

Université de Montréal

Spéciation chimique des nanoparticules d'argent dans les sols

par

Rachel Benoit

Département de Chimie

Faculté des Arts et Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Chimie

Août, 2012

© Rachel Benoit, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Spéciation chimique des nanoparticules d'argent dans les sols

Présenté par :

Rachel Benoit

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Karen Waldron, président-rapporteur
Sébastien Sauvé, directeur de recherche
Kevin J. Wilkinson, co-directeur
Antonella Badia, membre du jury

RÉSUMÉ

À cause de leurs propriétés antibactériennes, les nanoparticules d'argent sont couramment utilisées dans un grand nombre de produits tels les tissus, les savons et les produits médicaux. Dans cette industrie en pleine croissance, ces nanoparticules sont produites en grandes quantités et s'accumuleront éventuellement dans l'environnement. Pour comprendre le destin, le transport et la biodisponibilité des nanomatériaux, il est essentiel de comprendre leurs propriétés physicochimiques. Entre autres, il est particulièrement important de quantifier la dissolution des nanoparticules à l'aide de mesures de spéciation chimique. En effet, l'objectif de cette recherche est de déterminer la spéciation chimique des nanoparticules d'argent dans différents sols. Pour y parvenir, différentes concentrations de nanoparticules d'argent ont été incorporées dans un sol et après un certain laps de temps, la forme ionique a été mesurée à l'aide d'une électrode sélective d'argent tandis que l'argent total est mesuré par absorption atomique ou par ICP-MS. L'analyse de la spéciation dans trois sols différents révèle que les caractéristiques des sols influencent grandement la spéciation chimique, plus particulièrement la quantité de matière organique ainsi que le pH du sol. Ainsi, la tendance des résultats semble indiquer que plus un sol est acide, il y aura plus d'ions argent libres tandis que la matière organique adsorbe fortement les ions argent les rendant ainsi moins disponibles en solution. L'observation de la spéciation chimique à long terme indique aussi que les nanoparticules tendent à éventuellement se dissocier et ainsi émettre un plus grand nombre d'ions dans l'environnement. Ces résultats ont des implications importantes dans la détermination des risques environnementaux des nanoparticules métalliques.

Mots-clés : nanoparticules, argent, spéciation, électrode spécifique, sol

ABSTRACT

Because of their antibacterial properties, silver nanoparticles are widely used in common items such as textiles, soaps and medical products. This practice has shown a drastic expansion during the last years thus leading to potential contamination of the environment by nanoparticles. To understand fate, transport and bioavailability of nanoparticles, it is important to understand their physicochemical properties. More specifically, it is essential to quantify the dissolution of nanoparticles with chemical speciation measurements. The aim of this study is to quantify the speciation of silver nanoparticles in different soils. Different concentrations of silver nanoparticles have been injected in soil and after a specific time, the ionic form was measured with a silver specific electrode while total silver was quantified by atomic absorption or ICP-MS. Chemical speciation measurements in three different soils indicate that a soil's properties has a large influence on the fate of silver nanoparticles, especially it's pH and organic matter content. Results show that if a soil is acidic, it will lead to the release of more free silver ions while organic matter tends to adsorb ions making them less available. Over a six month period, nanoparticles seem to fix rapidly to soil solids but also seem to dissociate or oxidise over the months, leading to a greater amount of potentially bioavailable ions. These results have important implications to the determination of environmental risks of metal nanoparticles

Keywords : silver, nanoparticle, speciation, specific electrode, soil

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	i
ABSTRACT	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	viii
REMERCIEMENTS.....	ix
1. INTRODUCTION	1
1.1 PROBLÉMATIQUE	1
1.2 PROPRIÉTÉS DES NANOPARTICULES D'ARGENT	2
1.3 TRANSPORT DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS L'ENVIRONNEMENT	3
1.4 TOXICITÉ	5
1.4.1 Toxicité de l'argent	5
1.4.2 Toxicité des nanoparticules	7
1.5 SPÉCIATION	8
1.6 CHIMIE DE L'ARGENT DANS L'ENVIRONNEMENT	11
1.6.1 Ion Ag ⁺ dans l'environnement	11
1.6.2 Réactivité des sols	15
1.6.3 Sorption de l'argent sur les sols	16
1.7 SPÉCIATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS LES SOLS	16
1.7.1 Facteurs influençant la spéciation des nanoparticules.....	17
1.7.1.1 Agrégation et agglomération	17
1.7.1.2 Influence de l'enrobage des nanoparticules	18
1.7.1.3 Dissolution des nanoparticules	18
1.7.1.4 Force ionique du milieu	19
1.7.2 Cas de la spéciation des nanoparticules d'argent.....	19

1.8 TECHNIQUES ANALYTIQUES MESURANT LA SPÉCIATION.....	20
1.9 MÉTHODE D'ANALYSE : ÉLECTRODE SPÉCIFIQUE D'ARGENT	21
1.10 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES.....	24
2. OPTIMISATION DE LA MÉTHODE.....	25
2.1 FORCE IONIQUE DU MILIEU	25
2.2 STABILITÉ DE L'ÉLECTRODE.....	28
2.3 LIMITE DE DÉTECTION.....	29
2.4 CONCLUSION.....	34
3. SPÉCIATION CHIMIQUE ET RÉPARTITION DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS LES SOLS	35
3.1. INTRODUCTION	37
3.2 MATERIALS AND METHODS	40
Soil samples	40
Short-term exposures.....	41
Long-term exposures.....	41
ISE measurements	42
Characterization of the nAg	43
Chemical analysis	43
Quality control.....	44
3.3 RESULTS AND DISCUSSION	44
3.4 CONCLUSION.....	52
4. CONCLUSIONS	54
BIBLIOGRAPHIE	56
ANNEXE 1. MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE	i

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II-1. Spéciation d'Ag ⁺ ($9,18 \times 10^{-6}$ M) en présence de NaCl (0,1M) calculée à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).....	31
Tableau II-2. Spéciation d'Ag ⁺ ($9,18 \times 10^{-6}$ M) en présence de KBr (0,1M) calculée à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).....	32
Tableau II-3. Spéciation d'Ag ⁺ ($9,26 \times 10^{-7}$ M) en présence de NaI (0,01M) calculé à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).....	32
Tableau III-1. Physical and chemical characteristics of the soils (error bars correspond to standard deviations on duplicate measurements).....	41

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Estimation du transport des nanoparticules d'argent dans l'environnement (STP=sewage treatment plant, TWT=thermal waste treatment).....	4
Figure 1.2. Représentation de la répartition des métaux dans le fractionnement de la phase solide et de la spéciation chimique en solution.....	9
Figure 1.3. Rédox et stabilité de différentes espèces d'argent en présence d'halogénures.....	13
Figure 1.4. Solubilité des différentes espèces d'Ag à des activités ioniques communes dans les sols.....	14
Figure 1.5 Facteurs influençant les processus d'agglomération, l'agrégation et dissolution d'une nanoparticules dans l'environnement. ^a Considérant des charges de surface similaires. ^b Processus valide seulement pour les plus grosses particules.....	17
Figure 1.6. Schéma représentant les réactions à l'électrode.....	22
Figure 2.1. Différentes droites d'étalonnage de l'électrode spécifique d'argent en présence de différentes forces ioniques (a) 0,01 M NaNO ₃ (b) 0,05 M NaNO ₃ (c) 0,1 M NaNO ₃	26
Figure 2.2. Superposition des différents points des courbes d'étalonnage effectués avec l'ISE d'argent pendant 4 mois. 22 courbes d'étalonnage effectué durant les 4 mois, ont été reproduites ici. Les différents symboles correspondent à des étalonnages effectués à différentes journées.....	28
Figure 2.3. Signal de l'électrode sélective d'argent ○ Solutions d'AgNO ₃ avec 0,1 M NaNO ₃ * Solutions d'AgNO ₃ avec 0,1 M NaNO ₃ , (1) 0,1 M NaCl (9,18X10 ⁻⁶ M Ag ⁺), (2) 0,1M KBr (9,18X10 ⁻⁶ M Ag ⁺), (3) 0,01M NaI (9,26X10 ⁻⁷ M Ag ⁺) Potentiel=61,802[Ag ⁺]+490,32 R ² =0,9985.....	29
Figure. 3.1. ISE calibration curve for the measured potential of the Ag ISE as a function of the Ag ⁺ activity. (◆): solutions of AgNO ₃ in 0.1 M NaNO ₃ . (▲):	

solutions of AgNO ₃ in 0.1 M NaNO ₃ , except (1) 0.1M NaCl, (2) 0.1 M KBr, (3) 0.01 M NaI. Potential =61.6[Ag ⁺]+490 R ² =0.998.....	45
Figure 3.2. Response of the silver ionic electrode over 4 months of use	46
Figure 3.3. Speciation of Ag following the addition of nAg and AgNO ₃ in Agricultural soil 1	47
Figure.3.4. Speciation of Ag following the addition of nAg and AgNO ₃ in Agricultural soil 2.....	48
Figure 3.5. Speciation of Ag following the addition of nAg and AgNO ₃ in the Forest Soil.....	48
Figure. 3.6. Long-term exposure of Ag in agricultural soil 2 (a) 10 mg Ag/kg dry soil (b) 50 Ag mg/kg dry soil.....	41
Figure. A.1. Long-term exposure of Ag in agricultural soil 2 (a) 1 mg Ag/kg dry soil (b) 5 Ag mg/kg dry soil (c) 25 mg Ag/kg dry soil (d) 100 Ag mg/kg dry soil.....	i

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AEC	Capacité d'échange anionique (<i>Anion exchange capacity</i>)
Ag _(c)	Argent sous forme cristalline
CEC	Capacité d'échange cationique (<i>Cation exchange capacity</i>)
DOM	Matière organique dissoute (<i>Dissolved organic matter</i>)
EXAFS	Rayon-X d'absorption de structure fine (<i>Extended x-ray absorption fine structure</i>)
F	Constante de Faraday ($9,64853415 \times 10^4$ C/mol)
ICP-MS	Spectrométrie par torche à plasma (<i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
ISE	Électrode sélective d'ion (<i>ion specific electrode</i>)
K'	Constante d'équilibre en terme d'activité
K _d	Coefficient de partage
K _r	Coefficient de rétention
n	nombre d'électron dans la demi-réaction
nAg	Nanoparticules d'argent
OM	Matière organique (<i>Organic matter</i>)
pe	Log négatif de l'activité des électrons
PVP	Polyvinylpyrrolidone
PZC	Point de charge zéro (<i>Point of zero charge</i>)
R	Constante des gaz ($8,314472$ (V*C)/(K*mol))
SOM	Matière organique du sol (<i>Soil organic matter</i>)
T	Température (K)
z	Charge de l'ion
α	activité de l'espèce en solution
μ	Force ionique
γ _c	Coefficient d'activité

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier les professeurs Sébastien Sauvé et Kevin J. Wilkinson pour m'avoir donné l'opportunité de faire une maîtrise dans leurs laboratoires et de leurs judicieux conseils tout au long de mon parcours. J'aimerais aussi remercier tous mes collègues de ces deux groupes pour tous les bons moments passés ensemble. Je voudrais remercier plus particulièrement Paul Fayad de toujours m'avoir prodigué de précieux conseils, mes collègues de bureau Audrey Roy-Lachapelle et Morgan Sollicec ainsi que Caroline Peyrot pour son aide précieuse dans ce projet. J'aimerais remercier Marie-Claude Turmel pour son aide apporté lors de l'analyse des sols.

J'aimerais dire un merci spécial à tous mes amis chimistes, il serait trop long de tous vous nommer mais vous savez qui vous êtes! Merci pour tout le soutien, les discussions, les pauses au Café-in et les fameux bières et pizza. Vous avez embelli toutes ces années à l'Université de Montréal.

Je ne voudrais pas oublier mes autres amies, Élizabeth, Dominique, Geneviève et Samuelle qui m'ont supporté dans tous mes projets depuis de nombreuses années et qui sont d'un soutien exemplaire.

Finalement, un grand merci à mes parents (et mon frère!) ainsi que toute ma famille qui m'ont toujours encouragé et qui ont toujours été là pour moi.

1. INTRODUCTION

1.1 PROBLÉMATIQUE

De nos jours, des milliers de produits chimiques sont rejetés dans l'environnement. Plusieurs de ces contaminants sont connus et réglementés tels les métaux traces, les pesticides, les contaminants organiques ou inorganiques. Une nouvelle catégorie de contaminants est ciblée dans les dernières années, ce sont les contaminants d'intérêt émergent. Ce sont des contaminants dont les effets sur l'environnement ne sont pas très bien connus. On retrouve en outre dans cette catégorie les produits pharmaceutiques, les hormones, les plastifiants et les nanoparticules.

L'industrie des nanoparticules est en pleine expansion. En date de mars 2011, on répertoriait plus de 1317 produits contenant des nanoparticules et depuis ce temps ce nombre ne cesse d'augmenter (Rejeski et al., 2012). Ainsi, leur utilisation ainsi que le potentiel de dispersion environnemental augmente sans cesse sans qu'on sache pour autant quels seront leurs effets sur l'environnement. Il est donc primordial d'étudier ces nanoparticules afin de bien comprendre les risques reliés à leur apparition dans l'environnement. Les principales questions auxquelles il faut répondre sont: sous quelle forme se retrouveront les nanoparticules dans des conditions environnementales (nanoparticules, agrégats, ions) et quelle est leur toxicité ?

Parmi les différentes nanoparticules, une des plus utilisées est la nanoparticule d'argent (Rejeski et al., 2012). Les nanoparticules d'argent sont très populaires à cause de leurs effets antimicrobiens. Elles sont utilisées dans un grand nombre de produits tels les tissus, les savons, peintures et les produits médicaux (Benn & Westerhoff, 2008; Farre et al., 2009); Wijnhoven et al. (2009). En cheminant par les déchets domestiques et industriels, les nanoparticules peuvent se retrouver dans les

cours d'eau ou encore dans les sols. Quelques études se sont intéressées à la toxicité des nanoparticules d'argent mais il existe encore très peu d'informations disponibles sur la spéciation des nanoparticules, particulièrement en ce qui a trait à leur spéciation chimique dans les sols.

1.2 PROPRIÉTÉS DES NANOPARTICULES D'ARGENT

Les nanoparticules sont des structures ayant une de leur dimension entre 1 et 100 nm. Dans le cas des nanoparticules d'argent, cela voudrait dire qu'elles contiennent entre 20 et 15 000 atomes d'argent (Wijnhoven et al., 2009). Cette dimension particulière des nanoparticules leur procure de nouvelles caractéristiques qui ne sont pas présentes pour de plus grandes molécules. Par exemple, leur grande surface de contact par rapport à leur petit volume leur procure une plus grande réactivité que les composés de plus grande taille. Étant donné leur taille, leurs propriétés chimiques, mécaniques, électroniques et nucléaires peuvent être très différentes que ce qui est normalement observé pour les métaux (Bernhardt et al., 2010b). À cause de cette taille qui est du même ordre de grandeur que les longueurs d'onde de la fonction d'onde, leur propriétés électroniques et optiques sont différentes que le même matériel ayant des dimensions plus grandes que le nanomètre. C'est propriétés sont dues au confinement quantique, il apparaît lorsque les électrons et les trous sont confinés dans au moins une des trois directions de l'espace. De plus, étant donné leur taille nanométrique, elles pourraient interagir plus facilement avec les systèmes biologiques et causer une plus grande toxicité en comparaison de particules d'argent de plus grande taille ou des ions argent car elles peuvent pénétrer les membranes cellulaires (Farre et al., 2009). Elles peuvent se trouver sous différentes formes telles que des sphères, des tubes ou des cubes. Plusieurs de ces nanoparticules sont fixées avec un polymère ou un réactif leur permettant d'être plus stables et d'éviter qu'elles ne s'agrègent. Les réactifs les plus communs sont le borohydride de sodium, l'acide citrique et le polyvinylpyrrolidone

(PVP) (VandeVoort & Arai, 2012). Les nanoparticules sont par définition composées d'argent zérovalent mais il y a de fortes chances qu'il y ait relativement rapidement une oxydation en Ag^+ à leur surface (VandeVoort & Arai, 2012).

Les nanoparticules d'argent (nAg) ont plusieurs propriétés qui les rendent si populaires. Une de leurs grandes propriétés est un pouvoir antibactérien. En effet, elles agissent efficacement pour tuer plusieurs sortes de bactéries Gram-positive (ex : *Listeria*), Gram-négative (ex : *Salmonella*) et des bactéries résistantes aux antibiotiques. C'est une des raisons pour lesquelles, les nAg sont très populaires dans les emballages des aliments, dans le milieu hospitalier et dans les tissus anti-odeur. Les nAg sont aussi efficaces comme agents antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires. Elles sont aussi utilisées dans un autre domaine: la résonance de plasmon de surface. Lorsque déposées sur une surface de verre, les nAg produisent une intense couleur qui est attribuée aux oscillations dans la densité électronique lorsque qu'elles interagissent avec un champ électromagnétique. Ces oscillations sont très sensibles à l'adsorption de molécules sur la surface du métal et permettent la détection de différentes molécules biologiques (Wijnhoven et al., 2009).

1.3 TRANSPORT DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS L'ENVIRONNEMENT

Les nAg sont produites en grande quantité pour satisfaire nos besoins et elles se retrouvent dans un grand nombre de biens de consommation. On les retrouve dans les produits personnels, dans les textiles, dans l'électronique, dans les systèmes de purification et dans les produits médicaux.

