

SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT
FRANÇAIS / ENGLISH

**METHODES DE PRELEVEMENTS ET TECHNIQUES
DE CARACTERISATIONS DES PARTICULES**

CHAPITRE III DE L'ETUDE :

**EXPOSITION AUX PARTICULES ATMOSPHERIQUES :
LIEN ENTRE CARACTERISATION PHYSICO-CHEMIQUE
ET IMPACT SUR LA SANTE**

***METHODS FOR PARTICLE SAMPLING AND
CHARACTERIZATION***

septembre 2020

A. RORAT¹, C. LANIER², D. CUNY¹, A. DERAM², L. CANIVET²

¹ LGCgE/Faculté de Pharmacie

² LGCgE/ILIS/Faculté de Pharmacie

Créée à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD est depuis 1989, le catalyseur d'une coopération entre industriels, institutionnels et chercheurs.

Acteur reconnu de la recherche appliquée dans le domaine des déchets, des sols pollués et de l'utilisation efficace des ressources, RECORD a comme objectif principal le financement et la réalisation d'études et de recherches dans une perspective d'économie circulaire.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et institutionnels) définissent collégialement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Exposition aux particules atmosphériques : lien entre caractérisation physico-chimique et impact sur la santé, 2020, 203 p, n°18-0677/1A
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr

© RECORD, 2020

MOTS CLES

particules atmosphériques, pollution atmosphérique, caractéristiques physico-chimiques, toxicité, santé humaine

KEY WORDS

atmospheric particles, atmospheric pollution, physicochemical characteristics, toxicity, human health

AVANT-PROPOS

En 2020, le projet RECORD intitulé « Exposition aux particules atmosphériques - Lien entre caractérisation physico-chimique et impact sur la santé » a permis la publication d'un travail de synthèse sur les liens entre les caractéristiques physico-chimiques des particules et leur toxicité.

Le présent document constitue la synthèse du troisième chapitre de ce rapport : celui-ci est consacré à la description des méthodes de prélèvements des particules ainsi qu'aux techniques de caractérisation de ces dernières. Compte tenu de la spécificité de ce chapitre, il est disponible en tant que tel, afin de venir en appui des réflexions portées par les experts en métrologie mais aussi par les scientifiques utilisant les données de caractérisation physico-chimiques des particules dans le cadre de projets multidisciplinaires.

Contexte et objectifs

En 2013, la pollution atmosphérique et particulièrement les particules, ont été reconnues comme cancérigène pour l'Homme (Groupe 1) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC). La dernière décennie a entraîné une croissance exponentielle du nombre d'études sur les effets des particules atmosphériques sur la santé humaine améliorant ainsi la compréhension de leurs mécanismes de toxicité. La classification des particules la plus utilisée est basée sur leur diamètre aérodynamique, souvent assimilé à la taille exprimée en micron (PM_{10} , $PM_{2.5}$, $PM_{0.1}$). La taille des particules est le paramètre le plus souvent utilisé pour les caractériser ce qui permet de déterminer leur zone de dépôt dans le système respiratoire (Fig.1). Certaines études tentent de mettre en évidence que d'autres paramètres physico-chimiques des particules influenceraient leurs effets toxiques. Néanmoins, leur évaluation s'avère difficile, notamment du fait (1) de la multiplicité des techniques de récolte et de caractérisation qui conduit à des difficultés d'interprétation et de comparaison des résultats des études menées et (2) de la multiplicité des *end-points* suivis dans les études de toxicité sur modèles cellulaires et animaux, mais aussi au sein d'études épidémiologiques. Actuellement, les réglementations concernant les particules ne prennent en compte que leur taille et leur concentration dans l'atmosphère. Les effets liés à la composition complexe des particules ne sont pas pris en compte, même s'il a été prouvé qu'elle peut concourir à leur toxicité.

