



Etude de l'activité biologique de poudres industrielles fines et ultrafines de carbure de silicium : caractérisation physico-chimique.

Najih Boumahdi, Philippe Grosseau, Michèle Cottier, Delphine Boudard,
Jean-Michel Vergnon, Patrick Sébastien

► To cite this version:

Najih Boumahdi, Philippe Grosseau, Michèle Cottier, Delphine Boudard, Jean-Michel Vergnon, et al.. Etude de l'activité biologique de poudres industrielles fines et ultrafines de carbure de silicium : caractérisation physico-chimique.. Michel Cournil. XI Congrès de la Société Française de Génie des Procédés. Des réponses industrielles pour une société en mutation., Oct 2007, Saint Etienne, France. Société Française de Génie des Procédés, pp.ISBN=2-910239-70-5, 2007. <hal-00457618>

HAL Id: hal-00457618

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00457618>

Submitted on 17 Feb 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Etude de l'activité biologique de poudres industrielles fines et ultrafines de carbure de silicium : caractérisation physico-chimique.

BOUMADHI NAJIH⁽¹⁾, GROSSEAU PHILIPPE⁽¹⁾ *, GUILHOT BERNARD⁽²⁾, COTTIER MICHÈLE⁽³⁾, VERGNON JEAN-MICHEL⁽³⁾, BOUDARD DELPHINE⁽³⁾, SEBASTIEN PATRICK⁽⁴⁾

(1) Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Centre SPIN, Département PMMC, LPMG UMR 5148, 158 Cours Fauriel 42023 Saint-Etienne Cedex 02, France

(2) Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Centre CIS, LPMG UMR 5148, 158 Cours Fauriel 42023 Saint-Etienne Cedex 02, France

(3) Faculté de médecine (EA 3063)/CHU de Saint-Étienne : Pneumologie – cytologie et histologie

(4) Directeur Hygiène Sécurité Environnement de Saint-Gobain CREE, Cavaillon

Résumé

L'industrie élabore et utilise des poudres de SiC de plus en plus fines. Depuis leur synthèse jusqu'à leur utilisation finale, les poudres subissent diverses opérations et traitements au cours desquels elles sont susceptibles de se disséminer dans l'atmosphère des locaux industriels, provoquant ainsi un risque d'inhalation. Les particules fines peuvent provoquer une réaction inflammatoire au niveau des poumons. L'objectif de cette étude est d'évaluer la toxicité et d'expliquer la réactivité biologique de différentes variétés de poudres industrielles de SiC.

Mots-Clés:

carbure de silicium ; poudre ultrafine ; activité biologique ; toxicité ; macrophage alvéolaire

I Introduction

La toxicité des particules fines inhalées a fait l'objet de nombreuses études pour des fibres (amiante (Dumortier, 2003), whiskers de SiC (Fisher, 2000)) et certains solides pulvérulents (dioxyde de titane (Rehn, 2003), silice (Governata, 2005 ; Fubini, 1998), particules diesel (Baulig, 2003 ; Becker, 1996)). Celles-ci laissent apparaître que la nature chimique et structurale, ainsi que les traitements subis par les poudres au cours de leur procédé d'élaboration (broyage, concassage, traitement thermique...) jouent un rôle fondamental sur leur activité biologique. Ainsi, les poudres de dioxyde de titane, longtemps considérées comme non toxiques, présentent une activité biologique marquée lorsqu'elles acquièrent une taille nanométrique (Hussain, 2005). Par ailleurs, des différences cruciales ont été observées pour les poudres de silice de structure cristallographique différentes (Bruch, 2004 ; Fubini, 2001) et c'est pourquoi aujourd'hui on admet que la silice cristallisée sous forme de cristobalite possède un effet cancérigène contrairement aux phases amorphes. De plus, ces études ont montré pour des poudres de quartz, une variabilité importante dans la réponse biologique liée à l'origine du matériau et par conséquent à ses caractéristiques physico-chimiques (Fubini, 2001 ; Fubini, 2003). Les différences observées ont été expliquées principalement par la morphologie, l'aspect de surface des grains, la présence en quantité plus ou moins importante d'impuretés (aluminium, fer), des radicaux libres dans les milieux biologiques, la nature et l'organisation de groupements fonctionnels de surface.