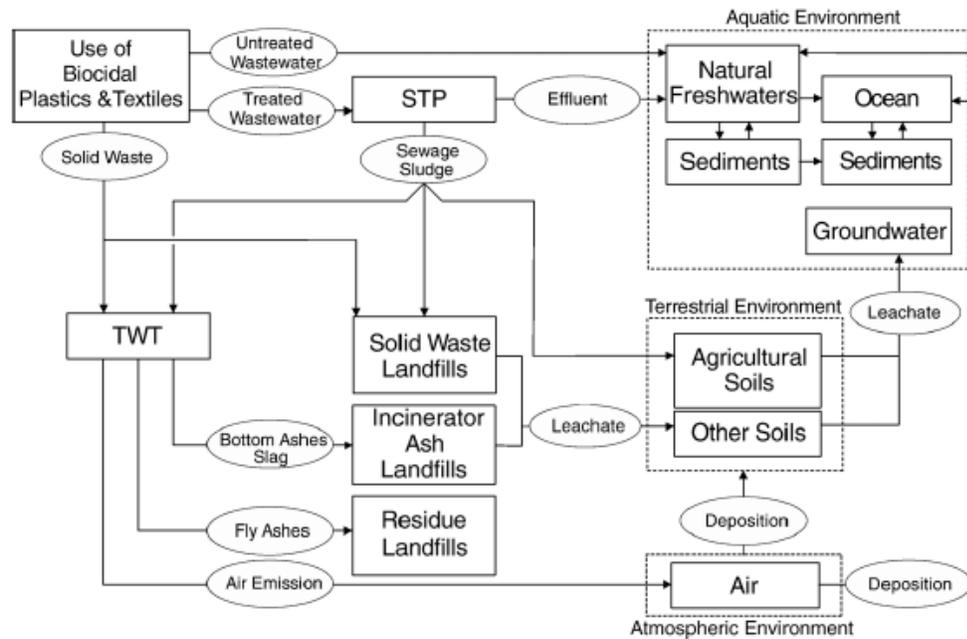


Figure 1.1 Estimation du transport des nanoparticules d'argent dans l'environnement (STP=sewage treatment plant, TWT=thermal waste treatment)(Blaser et al., 2008)

Les nanoparticules d'argent peuvent se retrouver dans l'environnement de différentes manières, à travers les rejets industriels, les sites d'enfouissements ou encore à cause de leur utilisation dans certains produits de soins personnels. Certains produits tels les produits médicaux se retrouvent dans les sites d'enfouissement où les nanoparticules et l'argent contenues dans les déchets pourraient être lessivés et se retrouver dans l'environnement aquatique. Il a été démontré que différents tissus anti-odeurs contenant des nanoparticules d'argent relâchent des nAg dans l'eau de lavage (Benn & Westerhoff, 2008). Provenant d'un usage domestique résidentiel, les shampoings, dentifrices et détergents sont rejetés dans l'eau vers l'usine d'épuration (Benn et al., 2010). Dans l'usine d'épuration, les nAg vont se lier en grande partie aux boues d'épuration qui seront ensuite déposées dans les sites d'enfouissement ou alors revalorisées comme engrais dans les terres agricoles, tel qu'illustrée à la figure 1.1. On pourrait donc considérer que

l'application de ces boues sur les sols est une très grande source de contamination potentielle par les nAg.

1.4 TOXICITÉ

L'industrie des nanoparticules d'argent est en pleine expansion, il est important d'estimer les risques que pourraient provoquer la présence de ces nAg dans l'environnement. Ayant de nouvelles propriétés, il est possible que la toxicité soit différente de celle de l'argent et des ions Ag^+ . Comme elles sont conçues pour être hautement réactives, elles pourraient donc être très toxiques. De plus, il est aussi possible que les nanoparticules d'argent puissent relâcher des ions Ag^+ qui ont des effets toxiques connus. Les nanoparticules d'argent ont le potentiel de se lier aux membranes des cellules et ainsi de leur causer de grands dommages. Il est possible qu'elles entrent dans les cellules et causent des dommages cellulaires pouvant même causer la mort de la cellule. On peut même envisager que les nanoparticules d'argent soient plus toxiques que l'ion libre Ag^+ car, contrairement à l'ion, si elles sont sans charge, elles seront potentiellement plus facilement capables de pénétrer la membrane cellulaire. Le mode d'action des nAg n'est pas encore totalement compris mais l'hypothèse est qu'une fois à l'intérieur de la cellule elles se lient aux ligands contenant du sulfure permettant ainsi la dénaturation des protéines, ce qui causerait la mort de la cellule (Benn et al., 2010).

1.4.1 Toxicité de l'argent

Étant donné qu'encore peu d'études ont été faites sur la toxicité des nAg et qu'il est possible qu'une partie de cette toxicité soit due au relâchement d'ions Ag^+ , il est important de bien connaître leurs effets dans l'environnement. Les données toxicologiques de l'argent sont basées sur les formes Ag^0 et Ag^+ . De plus, les effets

toxiques des substances contenant de l'argent sont normalement proportionnels à la concentration d'ion libre relâché. Selon Ratte, l'ion d'argent a été classé comme l'un des plus toxiques étant dans la même classe de toxicité que le cadmium, le chrome (VI), le cuivre et le mercure (Ratte, 1999). Les composés solubles de l'argent peuvent être rapidement absorbés dans le corps et ainsi produire des effets néfastes. Les effets néfastes pour l'humain les plus connus sont une décoloration de la peau en gris ou bleu-gris (argyrie) dû à une exposition chronique à l'argent. D'autres effets chroniques peuvent apparaître telle une dégénération du foie et des reins. L'argent peut aussi s'accumuler dans le cerveau et dans les muscles (Bernhardt et al., 2010b). L'ion Ag^+ est toxique pour les champignons, les algues et les bactéries. De plus, Ag^+ inhibe les enzymes responsables pour les cycles nutritifs de P, S et N. Il inhibe aussi l'activité microbienne ainsi que la croissance des algues (Ratte, 1999).

Il a été démontré que l'argent est un métal bioaccumulable. Les algues ont la capacité d'accumuler l'argent et cette bioaccumulation est encore plus grande chez des organismes filtreurs comme les bivalves et certains mollusques (Bernhardt et al., 2010a). L'argent s'accumule aussi dans les truites via le canal de sodium (Bernhardt et al., 2010b). Comme l'argent est bioaccumulable, il y a un plus grand risque de toxicité.

La toxicité de l'argent est plus grande lorsque le composé est soluble tel que le thiophosphate d'argent ou le nitrate d'argent en comparaison des sulfures et chlorure d'argent. En contact avec l'argent, la croissance et la germination de certaines plantes ont été affectées. Dans le cas de vers de terre, leur croissance était aussi diminuée en présence d'argent pendant une exposition de 28 jours pour une concentration de 62 mg Ag/kg (Ratte, 1999).

1.4.2 Toxicité des nanoparticules

Les études de toxicité sont encore peu nombreuses, particulièrement pour ce qui concerne les sols. Dans le cas d'un environnement aquatique, une étude a été menée afin de déterminer la toxicité des nanoparticules d'argent sur une algue : *Chlamydomonas reinhardtii*. Une comparaison a été faite entre la toxicité des ions Ag^+ ainsi que celles des nanoparticules d'argent. Il s'est avéré que les nanoparticules étaient toxiques dû au relâchement d'ions Ag^+ (Navarro et al., 2008). Cela confirme l'hypothèse que la toxicité peut être, entre autre, induite par la dissolution et la dispersion d'ions. Il semblerait même que cela puisse être plus toxique car la dissolution semble particulièrement efficace. Nous ne savons pas si la nanoparticule entre dans la cellule et relâche l'ion à cet endroit ou si elle le relâche dans la solution et si cet ion se rend jusqu'à la cellule. Le premier cas pourrait potentiellement induire une plus grande toxicité.

Dans les sols, certains tests ont été faits avec les vers de terre mais la toxicité semblait beaucoup dépendre du type de sol. Une petite bioaccumulation des nAg a été observée et une diminution de la croissance ainsi qu'une toxicité envers la reproduction a été observée dans un sol sablonneux contaminé avec 801 mg nAg/kg. Dans l'une de ces études, la toxicité était attribuée majoritairement aux ions Ag^+ (Coutris et al., 2012a; Shoultz-Wilson et al., 2011; Tourinho et al., 2012). La toxicité a aussi été testée sur un autre organisme vivant dans le sol, le nématode *Caenorhabditis elegans*. Dans ce cas-ci, des effets toxiques avaient aussi eu lieu concernant la reproduction pour une exposition à 0,1 mg/L de nAg. De plus, ces effets ne semblaient pas provenir du relâchement d'ion Ag^+ mais plutôt par l'action des nAg directement sur la surface des nématodes (Roh et al., 2009). Par contre, ce test a été effectué dans une solution en pétri, ces résultats sont donc possiblement non représentatifs de la toxicité des sols. D'autres ont étudié les communautés microbiales d'un sol arctique et ont remarqué une diminution de la croissance des bactéries. Ils ont trouvés que les nanoparticules d'argent avaient un potentiel

hautement toxique et que cette toxicité était induite par la taille nanométrique des nanoparticule car l'effet était beaucoup moindre chez les colonies ayant des concentrations d'argent micrométrique (Kumar et al., 2011). D'après ces résultats, il est clair que plus d'études sur la toxicité des nanoparticules d'argent dans les sols est nécessaire afin de vraiment pouvoir déterminer leur mode d'action.

1.5 SPÉCIATION

La spéciation est la distribution des espèces chimiques d'un métal donné. Dans un sol, on peut aussi parler de fractionnement en ce qui a trait aux espèces chimiques dans les phases solides tandis qu'on parlera de spéciation chimique pour les espèces en solution. La figure 1.2 montre les différentes espèces présentes dans un environnement tel qu'un sol. Les métaux peuvent se retrouver sous la forme d'espèces hautement solubles, adsorbés ou alors précipités. Dans les sols, les sites réactifs sont la matière organique, les oxydes d'aluminium, de fer et de manganèse ainsi que les argiles.

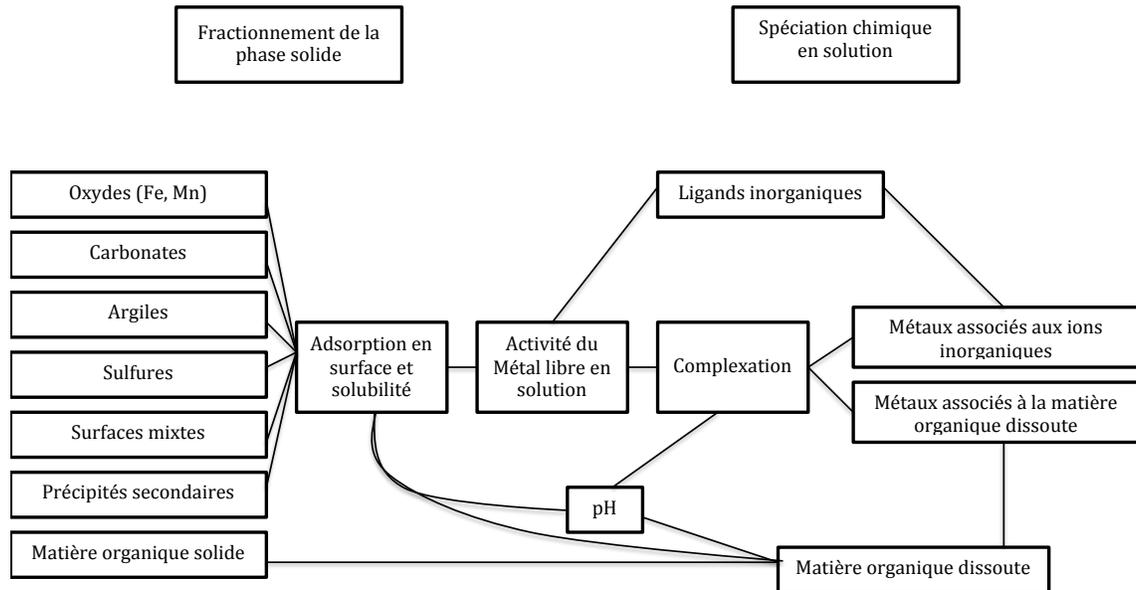


Figure 1.2. Représentation de la répartition des métaux dans le fractionnement de la phase solide et de la spéciation chimique en solution (Chaperon, 2005; Sauvé, 2002)

Lorsqu'on fait des mesures de spéciation chimique, il faut procéder à une extraction afin de pouvoir faire des mesures dans ce qu'on appelle la solution du sol qui est l'eau contenue dans le sol. Pour l'extraction de la solution de sol différentes techniques peuvent être utilisées. Normalement, la solution de sol s'obtient en centrifugeant le sol mais, sans ajout de liquide, ce volume ne sera assez suffisant pour faire les analyses voulues. Alors, une solution de sol est souvent reproduite en ajoutant de l'eau ou une solution d'un sel dilué (ex : NaNO_3 ou CaCl_2) au sol. Le volume de liquide est environ deux fois plus grand que celui du sol et le tout est brassé puis centrifugé. Cette extraction est représentée par le coefficient de partage (K_d) qui est défini tel que :

 quation 1-1

$$K_d = \frac{\text{Métal total dans le sol}}{\text{Métal dans la phase liquide}}$$

Le coefficient de partage indique la préférence des métaux vers la phase liquide ou solide. En général, différents facteurs peuvent influencer le coefficient de partage. Le pH de la solution influence la solubilité du métal tandis que la concentration en cations peut influencer la disponibilité des ions dû à la compétition entre cations pour la complexation avec les ligands dissous. Les ions peuvent aussi se complexer avec la matière organique dissoute (DOM) ou s'adsorber sur la matière organique solide (SOM) ce qui influencera la spéciation chimique et le fractionnement du métal (Figure 1.2). Aux concentrations normalement retrouvées dans l'environnement, ce sont surtout les processus d'adsorption qui contrôlent la biodisponibilité des métaux (Sauvé, 2003). Le coefficient de partage est parfois utilisé pour évaluer la biodisponibilité des métaux pour les organismes.

Cornelis et al. ont utilisé une méthode s'inspirant du coefficient de partage afin de déterminer le coefficient de rétention (K_r) des nanoparticules d'argent dans les sols. Le coefficient de rétention prend en compte les processus de dissolution des nanoparticules (Cornelis et al., 2010). Le coefficient de rétention ($L\ kg^{-1}$) est calculé à l'aide de l'équation 1-2.

$$\text{Équation 1-2} \quad K_r = \frac{M_{solide}}{M_{NP}} \times \frac{L}{S} (L\ kg^{-1})$$

Où L est le volume du liquide et S est la masse du sol sec. M_{NP} représente la masse de nanoparticules qui n'est pas déposée sur la surface de sol (en excluant la fraction de nanoparticules dissoutes) et M_{solide} est la masse de nanoparticules retenue par le sol.

Cornelis et al. ont obtenu des plus grandes valeurs de K_r pour les sols ayant des plus grandes concentrations d'argiles signifiant que les sols argileux ont une plus grande capacité de rétention des nanoparticules d'argent. L'argent dissous va

préférentiellement interagir avec des colloïdes tels que la matière organique et les argiles. De plus, la texture du sol semble avoir une grande influence sur le coefficient de rétention.

1.6 CHIMIE DE L'ARGENT DANS L'ENVIRONNEMENT

Une fois dans l'environnement, les nanoparticules peuvent subir différentes transformations telles l'agrégation, l'agglomération, la sorption sur les surfaces ou alors une dissolution en ions. De plus, leurs enrobages peuvent certainement influencer leur comportement dans l'environnement. Il devient donc difficile de prédire le comportement des nanoparticules d'argent dans l'environnement. Pour y voir un peu plus clair, il peut être utile de regarder comment les ions argent agissent dans ce milieu.

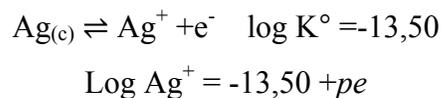
1.6.1 Ion Ag^+ dans l'environnement

Dans l'environnement, l'ion Ag^+ est souvent trouvé associé avec des sulfures, bicarbonates, sulfates ou alors complexé avec des chlorures et des sulfates adsorbés sur la matière organique dans la phase aqueuse. Lorsque sous forme de nitrate d'argent ou de chlorure d'argent, il est soluble dans l'eau contrairement à l'argent seul qui est totalement insoluble (Wijnhoven et al., 2009). On retrouve naturellement dans les sols une concentration d'environ $0,05 \text{ mg Ag kg}^{-1}$ (Lindsay, 1979). L'argent fait partie du groupe IB du tableau périodique comprenant aussi les métaux cuivre et or. Ces métaux ont la capacité de résister à l'oxydation et restent relativement stables dans leur forme zéro-valente dans l'environnement. Les ions argent peuvent avoir Ag(I) , Ag(II) et Ag(III) comme forme d'oxydation mais les deux dernières sont extrêmement rares dans des conditions environnementales. L'ion Ag(I) est classé comme métal mou acide. Ce type de métal montre une résistance à la réduction ou à la polarisation ainsi qu'une forte électronégativité.

