

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR

- ANNABA -



جامعة باجي مختار - عنابة

Année / 2018

Faculté des sciences
Département de chimie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences

Option : Chimie-physique des matériaux

THÈME

Traitements des eaux contaminées par E.Coli . Utilisation des films nanostructurés de ZnO et de l'eau oxygénée.

Présentée par :

Mme Bouasla Nabila

Devant le jury :

Président :

Mr TOUHAMI Mohamed Zine

Professeur

Université Badji Mokhtar-Annaba

Directrice de thèse :

Mme ABDERRAHMANE Sihem

Professeur

Université Badji Mokhtar-Annaba

Examinatrices :

Mme NADJI Aida Rebaia

M.C.A

Université 8 Mai 1945 Guelma

Mme DJILANI Chahrazed

M.C.A

Université 20 Août 1955 Skikda

Dédicace

A la mémoire de ma Mère

A mon Père

A mon mari

A toute ma famille

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au Laboratoire d'Ingénierie des Surfaces (LIS) de l'Université Badji Mokhtar-ANNABA.

J'exprime toute ma gratitude à la directrice du laboratoire, Madame Abderrahmane Sihem ; Professeur à l'Université Badji Mokhtar-ANNABA, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et de m'avoir encadré pendant ces années. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour son aide précieuse. Je la remercie profondément pour son soutien moral, sa compréhension, son écoute, sa patience et ses conseils dans les moments où j'ai rencontré des difficultés pour la réalisation de ce travail de thèse.

Je tiens à remercier Monsieur Touhami Mohamed Zine, Professeur à l'Université Badji Mokhtar-ANNABA, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je tiens à remercier Madame Nadji Aida Rebaia, Maître de Conférences A, à l'Université 8 Mai 1945 Guelma, pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je tiens à remercier Madame Djilani Chahrazed, Maître de Conférences A, à l'Université 20 Août 1955 Skikda, pour avoir accepté d'examiner ce travail de thèse, et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Mes sincères remerciements vont également à tous les membres du laboratoire LIS, pour le soutien et l'aide qu'ils ont su m'apporter.

Résumé

Ce travail porte en premier lieu, sur l'étude de l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sur les bactéries *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, qui sont pathogènes et provoquent des contaminations de l'eau. Et en deuxième lieu, sur la synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS ; ainsi que l'étude de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO sur la bactérie *Escherichia coli* ATCC 43897.

Pour chaque bactérie, nous avons étudié l'influence des concentrations du peroxyde d'hydrogène en fonction de différents temps de contact. Le peroxyde d'hydrogène, aux faibles concentrations (0,847 ; 1,270 ; 1,690 et 2,540ppm), est inefficace. A 3500ppm, les efficacités d'inactivation des *E.coli* et *P.aeruginosa* sont respectivement de 73% et 86% obtenues après un temps de contact de 6h. L'inactivation totale des *S. aureus* a été obtenue avec la même concentration de H_2O_2 après seulement 4h de temps de contact.

Les nanoparticules de ZnO et ZnS ont été synthétisées dans le diéthylène glycol (DEG), par hydrolyse forcée de l'acétate de Zinc. Les analyses par diffraction des rayons X ont confirmé la formation d'une seule phase de ZnO de type wurtzite avec une taille de cristallite de 20,59 nm. La microscopie électronique à transmission (MET), a montré la formation des nanoparticules de ZnO sphériques qui ont une taille moyenne de l'ordre 21,96nm. L'addition du trioctylphosphine (TOP) a favorisé la dispersion des nanoparticules de ZnO en diminuant leur taille à 16,28nm. La DRX a montré que les nanoparticules de ZnS ont une structure cubique avec une taille moyenne des cristallites de l'ordre de 3,63nm. Au cours de la synthèse, l'introduction du TOP n'induit aucun changement de la structure cristalline originale de la phase ZnS.

Les films nanostructurés de ZnO ont été préparés sur un substrat en verre par la méthode spin-coating à une vitesse de rotation de 2500 rpm pendant 40s. Des agrégats de ZnO de diverses tailles micrométriques (≈ 700 nm), ayant une morphologie en forme de champignon et recouvrant toute la surface du substrat de verre ont été observés par MEB. Ces films ont un caractère hydrophile.

L'effet biocide des films nanostructurés de ZnO, sur la bactérie *E. coli* ATCC 43897, a été confirmé par la méthode bactériologique et la Spectroscopie d'Impédance Electrochimique, donnant une efficacité d'inactivation de 94% après un temps de 90mn.

Mots clés : nanoparticules, ZnO, ZnS, film nanostructuré, biocide, peroxyde d'hydrogène.

ABSTRACT

This work focuses, on one hand, on the study of hydrogen peroxide (H₂O₂) biocidal effect on Escherichia coli bacteria, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus which are pathogenic and cause water contamination. And on the other hand, it studies ZnO and ZnS nanoparticles' synthesis as well as ZnO nanostructured films' biocidal effect on Escherichia coli ATCC 43897.

For each bacterium, we investigated the influence of hydrogen peroxide's concentration according to different contact times. At low concentrations (0.847, 1.270, 1.690 and 2.540ppm), hydrogen peroxide is ineffective. The inactivation efficiencies of E.coli and P.aeruginosa, respectively 73% and 86%, were obtained using 3500 ppm hydrogen peroxide during 6 hours contact time. S. aureus total inactivation was achieved with H₂O₂ same concentration after only 4 hours contact time.

X-ray diffraction analyzes confirmed the formation of a single Wurtzite's ZnO phase with 20.59 nm crystallite size. Transmission electron microscopy (MET) showed spherical ZnO nanoparticles' formation having 21.96nm average size. The trioctylphosphine (TOP) addition favored the ZnO nanoparticles' dispersion by decreasing their size to 16.28nm,. The XRD showed that ZnS nanoparticles have a cubic structure with 3.63 nm average crystallite size. TOP introduction during the synthesis induces no change in ZnS phase's original crystal structure.

ZnO nanostructured films were prepared on a glass substrate by spin-coating method at 2500 rpm rotation speed during 40s. ZnO aggregates with various micrometric sizes (\approx 700 nm), having a mushroom-shaped morphology and covering the glass substrate's entire surface, were observed by SEM. These films have a hydrophilic character.