*Auteur à qui la correspondance devrait être adressée : grosseau@emse.fr

Les poudres de carbure de silicium (SiC) sont produites par la réduction carbothermale de la silice (mélange de quartz et de coke pétrolier), au cours du procédé Acheson dont le bilan peut s'écrire :



Les poudres de SiC subissent alors plusieurs opérations chimiques, thermiques et mécaniques avant d'être utilisées dans l'élaboration de divers matériaux à hautes performances (produits réfractaires, filtres à particules, etc.).

Lors des différentes étapes du procédé de fabrication, les particules fines de SiC disséminées dans l'atmosphère peuvent être inhalées. Ces dernières peuvent se fixer dans les alvéoles pulmonaires et provoquer une réaction inflammatoire. Cette étude a pour objectif la mise en évidence de la toxicité de différentes variétés de poudres industrielles de SiC. Dans un premier temps, nous étudierons la stimulation *In Vitro* des macrophages alvéolaires de rats (CRL-2192) au contact des particules. L'étude de la réaction inflammatoire consistera à suivre l'évolution de divers paramètres : cytokines, facteurs de transcription, enzymes, facteurs de croissance, radicaux libres (ROS, RNS), etc. L'intensité des effets de cette réaction inflammatoire va dépendre principalement des caractéristiques physico-chimiques des poudres inhalées.

Nous nous limiterons ici à l'étude d'une poudre de SiC, en se focalisant sur :

- ❖ La caractérisation de la poudre industrielle
- ❖ La récupération de la fraction alvéolaire
- ❖ L'observation de macrophages alvéolaires.

II. Caractérisation de la poudre de SiC et récupération de la fraction alvéolaire

II.1 Caractérisations physico-chimiques

La poudre industrielle brute fournie par l'entreprise Saint-Gobain présente une teneur élevée en SiC (> 98%). L'analyse par diffractométrie des rayons X montre qu'il s'agit de SiC- α . Ce dernier est composé majoritairement de SiC-6H et, en plus faible proportion, de SiC-4H, de SiC-15R, ainsi que des impuretés résiduelles de silice (<1%). De plus, l'analyse chimique par spectrométrie d'émission plasma (ICP, Spectroanalyseur séquentiel haute résolution Jobin-Yvon Activa) révèle la présence d'impuretés d'aluminium et de fer (%Al = 570 ppm et %Fe = 2530 ppm), dont certaines études ont souligné l'importance dans l'activité biologique des poudres de silice (Baulig, 2000 ; Becker, 1996) La distribution de taille des particules a été étudiée en voie liquide en utilisant un granulomètre laser (Malvern, Mastersizer 2000) et confirme la présence d'un échantillon polydisperse, ($D_{50} = 40\mu\text{m}$). La surface spécifique déterminée par la méthode BET (krypton) est très faible : $Sp = 0,2 \text{ m}^2/\text{g}$.

L'analyse de surface par spectroscopie de photoélectrons (XPS, Riber Cameca / Analyseur MAC III) montre la présence d'une fine couche de silice en surface des grains de SiC et l'absence d'une éventuelle zone intermédiaire de diffusion (Figure 1).

II.2 Récupération de la fraction alvéolaire

L'étude de l'inhalation de particules nécessite de connaître la taille de particule à partir de laquelle elles se déposent dans les alvéoles pulmonaires. On dispose pour cela de courbes conventionnelles établies pour les aérosols reliant la profondeur de pénétration des particules en fonction de leurs diamètres aérodynamiques (norme NF EN 481) (Figure 2).

