deux compartiments, soit une pression de 760 torr dans le plasma et de 10^{-6} torr dans le MS. L'interface est constituée de deux cônes métalliques en platine ou en nickel dont entre les deux il y a une pression de 1 – 2 torr. Ces cônes ont de petits orifices (0,8 à 1,2 mm de diamètre interne) permettant ainsi

l'extraction des ions vers l'analyseur du MS.⁵⁷ L'analyseur aussi communément appelé filtre de masse sépare les ions selon leur ratio de masse sur charge (m/z). Par ailleurs, il existe différents types de filtres de masse : le quadripôle, le secteur magnétique et le temps de vol sont les trois principaux analyseurs. Dans ce mémoire, le secteur magnétique a été utilisé afin d'assurer de plus grandes sensibilités et de basses limites en taille et en nombre.

Un analyseur quadripôle est constitué de quatre électrodes de forme hyperbolique ou cylindrique positionnées vers l'axe z (Figure 8). Les deux paires d'électrodes opposées sont reliées et soumises au même potentiel ayant une composante continue (DC) et une autre alternative (AC). Il y a application de voltage positif pour une paire et négatif pour l'autre. Un champ électrostatique est donc créé entre les quatre cylindres. Ainsi, les ions oscillent entre les électrodes à cause des forces électriques (répulsives et attractives). Celles maintenues à un potentiel positif vont filtrer les ions de haute masse. Pendant le balayage de masses, tous les ions, sauf la valeur m/z sélectionnée, frappent l'électrode de charge opposée et sont neutralisés. Les ions sélectionnés se rendent alors au détecteur.⁶²

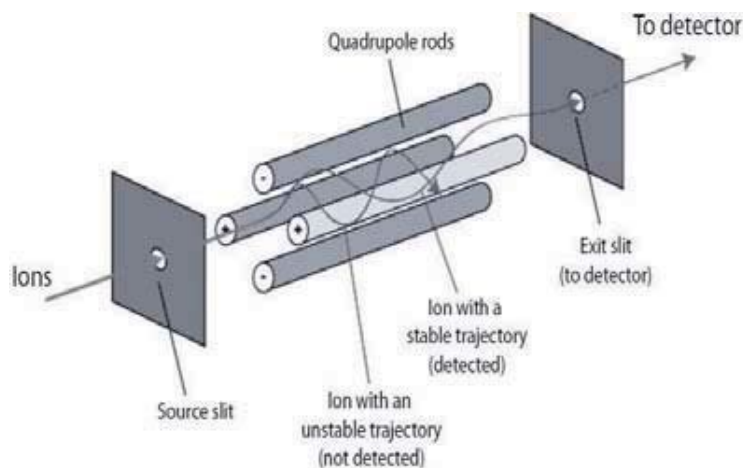


Figure 8. Schéma d'un analyseur de type quadripôle.⁶³

Un filtre de masse par secteur magnétique (Figure 9), soit celui utilisé dans ce mémoire, est constitué d'un aimant possédant une certaine courbure (rayon) et un champ magnétique. La différence de trajectoire des différents m/z admettra la séparation des ions. Le principe du secteur magnétique est de séparer les ions avec leur m/z en les faisant passer à travers l'aimant d'un certain rayon et d'un certain champ magnétique. Il a été démontré que le secteur

magnétique permet une plus grande sensibilité et de plus basses limites de détection en taille pour les Ag NPs et les TiO₂ NPs que le quadripôle.⁶⁴ En effet, le quadripôle admet une limite de détection en taille (SDL) d'environ 20 nm⁶⁵, alors qu'avec le secteur magnétique, il est possible de détecter jusqu'à 4,9 nm⁶⁴. Par ailleurs, le secteur magnétique est communément couplé à un analyseur électrostatique. Ce dernier permettra de filtrer à nouveau les ions de mêmes énergies et ainsi avoir une meilleure séparation, ce qui donnera une meilleure sensibilité.

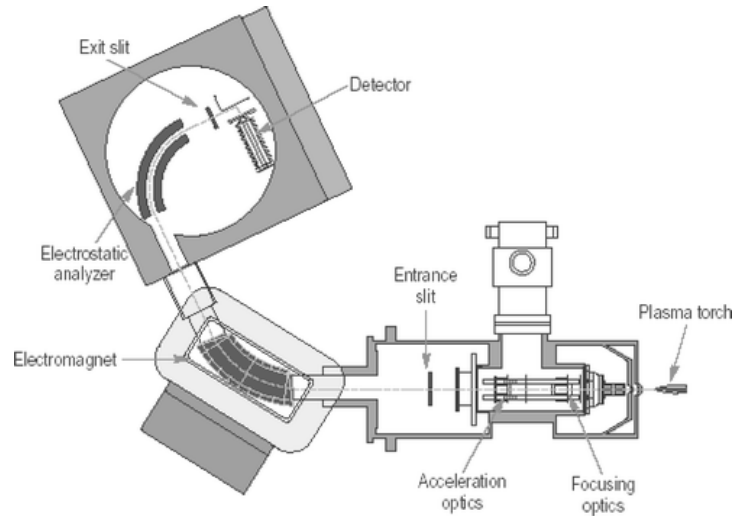


Figure 9. Schéma d'un ICP lié à l'analyseur à secteur magnétique couplé à un analyseur électrostatique.⁶⁶

Finalement, le temps d'envol est un filtre de masse très intéressant puisqu'il peut analyser plusieurs m/z simultanément et ainsi fournir des informations supplémentaires sur les sources potentielles des NPs (naturelles ou anthropique, hétéro-éléments ou homo-éléments).⁶⁷ Son principe est d'accélérer les ions à l'entrée d'un tube sous vide afin qu'ils traversent une distance fixe. Les ions de faibles m/z vont se rendre au détecteur en premier puisque leur cinétique est directement proportionnelle à leur masse.⁶² La trajectoire peut être modifiée par l'ajout de réflectrons (miroir permettant la réflexion des ions) afin d'accorder une meilleure séparation et donc une meilleure sensibilité.

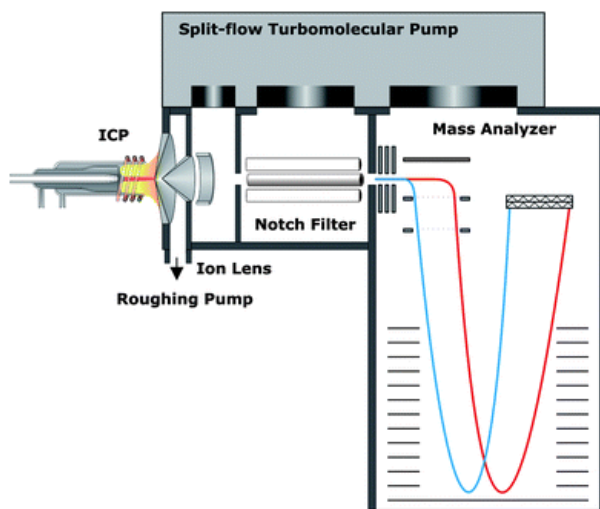


Figure 10. Schéma d'un ICP couplé à un analyseur de temps de vol (TOF) orthogonal.⁶⁷

1.5.3.1.4 Détection

Les ions filtrés par le spectre de masse sont finalement détectés. Deux détecteurs sont communément utilisés : multiplicateur d'électrons à diodes discrètes et collecteur Faraday. Le collecteur Faraday est utilisé pour des taux élevés d'ions, étant donné qu'en sortant de l'analyseur, les ions atteignent aussitôt l'électrode métallique, ce qui permet une détection directe. Ainsi, à de faibles quantités d'ions, soit à de faibles concentrations, le signal est difficilement détectable. En ce qui concerne le multiplicateur d'électrons à diodes discrètes, de plus petites intensités peuvent être détectées. Dans ce cas-ci, les ions vont entrer en collision avec une première diode afin de libérer des électrons. Une chaîne de collision s'ensuit avec d'autres diodes, ce qui permet l'amplification du signal.⁵⁷

1.5.3.1.5 Acquisition et traitement des données

Finalement, la caractéristique qui distingue la technique de ICP-MS en mode particule unique au ICP-MS conventionnel est l'utilisation de très courts temps d'intégration (« dwell time »). Ce temps correspond aux temps entre chaque acquisition. Il est de l'ordre des microsecondes. Cela permet l'obtention de deux types de signaux : un signal continu et une impulsion (Figure 11). Le signal continu correspond à la détection de la fraction dissoute de l'échantillon (par exemple Ag^+ pour l'analyse des Ag NPs). Quant aux impulsions, ils représentent plutôt les particules. Les NPs, des matériaux constitués de plusieurs centaines d'atomes, s'ionisent dans le plasma et

s'acheminement en paquets d'ions vers le détecteur, ce qui explique les hauts sauts d'intensité ayant une largeur de l'ordre de 400 μ s. L'intensité de ces sauts est dictée par la taille des NPs. Quant à la fraction ionique de l'élément, les ions s'acheminent continuellement.

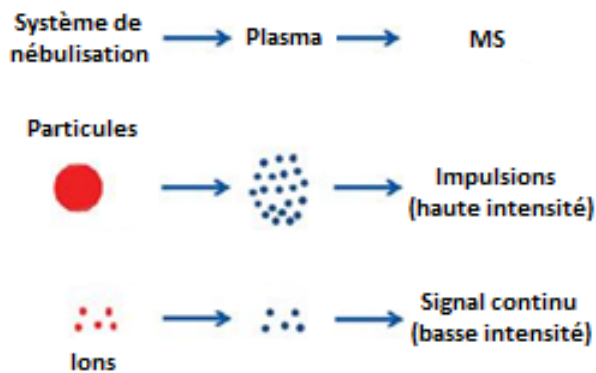


Figure 11. Le cheminement (du système de nébulisation à la spectrométrie de masse) des deux types de signaux obtenus lors d'une analyse par ICP-MS en mode particule simple : continu (fraction dissoute) et pics intenses (fraction nanoparticulaire).⁶⁸

C'est ainsi que l'application de court temps d'intégration, soit à moins de 100 μ s, permettra (1) l'acquisition d'un plus grand nombre de points pour chaque particule, (2) une meilleure distinction des NPs à la fraction dissoute et (3) une augmentation du signal sur bruit.⁶⁹ La figure 12 démontre parfaitement ces observations. En revanche, de très courts temps d'intégration, soit inférieur à 20 μ s, ne donneront pas des signaux facilement intégrables.

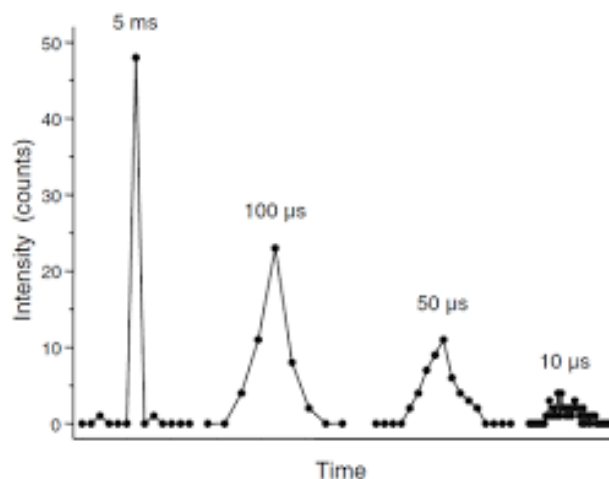


Figure 12. Le signal obtenu par ICP-MS en mode particule unique en fonction du temps d'intégration pour des Au NPs à 60 nm d'un échantillon certifié (NIST™ 8013) ayant une concentration en nombre de 248,000 particules/mL. L'intensité totale est de 48 comptes.⁷⁰

Afin de pouvoir quantifier et caractériser les nanoparticules, plusieurs étapes doivent être entreprises (Figure 13). La première étape consiste à tracer une courbe de calibration en utilisant des standards ioniques des éléments à analyser de l'ordre du ng L⁻¹. La sensibilité (S) obtenue est en compte par seconde (cps) par ng L⁻¹. Par conséquent, l'efficacité de transport (Équation 1) et le débit de l'échantillon introduit dans l'instrument (D, uL/s) sont utilisés pour convertir la sensibilité obtenue en sensibilité massique (S_m, en comptes/fg) :

$$S_m = \frac{S}{D \times TE} \quad \text{Équation 2}$$

La fraction de masse molaire de l'élément dans la NP (χ_m), l'intensité nette d'une impulsion (I_{NP}, en comptes) obtenue en éliminant le signal de fond et la sensibilité massique (S_m, en comptes/fg) permettent le calcul de la masse de la particule (m_{NP}, fg) :