The biocidal effect of nanostructured ZnO films, on Escherichia coli ATCC 43897 bacterium, was confirmed by the conventional bacteriological method and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS), leading to 94% inactivation efficiency obtained after 90 nm contact time.

Key words: nanoparticles, ZnO, ZnS, nanostructured film, biocide, hydrogen peroxide.

ملخص

هذا العمل يتناول أولاً دراسة تأثير فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) على البكتيريا الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية والعنقودية الذهبية، المسببة للأمراض وتؤدي إلى تلوث الماء. وثانياً على تحضير الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك (ZnO) وكبريت الزنك (ZnS)، ودراسة تأثير أغشية ZnO ذات البنية النانومترية على الإشريكية القولونية من نوع ATCC 43897.

بالنسبة لكل بكتيريا، قمنا بدراسة تأثير تركيزات فوق أكسيد الهيدروجين على حسب مدة التلامس. فوق أكسيد الهيدروجين بتركيزات منخفضة (0,847 ; 1,270 ; 1,690 ; 2,540 جزء في المليون (ppm)) غير فعال. عند 3500 جزء في المليون (3500 ppm) كانت فعالية تعطيل كل من الإشريكية القولونية والزائفة الزنجارية على التوالي 73 % و 86 % تم الحصول عليها بعد مدة تلامس قدرها 6 ساعات عند نفس التركيز ل H_2O_2 وبعد مدة اتصال قدرها 4 ساعات فقط، تم تحقيق التعطيل الكلي للعنقودية الذهبية.

تم تحضير الجسيمات النانوية (ZnO) و (ZnS) في ثنائي إيثيلين الجليكول عن طريق التحليل المائي القسري لخلات الزنك. أكدت تحليلات الأشعة السينية تشكل طور ZnO وحيد من نوع ورتزيت بمقاس بلوري قدره 20,59 نانومتر. أظهر الفحص المجهر الإلكتروني (MET) تشكل جسيمات متناهية الصغر لأكسيد الزنك (ZnO)، كروية الشكل، يبلغ متوسط مقاسها 21,96 نانومتر. إضافة ثلاثي أوكسيل الفوسفين أدى إلى الحث على تشتيت الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك (ZnO) من خلال تقليل مقاسها إلى 16.28 نانومتر. وقد أظهرت تحليلات الأشعة السينية أن الجسيمات النانوية ل ZnS لديها بنية مكعبة بمقاس بلوري قدره حوالي 3,63 نانومتر. أثناء تحضير ZnS لا يؤدي إدخال ثلاثي أوكسيل الفوسفين إلى تغيير البنية الأصلية لكبريت الزنك.

تم تحضير أغشية ZnO ذات البنية النانومترية على شريحة من الزجاج بواسطة طريقة الطلاء المركزي (spin-coating) بسرعة دوران قدرها 2500 دورة في الدقيقة لمدة 40 ثانية. أظهر الفحص عن طريق المسح المجهر الإلكتروني (MEB)، تشكل مجاميع من ZnO ذات مقاسات ميكرومترية مختلفة (≈ 700 nm) على شكل فطر، تغطي طبقة الزجاج بأكملها. هذه الأغشية لها طابع مائي.

تم تأكيد تأثير أغشية ZnO ذات البنية النانومترية على الإشريكية القولونية من نوع ATCC 43897 بواسطة الطريقة البكتريولوجية التقليدية ومطيافية المعاوقة الكهروكيميائية (EIS) حيث تم الحصول على فعالية تعطيل لهذه البكتيريا بنسبة 94 % خلال مدة اتصال قدرها 90 د .

الكلمات المفتاحية :

جسيمات نانوية، ZnO ، ZnS ، غشاء ذات بنية نانومترية ، فوق أكسيد الهيدروجين

Liste des figures

Figure I.1.1. Structure d'une cellule bactérienne [2].	7
Figure I.1.2. Image de Escherichia coli [16]	8
Figure I.1.3. La bactérie Pseudomonos aeruginosa [23].	11
Figure I.1.4. Staphylococcus aureus [29]	12
Figure I.3.1. Structure hexagonale de type Würtzite de ZnO.	27
Figure I.4.1. Les différentes étapes de la méthode spin-coating.	36
Figure II.1.1. Dénombrement des bactéries.	55
Figure II.1.2. Préparation des dilutions.	56
Figure II.2.1. Dispositif expérimental de la synthèse des NPs de ZnO et ZnS	58
Figure II.2.2. Etapes du processus de dépôt par spin-coating.	59
Figure II.2.3. Spin-coater	60
Figure II.2.4. Principe général de la spectroscopie d'impédance électrochimique.	64
Figure II.2.5 . Schéma de fonctionnement de la SIE représentant la perturbation sinusoïdale en potentiel et sa réponse en courant.	64
Figure II.2.6. Schéma du montage électrochimique.	66
Figure III.1.1. Effet biocide de H ₂ O ₂ aux faibles concentrations sur les <i>E.coli</i> durant 900s.	70
Figure III.1.2. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 2h.	71
Figure III.1.3. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500ppm sur les <i>E. coli</i> durant 3h.	72
Figure III.1.4 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6h.	73
Figure III.1.5. Efficacité d'inactivation de <i>E.coli</i> à 500 ppm de H ₂ O ₂ pendant 6h.	74
Figure III.1.6 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 7h.	75
Figure III.1.7. Efficacité d'inactivation de <i>E.coli</i> à 500ppm de H ₂ O ₂ pendant 7h.	75
Figure III.1.8. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1000 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 5h.	76
Figure III.1.9. Efficacité d'inactivation de <i>E.coli</i> à 1000 ppm de H ₂ O ₂ durant 5h.	77