Ainsi, ces métaux préfèrent s'associer à des composés basiques mous. Dans le cas de l'argent, on le retrouvera surtout lié à des groupes S^{2-} et de la matière organique comprenant les acides humiques et fulviques. La matière organique peut jouer un rôle important dans le contrôle du cycle biogéochimique, de la mobilité et de la sorption sur les sols (Jacobson et al., 2005). La majorité des ions Ag^+ se retrouve dans la fraction colloïdale, dans des particules mesurant entre 10 et 200 nm. Ces colloïdes sont formés d' $Ag(I)$ liés à de la matière organique riche en groupes thiols.

Les prochaines figures montrent la spéciation d' Ag^+ dans les sols lorsqu'en présence de différents ions communs dans les sols. La Figure 1.3 montre les différents minéraux d'argent stables dans le sol, dépendamment de l'activité des halogénures. Tous les halogénures d'argent à l'exception d' AgF sont assez insolubles pour être considérés comme un minéral stable. Grâce à la figure 1.3, il est possible de prédire quels minéraux seront stables car cette figure tient compte des activités des halogénures et des conditions d'oxydo-réduction. Le minéral ayant l'activité d' Ag^+ la plus basse est le minéral qui sera le plus stable. Prenons par exemple un sol ayant des log d'activité de -1 pour Cl^- , -5 pour Br^- et -8 pour I^- et faisons intercepter ces valeurs avec chacune de leurs diagonales respectives. À cette intersection, il est possible de déterminer la valeur du log Ag^+ . Dans le cas présent, celui ayant la valeur la plus faible est $AgCl_{(c)}$, c'est donc celui qui sera le plus stable dans ce milieu.

La Figure 1.3 montre aussi l'équilibre de l'activité des Ag^+ avec $Ag_{(c)}$ (argent sous forme cristalline) à différentes valeurs de pe ($-\log$ de l'activité de e^-). Ces valeurs sont basées sur la réaction d'équilibre :



Ainsi lorsque $pe=0$, \log de l'activité des Ag^+ en équilibre avec $Ag_{(c)}$ est $-13,50$ et cette valeur augmente pour chaque unité de pe . En bas d'un pe de $-2,71$, le minéral stable est plutôt $\alpha-Ag_2S_{(c)}$.

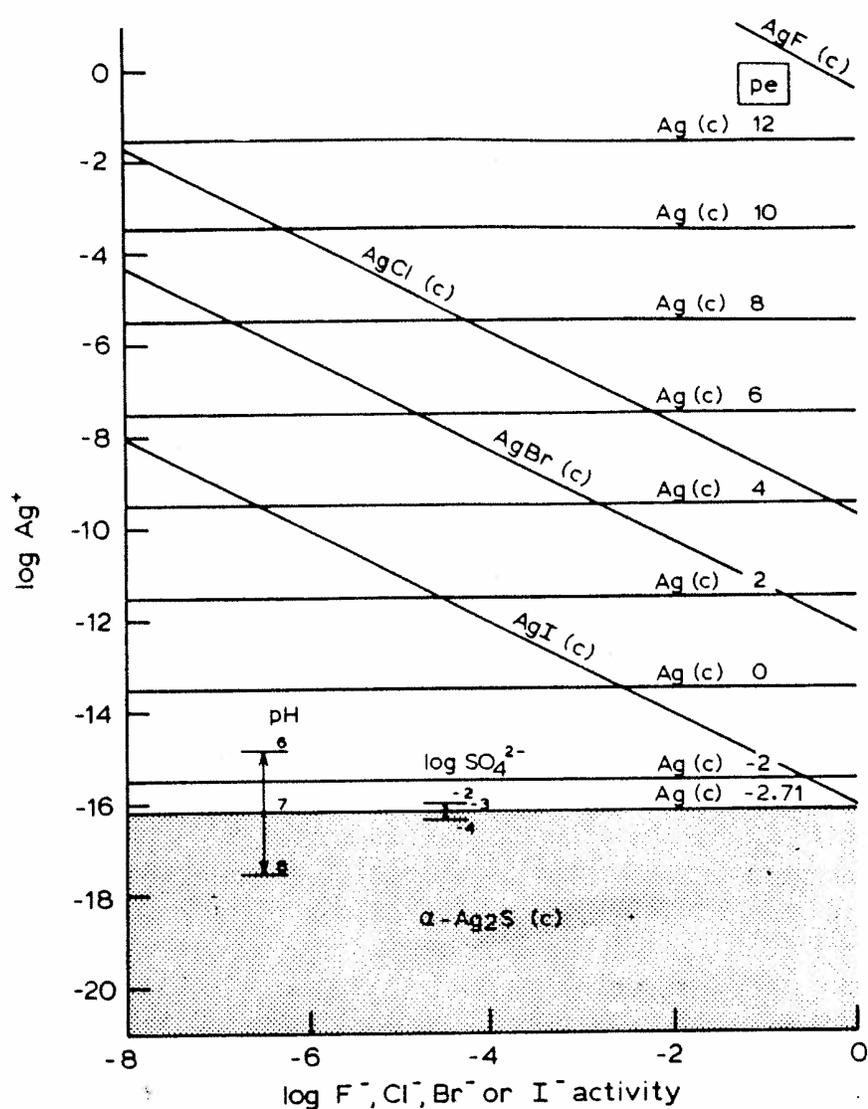


Figure 1.3. Stabilité de différentes espèces d'argent en présence d'halogénures, selon le pH et pe (Lindsay, 1979)

La figure 1.4 montre différentes solubilités de composé d'argent dans les sols selon le log de l'activité d' Ag^+ et le pH. Dans cette figure, on voit l'activité de NO_3^- comprise entre 10^{-4} et 10^{-2} M. Afin de former le composé insoluble AgNO_3 , l'activité d' Ag^+ doit être plus grande que 2 M. Dans le cas de SO_4^{2-} , pour obtenir un minéral stable, la concentration d' Ag^+ doit être proche de 0,1 M. Les carbonates d'argent sont trop solubles pour être persistants dans les sols, à moins d'une grande quantité d'argent ou d'un pH élevé (pH plus grand que 8). En général, ces composés sont très peu présent dans les sols car la concentration requise en Ag^+ est trop grande.

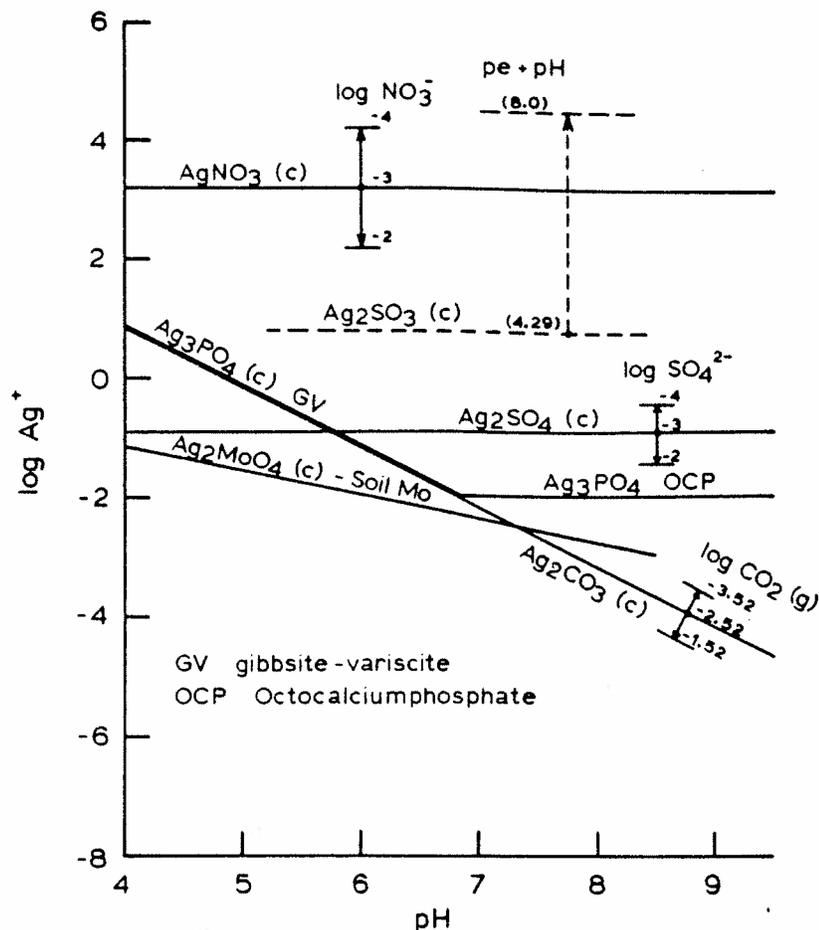


Figure 1.4. Solubilité des différentes espèces d'Ag à des activités ioniques communes dans les sols (Lindsay, 1979)

Finalement, les oxydes, sulfates, carbonates et phosphates sont trop solubles pour persister dans le sol. Par contre, dépendamment de leur activité, les halogénures peuvent former $\text{AgI}_{(c)}$, $\text{AgBr}_{(c)}$ et $\text{AgCl}_{(c)}$. L'argent forme aussi des complexes solubles avec les halogénures, l'ammoniac, les nitrates, les sulfates, sulfites et sulfures. Les complexes avec les halogénures sont assez significatifs dans les sols tandis que les complexes avec les nitrates, sulfates et sulfites ne sont pas très stables dans cet environnement.

1.6.2 Réactivité des sols

Pour la détermination de la réactivité des ions dans un sol, deux facteurs sont importants : la capacité d'échange cationique (CEC – *cation exchange capacity*) et la capacité d'échange anionique (AEC – *anion exchange capacity*). La capacité d'échange d'ion d'un sol est influencée par le pH. Lorsque le pH diminue, la CEC diminue et l'AEC augmente. Ces facteurs vont influencer la mobilité des ions. Par exemple, le cation Ag^+ sera plus mobile dans des conditions acides et donc potentiellement plus facilement accessible aux organismes. Les propriétés chimiques des sols peuvent aussi avoir des effets sur ces échanges. Dans un sol où l'argile smectite domine et donc où les charges négatives sont nombreuses, la CEC changera très peu. Dans un sol où on retrouve plutôt de la kaolinite, une argile sans charges permanentes, la CEC dépendra beaucoup du pH. L'argent est un ion très compétitif dans les échanges de cations dû à son petit rayon hydraté (250 pm) en comparaison de K^+ (300 pm) ou Na^+ (450 pm) (VandeVoort & Arai, 2012).

1.6.3 Sorption de l'argent sur les sols

Un des facteurs les plus importants de la sorption de l'argent sur les sols est la présence de groupes sulfures dans la substance humique. Comme mentionné précédemment, ces groupes fonctionnent comme des composés basiques mous qui attirent des cations métalliques mous tel l'Ag(I). Ces groupements sulfures peuvent être réduits (sulfures organiques réduits ou polysulfures) ou oxydés (sulfonates oxydés ou liés). Les sulfures réduits ont plus de caractéristiques des composés basiques mous et attirent donc plus d'Ag(I). Ce lien ionique entre Ag^+ et les sulfures est un lien très fort ($-32,6 \text{ kJmol}^{-1}$) (VandeVoort & Arai, 2012). L'argent va aussi complexer avec les atomes d'azote présents dans les substances humiques. Il forme des composés linéaires avec ces atomes provenant des molécules d'amine et d'ammonium (VandeVoort & Arai, 2012).

La sorption de l'argent dans les sols est dominée par la matière organique du sol mais les oxydes jouent un rôle dans la sorption à long terme. À pH plus grand que 4, l'argent s'adsorbe facilement sur les oxydes, particulièrement ceux de fer et de manganèse, ce qui le rend plutôt immobile. L'ion Ag^+ déplace des ions K, Na et Mn dans les structures minérales ce qui peut en partie expliquer l'augmentation de l'adsorption d'Ag dans le temps (Jacobson et al., 2005).

1.7 SPÉCIATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS LES SOLS

Très peu d'information est disponible en ce qui a trait à la spéciation des nAg dans les sols. Les processus pouvant se produire dans les sols sont l'agrégation, l'agglomération, la sorption sur les surfaces et la dissolution en Ag^+ . Les différents enrobages présents sur plusieurs nanoparticules peuvent influencer ces comportements, ce qui rend plus difficile une analyse générale des nanoparticules d'argent. La figure 1.3 montre les différents facteurs influençant l'agglomération ou la dissolution des nAg dans les sols.

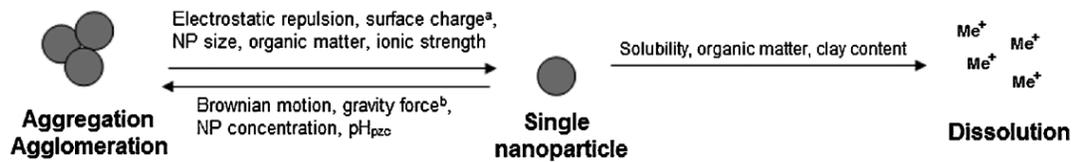


Figure 1.5 Facteurs influençant les processus d'agglomération, l'agrégation et dissolution d'une nanoparticules dans l'environnement. ^aConsidérant des charges de surface similaires. ^bProcessus valide seulement pour les plus grosses particules (Tourinho et al., 2012)

1.7.1 Facteurs influençant la spéciation des nanoparticules

1.7.1.1 Agrégation et agglomération

L'agrégation est l'association des particules primaires par un lien très fort tandis que l'agglomération est l'association par un lien plus faible associé aux forces de Van der Waals (Jiang et al., 2009). Dans la littérature, ces deux termes ne sont parfois pas bien employés. L'agglomération et l'agrégation sont influencées par des forces physiques comme le mouvement brownien, la gravité et le mouvement des fluides ainsi que la grandeur des nanoparticules et leurs propriétés de surface. À cause du mouvement brownien, les particules rentrent souvent en contact et lorsque l'énergie du mouvement ou l'énergie d'attraction excède l'énergie de répulsion, une agglomération se produit. L'agrégation se produit lorsque les deux noyaux des molécules entrent en collision. Si l'agrégat formé est assez gros, il peut sédimenter par gravité. Dépendamment de la sorte de nanoparticules et de la chimie du milieu, la tendance à former des agrégats est plus ou moins grande (Tourinho et al., 2012).

1.7.1.2 Influence de l'enrobage des nanoparticules

L'enrobage des nanoparticules va beaucoup influencer la spéciation des nanoparticules car il influence beaucoup les charges de surface et leur stabilité. Lorsque les nanoparticules n'ont pas d'enrobage, la présence d'hydroxyle (-OH) va influencer la charge de surface. Le groupement hydroxyle peut attirer et relâcher des protons et attirer certains ions métalliques et ligands. Ensuite, tout dépend du pH et des ligands présents. On mesure cette charge avec le potentiel zeta qui est en fait le potentiel électrique à l'interface de la couche diffuse et de la solution. Sans enrobage, les nanoparticules métalliques ont habituellement des valeurs positives à bas pH et négatives à haut pH. L'agrégation est la plus grande au point isoélectrique car il y a moins de forces électrostatiques répulsives. Les enrobages vont amener une plus grande stabilité aux nAg, entre autre face aux changements de pH diminuant ainsi la quantité d'agrégats. Certains enrobages, comme le PVP, peuvent minimiser l'agrégation et ainsi augmenter la mobilité des nAg et favoriser leur transport dans les milieux aquatiques (El Badawy et al., 2010).

1.7.1.3 Dissolution des nanoparticules

La dissolution survient lorsqu'un ion se détache de la nanoparticule et migre vers la solution. Ce procédé est facilité ou retardé par trois mécanismes : le transport de protons ou de ligands de la solution à la surface minérale, la complexion des ligands et les réactions de transfert d'électrons. Dans toutes les études, la dissolution semble dépendante du pH mais certains suggèrent que les nanoparticules d'argent seraient insolubles à des pH neutres (7-7,5). Dans quelques études, une oxydation de 5 à 15% a été observée (Shoults-Wilson et al., 2011). Le relâchement d'ions semble diminuer dans le temps (VandeVoort & Arai, 2012). Il est aussi possible que la dissolution des nanoparticules soit liée aux différents enrobages mais pas d'études n'ont été publiées à ce sujet.

1.7.1.4 Force ionique du milieu

La force ionique du milieu peut jouer un rôle important dans la spéciation des nanoparticules. Une augmentation de la force ionique va diminuer l'épaisseur de la double couche électrique et ainsi favoriser l'association entre les particules (augmentation de l'agglomération et de la sorption). Une étude a démontré qu'à un pH supérieur à 7, la force ionique jouait un rôle important dans l'agrégation des nAg. Par contre, l'agglomération des nAg enrobées avec du PVP n'a pas été influencée par la force ionique (Tourinho et al., 2012).

1.7.2 Cas de la spéciation des nanoparticules d'argent

VanderVoort et Arai (VandeVoort & Arai, 2012) ont trouvé que les nanoparticules d'argent ont démontrées une plus grande affinité pour le sol qu'Ag(I). La quantité de matière organique dans les sols est un facteur limitant contrôlant la concentration d'argent dans la solution du sol. Cornelis et al.(Cornelis et al., 2010) ont quant à eux mesurer la rétention des nanoparticules d'argent dans différents sols. Le coefficient de rétention s'est avéré plus grand dans les deux sols ayant la quantité la plus importante d'argile. Il semble que la texture du sol ait une très grande importance dans la rétention des nAg.