$$m_{NP} = \frac{I_{NP}}{S_m \times \chi_m} \quad \text{Équation 3}$$

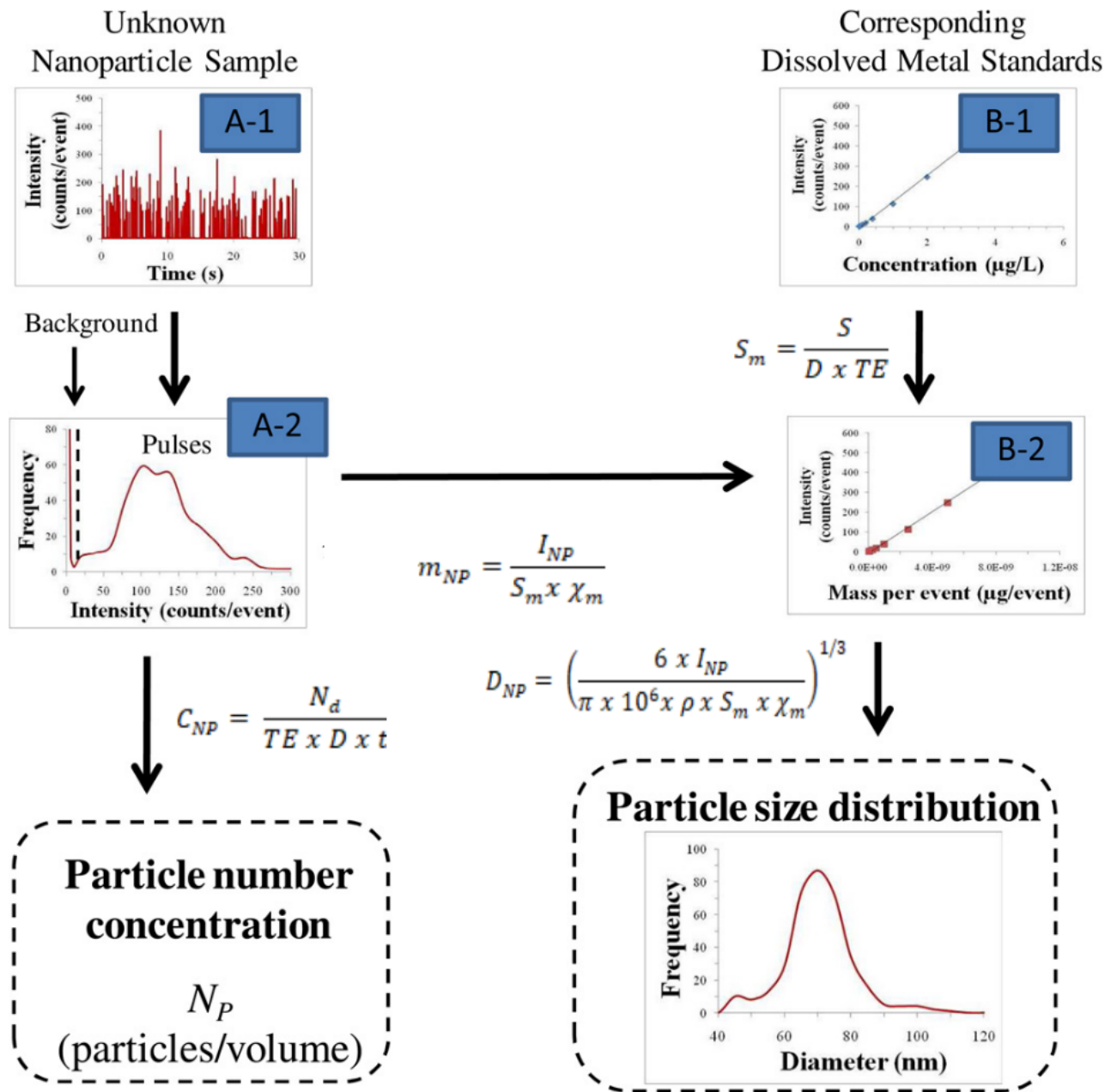


Figure 13. Schéma de traitement des données pour la quantification en nombre (A) et la caractérisation (A et B) des nanoparticules à l'aide de l'ICP-MS en mode particule unique. A-1 Données brutes. A-2 Données brutes traitées afin de séparer les impulsions du bruit. La concentration en nombre des particules (C_{NP}) est B-1 Courbe d'étalonnage des standards ioniques; B-2 Courbe d'étalonnage transformée en concentration en masse par événement calculée avec la sensibilité massique (S_m) et la masse correspondant à une nanoparticule (m_{NP}). La sensibilité massique est obtenue avec la sensibilité (S), l'efficacité de transport (TE) et le débit d'introduction de l'échantillon (D). La masse correspondant à une nanoparticule est déterminée à l'aide de l'intensité nette d'une impulsion, la fraction molaire de l'élément dans la NP (χ_m) et la sensibilité massique (S_m). Ainsi, la taille relative à chaque impulsion est proportionnelle à l'intensité d'une NP, de la densité de l'élément (ρ), de la S_m et de χ_m ..(Modifié par Pace et al.⁶¹)

C'est ainsi que la concentration en nombre de NPs (C_{NP} , en nombre de NPs/mL) est calculée à partir du nombre d'impulsions détectées (N_d , en nombre de NPs), de TE, du débit (D , en mL/s) et du temps d'analyse (t , en s) :

$$C_{NP} = \frac{N_d}{TE \times D \times t} \quad \text{Équation 4}$$

En ce qui concerne la taille des NPs, elle est obtenue en supposant que ces dernières sont de formes sphériques. L'intensité correspondant à une NP (I_{NP} , en compte), la densité de l'élément à analyser (ρ , ng/cm³), la fraction molaire de l'élément dans la NP (χ_m) et la sensibilité massique (S_m , en compte/fg) sont utilisées pour la détermination du diamètre (D_{NP} , en nm) :

$$D_{NP} = \left(\frac{6 \times I_{NP}}{\pi \times 10^6 \times \rho \times S_m \times \chi_m} \right)^{1/3} \quad \text{Équation 5}$$

C'est ainsi que la SP-ICP-MS est un instrument analytique permettant une analyse spécifique de la taille, de la masse, de la concentration ainsi que de la fraction dissoute des nanomatériaux inorganiques présents à de faibles concentrations, soit à des parties par trillions (ng L⁻¹). La taille et les concentrations de la fraction ionique et nanoparticulaire dictent la toxicité. Donc, ceux qui sont des informations essentielles à la compréhension des risques qui leur sont associés. En revanche, elle ne donne pas l'information sur la morphologie et sur la charge de surface. Il est nécessaire d'utiliser plusieurs techniques simultanément pour avoir de l'information complète sur les NMs.

1.6 Objectifs de la recherche

Les nanoparticules d'argent sont actuellement devenues les NMs les plus fréquemment utilisés dans divers secteurs en raison de leurs importantes propriétés antibactériennes. Effectivement, en 2009, plus de 500 tonnes de Ag NPs ont été produites et près de 900 tonnes ont été estimées en 2025, ce qui engendre inévitablement une exposition significative dans l'environnement et à l'humain à travers l'alimentation.⁷¹ L'entreposage des aliments dans les emballages alimentaires nano-activés est devenu une problématique grandissante. La toxicité potentielle des Ag NPs, leur migration vers les aliments en contact, le mode de fabrication de ces films et contenant et les réglementations sont, encore à ce jour, incompris.

Ce mémoire se penche sur la détection, la caractérisation et la quantification des nanoparticules d'argent dans des matrices alimentaires, et ce, en utilisant le SP-ICP-MS ayant comme analyseur un secteur magnétique couplé à un analyseur électrostatique. La recherche s'est déroulée en trois parties : validation de la méthode analytique pour la caractérisation et la quantification des Ag NPs dans le jus d'orange, la compréhension du devenir des Ag NPs et de l'argent dissout (Ag^+) dans deux types de boissons (jus d'orange et préparation en poudre pour nourrissons) ainsi que trois simulants alimentaires (eau, acide acétique 3% et éthanol 10%) en fonction du temps et, finalement, des tests de migration de l'argent d'emballages nano-activés. C'est ainsi que le premier objectif a été d'évaluer l'exactitude et la précision de l'analyse des Ag NPs et de l'argent dissout (Ag^+) dans les différentes matrices alimentaires mentionnées précédemment par ICP-MS en mode particule simple. Dans un second temps, nous avons voulu comprendre le devenir des Ag NPs dans ces cinq matrices par SP-ICP-MS. Pendant un mois, la détection, la caractérisation et la quantification de la fraction dissoute (Ag^+) et particulaire des Ag NPs se sont faites dans ces matrices. Les transformations physico-chimiques telles que l'adsorption, l'agglomération, la dissolution oxydative et la sédimentation ont été étudiées. Finalement, des tests de migration ont été entrepris dans deux différents contenants commercialisés dans ces cinq matrices et dans différentes conditions thermiques.

Chapitre 2 – Validation de la méthode analytique

La validation de méthodes analytiques assure l'exactitude et la précision des résultats d'analyse d'un composé fixe dans une matrice donnée. Pour se faire, différents critères doivent être pris en considération tels que la spécificité, la reproductibilité, la linéarité, le taux de récupération et les limites analytiques. C'est ainsi que ce chapitre aborde les principaux critères de validation liés à la caractérisation et à la quantification des nanoparticules d'argent et de l'argent ionique dans cinq matrices, soit deux types de boissons (jus d'orange et préparation en poudre pour nourrissons) et trois simulants alimentaires (eau Milli-Q, acide acétique 3% et éthanol 10%) par SP-ICP-MS.

2.1 Analyses par SP-ICP-MS

2.1.1 Préparation des échantillons

Des suspensions de Ag NPs de 40 nm (NanoXact, AGCN40-50M), de 20 nm (NanoXact, AGCN20-50M) et une suspension de Au NPs ultra-uniformes de 30 nm (AUXU30-1M) de chez NanoComposix et une solution d'argent ionique (Lot : K2-AG03062) de chez Inorganic ventures ont été utilisées tout au long de ce projet de maîtrise. L'eau Milli-Q ($R > 18 \text{ M}\Omega\text{-cm}$, $\text{TOC} < 1 \mu\text{g/L}$), l'acide nitrique PlasmaPURE (67 – 70 %, SCP Science) et le peroxyde d'hydrogène (Lot: 87003-224, VWR) ont été utilisés pour la digestion et la dilution des échantillons et le lavage du système d'introduction du ICP-MS.

Afin de minimiser les erreurs dues à une variation d'efficacité de transport et de sensibilité de l'instrument, les échantillons ont été préparés la journée même de l'analyse par SP-ICP-MS. Différentes concentrations de Ag NPs 40 nm et de Ag^+ (de 0,1 à 20 $\mu\text{g/mL}$) ont été ajoutées dans les différentes matrices (jus d'orange, l'eau Milli-Q, la préparation en poudre pour nourrissons, l'acide acétique à 3% et l'éthanol à 10%). Une dilution de 1 :100 a été entreprise avant toute introduction des échantillons dans le système d'introduction du ICP-MS avec l'eau Milli-Q à l'exception de la préparation en poudre pour nourrissons qui nécessite plutôt une dilution de 1 :400. Ces dilutions minimisent l'effet matrice sur le signal et une variation du signal. En fait, les

particules de certaines matrices, telles que la pulpe du jus d'orange et les sédiments de la poudre pour nourrissons, peuvent causer un blocage du nébuliseur, ce qui provoquera inévitablement un mauvais acheminement de l'échantillon vers le plasma et donc une diminution et une fluctuation du signal.

Enfin, toutes les analyses faites en mode particule simple ont été rapportées à une analyse quantitative de la fraction totale en argent afin d'obtenir le taux de récupération des analytes dans les différentes matrices. La fraction totale a été obtenue par une digestion des échantillons pendant 30 minutes à 85 °C (DigiPrep, SCP Science) dans 2% d'acide nitrique (v/v) pour toutes les matrices hormis la préparation pour nourrissons. La digestion de cette dernière matrice s'est faite avec 50% d'acide nitrique (v/v) et 1% de peroxyde d'hydrogène (v/v) pendant 90 minutes à 85 °C. Une dilution finale a été entreprise avant l'analyse par ICP-MS afin d'avoir un total de 2% d'acide nitrique dans les échantillons.

2.1.2 Acquisition de données par SP-ICP-MS

L'acquisition de donnée s'est faite à l'aide d'un ICP-MS à secteur magnétique (Nu AttoM ES, Nu Instruments, UK). Les données ont été analysées à l'aide d'un logiciel de Nu Quant (version 2.2, Nu instruments, UK). Une solution de multi-éléments contenant 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ est utilisée pour l'optimisation de l'intensité du signal en améliorant le flux du gaz de nébulisation, la position de la torche et les paramètres des lentilles d'extraction et de l'optique ionique. Une calibration ionique est préparée quotidiennement avant l'analyse par des standards de 0, 50, 100, 250 et 500 ng L^{-1} d'argent ionique dans 2% HNO_3 . Une solution de Au NPs (30 nm, 50 ng L^{-1}) est utilisée pour la détermination de TE et une suspension de Ag NPs (20 nm, 20 ng L^{-1}) est utilisée pour valider la caractérisation. De plus, 1% de jus d'orange a été ajouté dans les standards ioniques et les suspensions de NPs permettant le calcul de TE pour le dosage de l'argent dans la matrice de jus d'orange. Finalement, tous les échantillons ont été préparés en triplicatas et analysé trois fois avec un temps d'intégration de 50 μs . Afin de réduire la contamination et l'effet mémoire lors des analyses, après chaque analyse, l'instrumentation est lavée avec de l'eau Milli-Q (1 minute) et 2% d'acide nitrique (2 minutes) et finalement, encore de l'eau Milli-Q (1 minute).

2.2 Validation de la méthode analytique en SP ICP-MS des boissons

Quelques méthodes analytiques ont été validées et publiées pour analyser les nanoparticules métalliques dans de réelles matrices alimentaires par SP-ICP-MS. Des procédures de digestions enzymatiques sont recommandées dans les tissus végétaux et animaux puisqu'elles permettent des extractions reproductibles, précises et sans effet significatif sur la taille et le nombre des particules.⁷²⁻⁷⁵ Pour ce qui est des boissons, très peu d'optimisation de méthode a été faite. Une seule étude s'est penchée sur l'analyse par SP-ICP-MS des Au NPs et des Ag NPs dans des jus de fruits.⁷⁶ Ils suggèrent une étape de dilution avant l'analyse, soit de 1:50. De ce fait, dans cette étude, de simples dilutions ont été entreprises avant chaque analyse, soit de 1 :100 pour le jus d'orange et de 1 :400.

2.2.1 Effet sur la sensibilité et l'efficacité de transport

La courbe d'étalonnage ainsi que l'efficacité de transport sont les deux paramètres permettant respectivement la quantification et la caractérisation des nanoparticules. La création de la courbe se fait quotidiennement avec des étalons ioniques de l'élément à analyser à des concentrations connues, soit, pour ce projet, à des concentrations se situant entre 0 à 500 ng L⁻¹ (figure 14). Elle permet l'obtention de la sensibilité instrumentale (cps par ng L⁻¹) qui relie l'intensité du signal (cps, compte par seconde) à la concentration de l'analyte (ng L⁻¹). Quant à TE, comme démontré au chapitre 1, elle admet l'obtention de la taille des nanoparticules.