Figure III.1.10. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6h.....	78
Figure III.1.11. Efficacités d'inactivation de <i>E.coli</i> à 1500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	78
Figure III.1.12. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6h.....	79
Figure III.1.13. Efficacité d'inactivation de <i>E.coli</i> à 2500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.	80
Figure III.1.14 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500 ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6h.....	81
Figure III.1.15 . Efficacité d'inactivation de <i>E.coli</i> à 3500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h	81
Figure III.1.16 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>P.aeruginosa</i> durant 6h.....	83
Figure III.1.17. Efficacité d'inactivation de <i>P. aeruginosa</i> à 500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	84
Figure III.1.18 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500 ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h.....	85
Figure III.1.19. Efficacité d'inactivation de <i>P. aeruginosa</i> à 1500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	86
Figure III.1.20 . Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500 ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h.....	87
Figure III.1.21. Efficacité d'inactivation de <i>P. aeruginosa</i> à 2500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h. ...	88
Figure III.1.22. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500 ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h.....	89
Figure III.1.23. Efficacité d'inactivation des <i>P. aeruginosa</i> à 3500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h...	90
Figure III.1.24. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h.....	91
Figure III.1.25. Efficacité d'inactivation de <i>S. aureus</i> à 500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	92
Figure III.1.26. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h.	93
Figure III.1.27. Efficacité d'inactivation de <i>S. aureus</i> à 1500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	94
Figure III.1.28. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500 ppm sur les <i>S.aureus</i> durant 6h	95
Figure III.1.29. Efficacité d'inactivation de <i>S. aureus</i> à 2500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	96
Figure III.1.30. Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500 ppm sur les <i>S.aureus</i> durant 6h.	97
Figure III.1.31. Efficacité d'inactivation de <i>S. aureus</i> à 3500ppm de H ₂ O ₂ durant 6h.....	98
Figure III.2.1. Spectre des rayons X des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP.....	100
Figure III.2.2. L'analyse W-H de ZnO(a) et ZnO-TOP (b) d'après l'UDM.	104
Figure III.2.3. Micrographies MET des NPs de ZnO (a) et ZnO-TOP(b) et les histogrammes de leurs distribution de tailles ZnO (c) et ZnO-TOP (d).	106

Figure III.2.4. Spectre DRX des NPs ZnS et ZnS-TOP.....	107
Figure III.2.5. Analyse W-H des NPs de ZnS d'après l'UDM.	109
Figure III.2.6. Micrographies MET des nanoparticules de ZnS (a) et ZnS-TOP (b).....	110
Figure III.2.7. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x100µm), b(x10µm), c(x1µm) et d (x200 nm) de l'essai 1.	113
Figure III.2.8. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO (x100µm), b(x10µm) et c(x1µm) de l'essai 2.	114
Figure III.2.9. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x100µm), b(x10µm) et c(x100nm) de l'essai 3.	114
Figure III.2.10. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a (x10µm), b(x1µm) et c(x200 nm) de l'essai 4.	115
Figure III.2.11. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm) et c(x200 nm) de l'essai 5.	115
Figure III.2.12. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm) et c(x200nm) de l'essai 6.	116
Figure III.2.13. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm) c(x300nm) et d(x200 nm) de l'essai 7.....	118
Figure III.2.14. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm), c(x200nm) et d(x100 nm) de l'essai 8.....	119
Figure III.2.15. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm) et c(x200nm) de l'essai 9.	119
Figure III.2.16. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a (x10µm) ; b(x1µm) c(x200 nm) et d (x100 nm) de l'essai 10.....	120
Figure III.2.17: Angle de contact de l'eau sur le film nanostructuré de ZnO.	121
Figure III.2.18: Variation du nombre de bactéries en fonction du temps.	123
Figure III.2.19. Diagramme d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en absence de E.coli	124
Figure III.2.20. Diagramme d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en présence de <i>E.coli</i> , après 30min d'immersion..	125

Figure III.2.21. Circuit équivalent relatif au film nanostructuré de ZnO immergé dans du PBS en absence de <i>E.coli</i>	126
Figure III.2.22. Circuit équivalent relatif au film nanostructuré de ZnO immergé dans du PBS en présence de <i>E.coli</i>	126

Liste des tableaux

Tableau III.2.1. Les données de la DRX des NPs ZnO et ZnO-TOP.....	102
Tableau III.2.2. Paramètres de réseau et volume de la maille élémentaire des NPs ZnO et ..	103
Tableau III.2.3. Paramètres microstructuraux des NPs de ZnO et de ZnO-TOP.....	105
Tableau III.2.4. Les données de la DRX des NPs ZnS.	108
Tableau III.2.5. Paramètres de réseau et volume de la maille élémentaire des NPs de ZnS.	108
Tableau III.2.6. Paramètres microstructuraux des NPs de ZnS	109
Tableau III.2.7. Conditions opératoires de préparation des films nanostructurés de l'essai 1 à	111
Tableau III.2.8. Conditions opératoires de préparation des films nanostructurés de l'essai 07 à l'essai 10.....	117
Tableau III.2.9. Paramètres électrochimiques déduits des circuits équivalents du film	126

Abréviation

UFC	Unité Formant Colonie
E.coli	Escherichia coli
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
S. aureus	staphylococcus aureus
THM	Trihalométhanes
AHA	Acide haloacétique
PsOA	processus d'oxydation avancée
ZIF-8	imidazolate zéolitique-8
NPs	Nanoparticules
PCA	plate Count Agar
MHB	Muller Hinton Broth
DRX	Diffraction des rayons X
MET	Microscope électronique à transmission
MEB	Microscope électronique à balayage
EIS	Spectroscopie d'impédance électrochimique
TOP	Trioctylphosphine
W-H	Williamson-Hall
ROS	Espèces Réactives de l'Oxygène
FWHM	La largeur totale à mi-hauteur

Sommaire

Introduction	1
Références bibliographiques	5
Chapitre I. Etude bibliographique	6
I.1 Les Bactéries	7
I.1.1 Escherichia coli	7
I.1.1.1 Description générale	7
I.1.1.2 Habitat	9
I.1.1.3 Morphologie	9
I.1.2 Pseudomonas aeruginosa	9
I.1.2.1 Description générale	9
I.1.2.2 Habitat	10
I.1.2.3 Morphologie.	10
I.1.3 Staphylococcus aureus	11
I.1.3.1 Description générale	11
I.1.3.2 Habitat	12
I.1.3.3 Morphologie	12
I.2 Les différentes méthodes de traitements des eaux contaminées	13
I.2.1 Traitement par le chlore et ses dérivés	13
I.2.2 Traitement par les chloramines organiques	13
I.2.3 Traitement par les métaux	14
I.2.4 Traitement par oxydation chimique	15
I.2.5 Traitement par processus d'oxydation avancée (PsOA)	15
I.2.6 Traitement par sonorité	15
I.2.7 Traitement par le froid	16
I.2.8 Traitement par pression hydrostatique	16
I.2.9 Traitement par variation du pH	17
I.2.10 Traitement par l'ozone	17
I.2.11 Traitement par l'iode	18
I.2.12 Traitement par le permanganate de potassium	18
I.2.13 Traitement par la chaleur	19
I.2.14 Traitement par radiation ionique	20