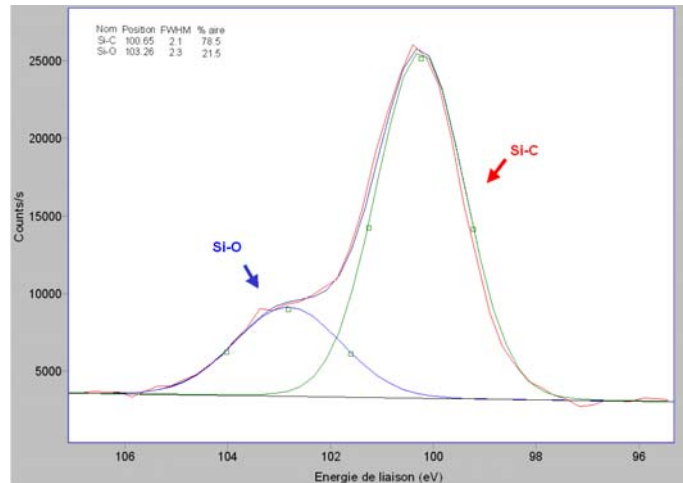


Figure 1 Analyse XPS de la poudre de SiC- α : décomposition du niveau 2p du silicium [décomposition logiciel GRAMS/32AI].

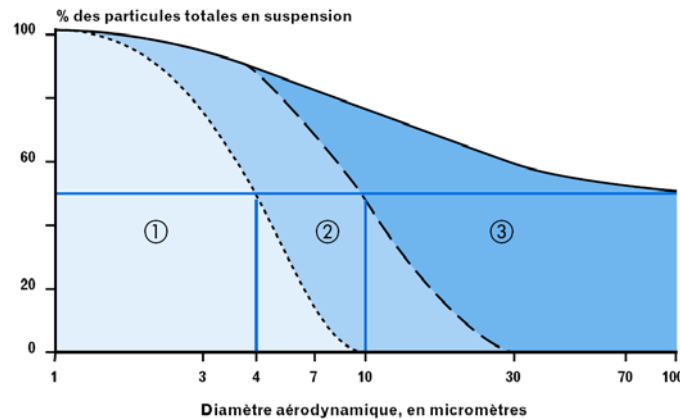


Figure 2. Les fractions conventionnelles sont représentées par les zones que délimitent les courbes.
 1 = alvéolaire ; 2 = trachéo-bronchique ; 1 + 2 = thoracique ; 3 = extrathoracique ;
 1 + 2 + 3 = inhalable.

Notre poudre industrielle de SiC présente une distribution granulométrique large (Figure 4). La première étape consiste donc à récupérer la fraction « alvéolaire », contenue dans la poudre brute, susceptible de pénétrer dans le poumon profond. Nous avons donc mis au point un dispositif expérimental sur la base des lits fluidisés : « élutriator vertical » (Figure 3). Pour cela, on injecte un gaz, à débit contrôlé, dans une colonne de verre traversant un lit de poudre. Les particules fines sont donc mises en suspension. Nous récupérons la fraction alvéolaire sur une membrane en polycarbonate (0,2 μ m, 47 mm, Whatman) en sortie de colonne. L'analyse granulométrique des poudres ainsi recueillies sur les membranes (Figure 4a) montre que l'opération de séparation est efficace, en effet, nous obtenons des particules de taille inférieure à 10 μ m ($D_{50} = 2,2 \mu$ m). L'observation au MEB confirme nos résultats (Figure 4b).

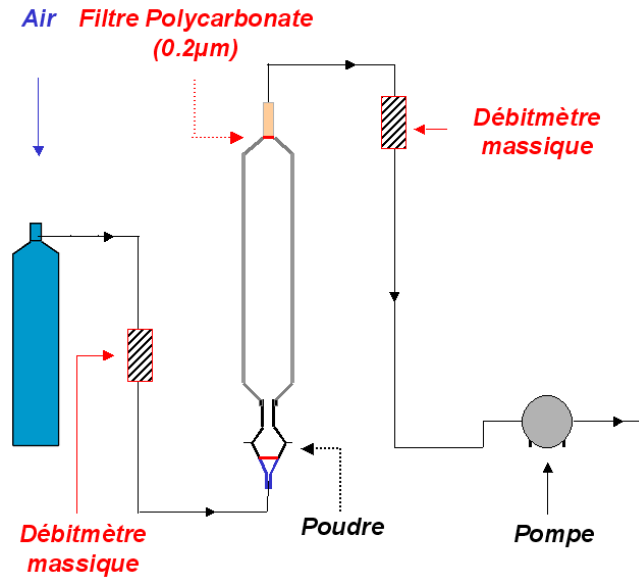


Figure 3. Schéma du dispositif : « élutriator vertical ».