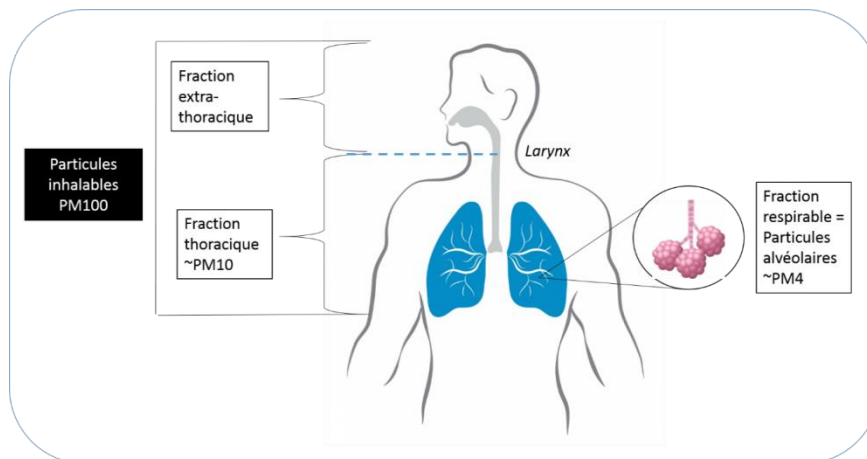


Figure 1. Classification of atmospheric particles, according to the region of the human respiratory tract in which they are deposited (RECORD 2020)

L'enjeu général de l'étude globale a été de proposer un nouvel éclairage sur les connaissances actuelles des effets des particules sur la santé humaine et surtout de faire le lien entre leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs effets toxiques. Cette étude a eu pour objectifs (1) d'évaluer l'adéquation des méthodes de prélèvements et de caractérisation des particules en fonction des objectifs, (2) d'analyser les données récentes sur leurs effets sanitaires, (3) de définir la pertinence des apports de la détermination des caractéristiques physico-chimiques par rapport à leur taille, (4) d'étudier les liens de ces caractéristiques avec les effets sanitaires et (5) d'émettre des préconisations en matière d'évaluation des risques sanitaires des particules lors d'une exposition par inhalation.

L'objectif du présent rapport intitulé « Méthodes de prélèvements et techniques des caractérisations des particules » est de décrire les méthodes de prélèvements des particules les plus souvent utilisées dans les études ainsi que

Background and Objectives

In 2013, air pollution in general and particulate pollutants in particular were recognized as a human carcinogen (Group 1) by the World Health Organization (WHO)'s International Agency for Research on Cancer. Consequently, the last decade has seen exponential growth in the number of studies of the effects of atmospheric particles on human health - thereby improving our understanding of the mechanisms of toxicity. The most frequently used classification system for atmospheric particles is based on their aerodynamic diameter, which is often assimilated to the size in micrometres (PM_{10} , $PM_{2.5}$, $PM_{0.1}$, etc.). Moreover, size is the most common parameter used to determine the parts of the respiratory tract in which particles are deposited (Figure 1). However, some studies suggest that other physicochemical variables may affect the toxicity of particles. These effects are difficult to evaluate, in view of the great variety of (i) sampling and characterization techniques, which leads to difficulties in interpreting and comparing results, and (ii) methods used in toxicological and epidemiological studies. At present, legislative regulations on particulate pollutants take account of only the latter's size and mass concentration in the atmosphere, and thus fail to address complex effects related to the pollutants' composition.

The overall objective of the full study was to review the effects of particles on human health and to establish links between the particulate matter's physicochemical characteristics and its toxic effects. The study's specific objectives were to (i) assess the adequacy of the methods used to sample and characterize atmospheric particles, (ii) analyse recent data on these particles' health effects, (iii) define the relevance of the relationship between the particles' size and their physicochemical characteristics, (iv) study the links between these physicochemical characteristics and health effects, and (v) issue recommendations on health risk assessments for inhaled particles.

The objective of this part of the report entitled "Methods for particle sampling and characterization" is to describe the airborne particle sampling and characterisation methods used most frequently in research and field studies. A

les techniques de caractérisation de ces dernières. Dans cette partie, nous avons pu lister les techniques de prélèvements et de caractérisation des particules utilisées par les chercheurs. Afin de répondre à cet objectif, une analyse bibliographique a été menée puis les résultats obtenus ont été amendés par la consultation d'experts scientifiques.