I.2.15	Traitement par radiation ultraviolet (U.V)	20
I.2.16	Traitement par le peroxyde d'hydrogène	22
I.2.16.1	Définition	22
I.2.16.2	Historique	23
I.2.16.3	Propriétés physiques	23
I.2.16.4	Propriétés chimiques	24
I.2.16.5	Utilisation du peroxyde d'hydrogène	24
I.2.16.6	Activité biocide	24
I.2.16.7	Décontamination de l'eau par le peroxyde d'hydrogène	25
I.3	Les nanoparticules de ZnO.....	26
I.3.1	Généralités sur le Zinc	26
I.3.2	Propriétés structurales de l'oxyde de zinc	26
I.3.3	Utilisation de l'oxyde de zinc	27
I.3.4	Définition des nanoparticules	27
I.3.5	Propriétés caractéristiques des nanoparticules	28
I.3.6	Utilisation des nanoparticules de ZnO	28
I.3.7	Méthodes de préparation des nanoparticules de ZnO	29
I.3.7.1	La voie chimique	29
I.3.7.1.1	Méthode sol-gel	29
I.3.7.1.2	Méthode de synthèse chimique à basse température	29
I.3.7.1.3	Méthode de microémulsion	30
I.3.7.1.4	La mécanosynthèse	30
I.3.7.1.5	Méthode par précipitation	30
I.3.7.1.6	Synthèses par voie organométallique	30
I.3.7.1.7	Synthèse par voie polyol	30
I.3.7.2	La voie physique	31
I.3.7.2.1	Les méthodes de condensation de vapeur	31
I.3.7.2.2	L'évaporation thermique	32
I.3.7.2.3	La méthode sputtering	32
I.3.7.2.4	La méthode de pyrolyse par jet	32
I.3.7.2.5	Décomposition thermochimique ou par flamme de précurseurs organométalliques	33
I.4	Les films nanostructurés de ZnO.....	33
I.4.1	Utilisation des films nanostructurés de ZnO	33
I.4.2	Préparation des films nanostructurés de ZnO	33

I.4.2.1	La méthode sol-gel (solution-gélification)	34
I.4.2.2	Ablation laser	34
I.4.2.3	Spray Pyrolyse	35
I.4.2.4	Spin-coating	35
I.5	Les nanoparticules du sulfure de zinc	37
I.5.1	Généralités sur le sulfure de zinc	37
I.5.2	Utilisation des nanoparticules de ZnS	37
	Références bibliographiques	38
	Chapitre II . Techniques et méthodes expérimentales.....	52
II.1	Traitement biocide par le peroxyde d'hydrogène	53
II.1.1	Dosage du peroxyde d'hydrogène	53
II.1.2	Préparation des souches bactériennes	54
II.1.2.1	Souches utilisées	54
II.1.2.2	Préparation des milieux de culture	54
II.1.2.3	Activation de la souche bactérienne	55
II.1.2.4	Préparation de la solution bactérienne à 0,5 de D.O.	55
II.1.2.5	Spectroscopie UV-Visible	55
II.1.3	Effet biocide de H ₂ O ₂ sur les différentes bactéries	56
II.1.4	Dénombrement des bactéries par comptage des Unités Formant Colonie (UFC)	57
II.2	Traitement biocide par les films nanostructurés de ZnO.....	57
II.2.1	Synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS	57
II.2.2	Préparation des films nanostructurés de ZnO	59
II.2.3	Diffraction des rayons X (DRX)	60
II.2.4	Microscopie électronique à transmission (MET)	62
II.2.5	Microscopie électronique à balayage (MEB)	62
II.2.6	Appareil de mesure de l'angle de contact (DIGIDROP)	63
II.2.7	Etude de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO	63
II.2.8	Méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)	64
II.2.8.1	Montage et conditions expérimentales	65
	Références bibliographiques	67
	Chapitre III . Résultats et discussion.....	68
	Partie1. Traitements Biocides Par Le Peroxyde D'hydrogène (H₂O₂)	69
III.1.1	Effet biocide de H ₂ O ₂ sur la bactérie <i>E. coli</i>	70
III.1.1.1	Effet biocide de H ₂ O ₂ aux faibles concentrations sur les <i>E.coli</i> durant 900s	70

III.1.1.2	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500ppm sur les <i>E.coli</i> en fonction de différents temps de contact	71
III.1.1.2.1	Influence du temps de contact de 2h et 3 h	71
III.1.1.2.2	Influence du temps de contact de 6h	72
III.1.1.2.3	Influence du temps de contact de 7 h	74
III.1.1.3	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1000ppm sur les <i>E.coli</i> durant 5 h	76
III.1.1.4	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6 h	77
III.1.1.5	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6 h	79
III.1.1.6	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500ppm sur les <i>E.coli</i> durant 6 h	80
III.1.2	Effet biocide de H ₂ O ₂ sur la bactérie <i>P. aeruginosa</i>	82
III.1.2.1	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h	82
III.1.2.2	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h	84
III.1.2.3	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h	86
III.1.2.4	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500ppm sur les <i>P. aeruginosa</i> durant 6h	88
III.1.3	Effet biocide de H ₂ O ₂ sur la bactérie <i>S. aureus</i>	90
III.1.3.1	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h	90
III.1.3.2	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 1500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h	92
III.1.3.3	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 2500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h	94
III.1.3.4	Effet biocide de H ₂ O ₂ à 3500 ppm sur les <i>S. aureus</i> durant 6h	96
Partie 2. Synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS et effet biocide des films nanostructures de ZnO sur les E.coli		99
III.2.1	Caractérisation des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP	100
III.2.2	Caractérisation des nanoparticules de ZnS et ZnS-TOP	106
III.2.3	Caractérisation des films nanostructurés de ZnO par MEB	110
III.2.4	Mesure de l'angle de contact du film nanostructuré de ZnO	121
III.2.5	Effet bactéricide du film nanostructuré de ZnO sur la <i>E.coli</i>	121
III.2.6	Caractérisations électrochimiques (EIS) du film nanostructuré de ZnO en absence et en présence de la bactérie <i>E. coli</i>	123
Références bibliographiques		127
Conclusion.....		129
Annexe		132