Coutris et al. ont estimé ce qui pourrait être bioaccessible aux organismes dans les sols (Coutris et al., 2012a). La bioaccessibilité est associée à la fraction disponible pouvant traverser la membrane cellulaire des organismes. Si on combine ce facteur avec la disponibilité potentielle d'un contaminant, on obtient la biodisponibilité. Dans les sols, la biodisponibilité dépend des interactions entre le contaminant et les constituants du sol et est fortement influencée par le comportement des organismes. La fraction soluble dans l'eau et les ions facilement échangeables sont ce qui sera le plus accessible aux organismes. Une fixation rapide de l'argent a été observée par

Coutris et al. dans les sols, particulièrement dans un sol organique comparé à un sol minéral (Coutris et al., 2012b). Cette fixation rapide peut s'expliquer par le déplacement de K^+ par Ag^+ dans les minéraux, la stabilisation par intercalation entre les couches de silicates et d'argiles ainsi que la précipitation d'Ag à cause d'une réduction due à la matière organique. La fraction bioaccessible diminue dans le temps. Ils ont remarqué que les nanoparticules d'argent ne réagissaient pas si différemment que le nitrate d'argent ce qui pourrait être expliqué par le fait qu'une réduction rapide des ions argent se produit en contact avec la matière organique, les transformant ainsi en nanoparticules et colloïdes. Par contre, beaucoup plus d'argent a été mesuré dans la fraction d'eau contenant les nanoparticules comparée à la fraction dopée avec $AgNO_3$ (Coutris et al., 2012b). Cela pourrait indiquer que les nanoparticules réagissent plus lentement que les ions.

1.8 TECHNIQUES ANALYTIQUES MESURANT LA SPÉCIATION

Différentes techniques analytiques peuvent être utilisées pour déterminer les différentes formes du métal étudié en se basant sur des propriétés électrochimiques, chimiques ou physiques (Chaperon, 2005). La technique d'électrode spécifique (ISE) a été choisie dans le cadre de cette étude et est expliquée plus en détail dans le point suivant. Une autre méthode qui a beaucoup été utilisée est la polarographie anodique impulsionnelle différentielle. Cette méthode permet de déterminer la concentration des métaux labiles en solution. En plus de mesurer les ions en solution, cette technique mesure aussi les complexes inorganiques facilement dissociables. D'autres méthodes permettant l'analyse des métaux libres en solution sont la chélation compétitive, la résine échangeuse d'ions et la dialyse.

Les mesures de spéciation sont aussi très importantes pour l'analyse des nanoparticules car elles permettent de déterminer si ces nanoparticules relâchent

des ions et ainsi de mieux de prédire leur destin environnemental. Une des techniques utilisée dans la spéciation des nanoparticules est l'ultracentrifugation (Cornelis et al., 2010; Liu & Hurt, 2010). L'ultracentrifugation utilise des filtres ayant une membrane avec des pores tels que des macromolécules plus lourdes que 1kDa ne passent pas. Les nanoparticules et les agrégats étant trop gros pour passer à travers ces filtres seulement la partie soluble passe au travers de ces filtres. Il est aussi possible d'utiliser l'absorption de rayon-X des structures fines (EXAFS) pour déterminer les différents états du métal dans le sol (Shoultz-Wilson et al., 2011). L'EXAFS est une technique permettant l'identification des associations du métal avec la phase solide du sol. La technique d'extraction séquentielle a été utilisée pour l'analyse de nanoparticules avec l'aide d'un traceur radioactif. Différentes extractions sont effectuées utilisant différentes solutions d'extraction permettant ainsi de séparer la phase soluble dans l'eau, échangeable, dissoute par un acide faible, facilement réduite, oxydable, digestible par un acide fort et résiduelle (Coutris et al., 2012b).

1.9 MÉTHODE D'ANALYSE : ÉLECTRODE SPÉCIFIQUE D'ARGENT

Un des objectifs de ces travaux était de développer une méthode permettant de mesurer et de différencier les différentes formes chimiques des nanoparticules d'argent. L'approche privilégiée a été d'utiliser une électrode spécifique d'argent ce qui permet de différencier les ions libres Ag^+ de la concentration totale d'Ag dissous. C'est une méthode simple et rapide qui permet de mesurer dans le milieu sans trop transformer l'échantillon et ainsi avoir une vision plus réelle de ce qui se passe dans les sols. Cette technique a entre autre été utilisée pour mesurer les ions cuivre(II) dans les sols (Rachou et al., 2007; Sauvé et al., 1995a). Très peu d'études ont examiné la spéciation des nanoparticules mais l'ultracentrifugation et la

spectroscopie d'absorption rayon-X sont deux techniques qui ont été utilisées (Cornelis et al., 2012; Coutris et al., 2012b; Shoults-Wilson et al., 2011).

Une électrode spécifique est une électrode qui répond spécifiquement à un ion donné. Il existe différents types d'électrodes, certaines utilisant une membrane solide, une membrane avec liquide, des membranes avec différents complexants ou encore la plus connue, l'électrode de verre. Dans le cas de l'électrode spécifique d'argent, il s'agit d'une électrode à membrane solide (Harris, 2002). La figure 1.6 montre les différents équilibres présents en solution ainsi que l'échange qui se produit à la surface de l'électrode spécifique. La lettre M est pour le métal, L pour le ligand et a en indice signifie que le composé est adsorbé.

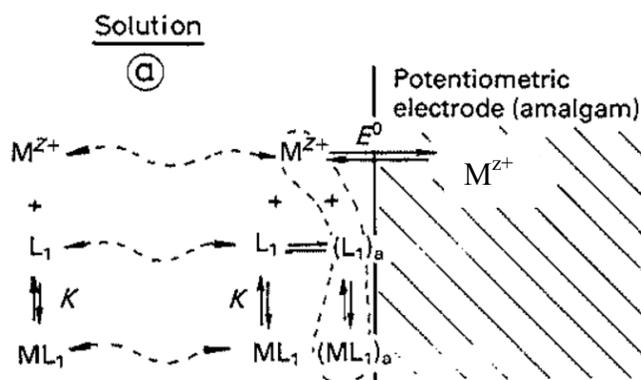


Figure 1.6. Schéma représentant les réactions à l'électrode (Buffle, 1990)

L'électrode est formée d'un cristal de Ag_2S (Harris, 2002). L'électrode choisie pour les manipulations est une électrode combinée, c'est-à-dire que l'électrode de référence se trouve à l'intérieur de l'électrode indicatrice. La solution à l'intérieur de l'électrode est fixe et à l'équilibre ainsi son potentiel est constant. Dans l'échantillon, les ions présents en solution vont s'équilibrer avec les sites échangeurs d'ions à la surface de l'électrode. Les ions de la membrane vont diffuser autour de la membrane créant un débalancement des charges à l'interface de l'électrode et de la solution qui est la différence de potentiel. Un changement de

concentration en ions dans la solution provoque une différence de potentiel. Une droite d'étalonnage est effectuée en mesurant différentes solutions standard d'ion argent. Afin de s'assurer de l'exactitude de la courbe d'étalonnage, il faut vérifier si la droite respecte la loi de Nernst.

L'équation de Nernst donne le potentiel d'un métal immergé dans une solution contenant ses propres ions :(Mendham et al., 2006)

$$\text{Équation 1-3} \quad E = E^0 + (RT/nF) \ln \alpha_M^{n+}$$

Où $R =$ Constante des gaz ($8,314472 \text{ (V}\cdot\text{C)/(K}\cdot\text{mol)}$)

$T =$ température (K)

$n =$ nombre d'électron dans la demi-réaction

$F =$ Constante de Faraday ($9,64853415 \times 10^4 \text{ C/mol}$)

$\alpha =$ activité de l'espèce M^{n+} en solution

Pour des températures entre 20 et 25°C, on doit mesurer une différence de 54 à 60 mV lors d'un facteur de concentration ou de dilution de 10 pour un ion monovalent. Le voltage est mesuré en fonction de l'activité des ions en solution. L'activité est en fait la concentration d'une espèce en solution multipliée par son coefficient d'activité (Éq.1-4).

$$\text{Équation 1-4} \quad \alpha = [C] \gamma_C$$

Où $C =$ concentration de l'espèce en solution

$\gamma_C =$ Coefficient d'activité de C

Le coefficient d'activité est dépendant de la force ionique (μ) comme le montre cette version simplifiée de l'équation de Debye-Hückel (Éq.1-5) où $z =$ la charge de l'ion.

Équation 1-5
$$\log \gamma = \frac{-0,51z^2\sqrt{\mu}}{1 + \left(\frac{\alpha\sqrt{\mu}}{305}\right)} \text{ (à } 25^\circ\text{C)}$$

C'est pourquoi il est important de tenir compte de la force ionique du milieu lors des analyses par ISE.

Peu d'interférences existent dans le cas de l'ISE d'argent mais il faut tout de même faire attention à ce que les échantillons soit exempt de mercure. De plus, il faut préférentiellement mesurer les standards ou échantillons en ordre croissant de concentration afin d'éviter des effets de mémoire que pourrait avoir l'électrode et pour éviter les longs délais pour rééquilibrer l'électrode avec la solution. Sinon, il est possible que l'électrode détecte plus d'ions qu'il n'y en ait vraiment.

1.10 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

Malgré le fait que le domaine des nanoparticules soit en pleine expansion, encore peu de données sont disponibles à propos de leur spéciation dans l'environnement. C'est particulièrement vrai en ce qui concerne le milieu du sol où pourtant il y a le plus de risques de contamination. Ces données seraient d'une grande aide dans l'évaluation du risque environnemental de ces contaminants. L'objectif principal de cette recherche est donc d'évaluer la spéciation des nanoparticules d'argent dans le sol. Dans un premier temps, une méthode d'analyse des ions argent dans la solution du sol a été développée utilisant l'électrode sélective d'argent. Ensuite, trois sols différents ont été dopés avec des nanoparticules d'argent afin d'observer les différences dans la spéciation chimique dépendamment des caractéristiques des sols. Finalement, un suivi à long terme a été effectué sur un des sols afin de connaître le destin de ces nanoparticules lorsqu'elles sont exposées longtemps dans ce milieu.

2. OPTIMISATION DE LA MÉTHODE

L'électrode sélective (Ion selective electrode – ISE) est une technique efficace et rapide permettant de mesurer les ions libres en solution. Dans le cas de mon projet de recherche, cette technique m'a particulièrement intéressé car elle permet de distinguer les ions libres en solution des ions dissous pouvant être liés à différentes molécules. Dans le cas de plusieurs métaux, ce sont souvent les ions libres qui sont responsables de la toxicité et non pas les complexes des métaux, c'est pourquoi il est important de pouvoir distinguer les différentes formes chimiques des métaux en solution. L'ISE permet de quantifier les ions libres, la forme généralement reconnue comme la plus réactive chimiquement et la plus importante pour la toxicité et les effets biologiques (Campbell, 1995). Avant l'utilisation de l'électrode avec les échantillons, il faut s'assurer d'avoir une méthode fiable et efficace. Ainsi, il faut prendre en considération la force ionique du milieu, la stabilité de l'électrode dans le temps et la limite de détection de l'électrode.

2.1 FORCE IONIQUE DU MILIEU

Comme mentionné précédemment, la force ionique joue un rôle important dans les mesures de potentiel. En effet, l'électrode mesure l'activité des ions en solution et l'activité est elle-même dépendante de la force ionique. Trois forces ioniques ont été testées : 0,01 M, 0,05 M et 0,1 M. Le sel utilisé pour contrôler la force ionique est du nitrate de sodium (Cole-Parmer ISA solution) afin que le contre-ion (nitrate) soit le même que le sel d'argent (nitrate d'argent(J.T. Baker Chemical)) utilisé lors des calibrations et des expérimentations décrites au chapitre 3. L'électrode utilisée est une électrode d'argent combinée (Orion 9616BNWP, Thermo). Pour les mesures, 20 mL de solution sont agités à température ambiante (22°C).

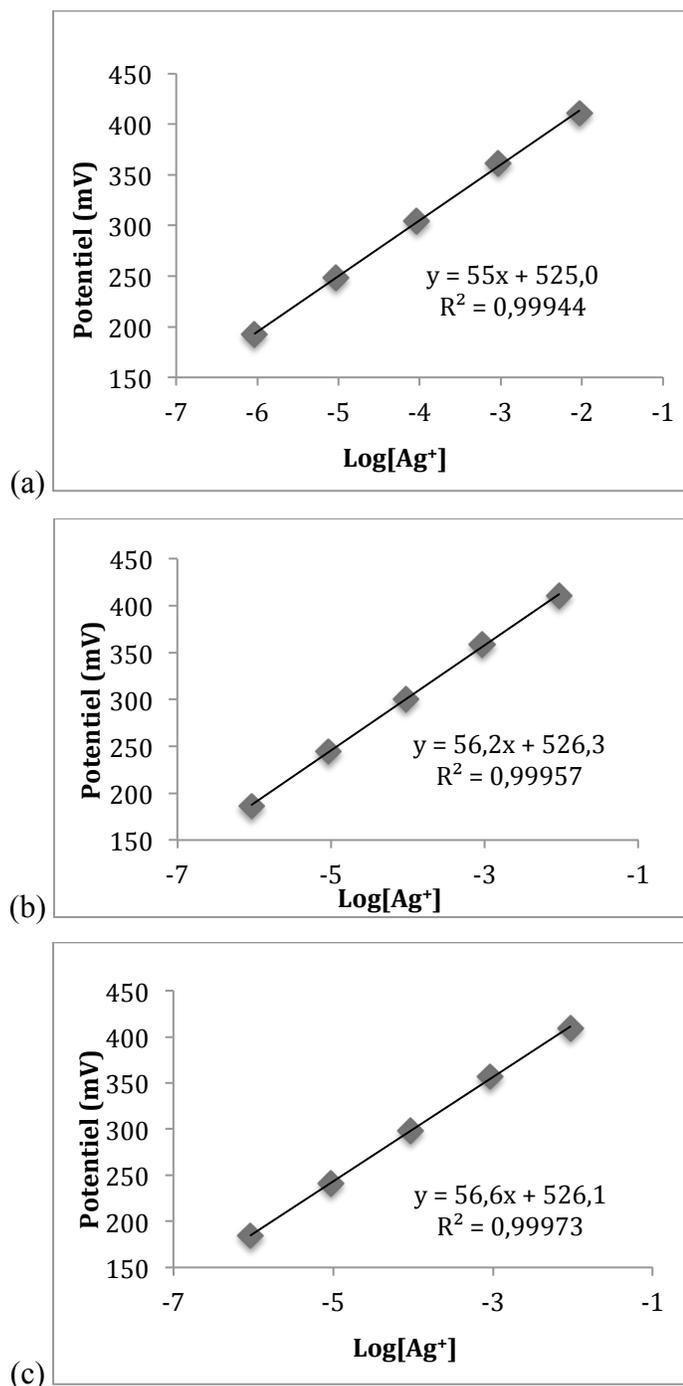


Figure 2.1. Différentes droites d'étalonnage de l'électrode spécifique d'argent en présence de différentes forces ioniques (a) 0,01 M NaNO₃ (b) 0,05 M NaNO₃ (c) 0,1 M NaNO₃

Dans les trois cas, la linéarité est bonne et la pente est en accord avec l'équation de Nernst. En effet, la pente pour un ion monovalent devrait être de 57 ± 2 mV, ce qui est le cas de tous ces graphiques. Pour la méthode finale, la force ionique de 0,1 M a été préférée car sa valeur était la plus proche de la valeur de référence et surtout son temps de réponse était beaucoup plus rapide, en particulier dans le cas des plus basses concentrations d'analyte (quelques minutes en comparaison d'une demi-heure). Par contre, la comparaison des trois courbes montre aussi que l'effet de la force ionique sur le potentiel mesuré par l'ISE Ag^+ est négligeable dans l'intervalle de forces ioniques testées (de 0,01 à 0,1 M) car l'ordonnée à l'origine est similaire dans tous les cas (55 à 57) et respecte l'équation de Nernst.

2.2 STABILITÉ DE L'ÉLECTRODE

La stabilité de l'électrode a été étudiée afin de s'assurer de toujours avoir des résultats reproductibles.

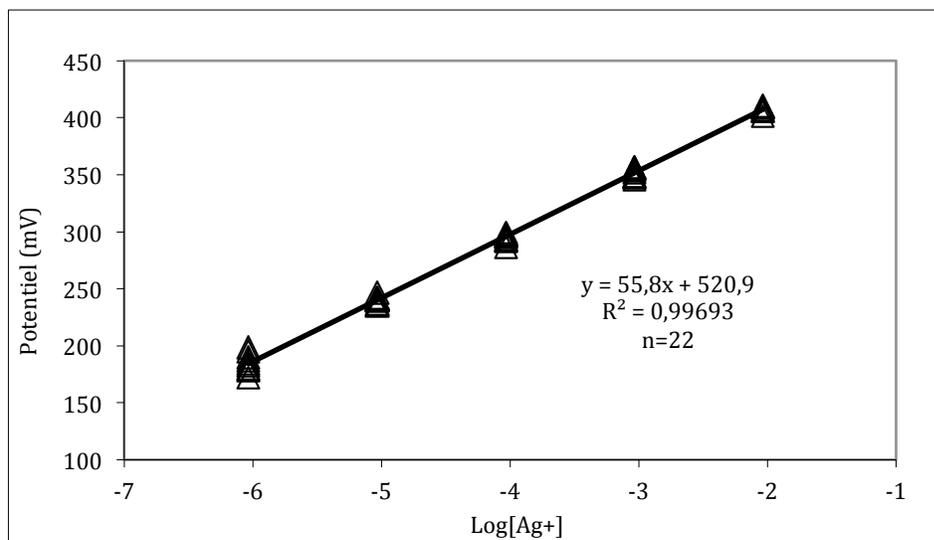


Figure 2.2. Superposition des différents points des courbes d'étalonnage effectués avec l'ISE d'argent pendant 4 mois. 22 courbes d'étalonnage effectués durant les 4 mois, ont été reproduites ici. Les différents symboles correspondent à des étalonnages effectués à différentes journées.