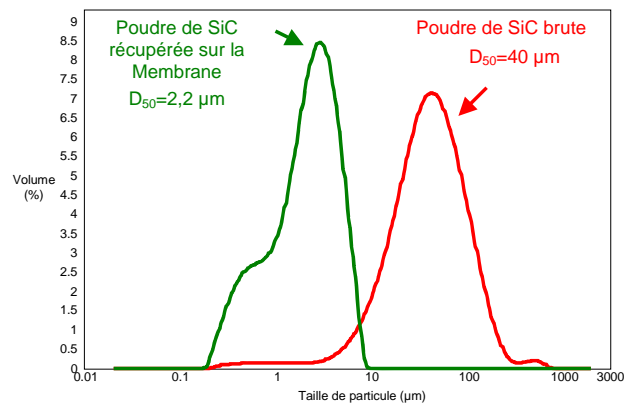


Figure 4a. Analyse granulométrique de la poudre de SiC.

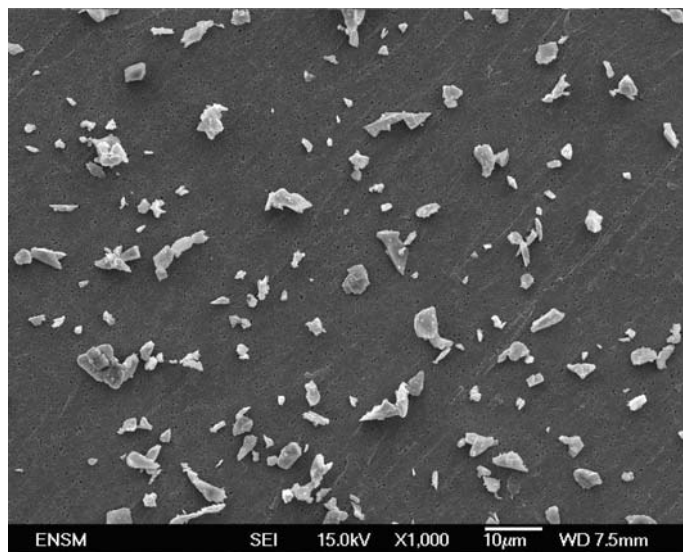


Figure 4b. Observation MEB des particules de SiC sur la membrane en polycarbonate.

III. Activité biologique des poudres de SiC

Lorsque ces particules sont inhalées, l'appareil respiratoire humain demeure le premier lieu de l'inflammation. On peut supposer que les particules de SiC se fixent dans les alvéoles où elles se trouvent en présence de macrophages alvéolaires.

Pour notre étude, nous utiliserons dans un premier temps des macrophages alvéolaires de rats (CRL-2192). Leurs caractéristiques morphologiques sont déterminées par microscopie à force atomique et optique.

Les cellules sont préalablement mises en suspension dans leur milieu de culture [Ham's F12K auquel on ajoute une solution de bicarbonate de sodium (2 % ; Invitrogene) et du sérum de veau (FBS, 15 % ; Invitrogene)]. L'observation des cellules en 3D est réalisable avec un microscope à force atomique (AFM, Nanoscope III A), utilisé en mode tapping deflection en milieu liquide avec une sonde de constante de raideur $0,01 \text{ Nm}^{-1}$ en nitrure de silicium (Figure 5).