Toutefois, les propriétés physico-chimiques des matrices alimentaires influencent grandement le devenir des nanoparticules. Le pH, la matière organique ainsi que la force ionique affectent la spéciation des Ag NPs. C'est ainsi qu'il est essentiel d'évaluer l'effet de la matrice du jus d'orange sur la calibration et la TE, et ce, en raison de son acidité (pH 4,3) et de sa teneur en agent réducteur (acides maléiques et ascorbiques). De ce fait, 1% de jus a été ajouté dans tous les standards ioniques et de nanoparticules lors de l'analyse de l'argent dans le jus d'orange. C'est ainsi que les figures 14 et 15 illustrent l'effet matrice du jus d'orange sur la courbe d'étalonnage. Une diminution du signal, soit de sensibilité instrumentale, peut-être constatée dans cette matrice, ce qui démontre la nécessité d'utiliser la méthode des ajouts dosés pour avoir une quantification exacte. Cette méthode permet la correction des effets matrices d'une mesure, soit la correction

de l'augmentation ou de la diminution du signal analytique engendrée par les constituants d'un échantillon autre que l'analyte.

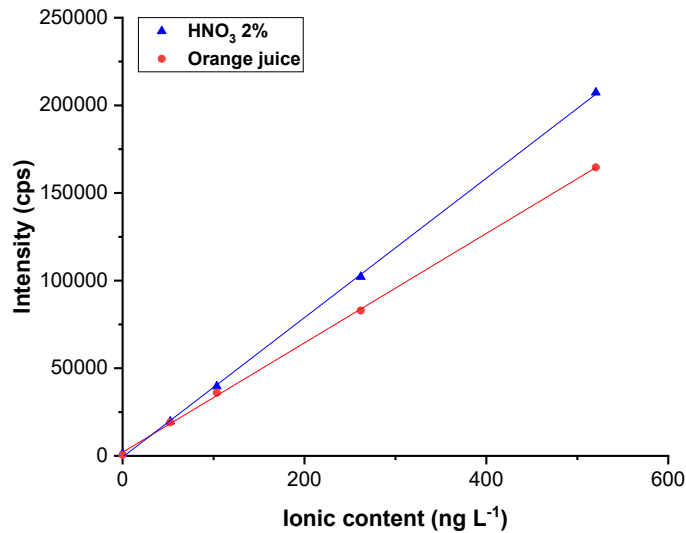


Figure 14. Courbes d'étalonnage de l'argent dans 2% d'acide nitrique. 1% de jus d'orange est ajoutée dans la courbe en rouge. Les régressions linéaires sont les suivantes : (Rouge) $I = 397,8 [Ag^+] - 662,6$, $R^2 = 0,9995$; (Bleu) $[Ag^+] = 312,2 [Ag^+] + 2067$, $R^2 = 0,9997$.

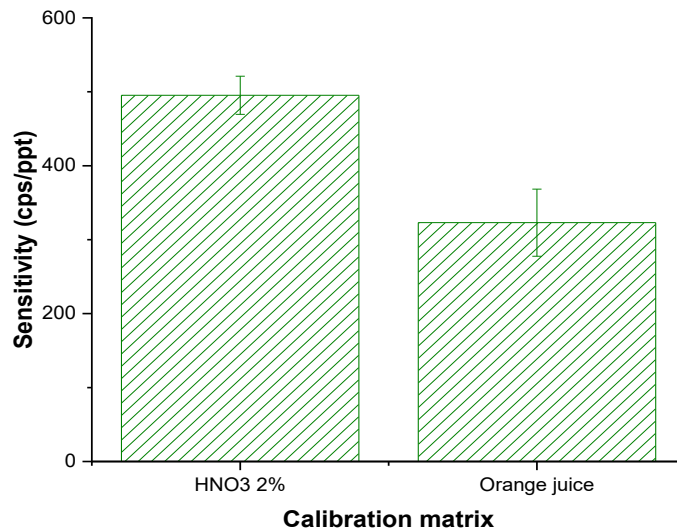


Figure 15. Comparaison de la sensibilité instrumentale, en $\text{cps}/\text{ng L}^{-1}$, de l'analyse de l'argent par SP-ICP-MS dans 2% HNO_3 uniquement et suite de l'ajout de 1% de jus d'orange ($n = 10$).

La figure 16 compare la TE obtenue conventionnellement, soit à partir d'une suspension de Au NPs dans de l'eau Milli-Q et en utilisant des étalons préparés dans 2% d'acide nitrique, et celle dont est ajoutée 1% de jus d'orange. Sur dix jours d'analyse, de plus grandes efficacités de nébulisation ont été remarquées dans la matrice de jus. La matrice de jus semble permettre à un

plus grand nombre de particules d'atteindre le plasma. Étant donné cette grande variabilité, pour l'analyse des échantillons de jus, il est donc requis de déterminer la TE dans 1% de jus afin d'avoir une caractérisation exacte, puisqu'elle est directement utilisée au calcul de taille des particules.



Figure 16. Comparaison de l'efficacité de transport, en uL/sec, de l'analyse de l'argent par SP-ICP-MS en utilisant des étalons préparés dans 2% d'acide nitrique et dans la matrice de jus d'orange, 1% (v/v), (n = 10).

Finalement, la quantification et la caractérisation se sont faites par ajouts dosés, soit en ajoutant 1% de jus dans les standards ioniques et de nanoparticules. Toutefois, cette expérience ne s'est pas faite avec la préparation en poudre pour nourrissons. Contrairement au jus, cette matrice a un pH neutre (pH de 6,9) et un caractère lipophile, ce qui n'engendre pas d'effet significatif sur la spéciation de l'argent.²⁶ En effet, comme discuté dans le chapitre 3, les protéines, les lipides et les sucres de cette matrice semblent plutôt stabiliser les nanoparticules d'argent (Figure 18).

2.2.2 Effet sur la linéarité

La linéarité est un critère quantitatif de la validation d'une méthode. Elle correspond à la capacité, dans un intervalle de concentrations données, d'obtenir des mesures directement proportionnelles à la quantité d'analyte. La figure 17 présente le domaine de linéarité, soit la concentration mesurée de Ag NPs (40 nm) et de Ag⁺ en fonction de la concentration totale d'argent dans l'eau Milli-Q, le jus d'orange et la préparation en poudre pour nourrissons. La matrice d'eau Milli-Q est utilisée ici comme référence étant donné sa pureté chimique. Il est ainsi nécessaire d'évaluer le domaine de linéarité afin de définir la gamme de concentration de la

méthode analytique dans laquelle les résultats sont obtenus avec exactitude et précision. C'est ainsi que la figure 17 valide la quantification de l'argent jusqu'à des concentrations de $8 \mu\text{g L}^{-1}$ pour la fraction ionique et de 15 à $20 \mu\text{g L}^{-1}$ pour la fraction nanoparticulaire, et ce, avant dilution. Les régressions linéaires ayant des coefficients de corrélation supérieurs à 0,99 confirment une quantification juste à ces concentrations. Par ailleurs, de plus grandes concentrations auraient pu être ajoutée dans les gammes de linéarité présentées ci-dessous, mais dans ce projet de recherche, des concentrations de ng L^{-1} ont principalement été traitées étant donné la réalité de la contamination des NMs dans les matrices alimentaires. L'objectif de ce projet était d'assurer une analyse exacte et précise à de faibles concentrations, soit à des concentrations comprises entre ng L^{-1} et $\mu\text{g L}^{-1}$ qui démontrent la réalité de la contamination des NMs dans les matrices alimentaires.⁷⁷

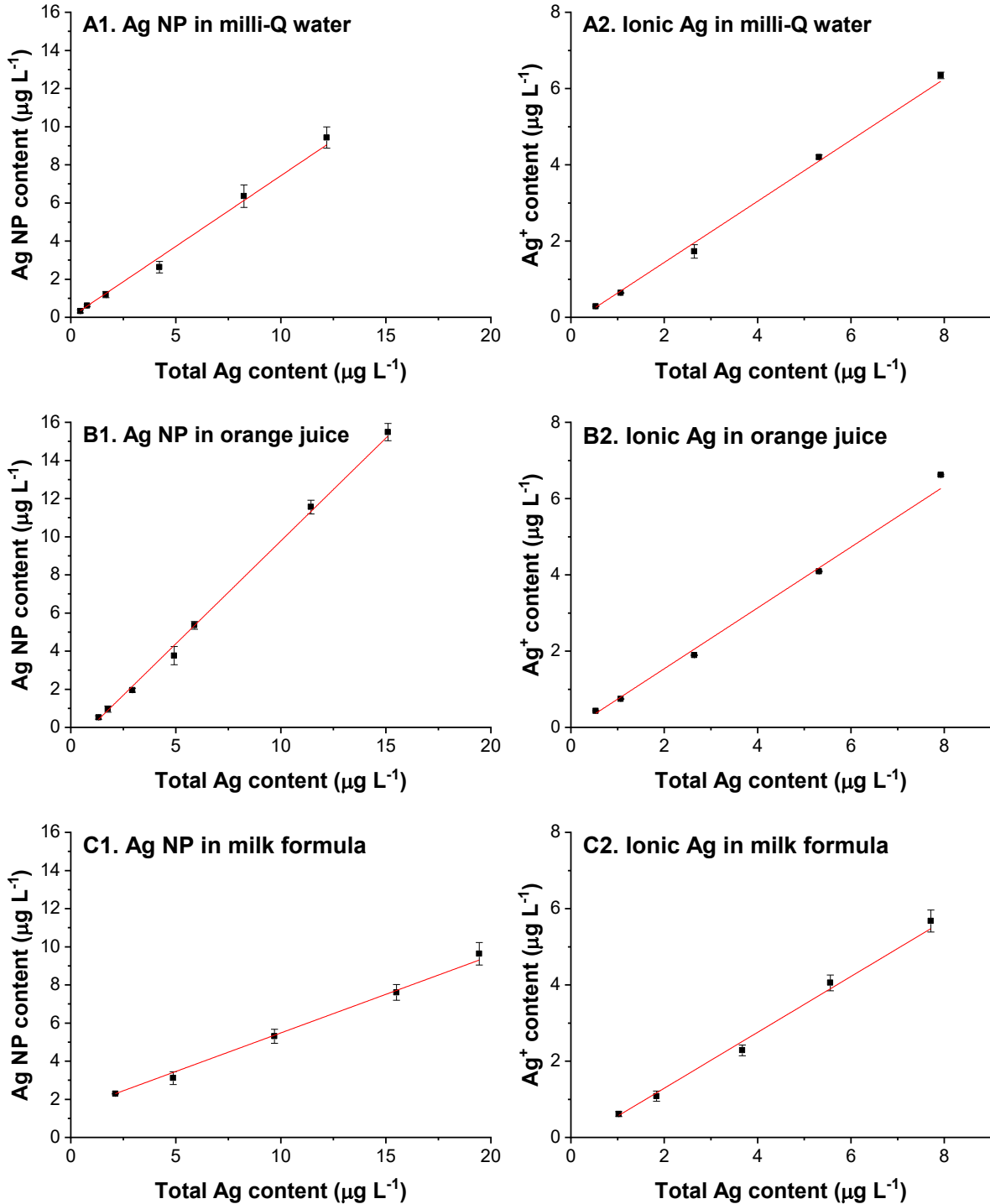


Figure 17 Concentrations mesurées (A2, B2 et C2) de l'argent ionique et (A1, B1 et C1) des nanoparticules d'argent de 40 nm en fonction de la concentration totale de l'argent dans l'eau Milli-Q (A), dans le jus d'orange (B) et dans la préparation en poudre pour nourrissons (C). Les régressions linéaires sont les suivantes :

$$\begin{aligned}
 & \text{(A1) } [\text{Ag NPs}] = 0,741 [\text{Ag}_{\text{total}}] + 0,015, R^2 = 0,991; & \text{(A2) } [\text{Ag}^+] = 0,802 [\text{Ag}_{\text{total}}] - 0,164, R^2 = 0,994; & \text{(B1) } [\text{Ag} \\
 & \text{NPs}] = 1,08 [\text{Ag}_{\text{total}}] - 1,01, R^2 = 0,996; & \text{(B2) } [\text{Ag}^+] = 0,798 [\text{Ag}_{\text{total}}] - 0,058, R^2 = 0,993; & \text{(C1) } [\text{Ag NPs}] = \\
 & 0,405 [\text{Ag}_{\text{total}}] + 1,44, R^2 = 0,996; & \text{(C2) } [\text{Ag}^+] = 0,733 [\text{Ag}_{\text{total}}] - 0,121, R^2 = 0,990.
 \end{aligned}$$

2.2.3 Paramètres de validation

Les limites analytiques telles que les limites de détection en taille de particule et en concentration d'argent, les limites de quantification et le taux de récupération sont des critères qui assurent l'exactitude et la précision des mesures de quantification et de caractérisation des Ag NPs et de Ag⁺.

La limite de détection en taille (SDL, nm) est déterminée de la même façon que le diamètre d'une nanoparticule (équation 5) en utilisant l'intensité du seuil qui sépare le bruit instrumental des impulsions correspondant aux NPs (I_L , en compte) :

$$SDL = \left(\frac{6 \times I_L}{\pi \times 10^6 \times \rho \times S_m \times \chi_m} \right)^{1/3} \quad \text{Équation 6}$$

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont calculées comme suit :

$$LOD = 3 \times \sigma \quad \text{Équation 7}$$

$$LOQ = 10 \times \sigma \quad \text{Équation 8}$$

Où σ correspond à l'écart-type de sept mesures d'un même échantillon peu concentré de l'analyte, soit d'environ 1 à 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ avant dilution. Quant au taux de récupération (R, en pourcentage), il a été déterminé par le rapport entre la concentration mesurée de l'analyte ([analyte], en ng L^{-1}), soit des Ag NPs ou de Ag⁺, et la fraction totale ([fraction totale de l'analyte], en ng L^{-1}) :

$$R = \frac{[\text{analyte}]}{[\text{fraction totale de l'analyte}]} \times 100 \quad \text{Équation 9}$$

La fraction totale, comme expliquée dans la section 2.1.1, est obtenue par une digestion totale de l'échantillon et correspond donc à la concentration totale de l'argent (les fractions dissoute et nanoparticulaire sont combinées).