Principaux résultats et discussion

De multiples techniques de prélèvements et de caractérisation existent (Tab. 1). Comme l'ont souligné certains experts, le choix dépend de l'objectif de l'étude et donc des objectifs des prélèvements (surveillance de la qualité de l'air, chimie de l'atmosphère ou études expérimentales d'évaluation de la toxicité des particules...).

Le choix des techniques de prélèvement dépend aussi du type d'environnement où doivent être effectués ces prélèvements : environnement extérieur, atmosphère de travail... En effet, les concentrations ne sont pas au même niveau. Des techniques avec des seuils de détection plus bas sont souvent nécessaires lors de prélèvements en air extérieur.

Table 1. Techniques for sampling atmospheric particles (RECORD 2020)

Active sampling techniques			Passive sampling techniques
On a filter without a particle size cut-off	On a filter with a particle size cut-off	With particle size fractionation (several sizes)	No fractionation or particle size cut-off
Black smoke, Total suspended particles	PM ₁₀ , PM _{2.5}	PM ₁₀ , PM _{2.5} , PM _{0.1}	Atmospheric fallout
High- and low-volume samplers	High- and low-volume samplers, e.g. Digital DA-80, Partisol	Cascade impactor	Owen gauges
-	Standard: EN12341	-	Standard: NF X 43-014

Compte tenu de la composition chimique complexe, des différentes sources et des paramètres physico-chimiques des particules, la toxicité de la pollution atmosphérique doit être expliquée de manière globale. Étant donné qu'il y a des interactions entre de nombreux paramètres, les effets toxiques des particules sont susceptibles d'être modifiés par leur origine, leur taille et leur composition ce qui a donc une incidence sur la cascade d'autres caractéristiques, telles que la surface, les potentiels zêta et redox, etc.

Historiquement, le paramètre de classification des particules atmosphériques est la taille, qui est aujourd'hui encore très souvent mesurée dans les études expérimentales *in vitro* et/ou *in vivo* sur les effets toxiques des particules. Nous pouvons également citer le diamètre aérodynamique, le diamètre hydrodynamique et la surface spécifique. Néanmoins, les particules caractérisées par la même taille (ou le même diamètre aérodynamique) peuvent être très différentes chimiquement et donc présenter une toxicité différente. D'autres paramètres sont d'intérêt comme la composition (métaux de transition, HAP, endotoxines, teneur en oxygène), la concentration, le potentiel zêta, l'agglomération et/ou l'agrégation, l'activité redox et la capacité à déclencher des espèces réactives de l'oxygène ou encore l'électrophilicité.

La caractérisation des particules effectuée dans le cadre de la surveillance de la qualité de l'air extérieur est normalisée et comprend (1) la caractérisation de la concentration massique (PM₁₀, PM_{2.5}) selon la norme NF EN 12341, et (2) la concentration globale de certains composants, comme certains HAP selon la norme NF EN 15549, certains métaux selon la norme EN 14902, le carbone organique et élémentaire selon la norme NF EN 16909. Le tableau 2 présente les exemples de

literature survey was supplemented with expert opinions in toxicology, physicochemical analysis and risk assessment.

Main results and discussion

Several sampling and characterization techniques have been described (Table 1). As emphasized by certain, the choice of methods depends on the study's objectives (air quality monitoring, atmospheric chemistry, toxicity studies in animals, etc.).

The choice of sampling technique also depends on the type of environment (outdoor air, air in the workplace, etc.). Indeed, the particle concentrations are not of the same magnitude; techniques with lower detection thresholds are often needed for samples of outdoor air.

In view of differences in the particles' complex chemical composition, source and physicochemical properties, the toxicity of air pollution must be accounted for in a general manner. Since many variables interact, the particles' toxic effects are likely to be modified by their source, size and composition; in turn, these affect other characteristics, such as the specific surface area and the zeta and redox potentials.