La figure 2.2 démontre bien que l'électrode reste stable pendant plusieurs mois. Sa pente respecte toujours l'équation de Nernst et son $R^2 > 0,99$ est précis. Même si l'étalonnage est fait avant chaque analyse, cela démontre que l'électrode sélective d'argent est une méthode fiable dans le temps, corroborant des travaux similaires sur l'ISE de cuivre (Rachou et al., 2007; Sauvé et al., 1995a). Entre les mesures, l'électrode était entreposée dans de l'eau Milli-Q contenant quelques gouttes de solution de remplissage d'électrode (10% KNO_3).

2.3 LIMITE DE DÉTECTION

Étant donné que les concentrations environnementales sont très faibles, il est important que l'électrode puisse mesurer les ions à de faibles concentrations. Dans la figure 2.3, la réponse de l'électrode a été mesurée en présence ou non d'halogénures.

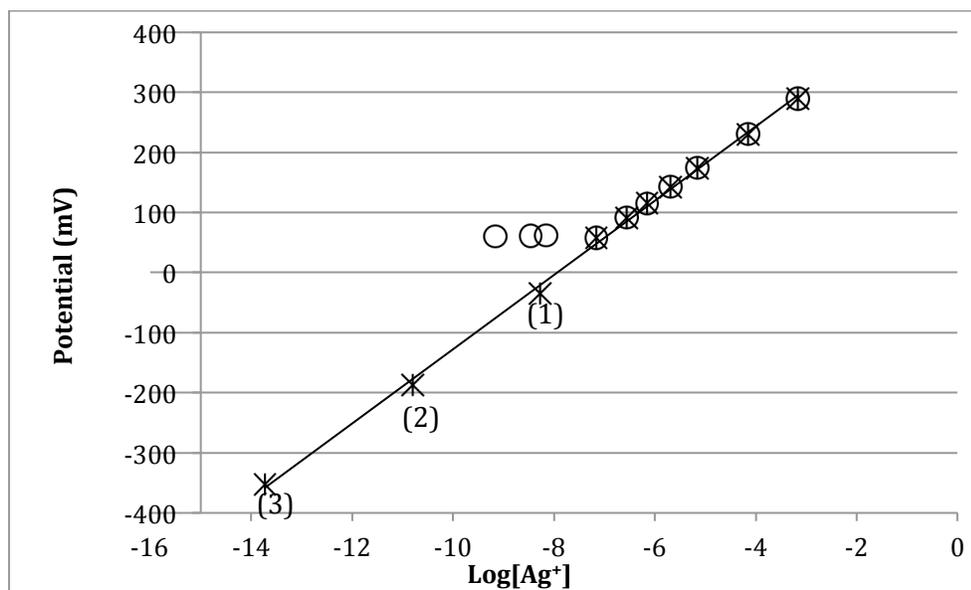


Figure 2.3. Signal de l'électrode sélective d'argent o Solutions d'AgNO₃ avec 0,1 M NaNO₃ * Solutions d'AgNO₃ avec 0,1 M NaNO₃, (1) 0,1 M NaCl ($9,18 \times 10^{-6}$ M Ag⁺), (2) 0,1M KBr ($9,18 \times 10^{-6}$ M Ag⁺), (3) 0,01M NaI ($9,26 \times 10^{-7}$ M Ag⁺)
Potentiel = $61,802[\text{Ag}^+] + 490,32$ $R^2 = 0,9985$

Sans halogénures, seulement en présence de NaNO₃, on obtient une déviation de la linéarité de la droite à 1×10^{-7} M, ce qui correspond à la limite de détection de l'électrode. Cette valeur correspond à la limite donnée par le fabricant mais en réalité elle correspond aussi à la valeur de base de la concentration d'ions Ag⁺ présent comme contaminant dans nos solutions de calibrations même sans ajout d'AgNO₃. Donc ça ne reflète pas la limite de détection de l'électrode mais une

limitation de la méthode pour ce genre de solutions de calibration, à cause de la contamination par les traces d'Ag dans les solutions. Par contre, en présence d'halogénures utilisés pour complexer l'Ag⁺, il est possible d'abaisser cette valeur à 1×10^{-14} M. En fait, il y a $9,18 \times 10^{-6}$ M d'Ag présent en solution (obtenu par l'ajout de AgNO₃) dans 0,1M NaCl ou KBr ($9,26 \times 10^{-7}$ dans le cas de 0,01M NaI) mais comme la majorité de cet argent est lié aux halogénures, seule une petite quantité est sous forme d'ions libres et donc peut être mesurée. Connaissant bien la chimie des solutions de calibration, on peut calculer quelle quantité d'argent est sous forme d'ions libres et ainsi faire l'étalonnage à très faibles concentrations. En ayant un plus grand nombre d'ions en solution, cela permet un meilleur échange et ainsi cela permet d'avoir une réponse à l'électrode dans un délai raisonnable.

En se basant sur les travaux de Veselý (Veselý et al., 1972) et en calculant les concentrations d'argent libre à l'aide du logiciel Visual MINTEQ, la courbe d'étalonnage de la figure 2.3 a pu être effectuée. Visual MINTEQ est un modèle de spéciation géochimique capable de calculer les équilibres entre les phases dissoute, adsorbée, solide et gazeuse dans des conditions environnementales. Les données sont calculées en fonction des concentrations dissoutes des composés d'intérêt et en tenant compte de certaines mesures telles que le pH, p_e ou les pressions partielles des gaz.

Pour le point (1) de la figure 2.3, 0,2 mL d'AgNO₃ ($9,27 \times 10^{-4}$ M) ont été ajoutés à 20 mL de NaCl 0,1 M, la concentration finale d'Ag⁺ étant de $9,18 \times 10^{-6}$ M. Ces concentrations sont ensuite ajoutées dans le logiciel pour chaque ion et le programme donne les valeurs de spéciation, telles que rapportées au tableau II-1. Ainsi, on obtient la valeur de l'activité d'argent libre qui peut être mesurée à l'électrode, cette valeur est de $7,10 \times 10^{-9}$ M dans ce cas. On peut observer dans le tableau avec les différentes espèces qu'on retrouve du AgCl dissous. Sa

concentration est de $8,43 \times 10^{-7}$, ce qui est 100 fois plus élevée que l'argent libre mais comme cet argent est associé au chlorure, il n'est pas détecté à l'électrode puisque l'électrode n'est sensible qu'à l'argent libre Ag^+ et ne répond pas à l'argent sous formes de complexes.

Tableau II-1. Espèces présentes dans une solution contenant $9,18 \times 10^{-6}$ M d' Ag^+ et de NaCl 0,1M, calculées à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).

	Concentration	Activity	Log activity
$\text{Ag}(\text{OH})_2^-$	6.5098E-19	5.0940E-19	-18.293
Ag^+	7.1001E-09	5.5560E-09	-8.255
$\text{AgCl}(\text{aq})$	8.4328E-07	8.6236E-07	-6.064
AgCl_2^-	7.2967E-06	5.7098E-06	-5.243
AgCl_3^{2-}	1.0318E-06	3.8686E-07	-6.412
$\text{AgNO}_3(\text{aq})$	5.3055E-14	5.4255E-14	-13.266
$\text{AgOH}(\text{aq})$	5.2625E-14	5.3816E-14	-13.269
Cl^-	9.7149E-02	7.6020E-02	-1.119
H^+	1.3285E-07	1.0396E-07	-6.983
Na^+	9.7167E-02	7.6035E-02	-1.119
$\text{NaCl}(\text{aq})$	2.8329E-03	2.8970E-03	-2.538
$\text{NaNO}_3(\text{aq})$	2.5762E-07	2.6345E-07	-6.579
$\text{NaOH}(\text{aq})$	9.0666E-09	9.2717E-09	-8.033
NO_3^-	1.5710E-05	1.2294E-05	-4.910
OH^-	1.2378E-07	9.6861E-08	-7.014

On procède de la même manière pour les points suivants. Ainsi pour le point (2), 0,20 mL d' AgNO_3 ($9,27 \times 10^{-4}$ M) a été ajouté à 20 mL de KBr 0,1 M donnant encore une fois $9,18 \times 10^{-6}$ M d' Ag^+ . Cette fois-ci, la valeur obtenue d' Ag^+ est de $2,01 \times 10^{-11}$ M.

Tableau II-2. Espèces présentes dans une solution contenant $9,18 \times 10^{-6}$ M d'Ag⁺ et de KBr 0,1M, calculées à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).

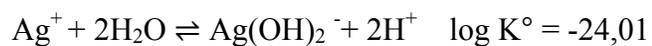
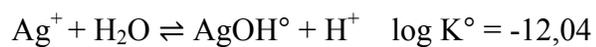
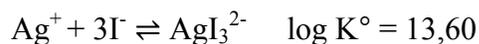
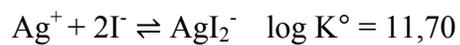
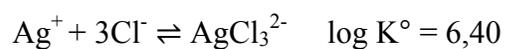
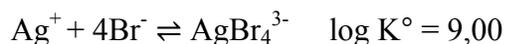
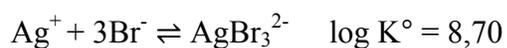
	Concentration	Activity	Log activity
Ag(OH)2-	1.7966E-21	1.4030E-21	-20.853
Ag+1	2.0149E-11	1.5734E-11	-10.803
AgBr (aq)	4.7788E-08	4.8902E-08	-7.311
AgBr2-	3.8834E-06	3.0325E-06	-5.518
AgBr3-2	2.5346E-06	9.4248E-07	-6.026
AgBr4-3	2.7129E-06	2.9292E-07	-6.533
AgNO3 (aq)	1.4665E-16	1.5007E-16	-15.824
AgOH (aq)	1.4688E-16	1.5030E-16	-15.823
Br-1	9.9974E-02	7.8068E-02	-1.108
H+1	1.3499E-07	1.0541E-07	-6.977
K+1	9.9999E-02	7.8089E-02	-1.107
KNO3 (aq)	5.9161E-07	6.0539E-07	-6.218
KOH (aq)	1.2667E-08	1.2963E-08	-7.887
NO3-1	1.5376E-05	1.2007E-05	-4.921
OH-	1.2232E-07	9.5522E-08	-7.020

Finalement, pour le point (3), le NaI est utilisé mais cette fois-ci sa concentration est de 0,01 M tandis que 20 μ L d'AgNO₃ ($9,27 \times 10^{-4}$ M) ont été ajoutés aux 20 mL de NaI donnant une concentration finale de $9,26 \times 10^{-7}$ M Ag⁺. Ainsi la valeur détectable à l'électrode est de $2,07 \times 10^{-14}$ M.

Tableau II-3. Espèces présentes dans une solution contenant $9,26 \times 10^{-7}$ M d'Ag⁺ et de NaI 0,01M, calculées à l'aide de Visual MINTEQ (toutes les valeurs sont en M).

	Concentration	Activity	Log activity
Ag(OH)2-	2.0159E-24	1.8178E-24	-23.740
Ag+1	2.0695E-14	1.8662E-14	-13.729
AgI (aq)	6.6830E-10	6.6984E-10	-9.174
AgI2-	8.4312E-07	7.6029E-07	-6.119
AgI3-2	8.2342E-08	5.4449E-08	-7.264
AgNO3 (aq)	2.1439E-20	2.1488E-20	-19.668
AgOH (aq)	1.8589E-19	1.8632E-19	-18.730
H+1	1.1184E-07	1.0086E-07	-6.996
I-1	9.9981E-03	9.0159E-03	-2.045
Na+1	1.000E-02	9.0176E-03	-2.045
NaNO3 (aq)	3.6756E-09	3.6841E-09	-8.434
NaOH (aq)	1.1308E-09	1.1334E-09	-8.946
NO3-1	1.6075E-06	1.4496E-06	-5.839
OH-	1.1071E-07	9.9837E-08	-7.001

Les principales constantes utilisées par le logiciel MINTEQA2 sont montrées ci-dessous.



2.4 CONCLUSION

Les différents résultats montrent bien que l'électrode sélective d'argent est une méthode efficace, qui reste stable dans le temps et qui permet de mesurer des concentrations allant jusqu'à $2,07 \times 10^{-14}$ M pour Ag^+ . Ainsi, à l'aide de cette méthode qui a été optimisée, j'ai pu mesurer l'argent dans différentes solutions de sol en ayant des réponses constantes et relativement rapides à l'électrode. Selon les courbes d'étalonnage établies, on peut maintenant faire l'étude de nanoparticules dans les sols.

3. SPÉCIATION CHIMIQUE ET RÉPARTITION DES NANOPARTICULES D'ARGENT DANS LES SOLS

Avant-Propos: La presque totalité des travaux associés à l'article qui suit, incluant la recherche bibliographique, les manipulations en laboratoire, l'analyse des résultats et la rédaction complète de l'article, a été effectuée par l'auteur de ce mémoire. Les coauteurs ont agi à titre de conseillers techniques et scientifiques. Article soumis au Chemical Central Journal.

Partitioning of silver and chemical speciation of free Ag⁺ in soils amended with nanoparticles

Rachel Benoit, Kevin J. Wilkinson, Sébastien Sauvé*

Department of Chemistry, University of Montreal

P.O. Box 6128; Succ. Centre-Ville

Montreal, QC; H3C 3J7

Corresponding author email: (S. Sauvé)

Abstract

Knowledge about silver nanoparticles in soils is limited even if soils are a critical pathway for their environmental fate because of waste in landfill and the application of sewage sludge. In this paper, speciation results have been acquired using a silver ion selective electrode in three different soils. Soil organic matter and pH were the most important soil properties controlling the occurrence of silver ions in soils. In acidic soils, more free silver ions are available while in presence of organic matter, ions were tightly bound in complexes. The evolution of the chemical speciation of the silver nanoparticles in soils was followed over six months. During the first few hours, there appeared to be a strong sorption of the silver with soil ligands, whereas over time, silver ions were released, the final concentration being approximately 10 times higher. Ag release was associated with either the oxidation of the nanoparticles or a dissociation of adsorbed silver from the soil surfaces.

Keywords: chemical speciation; complexation; environmental fate; ion selective electrode; nanoparticles; nanosilver; silver; contaminated soils

Capsule:

Soil pH and organic matter have significant impacts upon the stability, sorption and speciation of Ag from amended silver nanoparticles.

3.1. Introduction

The field of nanotechnology has expanded rapidly in the last few years. As of March 2011, there were 1317 products or product lines containing nanomaterials (Rejeski et al., 2012). Given its antimicrobial properties, nanosilver (nAg) is one of the nanomaterials found in the largest number of products (Rejeski et al., 2012) including consumer goods such as textiles, soaps and medical products (Farre et al., 2009; Wijnhoven et al., 2009). In the environment, the main sources of nAg are expected to be from industrial wastes and consumer products. They are thought to enter the environment through sewage treatment plants, waste incineration plants and landfill (Benn et al., 2010; Bernhardt et al., 2010a; Mueller & Nowack, 2008). Indeed, the land application of sewage sludge as well as soil and water contamination from landfills are believed to be the most important contamination pathways for nAg. Nonetheless, most literature studies have examined the fate of nAg in water (Benn & Westerhoff, 2008; Geranio et al., 2009; Liu & Hurt, 2010) while little attention has been given to soils, despite the importance of this pathway. Due to its small size, high reactivity and ill-defined dissolution properties, it is currently difficult to determine the environmental risks of nAg.

In natural waters, nAg has been shown to be toxic to several aquatic organisms (Farre et al., 2009; Kennedy et al., 2010; Navarro et al., 2008). In soils, toxicity tests have been performed with earthworms, however, the results appear to depend

largely on the soil type. For example, for earthworms in a sandy loam soil (Coutris et al., 2012a; Shoults-Wilson et al., 2011; Tourinho et al., 2012), a small amount of nAg bioaccumulation in addition to reproductive toxicity and decreased growth were observed. For the soil nematode, *Caenorhabditis elegans*, reproduction was decreased by the addition of nAg (Roh et al., 2009). Nonetheless, more controlled studies are required to evaluate the risks of nAg under conditions that are typical of natural soils. Specifically, given their ability to oxidize under environmentally-relevant conditions (Cornelis et al., 2012; Shoults-Wilson et al., 2011), it is not clear whether the nAg, Ag^+ or Ag complexes are the most bioavailable species. Both silver ions (Ratte, 1999) and some of their complexes (Fortin & Campbell, 2001) are known to be toxic. Speciation studies are thus required in order to evaluate the risk of the nAg, and to distinguish it from that of the released free Ag^+ and silver complexes. Some complexes of silver in soils are Ag_2S , AgI, AgBr, AgCl, AgNO_3 and Ag_2SO_4 .