C'est ainsi que les SDL obtenues dans cette recherche sont inférieures comparativement à celles de la littérature, soit entre 5 et 8 nm (tableau 1). En effet, des SDL de 20 nm dans des échantillons d'eau⁶⁵ et de 30,1 nm dans le jus d'orange⁷⁶ ont été rapportées dans la littérature. Cette grande différence est due au choix de l'analyseur du spectromètre de masse et à l'utilisation de faible

temps d'intégration (25 - 50 μ s). Effectivement, comme précisé dans le chapitre 1, l'utilisation d'un analyseur à secteur magnétique admet une meilleure séparation des ions générés par l'ICP que l'analyseur quadripôle.

En considérant les facteurs de dilutions, les tableaux 1 et 2 présentent des limites de détection et de quantification plus importantes pour les réelles matrices alimentaires que pour l'eau Milli-Q. La complexité de ces matrices engendre une plus grande déviation du signal aux faibles concentrations. Le taux de recouvrement de l'argent ionique et des nanoparticules dans le jus d'orange est supérieur à celui dans l'eau Milli-Q et dans la préparation pour nourrissons. La présence d'acides minimise le processus d'adsorption de l'argent sur la paroi des tubes en polystyrène. Les macromolécules telles que les protéines et les lipides de la matrice de lait semblent affecter le taux de recouvrement des Ag NPs. Un processus de sédimentation pourrait en être la cause. Les Ag NPs adsorbées sur ces grosses particules pourront se sédimenter et ne pourront s'introduire dans le plasma. Par ailleurs, il est possible de constater une dispersion des résultats des limites obtenues pour les analyses par SP-ICP-MS que par ICP-MS. L'analyse par ICP-MS correspond à une analyse quantitative de la fraction totale de l'argent. Une digestion acide précède l'analyse. L'acide minimise la perte de matériel lors de l'analyse et admet une meilleure exactitude des résultats.

Tableau 1. Limites analytiques de l'analyse des Ag NPs (40 nm, 5 μ g L⁻¹) dans l'eau Milli-Q, le jus d'orange et la préparation en poudre pour nourrissons après dilution. Les résultats sont obtenus en triplicatas par analyse (a) SP-ICP-MS et (b) ICP-MS.

Matrices	SDL (nm)	Taux de récupération (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Eau Milli-Q (dilution 1:100)	5.2	82 ± 5	5.0	16.6	0.4	1.2
Jus d'orange (dilution 1:100)	7.8	89 ± 3	2.9	9.6	0.8	2.8
Préparation pour nourrissons (dilution 1:400)	7.3	57 ± 6	2.6	8.5	1.3	4.2

Tableau 2. Limites analytiques de l'analyse de l'argent ionique ($5 \mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, le jus d'orange et la préparation en poudre pour nourrissons après dilution. Les résultats sont obtenus en triplicatas par analyse (a) SP-ICP-MS et (b) ICP-MS.

Matrices	SDL (nm)	Taux de récupération (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Eau Milli-Q (dilution 1:100)	N.A.	79 ± 3	3.8	12.7	0.5	1.8
Jus d'orange (dilution 1:100)	N.A.	98 ± 3	2.9	9.6	5.3	17.5
Préparation pour nourrissons (dilution 1:400)	N.A.	84 ± 11	3.4	11.3	0.7	2.3

2.3 Validation des analyses en SP-ICP-MS des simulants alimentaires

Afin de simplifier les tests de migrations des NMs en contact avec la nourriture, les simulants alimentaires sont principalement utilisés. La simplicité de ces matrices admet un début de compréhension du relargage des Ag NPs vers le milieu environnant. Dans cette recherche, trois simulants alimentaires ont été étudiés : l'eau Milli-Q, l'acide acétique à 3% et l'éthanol à 10%. Ici, l'eau Milli-Q agit comme référence pour un milieu aqueux. L'acide acétique à 3% imite une matrice hydrophile et acide (pH de 2,7). Quant à l'éthanol à 10%, il simule une teneur de molécules organiques le rendant partiellement lipophile.

Les tableaux 3 et 4 illustrent les limites analytiques et les taux de recouvrement des Ag NPs (40 nm) et de Ag⁺ dans les trois simulants alimentaires. Tout d'abord, il est possible de constater une récupération comparable pour les Ag NPs et Ag⁺ dans l'eau Milli-Q et l'éthanol à 10%. La perte de matière serait due à une possible adsorption avec les tubes en polystyrène. Quant à l'acide acétique à 3%, de plus petits recouvrements des Ag NPs ont été notés étant donné l'acidité de cette matrice. En effet, le faible pH de ce milieu engendre une dissolution rapide des NPs. Une plus grande récupération des ions a toutefois été constatée. Tout comme le jus d'orange, l'acidité de la matrice empêche l'adsorption des ions sur les parois des tubes. Finalement, les SDL, les limites de détection et de quantification dans ces matrices sont relativement comparables et acceptables.

Tableau 3. Limites analytiques de l'analyse des Ag NPs (40 nm, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, de l'acide acétique à 3% et de l'éthanol à 10%. Les résultats sont obtenus en triplicatas par analyse (a) SP-ICP-MS et (b) ICP-MS.

Matrices	SDL (nm)	Taux de récupération (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Milli-Q water	5.2	82 ± 5	5.0	17	0.4	1.2
Ethanol 10%	6.8	86 ± 4	4.5	15	0.7	2.3
Acetic acid 3%	6.8	58 ± 5	4.1	14	1.4	4.7

Tableau 4. Limites analytiques de l'analyse de l'argent ionique (5 $\mu\text{g L}^{-1}$) dans l'eau Milli-Q, de l'acide acétique à 3% et de l'éthanol à 10%. Les résultats sont obtenus en triplicatas par analyse (a) SP-ICP-MS et (b) ICP-MS.

Matrices	SDL (nm)	Taux de récupération (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Milli-Q water	N.A.	79 ± 3	3.8	13	0.5	1.8
Ethanol 10%	N.A.	84 ± 4	4.7	16	2.8	9.2
Acetic acid 3%	N.A.	90 ± 5	7.0	16	1.3	4.2

Chapitre 3 – Characterizing the nature of silver in beverages contained in silver-containing food containers using sector field single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS)

Nesrine Amiri, Madjid Hadioui, Alexandre Chalifoux and Kevin J. Wilkinson*

Department of Chemistry, University of Montreal, C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, QC H3C 3J7 Canada.

*email of corresponding author: kj.wilkinson@umontreal.ca

3.1 Abstract

Silver nanoparticles (Ag NPs) are increasingly used in the food industry because of their remarkable antibacterial activity. They are integrated into coatings of various food packaging to help ensure longer product shelf life. However, the risks associated with Ag NPs are currently not well known and their potential effects on humans are causing growing concern. Furthermore, it is not clear whether NPs have greater or lesser risk than dissolved silver ions or bulk phase Ag. Consequently, it is necessary to characterize the release of silver from silver-enhanced containers into food matrices using sensitive analytical techniques that allow one to distinguish between silver ions and nanoparticles. Single particle ICP-MS is a promising technique to count and size small particles at low concentrations and distinguish between ionic and particulate forms of the analyte. This study focused first on the aging of Ag NPs in three different food simulants (Milli-Q water, 10% ethanol and 3% acetic acid) and in two beverages (orange juice and infant milk formula) in order to validate the technique for low NP concentrations. Acidic media caused significant NP oxidation and the organic macromolecules in the juice appeared to increase the stability of the NPs. Subsequently, a migration study from silver-enhanced containers showed that release was mainly due to ionic forms of the silver. Significant release of dissolved Ag occurred in 3% acetic acid (58% of the total Ag mass of the containers) with lower release being

observed in Milli-Q water (33%), 10% ethanol (29%), orange juice (17%) and milk formula (4.8%). Heating led to a considerable release of silver (again dissolved), likely because of the swelling of the containers. The study suggests that the risks to foods associated with Ag NP in packaging can be determined using existing regulations and guidelines on (ionic) Ag.

Keywords: silver nanoparticles, food packaging, drinks, single particle ICP-MS.

3.2 Introduction

To preserve the quality and the safety of food, new packaging technologies have been developed to minimize, among other things, microbial contamination, which is one of the biggest concerns of the food industry. Studies have shown that the shelf life of various foods⁷⁸ can be significantly extended by coating the inner packaging materials with organic (e.g. organic acids and enzymes) and inorganic (e.g. metals and their oxides) compounds. These technologies are known as "active packaging": containers and films having components that release chemicals from the packaging into the surrounding media or which can adsorb substances in order to decrease microbial contamination.⁷⁹

Nanomaterials are being used as an emerging technology in the food packaging industry to improve the temperature, humidity and gas barrier resistance of different food products.¹⁸ Silver nanoparticles (Ag NPs) are one of the most used nanomaterials⁸⁰ in multiple industries (pharmaceutical, food, textiles), largely due to their efficient antimicrobial activity.⁸¹ Among other products, Ag NPs have been incorporated into plastic containers.³⁶

To date, a few studies have been published on the release of Ag NPs from food packaging into food simulants, including Milli-Q water, ethanol and acetic acid, using analytical techniques such as microscopy and atomic spectroscopy.^{36, 51, 77, 82} Migration from packaging materials depends on different factors including: the nature of the nanomaterials, the physicochemical properties of the matrix and the physical storage properties (e.g. light and temperature). For example, some studies have shown a higher release in acidic media or following treatments with heat.^{21, 29} Alkaline and fatty medias tend to generate a low release, but are thought to better preserve the Ag NPs.⁸³ Nonetheless, studies have generally not characterized the nature of Ag release from

food packaging, especially when attempting to discriminate between NP and dissolved forms of Ag.^{21, 29} This is especially important given that the bioavailability of the Ag NP is thought to be related to its physicochemical forms (ions, complexes, nanoparticles).

Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is an extremely sensitive technique for quantifying metal release from nano-enhanced materials. When operated in single-particle (SP) mode (SP-ICP-MS), it can simultaneously determine the nature (NP or dissolved) and concentration of metals released from surfaces. SP-ICP-MS has been used to determine particle size distributions and particle numbers of inorganic nanomaterials⁵⁹ in natural waters, biological tissues, consumable products, soils and plants.^{72, 84-87} Although SP-ICP-MS can quantify extremely low concentrations ($\sim \text{ng L}^{-1}$ - $\mu\text{g L}^{-1}$), in order to distinguish nanoparticles from dissolved metal, the major limitation is that the NP must be larger than a threshold that is defined by the size detection limit (SDL) of the method. On a quadrupole ICP-MS, SDLs in beverages typically range from 20 nm in water⁶⁵ to 30.1 nm in orange juice⁷⁶. By increasing the sensitivity and decreasing the background signal through the use of a sector field (SF) analyser and extremely small analysis (dwell) times (25-50 μs), it is possible to obtain instrumental detection limits of $\sim \text{ng L}^{-1}$ and SDL 4.9 nm for Ag NPs.⁶⁴

The objective of this study was first to optimize the SP-ICP-MS for the measurement of Ag NPs in beverages and then to evaluate Ag NP aging in a variety of food simulants (Milli-Q water, 10% ethanol and 3% acetic acid) and in two beverages (orange juice and milk infant formula). Subsequently, once it was demonstrated that the technique was sensitive enough to measure very low concentrations of very small nanoparticles, the nature and rate of release of silver was quantified for two commercially available, silver-enhanced, food containers. The role of temperature (cooling in a refrigerator and heating in a microwave) was also examined. Total Ag release and Ag NPs sizes and numbers were measured under different conditions using a sector field, single particle ICP-MS.

3.3 Materials and method

3.3.1 Chemicals

Ag NP suspensions with nominal diameters of 20 nm (NanoXact, AGCN20-50M) and 40 nm (NanoXact, AGCN40-50M) in addition to ultra-uniform Au NPs with a diameter of 30 nm (AUXU30-1M) were purchased from NanoComposix. Ionic silver (Lot: K2-AG03062) was purchased from Inorganic ventures. PlasmaPURE nitric acid (67 – 70 %, SCP Science) and hydrogen peroxide (Lot: 87003-224, VWR) were used to digest samples, prepare standards and wash the ICP-MS introduction system. Ultrapure water ($R > 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, $\text{TOC} < 1 \mu\text{g/L}$) was used for all sample preparation and analysis.

3.3.2 Ag aging experiments

In order to minimize errors due to calibration and variations in sensitivity, samples were prepared at different times stored at 4 °C in advance of their analysis. Five $\mu\text{g L}^{-1}$ of the 40 nm Ag NPs or 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ of ionic silver were spiked into five different matrices (Milli-Q water, 3% acetic acid, 10% ethanol, orange juice and milk infant formula), where they were kept up to 4 weeks. All SP-ICP-MS analysis was performed on the same day (aging times corresponded to the precise times from preparation until analysis). Immediately prior to SP-ICP-MS analysis, samples were diluted 1:100 with Milli-Q water, except for the milk where a dilution of 1:400 was required. In addition to SP-ICP-MS analysis, total Ag was determined using ICP-MS in quantitative mode following a 1:100 dilution with 2% (v/v) nitric acid, followed by heating at 85 °C for 30 minutes (DigiPrep, SCP Science). For the milk, non-diluted milk was mixed with nitric acid (50% (v/v)) and hydrogen peroxide (1% (v/v)) and digested for 90 minutes at 85 °C prior to analysis. All ICP-MS analyses, including standards, were performed on samples in 2% of nitric acid. The validation parameters for SP-ICP-MS and ICP-MS analysis of the Ag NPs and ionic Ag are provided in Tables 5 and 6. Ag^+ and NPs concentrations were compared to the total Ag fraction of day of analysis which allow the calculation of dissolved and particulate fractions showed in Figures 18 and 25.

3.3.3 Ag release experiments

3.3.3.1 Food and containers informations

A set of polypropylene containers from Rubbermaid® (Figure 23) and nano Ag enhanced baby bottles (Figure 24) were used in this study. The polypropylene containers were labelled as containing Silver Shield Technology, in which Ag chloride is infused into the polymers during the fabrication process. The baby bottles were listed as being fabricated from a silica gel coated with Ag NPs. In order to determine Ag contents of the containers, a small $10.00 \pm 0.05 \text{ cm}^2$ section of each part of the container (cover, sides, bottom) was digested in concentrated ultrapure nitric acid (70% v/v) with the addition of 1% (v/v) of ultrapure peroxide.