Introduction

Le problème de la pollution des eaux est l'un des aspects les plus menaçants de la dégradation du milieu naturel. La pollution de l'eau notamment par les bactéries, entraîne plusieurs conséquences sur la santé de l'Homme, par absorption accidentelle, ou par un simple contact. De ce fait l'Homme paraît la principale victime de la pollution de l'eau.

La contamination de l'eau par des bactéries vient des matières fécales ; les déchets de l'Homme et des animaux contiennent habituellement des organismes pathogènes, qui vivent dans leurs tubes digestifs à l'état commensal qui sont susceptibles de contaminer l'eau.

Bien que la majorité des germes bactériens, rejetés dans le milieu, ne résistent pas longtemps hors de leur milieu d'origine, leur présence saisonnière dans les aquatiques ou les cours d'eau utilisés comme ressource en eau potable, ou dans les rivières et les plans d'eau aménagés pour la baignade, sont à l'origine de divers problèmes épidermiques, oculaires ou intestinaux [1].

Dans la majorité des pays en développement, les maladies hydriques sont les principales causes de mortalité. Selon un rapport de l'OMS, au moins un sixième de la population mondiale (1.1 milliard de personnes) souffre d'un manque d'eau potable. La diarrhée est une maladie provoquée le plus souvent par la consommation d'eau polluée, et est responsable de 1.8 millions de décès chaque année, dont la majorité sont des enfants de moins de cinq ans [2,3].

Dans la pratique, il existe une panoplie de produits biocides, dont les modes d'actions et les efficacités respectives sont mal connues ou peu élucidées. Les doses optimales préconisées dans les traitements prêtent souvent à controverse. Les désinfections de l'eau par des procédés chimiques tels que le chlore, les chloramines et l'ozone possèdent comme inconvénient, la formation involontaire de produits potentiellement dangereux [4]. De plus, certains organismes pathogènes, sont capables de développer une résistance aux désinfectants chimiques classiques, ce qui implique l'utilisation des concentrations élevées pour l'inactivation totale [5]. De ce fait, il s'avère nécessaire de développer les techniques de désinfection conventionnelles et de rechercher des approches novatrices qui améliorent la fiabilité de la désinfection, tout en évitant la formation de sous-produits. Par ailleurs, il a été démontré que divers nanomatériaux fabriqués par la nature ou par l'homme ont des propriétés antimicrobiennes [6,7]. Les nanomatériaux ont des propriétés remarquables comme, la surface spécifique importante et la grande réactivité, c'est pourquoi ils sont considérés comme d'excellents adsorbants, catalyseurs, et capteurs. Les nanomatériaux antimicrobiens sont des oxydants relativement faibles et presque inertes dans l'eau, comparés aux

désinfectants chimiques classiques. Ceci leur confère la propriété d'être moins réactifs, pour former des sous-produits nocifs [8]. Ils peuvent améliorer les méthodes de désinfection conventionnelles ou les remplacer, s'ils sont convenablement employés dans les processus de traitements [9].

Ce travail de thèse consiste dans un premier temps à l'étude de l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à différentes concentrations et en fonction des temps de contact, sur les *Escherichia coli*, les *Pseudomonas aeruginosa* et les *Staphylococcus aureus*. Et dans un deuxième temps à la synthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) et d'oxyde de soufre (ZnS) par la méthode polyol ainsi qu'à l'élaboration de films nanostructurés de ZnO sur un substrat en verre, et l'étude de leur effet biocide sur la bactérie *Escherichia coli* ATCC 43897.

L'utilisation de H_2O_2 présente deux avantages principaux : son caractère bactéricide et sa décomposition en eau et en oxygène qui ne sont pas des produits toxiques.

L'oxyde de zinc est un matériau respectueux de l'environnement et peu toxique, c'est pourquoi, il est largement utilisé comme ingrédient actif pour les applications dermatologiques dans les crèmes, les lotions et les onguents, en raison de ses propriétés antibactériennes. Ces dernières ont été trouvées dans des formulations à la fois micrométriques et nanométriques [10]. Nous avons déposé des nanoparticules d'oxyde de zinc sur un substrat en verre, dans le but de les utiliser comme agent biocide.

Ce manuscrit de thèse se compose de trois chapitres.

Le premier chapitre porte sur une étude bibliographique dans laquelle, nous avons rappelé quelques caractéristiques des bactéries utilisées dans ce travail. Ensuite, nous avons cité les différentes techniques de traitements biocides, en détaillant le procédé de traitement par le peroxyde d'hydrogène que nous avons utilisé dans notre étude. Puis nous avons rappelé les propriétés des nanoparticules de ZnO et ZnS et leurs applications. En fin, nous avons abordé les méthodes de préparation des films nanostructurés de ZnO et de leurs applications.

Le deuxième chapitre est consacré à expliquer les étapes établies pour l'activation des souches bactériennes, l'étude de l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène, la synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS , la méthode de préparation des films (spin-coating) ainsi que les conditions optimales à avoir un meilleur film nanostructuré de ZnO . Ensuite nous avons décrit les différentes techniques de caractérisation de nos échantillons telles que : la

diffraction des rayons X (DRX), la microscopie électronique à transmission (MET), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la mesure de l'angle de contact (DIGIDROP) en précisant les conditions expérimentales employées.

Enfin, nous avons présenté le protocole expérimental de l'étude microbiologique de l'effet biocide du film nanostructuré de ZnO sur la bactérie *Escherichia coli* ATCC 43897 et la méthode électrochimique transitoire (Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE)) utilisée pour confirmer les résultats obtenus.