In soils, free Ag^+ is expected to preferentially bind to thiol groups and natural organic matter (NOM) (VandeVoort & Arai, 2012). Indeed, biologically-available silver is estimated to be less than 5% of the total dissolved silver because of the strong binding capacities of the humic and fulvic acids (Jacobson et al., 2005). Furthermore, much of the Ag(I) in soils will be bound to colloidal particles in the size range between 10 and 200 nm or adsorbed to the soils (Coutris et al., 2012b). For example, Cornelis et al. 2012 found a median partition coefficient (K_d) of 1791

L kg⁻¹ for dissolved Ag, implying that most of the Ag was highly retained by the soil.

Very few data are available on the partitioning of nAg in soils or on the chemical speciation of Ag⁺ in soils following their addition to explore their fate and potential transformation. Specifically, no standard method exists that allows the unambiguous discrimination of silver ions from nAg in soils. The analytical difficulties arise largely from the significant oxidation of nAg in addition to the strong binding of free Ag⁺ by natural colloids in a similar size range (Coutris et al., 2012b). Furthermore, the speciation of free Ag⁺ and the transformations of nAg can be influenced by pH, ionic strength and the presence of dissolved ions and natural organic matter (Cornelis et al., 2012). Specialized techniques such as ultracentrifugation and X-ray absorption spectroscopy have been used to determine the speciation of silver in soils (Cornelis et al., 2012; Coutris et al., 2012b; Shoultz-Wilson et al., 2011). Simpler techniques such as the ion selective electrode (ISE) have been applied successfully to other metals in soils (Rachou et al., 2007; Sauvé et al., 1995b). The ISE has the ability to discriminate the free ion from its complexes, thus distinguishing it from other techniques that measure either dissolved silver or a proportion of the labile/dynamic metal complexes.

The aim of this study was to evaluate the chemical speciation free Ag⁺ and the sorption of silver nanoparticles in soils. The chemical speciation used focuses on

the use of a Ag^+ ion selective electrode and when combined with “total” solution measurements, can help us to differentiate what fraction of the nanoparticles would have dissolved and thus occur as free Ag^+ ion and what portion would remain as nanoparticulate Ag. Both free (Ag ISE) and dissolved silver (ICP-MS) were measured in three soils that were doped with either nAg or silver nitrate. The evolution of the chemical speciation of free Ag^+ was measured over time on one of the soils. The results provide insights into both the analytical determinations of Ag^+ and the fate of nAg in soils.

3.2 Materials and methods

Soil samples

Two agricultural soils were collected from the Macdonald Campus Farm (St-Anne-de-Bellevue, QC, Canada) and one forest soil (Laval, QC, Canada). The surface layer (0-20 cm) was sampled and sieved to $\leq 2\text{mm}$. The physical and chemical characteristics of the soils are given in Table 1. Organic carbon was determined by dichromate redox titration method (Tiessen & Moir, 1993), cation exchange capacity (CEC) by BaCl_2 method (Hendershot et al., 2008a), pH using a soil paste H_2O method (Hendershot et al., 2008b) and particle size by hydrometer method (Kroetsch & Wang, 2008).

Table III-1. Physical and chemical characteristics of the soils (error bars correspond to standard deviations on duplicate measurements).

Soils	pH	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Organic Carbon (%)	Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Ionic Strength (mM)	CEC (cmol/kg)
Agricultural 1	7.48	71.5	19.5	9	2.9 \pm 0.1	96 \pm 2	1.25	13.1 \pm 0.5
Agricultural 2	6.65	88	10	2	1.5 \pm 0.1	61 \pm 6	0.79	8.9 \pm 0.9
Forest	4.50	80	17	3	3.1 \pm 0.1	88.3 \pm 0.6	1.15	3.5 \pm 0.1

Short-term exposures

The three soils were dried at 70°C overnight. In a 50 mL centrifuge tube, 20 mL of either a solution of silver nanoparticles (Vive Nano, now Vive Crop Protection) or silver nitrate were added to 10 g of the soils to obtain final nominal concentrations of 1, 5, 10, 25, 50, 100 mg Ag kg⁻¹ dry soil. Sodium nitrate was added to the solutions (final concentration of 0.1 M) to facilitate measurements with the ISE. Solutions were shaken for 24 h on a reciprocal shaker in order to allow the system to approach equilibrium. The supernatant was isolated by centrifuging the samples for 10 min at 4500xg.

Long-term exposures

Agricultural soil 2 was also exposed to silver nanoparticles for up to 200 days. In that case, the soil was dried at 70°C overnight prior to the addition of nAg or silver nitrate in order to obtain final nominal concentrations of 1, 5, 10, 25, 50, 100 mg

Ag kg⁻¹ (55 mL of silver solutions 3,6; 18,2; 36,4; 90,9; 181,8; 363,6 mgL⁻¹). Samples were shaken manually for 5 minutes. Two hundred grams of soil of each treatment were put in a pot covered with a geotextile membrane in order to prevent dust deposition while allowing air and water exchange. The soil was maintained in the laboratory and sampled at different times, The only water added thorough the exposure was the water of the silver solution. 10 g aliquots were extracted with 20 mL of 0.1 M NaNO₃. The tubes were shaken rigorously for 20 min and then centrifuged at 4500 g for 10 min.

ISE measurements

The pH and the free silver were measured in the supernatants without prior filtration. Soil solution pH was measured with a calomel electrode (Accumet) and the free silver was measured with a combined silver ISE (Orion 9616BNWP). The Ag ISE was calibrated daily with concentration of silver nitrate that varied between 1X10⁻⁷ M and 1X10⁻³ M. Measurements were made in order of increasing concentrations in order to avoid memory effects. Between samples, the electrode was rinsed with 10% v/v HNO₃ and Milli-Q water (R>18 MΩ cm. total organic carbon<2 µg C L⁻¹) and gently blotted with laboratory tissues.

Chemical speciation calculations for the calibration using buffers were made using the “Visual MINTEQ” software (Gustafsson, 2010) and the default constants for complexation with halogens (Cl, Br, I). For the calculation, 9,18×10⁻⁶ M of Ag⁺

was mixed with 0,1M NaCl or KBr while $9,26 \times 10^{-7}$ M of Ag^+ was mixed with 0,01 NaI. The stability and reproductibility of the free Ag^+ ion selective electrode was evaluated.

Characterization of the nAg

The nAg are stabilized by sodium polyacrylate (Ag in residue by weight is 31%) and were purchased from Vive Crop Protection (formerly Vive Nano). The particle is made of a silver core covered with the sodium polyacrylate. Particle sizes, as determined by transmission electron microscopy and fluorescence correlation spectroscopy, were between 1-10 nm (Peulen & Wilkinson, 2011).

Chemical analysis

Following centrifugation of the soils, the supernatants were filtered with a $0.45 \mu\text{m}$ cellulose acetate filter membrane (Whatman). Dissolved silver was determined by adding 2 mL of concentrated HNO_3 to 2 mL of the supernatant and then digesting the sample for 48 hours at 98°C . The total silver content of the soil was determined by digesting 1 g of dry soil overnight (90°C) in 10 mL of concentrated nitric acid (Trace metal grade). The acid digests were filtered with a Q5 filter (Fisherbrand) and diluted to 50 mL. Acidified solutions were diluted appropriately for the analysis of Ag by either graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS;

Varian) or by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS; NexION 300x, Perkin Elmer).

Quality control

Three replicates were measured for the short-term exposures and duplicate samples were analysed for the long-term exposures. Quality controls were performed in order to ensure the accuracy of the results. A sandy loam certified reference soil (CRM027-050), a non-spiked soil and a nitric acid control were analysed with each batch of samples. A certified reference material (NIST1640a) was analysed to verify the validity of the GF-AAS and ICP-MS analyses, measurements were within 15% of certified value ($8.081 \pm 0.046 \mu\text{g/L}$).

3.3 Results and Discussion

The calibration of the ISE is shown in Fig. 1. The limit of detection was 1×10^{-7} M when measurements were performed in Milli-Q water with added sodium nitrate (blue diamonds). However, following the addition of ligands for the Ag (Cl, Br, I), it was possible to calibrate the electrode down to 1×10^{-14} M Ag^+ with an excellent linearity ($R^2=0.998$) and a near theoretical slope on the Nernstian plot (slope=62 mV vs. 59 mV).

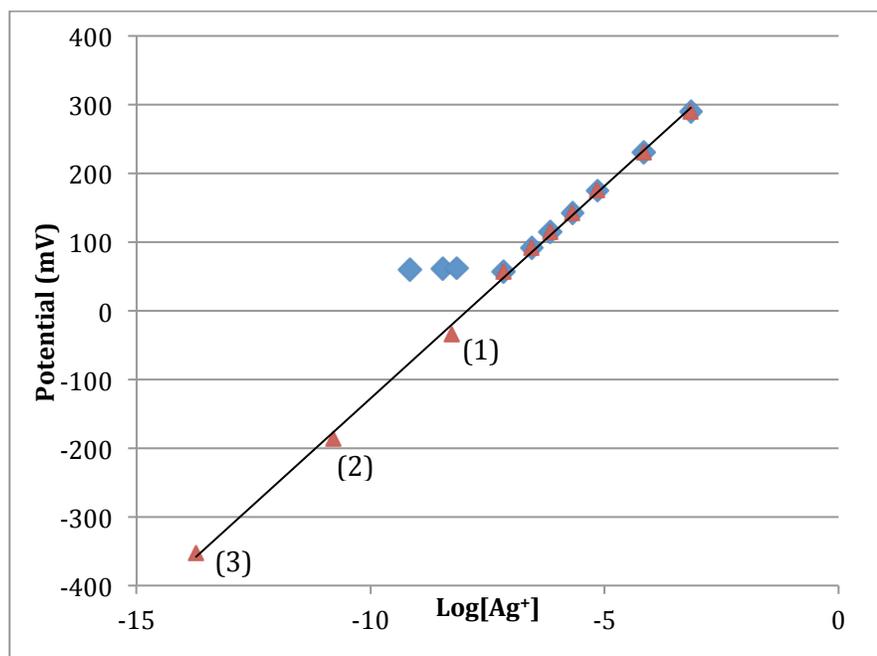


Fig. 3.1. ISE calibration curve for the measured potential of the Ag ISE as a function of the $\log[\text{Ag}^+]$ activity. (\blacklozenge): solutions of AgNO_3 in 0.1 M NaNO_3 . (\blacktriangle): solutions of AgNO_3 in 0.1 M NaNO_3 , except (1) 0.1M NaCl , (2) 0.1 M KBr , (3) 0.01 M NaI . The electrode response yielded a Nernstian response: Potential = $61.6[\text{Ag}^+] + 490$, $R^2 = 0.998$.

The effect of changing ionic strength from 0.01 M, 0.05 M and 0.1 M NaNO_3 had a minimal impact on the electrode response (calibration varying from $55x + 525.0$ to $56.2x + 526.3$ and $56.6x + 526.1$ – see supplementary material).

The response of the ion selective electrode to free Ag^+ has been surprisingly stable over 22 calibrations curves spanning 4 months of use (see Figure 2).

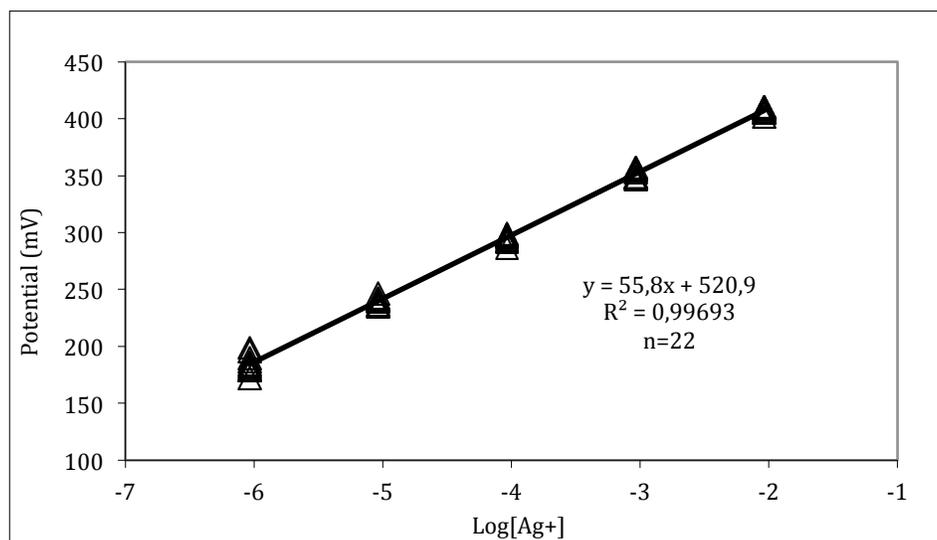


Fig.3.2. Response of the silver ionic electrode over 4 months of use

The retention and chemical speciation of silver in the 3 agricultural soils is shown in Figs. 3.3 to 3.5. For treatments of either Ag nitrate or nAg, 3 measurements were performed: (i) total Ag added to the soil (x axis)(measured), (ii) dissolved (0.45 μm) Ag and (iii) free Ag^+ . Generally speaking, the AgNO_3 treatments generated higher total dissolved Ag concentrations in the soil than did an equivalent (i.e. similar total soil Ag) treatment of nAg. Furthermore, less free Ag^+ was observed in Agricultural soil 1 as compared to the other two soils. We attribute this result to the relatively high pH of this soil (pH 7.48) and the fact that it contains twice the concentration of organic matter with respect to Agricultural soil 2 and a higher clay content. At higher pH values, free Ag^+ is expected to be increasingly sorbed onto the mineral surfaces of the soil, since at higher pH, there is a higher CEC and thus more negatively charged surface sites (Jacobson et al., 2005). Also, free Ag^+ binds

tightly to organic matter, which could explain why we see less free Ag^+ in this soil with respect to the other soils. Silver has a strong affinity for the nitrogen and the sulphur groups that can be found in natural organic matter (Jones et al., 1986; Sikora & Stevenson, 1988).

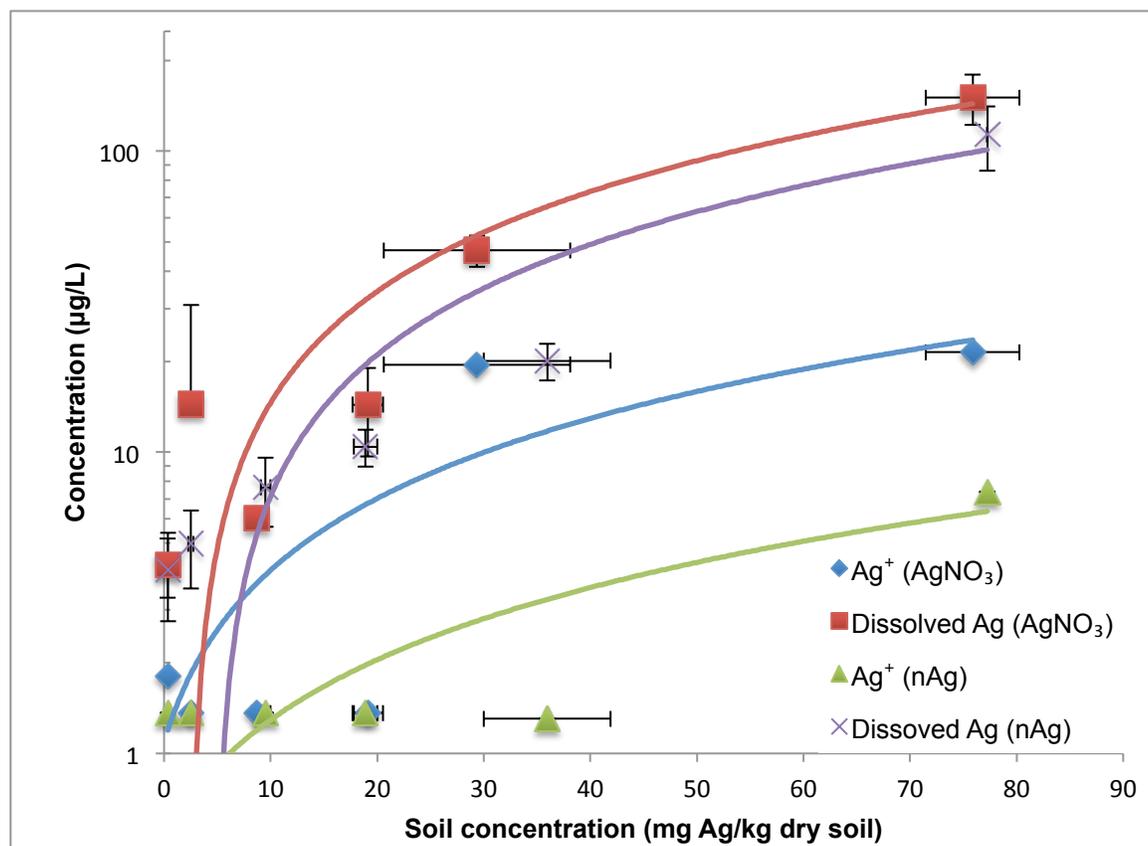


Fig 3.3. Measurements of Ag^+ and total solution Ag (presumed dissolved) following the addition of either nAg and AgNO_3 in Agricultural soil 1.