3.3.3.2 Validation of the release of ionic silver from containers with an ion-exchange resin

In addition to the SP-ICP-MS analysis, an ion-exchange resin was also used to confirm if the containers were releasing silver nanoparticles or ions.⁸⁸ Leachates (samples put in contact with containers) were passed through a Chelex resin (Sigma-Aldrich) that had first been washed with: Milli-Q water (5 minutes, 5 mL min^{-1}), 1.5 M HCl (15 minutes, 0.4 mL min^{-1}), Milli-Q water (5 minutes, 5 mL min^{-1}), 0.1 M NaOH (15 minutes, 0.4 mL min^{-1}), Milli-Q water (5 minutes, 5 mL min^{-1}).

3.3.3.3 Release experiments

Milli-Q water, acetic acid 3%, ethanol 10%, orange juice and an infant milk formula were put into individual containers at 4 °C. Small aliquots were taken on days 0, 2, 9, 16, 23, 31 and 40. Samples were diluted 1:100 before ICP-MS analysis. Subsequent experiments were performed where 2% (v/v) ultrapure nitric acid was added in order to quantify total Ag release from the containers.

3.3.3.4 Release following microwave heating

Milli-Q water was first put into a container, which was heated for 3 minutes in a microwave at 800 watts. Small sample aliquots were taken from 0 to 30 minutes. Ultrapure nitric acid was added to the samples in order to reach 2% HNO_3 for analyses by ICP-MS. In parallel, analysis on replicate containers, without heating, was achieved. In a second experiment, seven consecutive

heating cycles were performed. A temperature of 82 ± 4 °C was measured at the end of each heating cycle. As for the first experiment, non-heated controls were also measured and ultrapure nitric acid was added to sample aliquots in order to finish at 2% HNO₃ for analysis.

3.3.4 Sample Analysis

Data acquisition was performed using a sector field ICP-MS (Nu AttoM ES, Nu Instruments, UK). Data were processed with Nu Quant software (version 2.2, Nu instruments, UK). A multi-element solution containing indium at a concentration of $1 \mu\text{g L}^{-1}$ was used to optimize the signal intensity by optimizing the nebulizer gas flow, the torch position and the ion optics parameters. An ionic calibration was performed each day prior to analysis (0, 50, 100, 250, 500, 750 and 1000 ng L^{-1} of ionic silver in 2% HNO₃). Solutions of Au NPs (30 nm, 50 ng L^{-1}) were used to determine the transport efficiency of the instrument whereas Ag NPs (20 nm, 20 ng L^{-1}) were used for validation/quality control. For the analysis of orange juice, calibration was performed in 1% (w/w) of the juice to minimize matrix effects and improve measurement exactitude and precision. All samples were prepared in triplicate and were analyzed three times using a dwell time of 50 μs . In order to reduce contamination and carryover, after each sample, the instrument was washed with ultrapure water for 1 min., followed by 2% HNO₃ for 2 min. and finally ultrapure water for 1 minute.

3.4 Results and discussion

3.4.1 Aging of Ag NPs

SP-ICP-MS was first optimized with the goal of lowering particle size detection limits in order to best distinguish between dissolved (ionic) and Ag NP. By optimizing a sector field instrument (at low resolution), using short dwell times (50 μs), it was possible to increase significantly the signal to noise, resulting in size detection limits (SDL) that ranged from 5.2 nm in Milli-Q water to 7.8 nm in orange juice (Table 5). Sub ppt (ng L^{-1}) detection limits were obtained in the diverse matrices, with recoveries generally exceeding 80% (Tables 5 and 6).

The physical (agglomeration) and chemical (dissolution, oxidation) transformations of Ag NPs were evaluated in food simulants and drinks using SP- ICP-MS. The aging of Ag⁺ was evaluated in

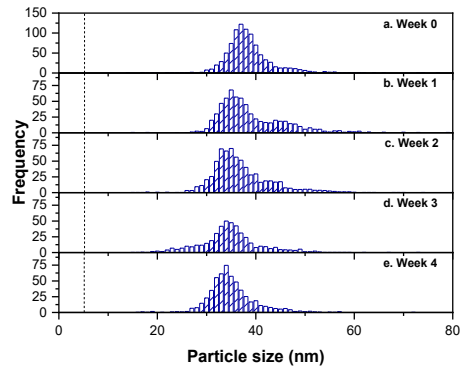
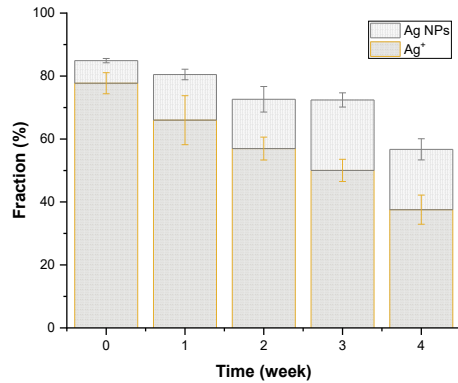
Figure 25 while Figure 18 shows the evolution of the ionic and NP Ag fractions as a function of time. These results demonstrate that the physicochemical conditions of the media directly impact the chemical speciation of the Ag. Effectively, pH, ionic strength and presence of organic matter appeared to strongly influence the rates of oxido-reduction, dissolution or adsorption of the Ag⁺ and Ag NP in the solutions.⁸⁹

In Milli-Q water (pH 5.3), we observed a gradual increase of the dissolved Ag fraction, corresponding to a significant decrease in the particulate fraction, which led us to believe that a partial oxidation of the Ag NP was occurring, likely with concurrent losses of the Ag⁺ or Ag NPs via adsorption or Ag NPs via sedimentation (aggregated NPs only). In contrast, in 10% ethanol, the Ag NPs were relatively stable- particle size varied little with time and concentrations appeared to be fairly stable. Only a slight dissolution, attributed to Ag NP oxidation was observed in the third week of the aging experiment. In 3% acetic acid (pH 2.7), significant dissolution of the Ag NPs occurred, as indicated both by the bar graph and by the measured particle size distributions. In this matrix, the proportion of NPs decreased significantly from what was observed initially. Such a strong decrease in concentration, coupled with the observation of a flattening particle size distribution, strongly suggested total dissolution of the NP, especially the smallest NPs. Indeed, after 4 weeks, larger particles appeared to predominate the particle size distribution.

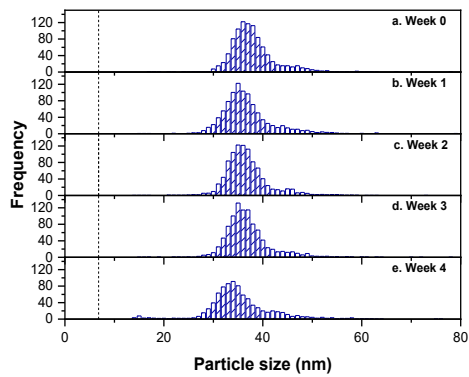
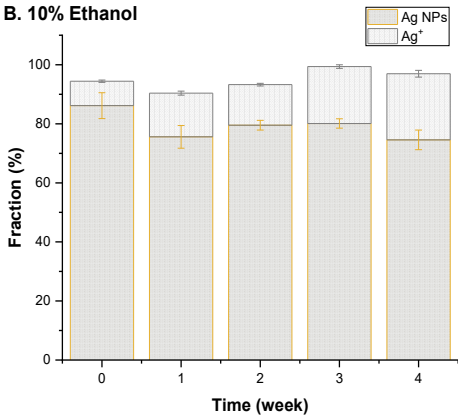
In orange juice (pH of 4.3), similar to the acetic acid, Ag NP dissolution appeared to be quite important. Nonetheless, Ag NP appeared to persist more than they did in acetic acid (i.e. greater NP numbers were observed in Figure 18C), although the particle size distribution appeared to shift towards significantly smaller sizes over time, approaching size detection limits by the end of the exposure period. In comparison to the acetic acid, orange juice is less acidic but also contains several additional ingredients such as organic acids, proteins and polysaccharides which can increase the stability of the NPs, leading to less dissolution/ reduced oxidation to Ag⁺. Indeed, the presence of reductive agents (i.e. ascorbic and maleic acids) in the juice may have additionally slowed down oxidation. Although reformation of Ag NPs from dissolved Ag is possible, these reactions are likely to depend strongly on the solution formulation, the concentration of silver and the storage conditions.²⁶ In this case, it is most likely that the formation of the small Ag NP resulted from not from the reduction of Ag ions (Figure 25), but rather from the dissolution/

partial oxidation of the larger 40 nm NPs. Finally, Ag NPs were fairly stable in the milk formula (pH of 6.9). In this case, both the higher pH and the presence of proteins, lipids and polysaccharides are likely to have increased the stability of the NPs, with only slight dissolution being observed, beginning in week 2.

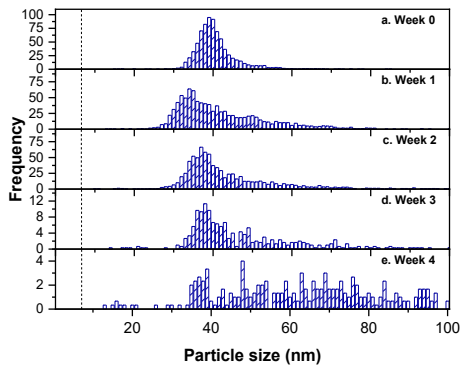
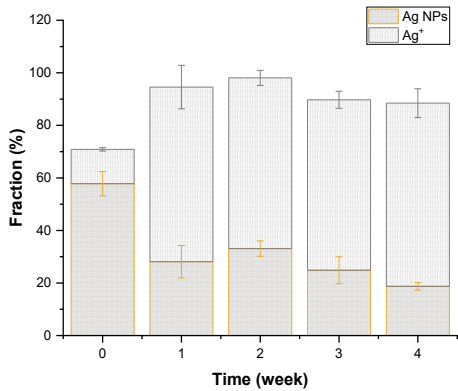
A. Milli-Q water



B. 10% Ethanol



C. 3% Acetic acid



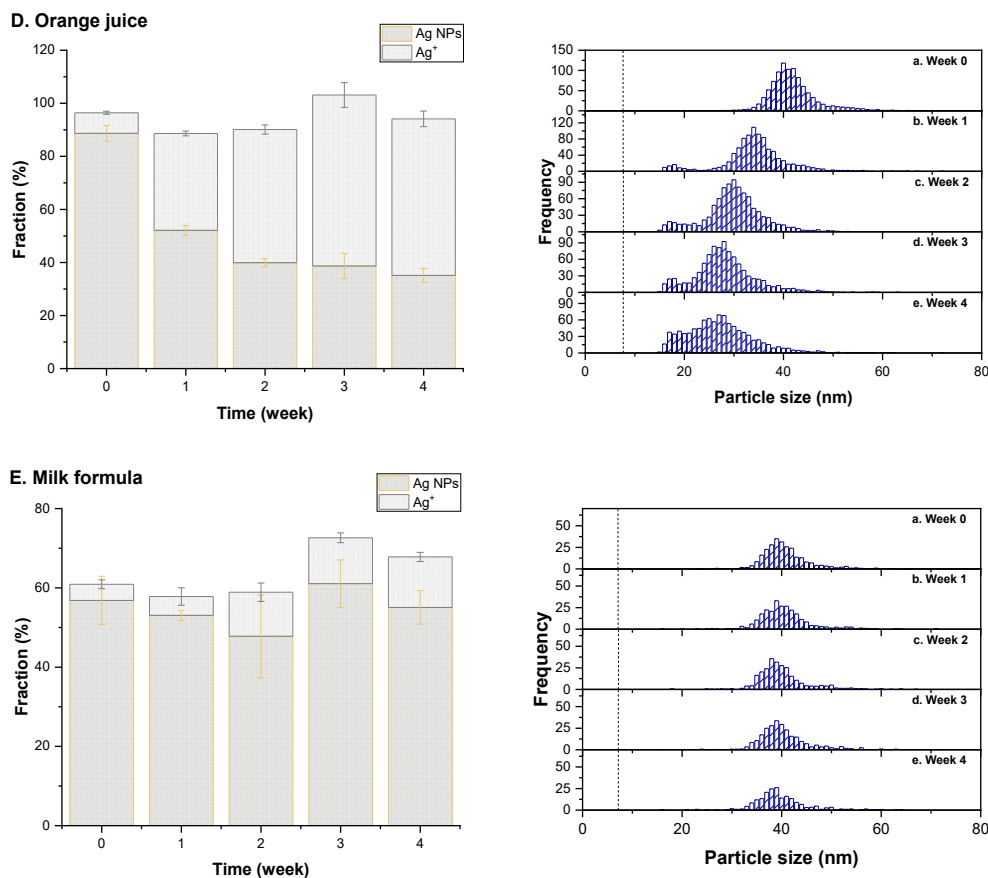


Figure 18. Aging of Ag NPs 40 nm in (A) Milli-Q water, (B) 10% ethanol, (C) 3% acetic acid, (D) orange juice and (E) milk formula for four weeks in a refrigerator: a comparison of the NPs and dissolved fractions to the total Ag mass and size distributions of the NPs fraction.

3.4.2 Migration of Ag and Ag NP from the silver-enhanced containers

In this section, the release of silver from the silver-enhanced containers is discussed. As seen above, once in solution, the Ag NPs will have very different fates, based upon the physicochemical properties of the matrix. The next step of the project was to evaluate to what extent Ag release was in the form of Ag NP and to determine which media most facilitated release. The very low detectable sizes (SDL below 8 nm, Table 5) and the low detection limits (below 1.4 ng L⁻¹, Table 5) give us confidence that if NP are being released into the solutions, they would be detected by SP-ICP-MS.

Containers were first analysed for total extractable Ag using a strong acid digestion. Rubbermaid containers contained $(18 \pm 7) \times 10^3$ ng Ag/dm² while the baby bottles contained two orders of

magnitude less, i.e. $(8 \pm 4) \times 10^1$ ng Ag/dm². Indeed, due to the extremely low Ag content and its heterogenous distribution in the bottles (Ag was mainly found in the bottle teat), Ag release rates (both NP and dissolved Ag) were below detection limits for this material.