Le troisième chapitre consiste à présenter et à discuter les résultats expérimentaux obtenus, il est constitué de deux parties principales 1 et 2.

Dans la partie 1, nous avons abordé l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène sur les bactéries d'étude. Dans laquelle nous avons tenté de déterminer la concentration optimale et le temps de contact nécessaire afin d'obtenir la meilleur efficacité d'inactivation.

Dans la partie 2, nous avons discuté les résultats obtenus de la synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS, de la recherche des conditions optimales pour préparer le meilleur film de ZnO et l'étude de l'effet bactéricide de ce dernier sur la bactérie *Escherichia coli* ATCC 43897, en utilisant la méthode bactériologique classique et la méthode électrochimique transitoire (spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS)) comme nouveauté.

Nous avons terminé ce manuscrit, par une conclusion générale et quelques perspectives.

Références bibliographiques

- [1] **B.Genine, C.Charvin, F. Menard**, , "cours d'eaux et indices biologique", ed, euducagri. Paris, 15-77 **2003**.
- [2] **L. Haller, G. Hutton, J. Bartram**, "Estimating the costs and health benefits of water and sanitation improvements at global level", *J. Water Health* 5 (**2007**) 467–480.
- [3] **A. Rezaee, A. Jonidi-Jafari, G. Kashi, A.R. Khataee, A. Nili-Ahmadabadi**, "Escherichia coli removal from water using electrophotocatalytic method", *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 15 (**2013**) 439–446.
- [4] **I. Sentana, M. Rodriguez, E. Sentana, D. Prats**, "Effect of pressure and pH over the removal of disinfection by-products using nanofiltration membranes in discontinuous systems", *Desalin. Water Treat.*, 23 (**2010**) 3–12.
- [5] **S. Navalon, M. Alvaro, H. Garcia, D. Escrig, V. Costa**, "Photocatalytic water disinfection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* using a fibrous ceramic TiO₂ photocatalyst", *Water Sci. Technol.*, 59 (**2009**) 639–645.
- [6] **Y. Ju-Nam, J.R. Lead**, "Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications", *Sci. Total Environ.*, 400 (**2008**) 396–414.
- [7] **A. Ronen, R. Semiat, C.G. Dosoretz**, "Antibacterial efficiency of composite nano-ZnO in biofilm development in flow-through systems", *Desalin. Water Treat.* 51 (**2013**) 988–996.
- [8] **H. Masoumbaigi, A. Rezaee, H. Hosseini, S. Hashemi**, "Water disinfection by zinc oxide nanoparticle prepared with solution combustion method", *Desal. Wat. Treat.*, 56 (**2015**) 2376–2381.
- [9] **Q. Li, S. Mahendra, D.Y. Lyon, L. Brunet, M.V. Liga, D. Li, P. Alvarez**, "Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications", *Water Res.*, 42 (**2008**) 4591–4602.
- [10] **N. Jones, B. Ray, K.T. Ranjit, A. C. Manna**, "Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms", *FEMS Microbiol Lett.*, 279 (**2008**) 71-76.

Chapitre I
Etude bibliographique

I.1 Les Bactéries

Les bactéries sont des organismes microscopiques et procaryotes c'est à dire sans noyau, pour la plus part monocellulaires. Leur dimension est de l'ordre du micromètre (0.5-5 μ m). Elles présentent de nombreuses formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées. Elles peuvent être saprophytes ou parasites [1]. Les bactéries sont constituées d'une paroi, parfois une capsule, qui aide à contrôler le passage des nutriments vers l'intérieur et des déchets vers l'extérieur, et possédant un ou plusieurs flagelles qui leur permettent de se déplacer et de percevoir leur environnement. Elles sont entourées d'une membrane cytoplasmique et contiennent tous les éléments nécessaires à leur reproduction. Ainsi les bactéries comportent une unique molécule d'ADN circulaire, libre dans la cellule, des pilis, des plasmides et des ribosomes (Figure I.1.1).

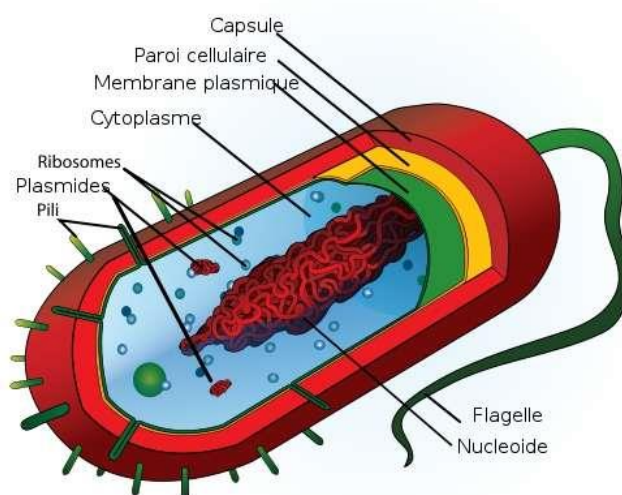


Figure I.1.1. Structure d'une cellule bactérienne [2].

I.1.1 Escherichia coli

I.1.1.1 Description générale

Escherichia coli (*E. coli*) (Figure I.1.2) a été découverte pour la première fois en 1885 par l'Allemand Theodor Escherich dans des selles de nourrissons. Elle est fréquemment présente dans le tube digestif de l'Homme et des animaux à sang chaud [3]. La plupart des souches de *E.coli* ne sont pas dangereuses, cependant certaines peuvent être à l'origine de

toxiinfections alimentaires graves qui se traduisent par une diarrhée sanguinolente. Ainsi elles peuvent entraîner des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies. Plus de deux millions de décès dus aux diarrhées infantiles et aux infections extra intestinales causés par la *E. coli* sont enregistrés chaque année, essentiellement les septicémies ayant pour point de départ une infection urinaire [4, 5]. La *E. coli* est parmi les espèces les plus souvent rencontrées en pathologie humaine intestinale et extra-intestinale [6].