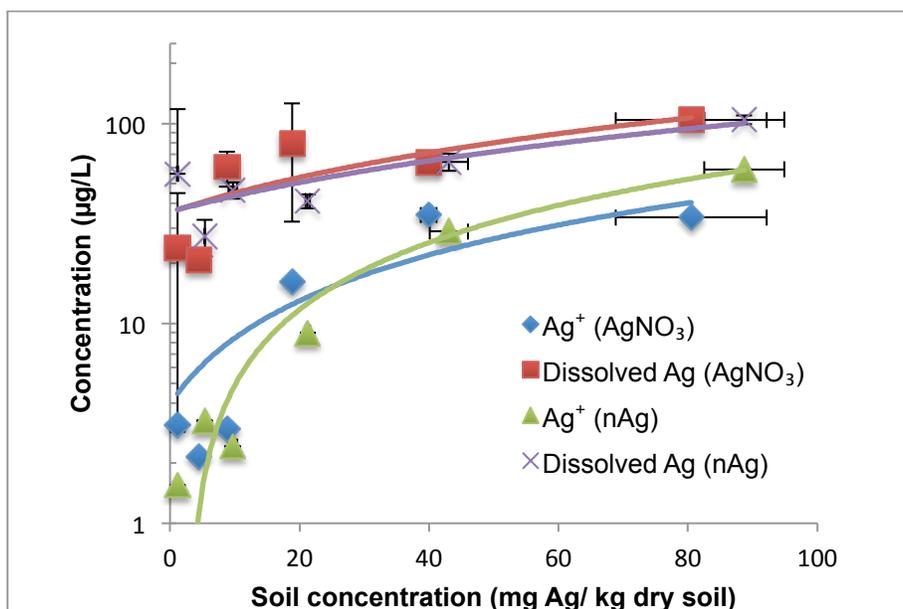


Fig.3.4. Measurements of Ag⁺ and total solution Ag (presumed dissolved) following the addition of either nAg and AgNO₃ in Agricultural soil 2.

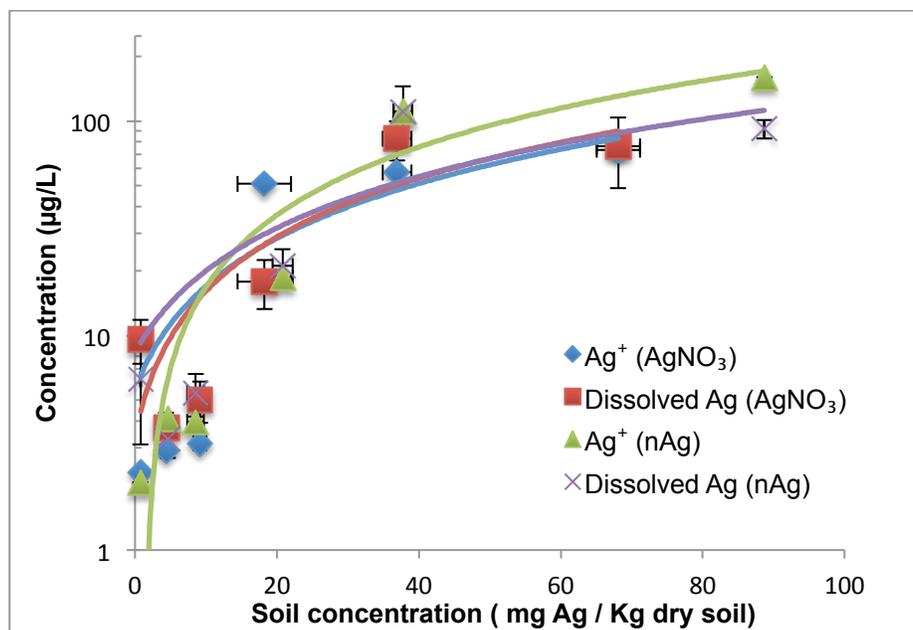


Fig.3.5. Measurements of Ag⁺ and total solution Ag (presumed dissolved) following the addition of either nAg and AgNO₃ in the Forest Soil.

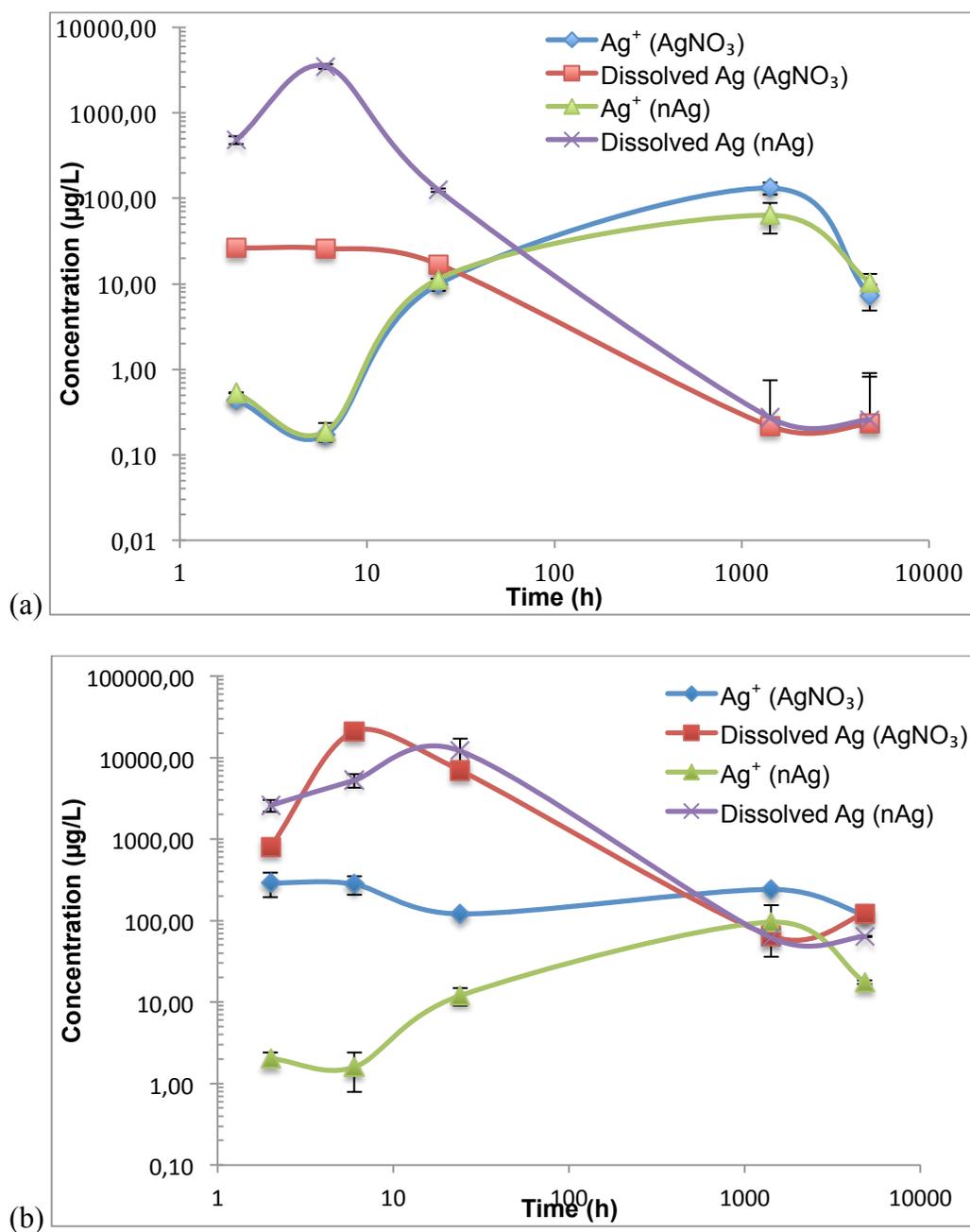


Fig. 3.6. Speciation measurements of Ag⁺ and total solution Ag (presumed dissolved) following the addition of either nAg and AgNO₃ for a long-term exposure of Ag in agricultural soil 2 (a) 10 mg Ag/kg dry soil (b) 50 mg Ag/kg dry soil

In contrast, in Agricultural soil 2 (Fig. 3.4), there are only slight, potentially insignificant, differences between the dissolved Ag concentrations observed following equivalent treatments of AgNO_3 and nAg. This data suggest that the nAg was nearly completely dissolved. An alternative hypothesis presuming that the Ag^+ and nAg were adsorbed in a similar manner to the soil is unlikely since it assumes that the nAg would not significantly oxidize. The major difference between the two soils was their pH (7.48 in soil 1 vs. 6.65 in soil 2) and their organic matter content (2.9%C in soil 1 vs. 1.5%C in soil 2). The higher pH and higher organic matter content in soil 1 could help stabilize the nAg (Tourinho et al., 2012), since lower pH favors the oxidation of the nAg (Liu & Hurt, 2010). In both soils, their circumneutral pH favours both the adsorption of the free Ag^+ and its complexation to dissolved organic matter in solution, thus explaining why there was a significant difference between the dissolved and free Ag^+ concentrations.

For the addition of Ag to the acidic (pH 4.5) forest soil, the four curves were nearly superimposed, suggesting that most of the nAg was dissolved and non-complexed. In this case, the acidic soil solution likely both promoted the oxidation of the nAg and reduced free Ag^+ sorption onto the soil solids. The lower pH is also partly responsible for the low CEC observed in Table 1. In the Forest soil, most of the silver appeared to occur as free Ag^+ , consistent with a lower affinity of cations for the soil surfaces under acidic conditions (Vandervoort & Arai, 2012).

The properties of the soils played an important role in the speciation of the nAg. For example, Shoults-Wilson et al. (2011) found that the oxidation rate of nAg depended on the soil type. In their case, sandier and acidic soils like the Forest soil (Fig 3.5) showed a greater toxicity, with ions being more available for biological uptake. In contrast, for Agricultural soil 1, significant bioavailability of Ag would not be expected due to the strong binding of Ag by organic matter.

For the long-term exposures, the addition of 10 mg Ag/kg dry soil, as either AgNO_3 or nAg, generated nearly identical patterns of Ag sorption over time, and resulted in similar concentrations of free Ag^+ in solution (Fig. 6a). We can speculate that the Ag was rapidly bound to the available ligands in the soil solution or onto soil surfaces during the first hours of exposition. Subsequently, Ag dissociation from the soils may have resulted in higher free Ag^+ . For example, Courtris et al. demonstrated that uncoated NPs were a constant source of bioavailable Ag (Courtris et al., 2012b). For the same time series, a reverse trend was observed for the dissolved Ag concentrations: adding 10 mg Ag/kg as nAg initially generated a much higher concentration of dissolved Ag than adding an equivalent amount of AgNO_3 (see Fig 6a). In this case, the nAg are coated with sodium polyacrylate and it is possible that over time, the coatings are destabilized and the Ag oxidized, thus releasing free Ag^+ which was then able to sorb onto the soils (Fig. 6a).

For the addition of a higher concentration of total soil Ag (50 mg/kg dry soil), a different behaviour was observed (Fig. 3.6b). For the first few hours, the concentration of free Ag^+ is different for AgNO_3 and nAg. It might be possible that since the concentration in nanoparticles is higher, they are more stable and are less destabilized, they release less free Ag^+ .

The patterns observed in Fig. 3.6 for AgNO_3 and nAg were very similar. The concentration of total dissolved Ag was higher than free Ag^+ during the first hours of exposure but their concentrations were similar after 6 months. After 6 months, the remaining dissolved silver corresponded uniquely to free Ag^+ . Also, the dissolved Ag for the nAg treatment was higher than that observed for the AgNO_3 treatment, especially for soils having received 1, 5 or 10 mg/kg (Fig 6a and Fig A1 in supplementary material). This could probably be explained by a slower dynamics of the nanoparticles in the soil as compared to AgNO_3 (Coutris et al., 2012b).

3.4 Conclusion

This study provides a method to differentiate free silver ions from total dissolved silver in soils and helps us understand how nAg reacts in soils. It indicated that nAg is likely to dissolve under soil conditions and that the physicochemical properties of the soils are likely very important when determining the integrity, retention and

mobility of silver nanoparticles. The roles of organic matter and pH are likely key factors to controlling the transformation of nAg amendments to soils. More studies need to be performed on more types of soils in order to fully understand the chemical speciation and fate of nAg.

Acknowledgments

This research was made possible through financial support from the *Fonds Québécois de Nature et Technologies du Québec* and from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada.

4. CONCLUSIONS

Le domaine des nanoparticules étant en pleine expansion, il est important de pouvoir estimer les effets possibles qu'elles auront dans l'environnement. C'est particulièrement vrai pour les nanoparticules d'argent car ce sont celles qui sont le plus couramment utilisées. De plus, les sols pourraient être particulièrement affectés dû à l'application des boues provenant des usines d'épuration des eaux ou à cause des déchets dans les sites d'enfouissement. C'est pourquoi dans le cadre de cette maîtrise, la spéciation chimique des nanoparticules d'argent dans les sols a été étudiée.

Devant la multitude des techniques possibles pour étudier la spéciation, l'utilisation d'une électrode sélective d'argent a été utilisée pour sa simplicité et son efficacité. Les différentes étapes d'optimisation présentées au chapitre 2 ont démontré que cette technique était fiable et peut atteindre des niveaux de détection très bas. Cette technique a permis d'analyser différentes solutions de sol et, comme elle mesure seulement les ions Ag^+ en solution, il a été possible de faire la distinction entre ces ions et l'argent dissous en solution.

L'analyse de différents sols a démontré que la spéciation des nanoparticules variait beaucoup dépendamment des caractéristiques des sols. En effet, la quantité d'ions présente en solution dépend beaucoup du pH du sol ainsi que de la quantité de matière organique disponible. Un pH plus acide va permettre une plus grande dissolution des nanoparticules et plus d'ions argent seront présents en solution. La matière organique se lie facilement avec les ions argent alors plus cette quantité est grande, moins d'ions seront présents dans la solution de sol.

La spéciation chimique d'un des sols a aussi été mesurée à plus long terme. Au départ, peu d'argent libre est présent en solution mais il y a tout de même de l'argent dissous. L'argent semble s'adsorber rapidement au sol puis lentement, au cours des 6 mois de l'étude, des ions argent sont relâchés en solution. Au bout de 6 mois, la quantité d'argent libre est similaire à celle de l'argent dissous ce qui signifie que presque tout l'argent en solution est de l'argent libre.

Ces informations sont très importantes pour évaluer le destin des nanoparticules dans les sols mais il reste encore beaucoup à faire pour évaluer leur risque dans l'environnement. Étant donné que la spéciation des nanoparticules dépend beaucoup des caractéristiques des sols, il faudrait faire des analyses de spéciation sur une plus grande variété de sols. De plus, il serait aussi important de faire ces tests avec différentes nanoparticules d'argents afin d'évaluer les effets des enrobages sur leur spéciation dans les sols. Finalement, très peu de tests de toxicité ont été faits sur des organismes vivant dans les sols, il en faudrait plus et ce, avec différents organismes afin de bien comprendre les risques liés aux nanoparticules d'argent.

BIBLIOGRAPHIE

- Benn, T., Cavanagh, B., Hristovski, K., Posner, J. D., & Westerhoff, P. (2010). The Release of Nanosilver from Consumer Products Used in the Home. *Journal of Environmental Quality*, 39(6), 1875-1882. doi: 10.2134/jeq2009.0363
- Benn, T. M., & Westerhoff, P. (2008). Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environmental Science & Technology*, 42(11), 4133-4139. doi: 10.1021/es7032718
- Bernhardt, E. S., Colman, B. P., Hochella, M. F., Cardinale, B. J., Nisbet, R. M., Richardson, C. J., & Yin, L. Y. (2010a). An Ecological Perspective on Nanomaterial Impacts in the Environment. *Journal of Environmental Quality*, 39(6), 1954-1965. doi: 10.2134/jeq2009.0479
- Bernhardt, E. S., Colman, B. P., Hochella, M. F., Jr., Cardinale, B. J., Nisbet, R. M., Richardson, C. J., & Yin, L. (2010b). An Ecological Perspective on Nanomaterial Impacts in the Environment. *Journal of Environmental Quality*, 39(6), 1954-1965. doi: 10.2134/jeq2009.0479
- Blaser, S. A., Scheringer, M., MacLeod, M., & Hungerbühler, K. (2008). Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of the Total Environment*, 390(2-3), 396-409. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.10.010
- Buffle, J. (1990). Study of Complexation Properties by Potentiometric Methods. Dans M. Masson & J. F. Tyson (dir.), *Complexation reactions in aquatic systems* (p. 427-466). England: Ellis Horwood Limited.
- Campbell, P. G. C. (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the free-ion activity model. Dans A. Tessier & D. R. Turner (dir.), *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems* (p. 45-102). Chichester/New York: John Wiley & Sons, Ltd.
- Chaperon, S. (2005). *Évaluation de la toxicité de combinaisons de métaux sur l'uréase et la déshydrogénase dans le sol*. (MSc thesis, Université de Montréal, Montréal).
- Cornelis, G., Doolette, C., Thomas, M., McLaughlin, M. J., Kirby, J. K., Beak, D. G., & Chittleborough, D. (2012). Retention and Dissolution of Engineered Silver Nanoparticles in Natural Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 76(3), 891-902. doi: 10.2136/sssaj2011.0360
- Cornelis, G., Kirby, J. K., Beak, D., Chittleborough, D., & McLaughlin, M. J. (2010). A method for determination of retention of silver and cerium oxide manufactured nanoparticles in soils. *Environmental Chemistry*, 7(3), 298-308. doi: 10.1071/en10013
- Coutris, C., Hertel-Aas, T., Lapiéd, E., Joner, E. J., & Oughton, D. H. (2012a). Bioavailability of cobalt and silver nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*. *Nanotoxicology*, 6(2), 186-195. doi: 10.3109/17435390.2011.569094
- Coutris, C., Joner, E. J., & Oughton, D. H. (2012b). Aging and soil organic matter content affect the fate of silver nanoparticles in soil. *Science of the Total Environment*, 420, 327-333.