Historically, atmospheric particles have been classified by size, which is still very frequently measured in toxicity studies. Other variables related to the particle size include the aerodynamic diameter, hydrodynamic diameter and the specific surface area. However, the particles of the same size or same aerodynamic diameter may differ markedly with regard to their chemical properties and thus toxicity. Other variables of interest are the chemical composition (transition metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), endotoxins, oxygen content, etc.), concentration, zeta potential, agglomeration and/or aggregation, redox activity, and the ability to generate reactive oxygen species or electrophilic compounds.

Standardized methods are used to characterize the particles in the outside air. These include (i) characterization of the mass concentration (PM₁₀, PM_{2.5}, etc.) according to the standard NF EN 12341, and (ii) the overall concentration of certain components (e.g. certain PAHs, according to NF EN 15549; certain metals, according to EN 14902; and organic and elemental carbon, according to NF EN 16909). Techniques that can be used to characterize non-standard variables are listed in Table 2.

techniques pouvant être utilisées dans le cadre de la caractérisation de paramètres non normés. Comme précisé par certains des experts, « il n'existe aucune méthode analytique qui permet d'analyser les particules en leur globalité, plusieurs techniques doivent être employées » pour une caractérisation optimale des particules en suspension (Expert physico-chimiste).

According to an expert in physicochemical analysis, "No single analytical method can be used to characterize airborne particles as a whole; several techniques must be employed for optimal characterization"

Table 2. Methods for the characterization of atmospheric particles used in experimental studies and in monitoring air quality (RECORD 2020)

Parameter studied	Particle fraction	Methods	Unit	Standard	Application	
Mass concentration	PM ₁₀ and PM _{2,5}	TEOM-FDMS The beta absorption gauge Gravimetric method	µg/m ³	NF EN 12341	Monitoring Toxicology Epidemiology	
	PM ₁ -PM ₁₀	Microsensors	µg/m ³	-	Monitoring Epidemiology	
Number of particles	0.1 µm to >5 µm	Individual particle counter by light scattering	Number of particles/m ³	NF EN ISO 14644-1:2016 ¹	Monitoring	
	5-10 to 700 nm	Condensation particle counter	Number of particles/m ³	-	Monitoring Epidemiology	
Granulometry	Size 3 to 100 µm 50 nm to 200 µm 1 nm to 5 µm	Optical microscopy Scanning electron microscopy Transmission electron microscopy	nm, µm	-	Monitoring Toxicology Epidemiology	
	Hydrodynamic diameter ~ 0.1 nm to ~10 µm.	Dynamic light scattering	nm, µm	-	Toxicology	
Analysis of surface chemistry	All particles sampled	X-ray photoelectron spectrometry	%	-	Toxicology	
Specific surface area	All particles sampled	Brunauer–Emmett–Teller (BET) method	S = specific surface [m ² .g ⁻¹] ρ = theoretical density [g.cm ⁻³]	-	Toxicology	
Overall characterization of the chemical composition	PAH	All particles sampled	GC HPLC	Mass concentration	NF EN 15549, technical specification XP CEN/TS 16645 Monitoring Toxicology	
	Carbohydrates	All particles sampled	GC-MS HPLC-MS IEC-HPLC-PDA HPAEC-PAD	Mass concentration	- Toxicology	
	Elemental and organic carbon	All particles sampled	Thermo-optical analyzers	Mass concentration	NF EN 16909 Monitoring Toxicology	
	Metals	All particles sampled	Destructive measurements	GFAAS ICPMS	Mass concentration	EN 14902 Monitoring Toxicology
			Non-destructive measurements	FAAS XRF PIXE INAA	Mass concentration	- Surveillance Toxicology
	Endotoxins	All particles sampled	LAL	Endotoxin unit	NF EN 13098 ²	Monitoring Toxicology
Black carbon	All sizes	Optical analyzers	Mass concentration	-	Monitoring Toxicology	

¹ The Standard for "Cleanrooms and associated controlled environments"

² The standard covers the workplace environment

Parameter studied	Particle fraction	Methods	Unit	Standard	Application
Potential oxidant	All particles sampled	DTT assay	Nmol DTT / min/m ³ air		Toxicology
		CM-H2DCF	oxidation of CM- DCF		
		ESR	Intensity of the ESR		
		Detecting breaks in plasmid DNA	% of loose forms		
		Measurement of antioxidant depletion in the RTLTF	% depletion of antioxidants		
		DHBA assay	nmol of DHBA.min ⁻¹ .m ⁻³ air		
Electrophilicity	All particles sampled	GAPDH assay	NEM equivalents per m ³	-	Toxicology