Long-term Ag release into different liquid matrices was evaluated for the Rubbermaid containers (Figure 19). In this case, no significant release of Ag NP could be detected for any of the different release solutions (Figure 26). Separate experiments with a chelating ion-exchange resin were performed to remove Ag ions while letting Ag NP pass through the resin (20 nm Ag NPs; Figure 27). The absence of NPs observed in these experiments confirmed that only Ag ions were being released from the containers. Release rates were highest for the 3% acetic acid, followed by Milli-Q water, 10% ethanol, orange juice and then the milk formula. The low pH of the 3% acetic acid favored the solubilization of Ag from the containers, however, even after 40 days of contact, Ag was not totally extracted (~58%). The lowest release was observed for the formula, where it is likely that the high pH and presence of organic macromolecules, decreased the extraction rate of Ag and stabilized the Ag-coating.

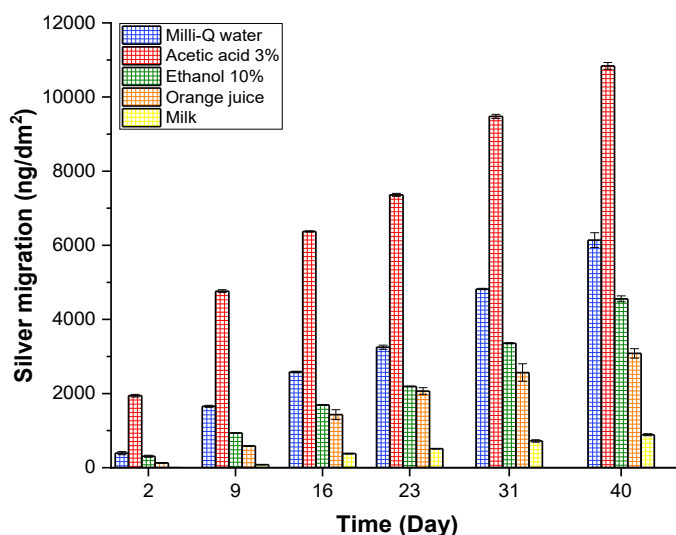


Figure 19. Long-term migration of dissolved silver from Rubbermaid containers for 40 days into Milli-Q water, 3% acetic acid, 10% ethanol, orange juice and infant milk formula using single particle ICP-MS.

Somewhat unexpectedly, a lower release was observed in orange juice as compared to Milli-Q water, even though the juice was more acidic. We hypothesized that the presence of pulp and particles in the orange juice may have contributed to some adsorptive losses of the Ag, followed

by their sedimentation over time. Indeed, some sedimented particles were observed in the bottom of the container, which were not considered during the analysis. A supplementary experiment was performed by exposing similar containers to either filtered or unfiltered juice for 4 days (Figure 20). Apparent Ag migration rates were doubled (2.1x) in the filtered juice with respect to the unfiltered juice.



Figure 20. Migration of silver from the Rubbermaid containers into (a) filtered and (b) unfiltered orange juice after 4 days. Analysis performed using single particle ICP-MS.

When the containers containing Milli-Q water were heated in the microwave, much higher Ag losses were observed. In Figure 21, Ag release dynamics are shown for 30 minutes after a single heating cycle. Once again, no Ag NP were detected, however, a progressive increase of silver ions was observed. Losses from the containers were attributed to a swelling of the polymer due to heating, resulting in much higher losses of Ag for the heated (Figure 21b), as opposed to non-heated containers (Figure 21a). Indeed, heat treatments result in a softening of the polymer, which may also lead to a degradation of the containers. After 30 minutes of water contact time, a mass of (191 ± 2) ng Ag/dm² was measured in the water of the heated container, corresponding to only ~1% of the total Ag mass.

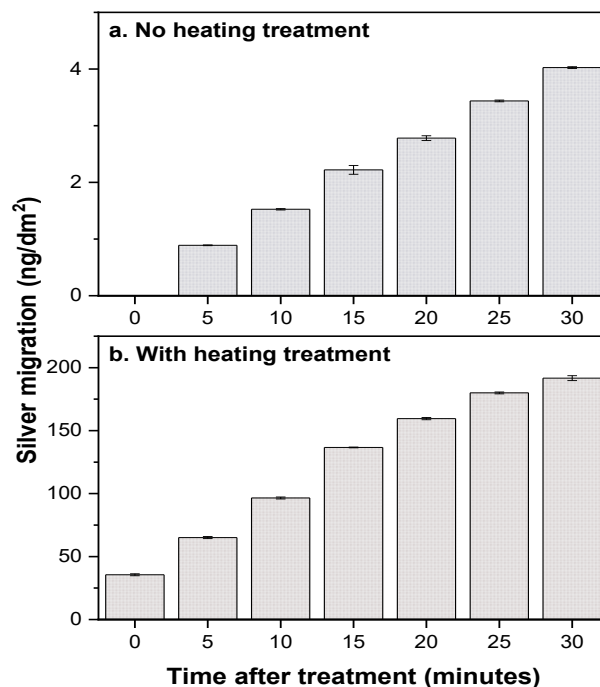


Figure 21. Short term release of dissolved silver from Rubbermaid containers after one cycle of 3 minutes (a) without heating and (b) with heating (microwave 800 watts) into milli-Q water. A special attention to the Y axis values: heating treatment conducts to higher migration.

For successive heat treatments, most of the Ag losses occurred in the first two heating cycles (Figure 22). Again, Ag losses were much higher for heated containers (Figure 22b) as compared to containers without the heat treatment (Figure 22a). Again, a softening of the containers were noted after each cycle of treatment. Significant quantities of Ag were released during the second heating cycle. Although a higher migration of Ag was observed during the first cycle for samples kept at room temperature, it should be noted that concentrations were much lower than those obtained during heating and that such small values of Ag release could simply be due to contamination (e.g. Ag in the dust of unwashed containers). After heating the containers, a much higher release of Ag (52 ± 8) ng Ag / dm² was observed, corresponding to 0.3% of the total mass of Ag on the container. Assuming that it is possible to linearly scale the release, then 358 cycles of heating treatment would be necessary in order to remove all Ag from the container.

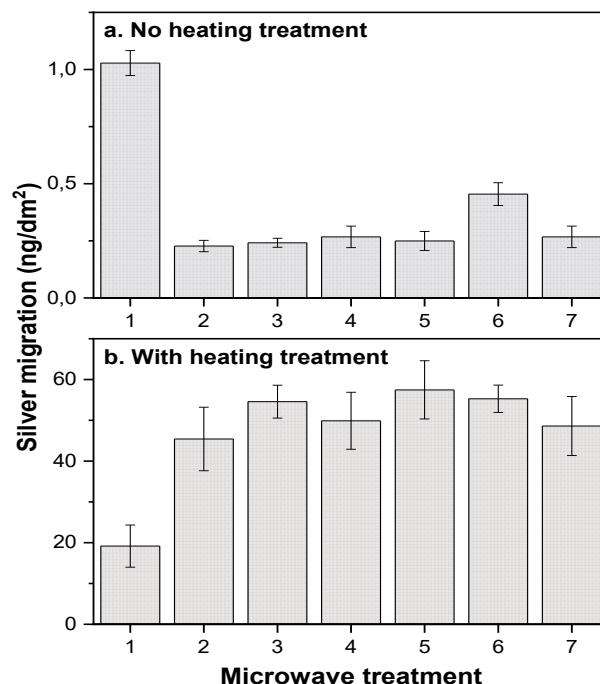


Figure 22. Migration of silver from Rubbermaid containers into Milli-Q water after multiple cycles of 3 minutes (a) without heating and (b) with heating (microwave 800 watts). Measurements were made by single particle ICP-MS, but indicated negligible Ag NP concentrations. A special attention should be given to the Y axis values: the heating treatment led to much higher losses than the ambient controls.

In the literature, few studies have examined different potential mechanisms of release of Ag into foods, beverages and food simulants.^{26, 30, 90} Desorption, diffusion, dissolution and degradation of polymer seem to be the four potential paths that could lead to a release of the nanocomposites into foods and drinks.³⁰ Subsequent NP stability will also be greatly influenced by the physicochemical nature of the food and drink. As demonstrated above (Figure 18), for the conditions where release was the greatest (primarily the acid media), the aging of the Ag NPs was also significant, with NP persistence being relatively short in the acid matrices and an enhanced NP stability occurring in neutral or lipid- and protein containing media. The kinetics of the release process was shown to be increased by environmental conditions (e.g. heat) but certainly other conditions such as light or the nature of the food, especially solid foods should be examined more thoroughly. The physical transformation of the containers (softening) observed in this study during all heating treatments suggests a degradation of the polymer (swelling) followed by hydrolysis⁹⁰. Due to the complexity of food matrices and the variability of the storage conditions,

it is not yet possible to confirm the precise release mechanism of Ag into food and beverages. Further research will need to be performed in order to clearly differentiate the different mechanisms of loss.

3.5 Acknowledgements

This research was financed by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and Avi life labs.

3.7 Supplementary information

Supplementary information for Characterizing the nature of silver in beverages contained in silver-containing food containers using sector field single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS)

Nesrine Amiri, Madjid Hadioui, Alexandre Chalifoux and Kevin J. Wilkinson*

Department of Chemistry, University of Montreal, 1375 Ave. Thérèse-Lavoie-Roux, Montréal, QC, H2V 0B3

*corresponding author: kj.wilkinson@umontreal.ca



Figure 23. Rubbermaid[®] containers using a Silver Shield Technology. Surface areas of contact, from left to right, are respectively: 305 cm², 190 cm² and 125 cm². Containers were purchased from Amazon.ca (Canada).



Figure 24. Piko Bello baby feeding bottles coated with silver nanoparticles. The surface area of contact is 707 cm². Containers were purchased from DHgate.com (China).

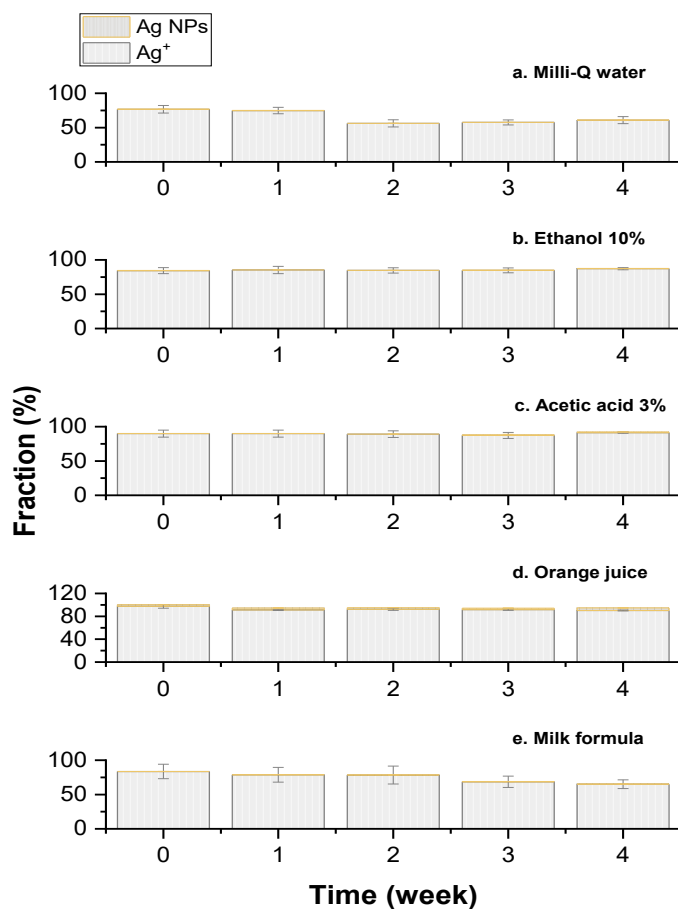


Figure 25. Aging of dissolved silver in (a) Milli-Q water, (b) 10% ethanol, (c) 3% acetic acid, (d) orange juice and (e) milk formula for four weeks in a refrigerator: a comparison of the NPs and dissolved fractions to the total Ag mass.