Malgré que les infections alimentaires soient la cause de la plupart des contaminations [7], il existe d'autres sources de contamination comme les eaux de distribution non chlorées, les eaux de piscine et les eaux de puits [8-11]. Dans les réseaux de distribution de l'eau potable la *E. coli* est un indicateur de contamination fécale récente ce qui conduit à la présence possible de pathogènes entériques présentant un risque pour la santé humaine. Ceci a conduit l'OMS et la majorité des pays de recommander que la présence de *E. coli* dans un réseau d'eau potable doit être nulle dans 100mL (**Figure I.12**).



Figure I.1.2. Image de Escherichia coli [16]

I.1.1.2 Habitat

L'habitat primaire de *E. coli* est le tractus digestif et principalement dans le colon et le cæcum avec une concentration supérieure à 10^6 UFC (Unité Formant Colonie)/ g de contenu [12]. Plus particulièrement *E. coli* se pose dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif. Elle se trouve aussi en abondance dans l'environnement (eaux, sols) et dans les aliments. Elle est rejetée dans l'environnement à une concentration près de 10^8 UFC/g [13]. L'environnement constitue l'habitat secondaire des *E. coli* ; il est contrairement à l'habitat primaire plutôt défavorable à leur survie. La population de *E. coli* dans l'habitat secondaire se renouvelle par les apports de bactéries provenant de l'habitat primaire. Une minorité de *E. coli* est capable de coloniser et de persister dans l'environnement hors de son hôte [14].

I.1.1.3 Morphologie

E. coli est une espèce en forme de bâtonnets qui appartient à la famille des entérobactéries. C'est un type de coliforme fécal, généralement commensal, présent dans les déchets d'origine animale ou humaine. C'est un Bacille Gram négatif, possédant une taille de $(1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m})$, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui a l'aptitude de fermenter le glucose [15]. Elle est non halophile et ne possède pas d'oxydase. Ainsi elle est mobile ou immobile et a une structure flagellaire péritriche et non-sporulée. Elle se reproduit toutes les 20 minutes très rapidement à 37°C , ce qui permet de multiplier facilement de l'ADN ou des protéines d'intérêt. C'est une bactérie non exigeante, capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja). Ainsi elle est capable de fermenter le lactose, produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et la glucuronidase (Glu).

I.1.2 Pseudomonas aeruginosa

I.1.2.1 Description générale

En 1872 Schroter, a décrit pour la première fois une bactérie susceptible de générer un pigment bleu hydrosoluble dans le pus et sur des pommes de terre bouillies, et l'a appelé *Bacterium aeruginosum*. Cette bactérie est le *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) [17]. Dix ans plus tard ; Gessard a réalisé l'isolement bactérien et l'a nommé *Bacillus pyocyaneus*. Ce nom a été conservé jusqu'aux années 60 [18].

I.1.2.2 Habitat

P. aeruginosa est rattaché à la partie aquatique et son habitat est extrêmement diversifié, suivant la distribution de l'eau dans un grand nombre de niches écologiques : mer, rivières, réseaux domestiques [19]. Il peut se trouver également d'une manière provisoire dans le tube digestif de la plupart des animaux. En effet il a l'aptitude de s'adapter aux changements rapides de conditions physicochimiques et à ses facteurs de virulence, qui lui permettent de lutter efficacement contre les autres micro-organismes pour accéder aux ressources [20,21].

Dans la nature, *P. aeruginosa* existe souvent sous forme de biofilm, et rarement sous forme planctonique. La forme biofilm lui permet de mieux résister aux stress physico-chimiques environnementaux (température, dessiccation, pH...) mais aussi aux agressions extérieures (amibes, polynucléaires neutrophiles.....).

I.1.2.3 Morphologie.

P. aeruginosa est un bacille Gram négatif d'une longueur de 1.5 à 3µm. Il possède des pilis et un flagelle unipolaire, qui assure sa mobilité et lui permettant ainsi de se déplacer en milieu liquide. En l'absence d'oxygène, il utilise le nitrate comme accepteur final d'électron dans sa chaîne respiratoire. Sa multiplication est assurée par division qui se déroule à une température optimale de 37°C, avec un temps de dédoublement in vitro de 40 minutes [22].

P. aeruginosa peut pousser sur différents milieux sous forme de colonies lisses, d'une couleur verdâtre et d'une odeur caractéristique. Au cours de la croissance en milieu liquide, il secrète la pyocyanine qui va teinter le milieu de culture en vert (**Figure I.1.3**)



Figure I.1.3. La bactérie *Pseudomonos aeruginosa* [23].

I.1.3 Staphylococcus aureus

I.1.3.1 Description générale

En 1880, le chirurgien écossais Alexander Ogston est le premier qui à isoler les staphylocoques à partir d'abcès et d'autres lésions cutanées. En 1881, il décrivit comme la première espèce de staphylocoques en la nommant staphylococcus aureus (*S. aureus*).

Les *S. aureus* sont des germes ubiquistes qui peuvent faire partie de la flore cutanéomuqueuse de l'Homme et de l'animal ou être véhiculés par des porteurs sains. Ils sont secondairement disséminés dans l'environnement, vraisemblablement par les squames et les poils, et y persistent du fait de leur résistance à la dessiccation, aux variations de température et au choc osmotique. Lorsque la barrière cutanéomuqueuse est lésée ou lorsque les défenses de l'hôte sont amoindries, ces germes provoquent des infections cutanées, osseuses, viscérales voir des septicémies.

Lorsque les mesures d'hygiène ne sont pas respectées et lorsque les patients ne sont pas isolés dans les hôpitaux, les *S. aureus* provoquent de véritables infections épidémiques. Ces germes peuvent aussi persister d'une manière endémique, ce qui entraîne une prévalant élevée des infections en milieu hospitalier (infections dites nosocomiales). Leur gravité est liée à la sévérité des symptômes et aux difficultés thérapeutiques en raison de la multi résistance aux antibiotiques des germes responsables de ces infections.

I.1.3.2 Habitat

Les *S. aureus* sont largement répandus dans l'environnement (le sol, les poussières l'air et l'eau) et dans certains produits alimentaires (laitages et conserves salées) [24].

L'habitat naturel de *S. aureus* est l'épithélium pavimenteux humide de la partie antérieure du vestibulum nasi. Environ 20% de la population sont des porteurs persistants alors que le reste est constitué de porteurs intermittents de faible niveau [25]. L'organisme est transmis à la peau et dans d'autres parties du corps d'un porteur. Le transport est un facteur de risque pour les infections invasives [26,27]. Dans les établissements de santé, la transmission est principalement assurée à partir de la main du personnel médical qui constitue un réservoir important.