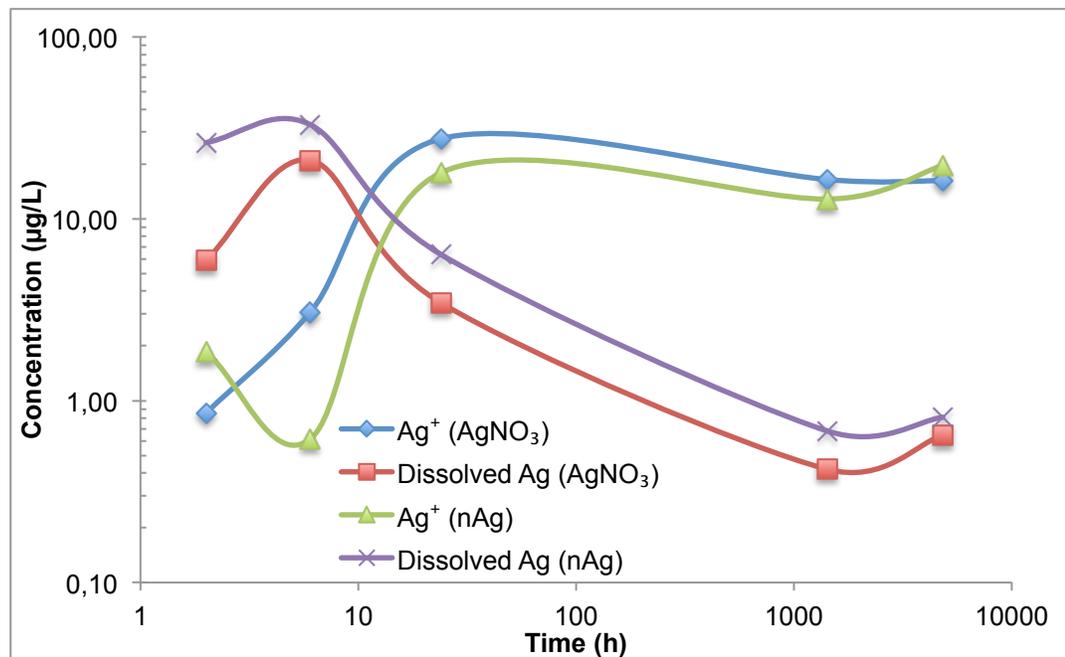
- El Badawy, A. M., Luxton, T. P., Silva, R. G., Scheckel, K. G., Suidan, M. T., & Tolaymat, T. M. (2010). Impact of Environmental Conditions (pH, Ionic Strength, and Electrolyte Type) on the Surface Charge and Aggregation of Silver Nanoparticles Suspensions. *Environmental Science & Technology*, 44(4), 1260-1266. doi: 10.1021/es902240k
- Farre, M., Gajda-Schrantz, K., Kantiani, L., & Barcelo, D. (2009). Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393(1), 81-95. doi: 10.1007/s00216-008-2458-1
- Fortin, C., & Campbell, P. G. C. (2001). Thiosulfate enhances silver uptake by a green alga: Role of anion transporters in metal uptake. *Environmental Science & Technology*, 35(11), 2214-2218. doi: 10.1021/es0017965
- Geranio, L., Heuberger, M., & Nowack, B. (2009). The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. *Environmental Science & Technology*, 43(21), 8113-8118. doi: 10.1021/es9018332
- Harris, D. C. (2002). *Quantitative chemical analysis*. New York: W.H, Freeman and Company.
- Hendershot, W. H., Lalonde, H., & Duquette, M. (2008a). Ion exchange and exchangeable cations (*Soil sampling and methods analysis* (second edition^e éd., p. 197-206). United States of America: Taylor & Francis Group.
- Hendershot, W. H., Lalonde, H., & Duquette, M. (2008b). Soil reaction and exchangeable acidity (*Soil sampling and methods analysis* (second edition^e éd., p. 173-178). United States of America: Taylor & Francis Group.
- Jacobson, A. R., McBride, M. B., Baveye, P., & Steenhuis, T. S. (2005). Environmental factors determining the trace-level sorption of silver and thallium to soils. *Science of the Total Environment*, 345(1-3), 191-205. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.10.027
- Jiang, J., Oberdorster, G., & Biswas, P. (2009). Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(1), 77-89. doi: 10.1007/s11051-008-9446-4
- Jones, K. C., Davies, B. E., & Peterson, P. J. (1986). Silver in welsh soils-Physical and chemical distribution studies *Geoderma*, 37(2), 157-174. doi: 10.1016/0016-7061(86)90028-5
- Kennedy, A. J., Hull, M. S., Bednar, A. J., Goss, J. D., Gunter, J. C., Bouldin, J. L., Vikesland, P. J., & Steevens, J. A. (2010). Fractionating Nanosilver: Importance for Determining Toxicity to Aquatic Test Organisms. *Environmental Science & Technology*, 44(24), 9571-9577. doi: 10.1021/es1025382
- Kroetsch, D., & Wang, C. (2008). Particle size distribution. Dans M. R. C. a. E. G. Gregorich (dir.), *Soil Sampling and methods analysis* (p. 713-725). United States of America: Taylor & Francis Group.

- Kumar, N., Shah, V., & Walker, V. K. (2011). Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1-3), 816-822. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.005
- Lindsay, W. L. (1979). Silver (*Chemical Equilibria in soils* (p. 300-314). United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Liu, J. Y., & Hurt, R. H. (2010). Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environmental Science & Technology*, 44(6), 2169-2175. doi: 10.1021/es9035557
- Mendham, Denney, Barnes, & Thomas (2006). *Analyse chimique quantitative de Vogel*. Belgique: De Boeck.
- Mueller, N. C., & Nowack, B. (2008). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environmental Science & Technology*, 42(12), 4447-4453. doi: 10.1021/es7029637
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., & Behra, R. (2008). Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science & Technology*, 42(23), 8959-8964. doi: 10.1021/es801785m
- Peulen, T.-O., & Wilkinson, K. J. (2011). Diffusion of Nanoparticles in a Biofilm. *Environmental Science & Technology*, 45(8), 3367-3373. doi: 10.1021/es103450g
- Rachou, J., Gagnon, C., & Sauvé, S. (2007). Use of an ion-selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices. *Environmental Chemistry*, 4(2), 90-97. doi: 10.1071/en06036
- Ratte, H. T. (1999). Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1), 89-108. doi: 10.1897/1551-5028(1999)018<0089:batosc>2.3.co;2
- Rejeski, D., Kuiken, T., Pauwels, E., Karn, B., Davies, T., Macoubrie, J., Fisher, L., Kennedy, D., Ryan, J., & Williams, S. (2012). The Project on Emerging Nanotechnologies. Repéré le August 28, 2012 à http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/
- Roh, J.-y., Sim, S. J., Yi, J., Park, K., Chung, K. H., Ryu, D.-y., & Choi, J. (2009). Ecotoxicity of Silver Nanoparticles on the Soil Nematode *Caenorhabditis elegans* Using Functional Ecotoxicogenomics. *Environmental Science & Technology*, 43(10), 3933-3940. doi: 10.1021/es803477u
- Sauvé, S. (2002). Speciation of metals in soils. Dans H. E. Allen (dir.), *Bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: Importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes and plants* (p. 7-37). United States of America: SETAC.
- Sauvé, S. (2003). The Role of Chemical Speciation in Bioavailability. Dans R. Naidu, V. V. S. R. Gupta, S. Rogers, R. S. Kookana, N. S. Bolan & D. C. Adriano (dir.), *Bioavailability, Toxicity and Risk Relationships in Ecosystems* (p. 59-82). Enfield, USA: Science Publishers, Inc.

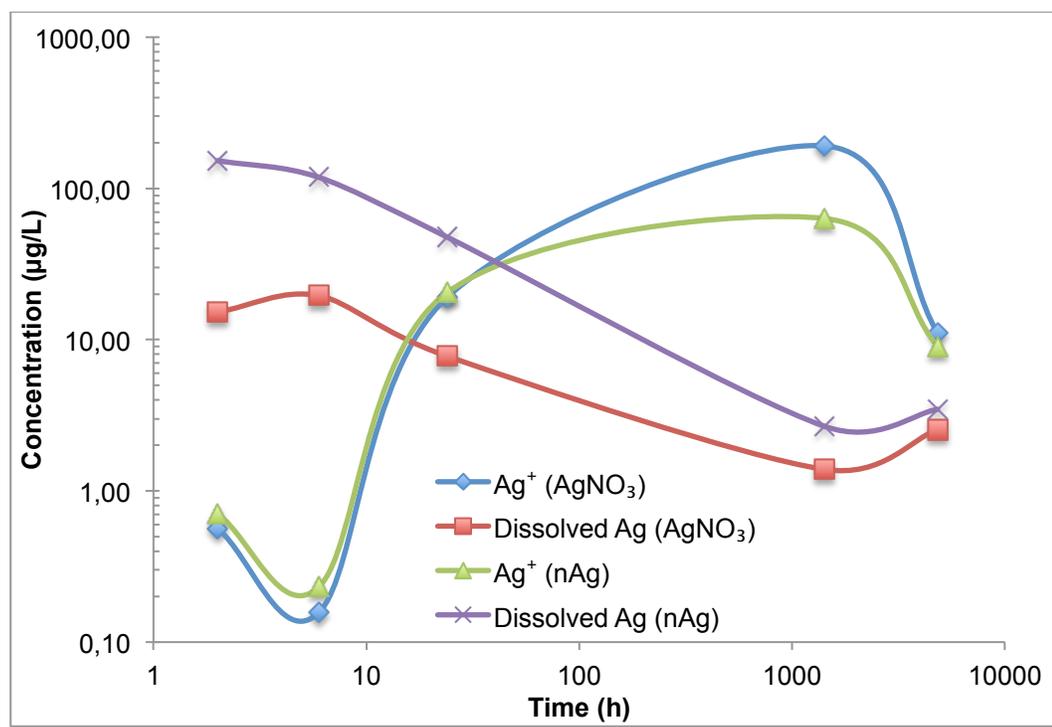
- Sauvé, S., McBride, M. B., & Hendershot, W. H. (1995a). Ion-selective electrode measurements of copper (II) activity in contaminated soils *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29(3), 373-379.
- Sauvé, S., McBride, M. B., & Hendershot, W. H. (1995b). Ion-selective electrode measurements of copper(II) activity in contaminated soils *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29(3), 373-379.
- Shoults-Wilson, W. A., Reinsch, B. C., Tsyusko, O. V., Bertsch, P. M., Lowry, G. V., & Unrine, J. M. (2011). Role of Particle Size and Soil Type in Toxicity of Silver Nanoparticles to Earthworms. *Soil Science Society of America Journal*, 75(2), 365-377. doi: 10.2136/sssaj2010.0127nps
- Sikora, F. J., & Stevenson, F. J. (1988). Silver complexation by humic substances-Conditional stability-Constants and nature of reactive sites *Geoderma*, 42(3-4), 353-363. doi: 10.1016/0016-7061(88)90011-0
- Tiessen, H., & Moir, J. O. (1993). Total and organic carbon (*Soil sampling and methods analysis* (p. 187-191). United States of America: Lewis Publishers.
- Tourinho, P. S., van Gestel, C. A. M., Lofts, S., Svendsen, C., Soares, A. M. V. M., & Loureiro, S. (2012). Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1679-1692.
- Vandervoort, A. R., & Arai, Y. (2012). Environmental chemistry of silver in soils: current and historic perspective. Dans D. L. Sparks (dir.), *Advances in Agronomy, Vol 114* (Vol. 114, p. 59-90). San Diego: Elsevier Academic Press Inc.
- Vesely, J., Jensen, O. J., & Nicolaisen, B. (1972). Ion-selective electrodes based on silver sulphide. *Analytica Chimica Acta*, 62(1), 1-12. doi: 10.1016/s0003-2670(01)80977-6
- Wijnhoven, S. W. P., Peijnenburg, W., Herberths, 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. (2009). Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3(2), 109-117. doi: 10.1080/17435390902725914

ANNEXE 1. MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE

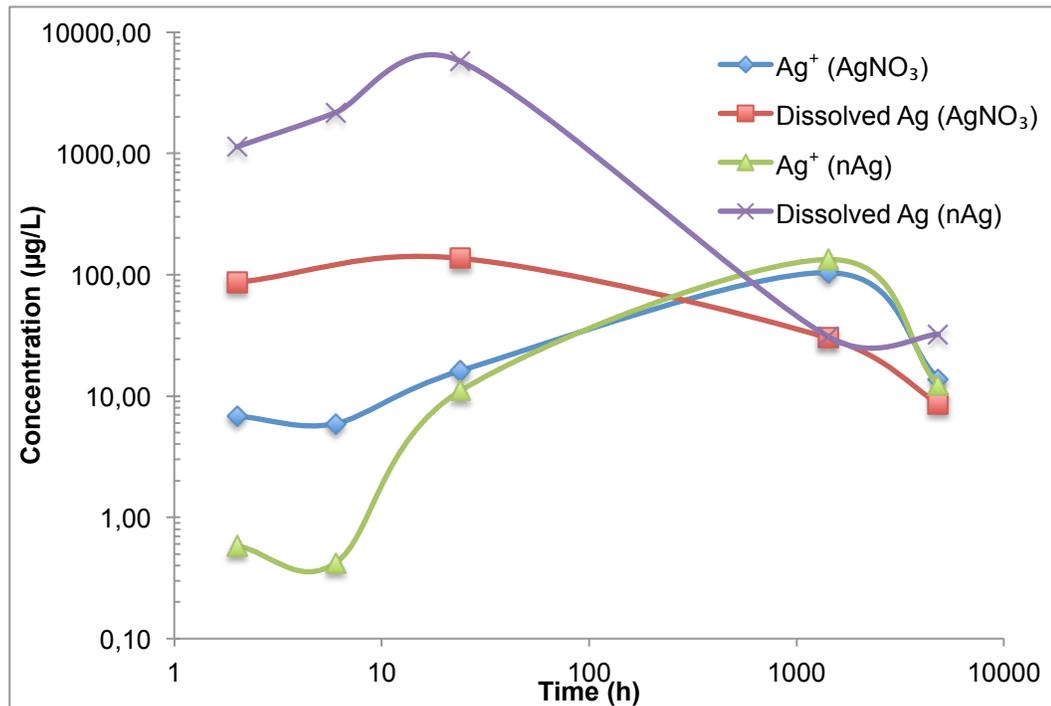
(a)



(b)



(c)



(d)

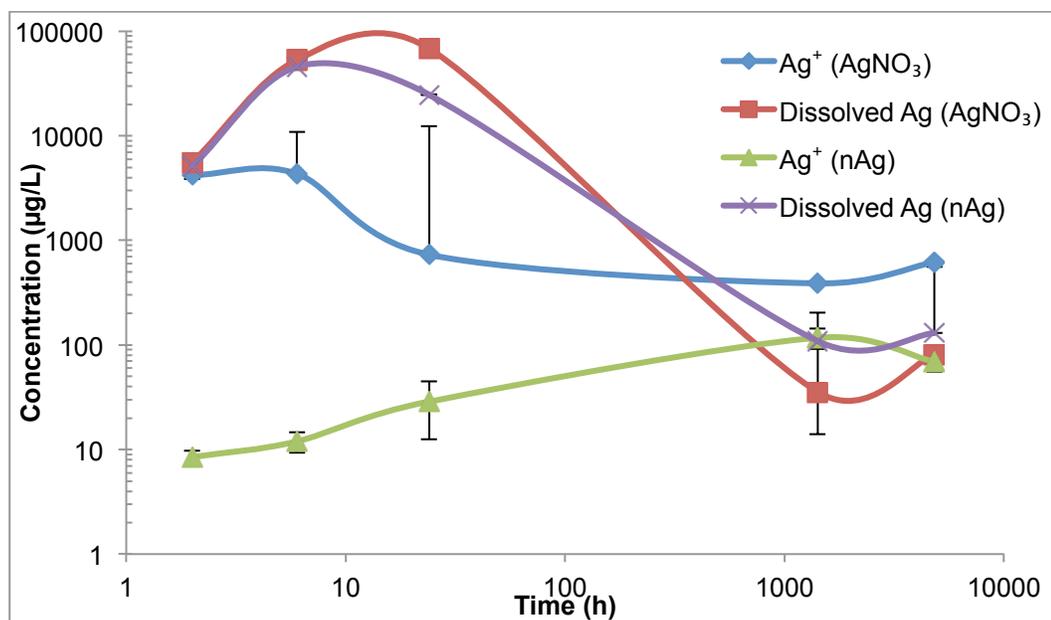


Figure. A.1. Long-term exposure of Ag in agricultural soil 2 (a) 1 mg Ag/kg dry soil (b) 5 Ag mg/kg dry soil (c) 25 mg Ag/kg dry soil (d) 100 Ag mg/kg dry soil