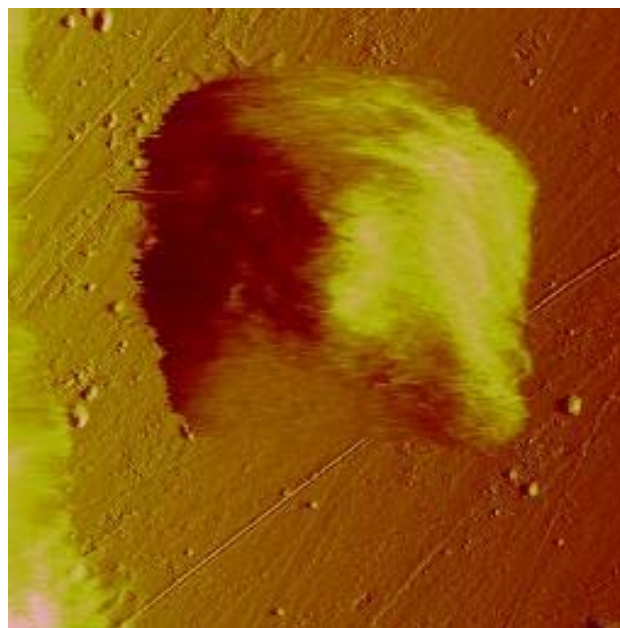
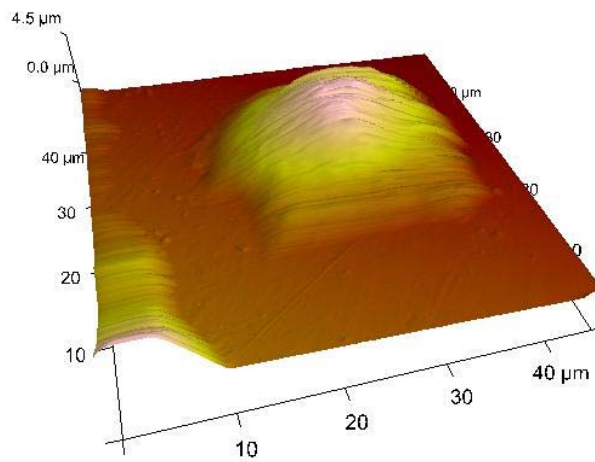


Figure 5. Image AFM, scan de $45 \times 45 \mu\text{m}^2$. Observation de macrophage alvéolaire de rats (CRL-2192).

On constate que la majorité des cellules macrophagiques étudiées sont circulaires, peu différenciées au repos avec une taille qui varie de 10 μm à 40 μm et une hauteur de quelques micromètres. Ces observations sont confirmées par des photos au microscope optique (Olympus, IX2-UCB) (Figure 6).