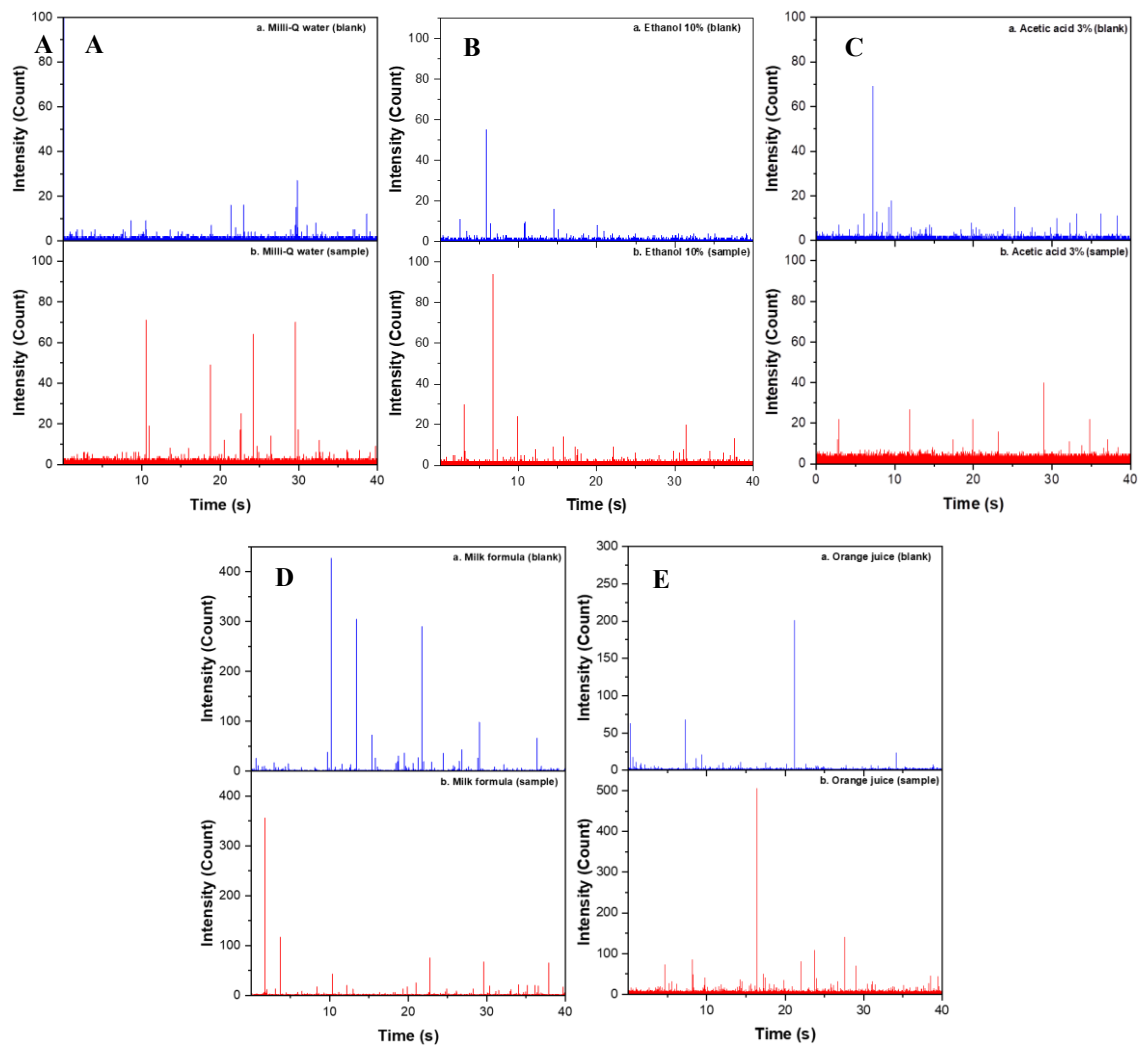


Figure 26. Time resolved signal (raw data) for ^{107}Ag in (A) Milli-Q water; (B) 10% ethanol, (C) 3% acetic acid, (D) orange juice and (E) milk formulation. Samples are shown before (a) and after (b) being put in contact with Ag enhanced containers. Measurements were acquired on a magnetic sector SP-ICP-MS with a $50\ \mu\text{s}$ dwell time on samples that had been diluted 100x and 400x for milk infant formula.

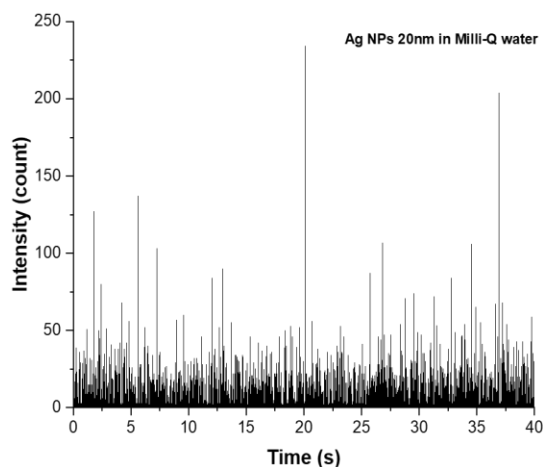


Figure 27. Time resolved signal (raw data) for ^{107}Ag of 10 ng L^{-1} Ag NPs 20 nm in Milli-Q water. Measurements were acquired on a magnetic sector SP-ICP-MS with a $50 \mu\text{s}$ dwell time.

Table 5. SDL, recoveries, LOD and LOQ of $5 \mu\text{g L}^{-1}$ of Ag NPs 40 nm in Milli-Q water, ethanol 10%, acetic acid 3%, orange juice and milk formula. Values are obtained from single particle and quantitative analysis of triplicate samples.

Matrices	SDL (nm)	Recovery (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Milli-Q water	5.2	82 ± 5	4.99	16.6	0.371	1.24
Ethanol 10%	6.8	86 ± 4	4.46	14.9	0.695	2.32
Acetic acid 3%	6.8	58 ± 5	4.12	13.7	1.40	4.68
Orange juice	7.8	89 ± 3	2.87	9.57	0.840	2.83
Milk formula	7.3	57 ± 6	2.56	8.53	1.27	4.2

a single particle ICP-MS analysis

b ICP-MS analysis

Table 6. SDL, recoveries, LOD and LOQ of $5 \mu\text{g L}^{-1}$ of dissolved Ag in Milli-Q water, ethanol 10%, acetic acid 3%, orange juice and milk formula. Values are obtained from single particle and quantitative analysis of triplicate samples.

Matrices	SDL (nm)	Recovery (%)	LOD ^a (ng L ⁻¹)	LOQ ^a (ng L ⁻¹)	LOD ^b (ng L ⁻¹)	LOQ ^b (ng L ⁻¹)
Milli-Q water	N.A.	79 ± 3	3.80	12.7	0.541	1.80
Ethanol 10%	N.A.	84 ± 4	4.86	16.1	2.76	9.21
Acetic acid 3%	N.A.	90 ± 5	6.98	16.2	1.247	4.16
Orange juice	N.A.	98 ± 3	2.88	9.6	5.25	17.5
Milk formula	N.A.	84 ± 11	3.38	11.3	0.702	2.34

a single particle ICP-MS analysis

b ICP-MS analysis

Conclusions

Ce projet de recherche s'est penché sur la détection, la caractérisation et la quantification des nanoparticules et des ions d'argent dans cinq différentes matrices alimentaires, soit deux différents types de boissons (jus d'orange et préparation en poudre pour nourrissons) et trois simulants alimentaires (eau Milli-Q, acide acétique à 3% et éthanol à 10%), et ce, en utilisant l'ICP-MS en mode particule unique. L'utilisation de courts temps d'intégration (50 μ s) et d'un secteur magnétique comme analyseur du spectromètre de masse a permis l'abaissement des limites analytiques (limites de détection et de quantification en taille et en nombre de particules). Il a été possible de quantifier adéquatement les Ag NPs de 40 nm et les ions Ag^+ à quelques ng L^{-1} (entre 8 et 17 ng L^{-1}) avec de faibles SDL se situant entre 5 et 8 nm. Effectivement, les limites en taille rapportées dans la littérature ^{21, 22} étaient supérieures à celles présentées dans ce mémoire.

C'est ainsi que la méthode analytique a été, dans un premier temps, validée. De simples dilutions ont été entreprises afin de minimiser les effets matrices et d'empêcher le blocage du système d'introduction. Dans un deuxième temps, le devenir des Ag NPs et de Ag^+ a été étudié dans les cinq matrices. Les matrices acides (acide acétique à 3% et jus d'orange) ont provoqué une dissolution significative et rapide des NPs. La préparation en poudre, l'eau Milli-Q et l'éthanol n'ont pas engendré d'effet significatif sur la taille et le nombre de particules d'argent dans la première semaine. En revanche, une dissolution partielle a été notée après quelques semaines d'entreposage.

Finalement, les tests de migration des contenants enrobés d'argent ont conclu que l'argent relargué se retrouve sous forme ionique. Les propriétés physico-chimiques des matrices alimentaires ainsi que les conditions d'entreposage (température) affectent grandement la migration. Le pH, la matière organique des différents milieux et les conditions thermiques ont été les trois principaux facteurs qui ont accéléré, ou bien ralenti, la migration des ions d'argent. En effet, l'acide acétique favorise la libération de l'argent contrairement à la préparation. Étant une substance riche en lipides et en protéines, cette dernière a engendré un taux de relargage inférieur aux autres matrices. Cependant, les quantités d'argent mesurées dans le jus d'orange

ont été moindres à celles attendues malgré son caractère acide. L'argent semble s'adsorber aux fibres végétales de l'orange et se sédimenter, ce qui sous-estime la concentration de l'argent libérée. Les traitements thermiques ont généré d'importantes migrations de l'argent, et ce, en peu de temps (quelques minutes). Par ailleurs, les tests entrepris avec des biberons enrobés de Ag NPs ont démontré un manquement dans la procédure de fabrication d'emballages alimentaires nano-activés. De très faibles quantités d'argent ont été mesurées dans ce matériau.

C'est ainsi qu'il est rendu essentiel de mieux comprendre les procédures de fabrication et d'établir des modèles de relargage des nanomatériaux afin de mieux évaluer le risque associé à leur utilisation. Il serait pertinent d'utiliser parallèlement des techniques analytiques, autre que l'ICP-MS, telles que le TEM et SEM afin d'analyser spécifiquement la morphologie et la taille des particules sur ces types de contenants.

Références bibliographiques

1. Hegazy, M. A.; Badawi, A.M.; Abd El Rehim, S. S.; Kamel, W. M., Influence of copper nanoparticles capped by cationic surfactant as modifier for steel anti-corrosion paints. *Egypt. J. Pet.* **2013**, *22* (4), 549-556.
2. Weir, A.; Westerhoff, P.; Fabricius, L.; Hristovski, K.; von Goetz, N., Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46* (4), 2242-2250.
3. Dizaj, S. M.; Lotfipour, F.; Barzegar-Jalali, M.; Zarrintan, M. H.; Adibkia, K., Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *44*, 278-284.
4. Hansen, S. F.; Hansen, O. F. H.; Nielsen, M. B., Advances and challenges towards consumerization of nanomaterials. *Nat. Nanotechnology* **2020**, *15* (12), 964-965.
5. Kabir, E.; Kumar, V.; Kim, K. H.; Yip, A. C. K.; Sohn, J. R., Environmental impacts of nanomaterials. *J. Environ. Manage.* **2018**, *225*, 261-271.
6. Holgate, S. T., Exposure, Uptake, Distribution and Toxicity of Nanomaterials in Humans. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2010**, *6* (1), 1-19.
7. Moloj, M. S.; Lehutso, R. F.; Erasmus, M.; Oberholster, P. J.; Thwala, M., Aquatic Environment Exposure and Toxicity of Engineered Nanomaterials Released from Nano-Enabled Products: Current Status and Data Needs. *Nanomaterials* **2021**, *11* (11), 2868.
8. Richardson, S. D.; Ternes, T. A., Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2022**, *94* (1), 382-416.
9. Union, E., Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. **2011**, 275, 38.
10. Martin, P.; Zhang, P.; Rodger, P. M.; Valsami-Jones, E., Simulations of morphological transformation in silver nanoparticles as a tool for assessing their reactivity and potential toxicity. *NanoImpact* **2019**, *14*.
11. Gruère, G. P.; Narrod, C. A.; Abbott, L., DC: International Food Policy Research Institute, Agricultural, food, and water nanotechnologies for the poor. **2011**.

12. Ansari, S. A.; Khan, M. M.; Ansari, M. O.; Lee, J.; Cho, M. H., Biogenic Synthesis, Photocatalytic, and Photoelectrochemical Performance of Ag-ZnO Nanocomposite. *J. Phys Chem. C* **2013**, *117* (51), 27023-27030.
13. Gordon, T.; Perlstein, B.; Houbara, O.; Felner, I.; Banin, E.; Margel, S., Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids Surf., A* **2011**, *374* (1-3), 1-8.
14. Martinez-Abad, A.; Lagaron, J. M.; Ocio, M. J., Development and Characterization of Silver-Based Antimicrobial Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Films for Food-Packaging Applications. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (21), 5350-5359.
15. Cushen, M.; Kerry, J.; Morris, M.; Cruz-Romero, M.; Cummins, E., Nanotechnologies in the food industry - Recent developments, risks and regulation. *Trends Food Sci. Technol.* **2012**, *24* (1), 30-46.
16. Duncan, T. V., Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *363* (1), 1-24.
17. Bumbudsanpharoke, N.; Ko, S., Nano-Food Packaging: An Overview of Market, Migration Research, and Safety Regulations. *J. Food Sci.* **2015**, *80* (5), R910-R923.
18. Adeyeye, S. A. O., Food packaging and nanotechnology: safeguarding consumer health and safety. *Nutr. Food Sci.* **2019**, *49* (6), 1164-1179.
19. He, X. J.; Deng, H.; Hwang, H. M., The current application of nanotechnology in food and agriculture. *J. Food Drug Anal.* **2019**, *27* (1), 1-21.
20. Castro-Mayorga, J. L.; Fabra, M. J.; Lagaron, J. M., Stabilized nanosilver based antimicrobial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanocomposites of interest in active food packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2016**, *33*, 524-533.
21. Ramos, K.; Gomez-Gomez, M. M.; Camara, C.; Ramos, L., Silver speciation and characterization of nanoparticles released from plastic food containers by single particle ICPMS. *Talanta* **2016**, *151*, 83-90.
22. Sharma, C.; Dhiman, R.; Rokana, N.; Panwar, H., Nanotechnology: An Untapped Resource for Food Packaging. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*.

23. AshaRani, P. V.; Hande, M. P.; Valiyaveetil, S., Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. *BMC Cell Biol.* **2009**, *10*.
24. Mei, L.; Wang, Q., Advances in Using Nanotechnology Structuring Approaches for Improving Food Packaging. *Annu. Rev. of Food Sci. and Technol.* **2020**, *11*, 339-364.
25. Wijnhoven, S. W. P.; Peijnenburg, W.; Herberts, C. A.; Hagens, W. I.; Oomen, A. G.; Heugens, E. H. W.; Roszek, B.; Bisschops, J.; Gosens, I.; Van de Meent, D.; Dekkers, S.; De Jong, W. H.; Van Zijverden, M.; Sips, A.; Geertsma, R. E., Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* **2009**, *3* (2), 109-138.
26. Yang, T. X.; Paulose, T.; Redan, B. W.; Mabon, J. C.; Duncan, T. V., Food and Beverage Ingredients Induce the Formation of Silver Nanoparticles in Products Stored within Nanotechnology-Enabled Packaging. *Acs Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13* (1), 1398-1412.
27. Song, H.; Li, B.; Lin, Q. B.; Wu, H. J.; Chen, Y., Migration of silver from nanosilver-polyethylene composite packaging into food simulants. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* **2011**, *28* (12), 1758-1762.
28. von Goetz, N.; Fabricius, L.; Glaus, R.; Weitbrecht, V.; Gunther, D.; Hungerbuhler, K., Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* **2013**, *30* (3), 612-620.
29. Ding, R.; Yang, P. J.; Yang, Y.; Yang, Z. G.; Luo, L.; Li, H. P.; Wang, Q., Characterisation of silver release from nanoparticle-treated baby products. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* **2018**, *35* (10), 2052-2061.
30. Noonan, G. O.; Whelton, A. J.; Carlander, D.; Duncan, T. V., Measurement Methods to Evaluate Engineered Nanomaterial Release from Food Contact Materials. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2014**, *13* (4), 679-692.
31. Organization, W. H., *State of the art on the initiatives and activities relevant to risk assessment and risk management of nanotechnologies in the food and agriculture sectors: FAO/WHO technical paper*. World Health Organization: 2013.