CM-DCF: chloromethyl derivative of dichlorofluorescein; CM-H2DCF: chloromethyl derivative of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein; DHBA: dihydroxybenzoate; DTT: dithiothreitol; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase enzyme; ESR: electron spin resonance; FAAS: flame atomic absorption spectroscopy; GC: gas chromatography; GC-MS: gas chromatography-mass spectrometry; GFAAS: graphite furnace atomic absorption spectroscopy; ICP-AES: inductively coupled plasma – atomic emission spectroscopy; ICP-MS: induced coupled plasma - mass spectroscopy; IEC-HPLC-PDA: ion exclusion chromatography - high-performance liquid chromatography photodiode array detector; INAA: instrumental neutron activation analysis; HPAEC – PAD high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection; HPLC: high-performance liquid chromatography; HPLC-MS: high-performance liquid chromatography - mass spectrometry; LAL: Limulus amoebocyte lysate; NEM: N-ethylmaleimide; PAH: polycyclic aromatic hydrocarbons; PIXE: particle-induced X-ray emission; RTLTF: respiratory tract lining fluid; TEOM-FDMS: tapered element oscillating microbalance filter dynamic measurement system; XRF: X-ray fluorescence

Conclusion et préconisations

Bien que le choix des méthodes de prélèvement et de caractérisation des particules dépende de l'objectif de l'étude, il serait nécessaire **d'harmoniser les techniques** utilisées, afin de permettre une meilleure comparaison des résultats obtenus dans les recherches liées aux particules. En s'appuyant par exemple sur le retour d'expériences des normes dans le domaine de la surveillance de la qualité de l'air, un **guide de bonnes pratiques** devrait être réalisé pour les prélèvements et la caractérisation des particules, effectués dans le cadre de recherches sur les effets des particules, et notamment pour comprendre les mécanismes de toxicité. Il serait intéressant d'harmoniser les protocoles d'études en toxicologie et en épidémiologie.

Tous les experts s'accordent pour dire que les critères « taille » et concentrations sont incontournables dans les études des effets toxiques des particules. Cependant, ils ont attiré notre attention sur d'autres paramètres (composition, nombre, forme, surface spécifique, solubilité, potentiel zêta) qui influenceraient la toxicité des particules. Certains experts mettent en avant la difficulté de faire le lien entre caractéristiques physico-chimiques et effets toxiques des particules, due à la difficulté de caractériser de manière exhaustive les particules. Il paraît impossible de hiérarchiser les paramètres physico-chimiques des particules selon leur impact sur la santé humaine. **Tous les paramètres physico-chimiques sont importants : ils ne peuvent pas et ne doivent pas être évalués séparément.** La recherche de caractères plus globaux de la toxicité, comme le potentiel oxydant, apparaît alors comme une voie de développement.

Conclusion and recommendations

Although the choice of particle sampling and characterization methods depends on a study's objective, it appears that techniques should be harmonized with a view to enabling the comparison of the results obtained in particle-related research. Good practice guidelines (based, for example, on reliable standards in the field of air quality monitoring) should be developed for research-based particle sampling and characterization methods used notably in studies of toxicity mechanisms. Furthermore, it would be interesting to harmonize study protocols in the fields of toxicology and epidemiology.

All the experts agree that the particle size and mass concentration are essential in toxicity studies. However, they also highlighted other variables (the composition, count, shape, specific surface area, solubility, zeta potential, etc.) that might influence the toxicity of the particles. Some experts also emphasized how difficult it is to exhaustively characterize particulate pollutants and thus establish a link between the particles' physicochemical characteristics and their toxic effects. There does not appear to be a single physicochemical variable that accounts for health impact of particulate pollutants. All the various physicochemical parameters variables are important: they cannot and should not be evaluated in isolation. The investigation of more general characteristics of toxicity (such as oxidizing potential) now warrants further development.