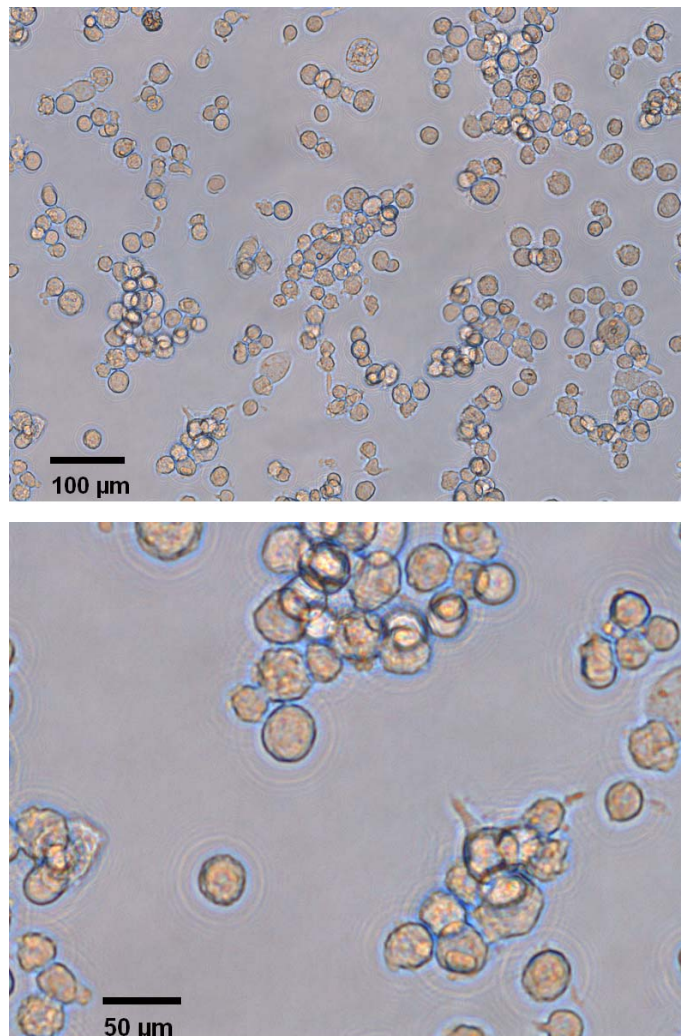


Figure 6. Images de macrophages alvéolaires de rats (CRL-2192) au microscope optique.

Dans une étape ultérieure, nous optimiserons les conditions d'acquisition de ces images, afin d'observer les variations morphologiques (différenciation, phagocytose) de nos cellules au contact des particules de SiC. De plus, les études *In Vitro* (en cours), correspondant au suivi de divers paramètres (TNF- α , LDH, β -glucuronidase, H₂O₂, etc.) nous permettront d'évaluer l'activité biologique des particules de SiC.

IV Conclusions

La poudre industrielle de SiC- α correspond à un mélange de phases : une majoritaire de SiC-6H et deux minoritaires SiC-4H et SiC-15R. On note également la présence de certaines impuretés telle que SiO₂ (quartz et cristobalite <1%). Les analyses XPS mettent en évidence la fine couche de silice présente en surface des grains de SiC. En comparant avec des essais (Governata, 2005 ; Fubini, 1998 ; Fubini, 2003), réalisés sur des poudres de silice, on peut penser que la couche de SiO₂ a un rôle primordial dans l'activité biologique de la poudre de SiC. La mise en place du dispositif expérimental « élutriator vertical », permet la récupération de la fraction alvéolaire à partir de la poudre brute fournie par l'industriel. Cette étape est indispensable pour réaliser les tests *In Vitro*. Les étapes ultérieures consisteront à caractériser

les particules fines récupérées et à réaliser des tests *in Vitro* sur les macrophages alvéolaires (animaux puis humains). Nous pourrions ainsi déterminer les paramètres principaux de la toxicité et mieux appréhender les mécanismes d'actions des particules sur l'organisme.

Références

- Baulig, A., 2003. Biological effects of atmospheric particles on human bronchial epithelial cells. Comparison with diesel exhaust particles. *Toxicol In Vitro* 567-73.
- Becker, S., 1996. Stimulation of human and rat alveolar macrophages by urban air particulates: effects on oxidant radical generation and cytokine production. *Toxicol Appl Pharmacol.* 637-48.
- Bruch, J., 2004. Variation of biological responses to different respirable quartz flours determined by a vector model. *Int J Hyg Environ Health* 203-16.
- Dumortier, P., 2003. Corps asbestosiques et fibres d'asbeste dans les échantillons pulmonaires. Utilisation comme marqueurs d'expositions professionnelles ou environnementales. Thèse Université libre de Bruxelles.
- Fisher, C.E., 2000. Release of TNF- α in response to SiC fibres: differential effects in rodent and human primary macrophages, and in macrophage-like cell lines. *Toxicol In Vitro*, 25-31.
- Fubini, B., 1998. Surface chemistry and quartz hazard. *Ann Occup Hyg.* 521-30.
- Fubini, B., 2001. Variability of biological responses to silicas: effect of origin, crystallinity, and state of surface on generation of reactive oxygen species and morphological transformation of mammalian cells. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 95-108.
- Fubini, B., 2003. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radical Biology and Medicine* 1507-1516.
- Governa, M., 2005. Variability of biological effects of silicas: Different degrees of activation of the fifth component of complement by amorphous silicas. *Toxicol Appl Pharmacol.* 68-77, 2005.
- Hussain, SM., 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro* 975-83.
- Rehn, B., 2003. Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated. *Toxicol Appl Pharmacol.* 84-95.