32. Simeonova, P. P.; Opopol, N.; Luster, M. I., *Nanotechnology--toxicological issues and environmental safety*. Springer: 2007.
33. Baranowska-Wojcik, E.; Szwajgier, D.; Oleszczuk, P.; Winiarska-Mieczan, A., Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health-a Review. *Biol. Trace Elem. Res.* **2020**, *193* (1), 118-129.
34. Mortensen, N. P.; Johnson, L. M.; Grieger, K. D.; Ambroso, J. L.; Fennell, T. R., Biological interactions between nanomaterials and placental development and function following oral exposure. *Reprod. Toxicol.* **2019**, *90*, 150-165.
35. McClements, D. J.; Xiao, H.; Demokritou, P., Physicochemical and colloidal aspects of food matrix effects on gastrointestinal fate of ingested inorganic nanoparticles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2017**, *246*, 165-180.
36. Echegoyen, Y.; Nerin, C., Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *62*, 16-22.
37. Xu, L. M.; Takemura, T.; Xu, M. S.; Hanagata, N., Toxicity of Silver Nanoparticles as Assessed by Global Gene Expression Analysis. *Materials Express* **2011**, *1* (1), 74-79.
38. El Badawy, A. M.; Luxton, T. P.; Silva, R. G.; Scheckel, K. G.; Suidan, M. T.; Tolaymat, T. M., Impact of Environmental Conditions (pH, Ionic Strength, and Electrolyte Type) on the Surface Charge and Aggregation of Silver Nanoparticles Suspensions. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44* (4), 1260-1266.
39. Abbas, Q.; Yousaf, B.; Amina; Ali, M. U.; Munir, M. A. M.; El-Naggar, A.; Rinklebe, J.; Naushad, M., Transformation pathways and fate of engineered nanoparticles (ENPs) in distinct interactive environmental compartments: A review. *Environ. Int.* **2020**, *138*.
40. Bhattacharjee, S., DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *J. Control. Release* **2016**, *235*, 337-351.
41. Chambers, B. A.; Afrooz, A.; Bae, S.; Aich, N.; Katz, L.; Saleh, N. B.; Kirisits, M. J., Effects of Chloride and Ionic Strength on Physical Morphology, Dissolution, and Bacterial Toxicity of Silver Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48* (1), 761-769.

42. Cornelis, G.; Hund-Rinke, K.; Kuhlbusch, T.; Van den Brink, N.; Nickel, C., Fate and Bioavailability of Engineered Nanoparticles in Soils: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2014**, *44* (24), 2720-2764.
43. Deonarine, A.; Lau, B. L. T.; Aiken, G. R.; Ryan, J. N.; Hsu-Kim, H., Effects of Humic Substances on Precipitation and Aggregation of Zinc Sulfide Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45* (8), 3217-3223.
44. Lowry, G. V.; Gregory, K. B.; Apte, S. C.; Lead, J. R., Transformations of Nanomaterials in the Environment. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46* (13), 6893-6899.
45. Law, N.; Ansari, S.; Livens, F. R.; Renshaw, J. C.; Lloyd, J. R., Formation of Nanoscale Elemental Silver Particles via Enzymatic Reduction by *Geobacter sulfurreducens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74* (22), 7090-7093.
46. He, D.; Dorantes-Aranda, J. J.; Waite, T. D., Silver Nanoparticle-Algae Interactions: Oxidative Dissolution, Reactive Oxygen Species Generation and Synergistic Toxic Effects. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46* (16), 8731-8738.
47. Khlebtsov, B. N.; Khlebtsov, N. G., On the Measurement of Gold Nanoparticle Sizes by the Dynamic Light Scattering Method. *Colloid J.* **2011**, *73* (1), 118-127.
48. Kammer, F. V. D.; Baborowski, M.; Friese, K., Field-flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering detectors: Applicability and analytical benefits for the analysis of environmental colloids. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *552* (1-2), 166-174.
49. Brar, S. K.; Verma, M., Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *Trac-Trends Analyt. Chem.* **2011**, *30* (1), 4-17.
50. Majedi, S. M.; Lee, H. K., Recent advances in the separation and quantification of metallic nanoparticles and ions in the environment. *Trac-Trends Analyt. Chem.* **2016**, *75*, 183-196.
51. Enescu, D.; Cerqueira, M. A.; Fucinos, P.; Pastrana, L. M., Recent advances and challenges on applications of nanotechnology in food packaging. A literature review. *Food Chem. Toxicol.* **2019**, *134*.
52. Mackevica, A.; Olsson, M. E.; Hansen, S. F., Silver nanoparticle release from commercially available plastic food containers into food simulants. *J. Nanopart. Res.* **2016**, *18* (1).

53. Huang, Y. M.; Chen, S. X.; Bing, X.; Gao, C. L.; Wang, T.; Yuan, B., Nanosilver Migrated into Food-Simulating Solutions from Commercially Available Food Fresh Containers. *Packag. Technol. Sci.* **2011**, *24* (5), 291-297.
54. Hasselov, M.; Readman, J. W.; Ranville, J. F.; Tiede, K., Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. *Ecotoxicology* **2008**, *17* (5), 344-361.
55. Cidu, R., Comparison of ICP-MS and ICP-OES in the determination of trace elements in water. *At. Spectrosc.* **1996**, *17* (4), 155-162.
56. Nisi, S.; Copia, L.; Dafinei, I.; Di Vacri, M. L., ICP-MS measurement of natural radioactivity at LNGS. *Int. J. Mod. Phys. A* **2017**, *32*, (30).
57. Thomas, R., *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*. CRC press: 2008.
58. Beres, S. A.; Bruckner, P. H.; Denoyer, E. R., Performance evaluation of a cyclonic spray chamber for ICP-MS. *At. Spectrosc.* **1994**, *15* (2), 96-99.
59. Laborda, F.; Bolea, E.; Jimenez-Lamana, J., Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Nanoanalysis. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (5), 2270-2278.
60. Montano, M. D.; Olesik, J. W.; Barber, A. G.; Challis, K.; Ranville, J. F., Single Particle ICP-MS: Advances toward routine analysis of nanomaterials. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (19), 5053-5074.
61. Pace, H. E.; Rogers, N. J.; Jarolimek, C.; Coleman, V. A.; Higgins, C. P.; Ranville, J. F., Determining Transport Efficiency for the Purpose of Counting and Sizing Nanoparticles via Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2011**, *83* (24), 9361-9369.
62. Gross, J. H., *Mass spectrometry: a textbook*. Springer Science & Business Media: 2006.
63. Taouatas, N.; Drugan, M. M.; Heck, A. J. R.; Mohammed, S., Straightforward ladder sequencing of peptides using a Lys-N metalloendopeptidase. *Nat. Methods* **2008**, *5* (5), 405-407.
64. Hadioui, M.; Knapp, G.; Azimzada, A.; Jreije, I.; Frechette-Viens, L.; Wilkinson, K. J., Lowering the Size Detection Limits of Ag and TiO₂ Nanoparticles by Single Particle ICP-MS. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (20), 13275-13284.

65. Lee, S.; Bi, X. Y.; Reed, R. B.; Ranville, J. F.; Herckes, P.; Westerhoff, P., Nanoparticle Size Detection Limits by Single Particle ICP-MS for 40 Elements. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48* (17), 10291-10300.
66. Moldovan, M.; Krupp, E. M.; Holliday, A. E.; Donard, O. F. X., High resolution sector field ICP-MS and multicollector ICP-MS as tools for trace metal speciation in environmental studies: a review. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19* (7), 815-822.
67. Borovinskaya, O.; Hattendorf, B.; Tanner, M.; Gschwind, S.; Gunther, D., A prototype of a new inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometer providing temporally resolved, multi-element detection of short signals generated by single particles and droplets. *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28* (2), 226-233.
68. Thomas, R.; Stephan, C. The Benefits of Single-Particle ICP-MS to Better Understand the Fate and Behavior of Engineered Nanoparticles in Environmental Water Samples. *LCGC N. Am.* **2015**, *33*, 32-39.
69. Montano, M. D.; Badiei, H. R.; Bazargan, S.; Ranville, J. F., Improvements in the detection and characterization of engineered nanoparticles using spICP-MS with microsecond dwell times. *Environ. Sci. Nano* **2014**, *1* (4), 338-346.
70. Abad-Álvarez, I.; Laborda, F.; Bolea, E.; Castillo, J.; Bermejo-Barrera, P.; Peña-Vázquez, E. Evaluation of number concentration quantification by single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry: microsecond vs. millisecond dwell times. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408*, 5089-5097.
71. Islam, M. A.; Jacob, M. V.; Antunes, E., A critical review on silver nanoparticles: From synthesis and applications to its mitigation through low-cost adsorption by biochar. *J. Environ. Manage.* **2021**, *281*.
72. Dan, Y. B.; Zhang, W. L.; Xue, R. M.; Ma, X. M.; Stephan, C.; Shi, H. L., Characterization of Gold Nanoparticle Uptake by Tomato Plants Using Enzymatic Extraction Followed by Single-Particle Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry Analysis. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49* (5), 3007-3014.
73. Bao, D. P.; Oh, Z. G.; Chen, Z., Characterization of Silver Nanoparticles Internalized by Arabidopsis Plants Using Single Particle ICP-MS Analysis. *Frontiers in Plant Science* **2016**, *7*.

74. Dan, Y. B.; Ma, X. M.; Zhang, W. L.; Liu, K.; Stephan, C.; Shi, H. L., Single particle ICP-MS method development for the determination of plant uptake and accumulation of CeO₂ nanoparticles. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (19), 5157-5167.
75. Loeschner, K.; Navratilova, J.; Kobler, C.; Molhave, K.; Wagner, S.; von der Kammer, F.; Larsen, E. H., Detection and characterization of silver nanoparticles in chicken meat by asymmetric flow field flow fractionation with detection by conventional or single particle ICP-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (25), 8185-8195.
76. Witzler, M.; Kullmer, F.; Hirtz, A.; Gunther, K., Validation of Gold and Silver Nanoparticle Analysis in Fruit Juices by Single-Particle ICP-MS without Sample Pretreatment. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64* (20), 4165-4170.
77. Metak, A. M.; Nabhani, F.; Connolly, S. N., Migration of engineered nanoparticles from packaging into food products. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *64* (2), 781-787.
78. Papadochristopoulos, A.; Kerry, J. P.; Fegan, N.; Burgess, C. M.; Duffy, G., Natural Anti-Microbials for Enhanced Microbial Safety and Shelf-Life of Processed Packaged Meat. *Foods* **2021**, *10* (7).
79. Yildirim, S.; Rocker, B.; Pettersen, M. K.; Nilsen-Nygaard, J.; Ayhan, Z.; Rutkaite, R.; Radusin, T.; Suminska, P.; Marcos, B.; Coma, V., Active Packaging Applications for Food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2018**, *17* (1), 165-199.
80. Vance, M. E.; Kuiken, T.; Vejerano, E. P.; McGinnis, S. P.; Hochella, M. F.; Rejeski, D.; Hull, M. S., Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, *6*, 1769-1780.
81. Carbone, M.; Donia, D. T.; Sabbatella, G.; Antiochia, R., Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *J. King Saud Univ. Sci.* **2016**, *28* (4), 273-279.
82. Hannon, J. C.; Kerry, J. P.; Cruz-Romero, M.; Azlin-Hasim, S.; Morris, M.; Cummins, E., Migration assessment of silver from nanosilver spray coated low density polyethylene or polyester films into milk. *Food Packag. Shelf Life* **2018**, *15*, 144-150.
83. Jokar, M.; Correia, M.; Loeschner, K., Behavior of silver nanoparticles and ions in food simulants and low fat cow milk under migration conditions. *Food Control* **2018**, *89*, 77-85.

84. Jreije, I.; Azimzada, A.; Hadioui, M.; Wilkinson, K. J., Measurement of CeO₂ Nanoparticles in Natural Waters Using a High Sensitivity, Single Particle ICP-MS. *Molecules* **2020**, *25* (23).
85. Schwertfeger, D. M.; Velicogna, J. R.; Jesmer, A. H.; Saatcioglu, S.; McShane, H.; Scroggins, R. P.; Princz, J. I., Extracting Metallic Nanoparticles from Soils for Quantitative Analysis: Method Development Using Engineered Silver Nanoparticles and SP-ICP-MS. *Anal. Chem.* **2017**, *89* (4), 2505-2513.
86. Peters, R. J. B.; Rivera, Z. H.; van Bommel, G.; Marvin, H. J. P.; Weigel, S.; Bouwmeester, H., Development and validation of single particle ICP-MS for sizing and quantitative determination of nano-silver in chicken meat. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406* (16), 3875-3885.
87. Vidmar, J.; Buerki-Thurnherr, T.; Loeschner, K., Comparison of the suitability of alkaline or enzymatic sample pre-treatment for characterization of silver nanoparticles in human tissue by single particle ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, *33* (5), 752-761.
88. Hadioui, M.; Peyrot, C.; Wilkinson, K. J., Improvements to Single Particle ICPMS by the Online Coupling of Ion Exchange Resins. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (10), 4668-4674.
89. Liu, J. Y.; Hurt, R. H., Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44* (6), 2169-2175.
90. Duncan, T. V., Release of Engineered Nanomaterials from Polymer Nanocomposites: the Effect of Matrix Degradation. *Acs Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (1), 20-39.