I.1.3.3 Morphologie

Les staphylococcus sont des cocci à gram-positif de 0.1 à 1 µm de diamètre. Les staphylococcus se présentent en amas réalisant l'aspect caractéristique d'une grappe de raisin (**Figure I.1.4**). Ainsi, ils sont immobiles et non sporulés. Ils sont dépourvus de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoides et sont entourées d'une pseudo-capsule [28]. Ils se développent facilement, en aérobiose ou en anaérobiose, sur la plupart des milieux usuels. Des milieux sélectifs, hyper salés ou contenant du tellurite de potassium, facilitent leur isolement à partir des prélèvements pluri microbiens. En milieu liquide, ils sont fréquemment isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) [28].



Figure I.1.4. Staphylococcus aureus [29]

I.2 Les différentes méthodes de traitements des eaux contaminées

I.2.1 Traitement par le chlore et ses dérivés

L'utilisation du chlore comme désinfectant a été démontrée par Robert Koch en 1881. La chloration continue de l'eau a été pour la première fois employée à Londres en 1905. La désinfection de l'eau par la chloration a été introduite aux U.S.A en 1908. Parmi les oxyacides du chlore ou leurs sels certains sont utilisés couramment dans le traitement de l'eau. Soulignons l'hypochlorite de sodium dont les solutions s'appellent "eau de Javel" et l'hypochlorite de calcium qui est un complexe CaCl-OCl , appelé "chlorure de chaux".

Lors de la désinfection, la chloration possède comme inconvénient la formation des produits potentiellement dangereux comme les chloro-organiques [30]. Parmi ces derniers, les trihalométhanes (THM) et les acides haloacétiques (AHA) ont des effets nocifs sur la santé des humains et des animaux [31]. De ce fait, le contrôle de ces sous-produits issu de la désinfection est devenu insistant [32-35]. Ainsi, parmi les inconvénients de la chloration, certains organismes ont l'aptitude à développer une résistance au chlore ou nécessitent des concentrations très élevées pour l'inactivation complète [36, 37].

I.2.2 Traitement par les chloramines organiques

Les chloramines organiques sont formées par la substitution d'un hydrogène par un chlore sur un amide ou un groupe d'amine [38], de manière similaire à la formation des chloramines inorganiques. Cependant dans le cas des chloramines organiques, l'azote est lié à un monomère ou un polymère. Les N-chloramines, à savoir les composés organiques qui contiennent une ou plusieurs liaisons N-Cl, figurent parmi les biocides les plus efficaces. Ces agents sont avantageux en raison de plusieurs caractéristiques, notamment l'activité rechargeable, la faible toxicité et les capacités antimicrobiennes dans un domaine large [39]. Ces composés manifestent un comportement similaire à leurs correspondants inorganiques vis à vis des changements de pH, de température ou de la demande au désinfectant. Sans offrir aucun avantage particulier dans la désinfection, ces composés présentent généralement l'intérêt d'être plus stable durant le stockage. La plupart de ces produits sont utilisés en petites quantités dans le cas d'une désinfection urgente ou provisoire de l'eau.

Li et *al.* ont développé un biocide cationique N-chloramine qui est facilement accessible à partir de la 5,5-diméthylhydantion (DMH) disponible dans le commerce [39]. Cette N-chloramine cationique s'est avérée avoir une solubilité améliorée et une activité

antibactérienne distinctement remarquable en raison de la présence de la fonction ammonium quaternaire. Il a été proposé que les interactions électrostatiques entre le centre cationique et la paroi cellulaire bactérienne (chargée négativement) facilitent l'apport du chlore oxydant (Cl^+) aux récepteurs cellulaires bactériens et conduisent ainsi à une cinétique de destruction stimulée [39].

Lingdong et *al.* ont préparé un nouveau type de N-chloramines cationiques qui contient un fragment pyridinium et un fragment N-chloramine lié de manière covalente via une chaîne alkyle. Des essais préliminaires ont indiqué que le composé avec un radical propylidène présentait une plus haute activité antibactérienne, que l'ammonium quaternaire. La longueur de la chaîne alkyle, a eu des effets majeurs sur leurs propriétés biocides [39].

Bien que les chloramines soient efficaces pour désactiver les agents pathogènes, ils réagissent aussi facilement avec les matières organiques et inorganiques dissoutes présentes dans l'eau pour former des sous-produits de désinfection involontaires [40].

Les chloramines organiques ont une efficacité germicide bien inférieure à celle du chlore et de la monochloramine inorganique [40]. Par exemple, le taux maximum d'inactivation de *E.coli* était de $0.09 \text{ L.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour les N-monochloraminoacides, comparativement à $2.56 \text{ L.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour le chlore libre et $0.72 \text{ L.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour la monochloramine inorganique.

I.2.3 Traitement par les métaux

L'aptitude des métaux lourds à préserver la qualité de l'eau a été observée pour la première fois par les anciens asiatiques et les méditerranéens. Quelques informations qualitatives étaient disponibles à partir de 1893. Les pouvoirs biocides de l'argent, de l'or, et du cuivre sont connus depuis longtemps. Parmi ces métaux, l'utilisation de l'argent est la plus fréquente. Le cuivre et le mercure ont été mis en application au début du 20ème siècle. A l'étape actuelle, l'utilisation des métaux lourds est presque inexistante à cause de leur toxicité pour l'Homme. De nos jours, dans la pratique industrielle, l'utilisation de certains sels métalliques reste actuelle. Il s'agit notamment du sulfate de cuivre qui sert à contrôler les masses d'algues dans les lacs et les réservoirs. Ces sels solubles introduits dans le milieu libèrent des ions métalliques à caractère germicide. Une autre technique consiste à faire passer en solution des ions métalliques par un procédé électrochimique dans les conditions de polarisation anodique. Cette dernière méthode présente l'avantage de faire varier la

concentration des ions métalliques, par changement du courant ou du potentiel imposé à l'électrode, ce qui permet une bonne adaptation des dosages en fonction du degré de contamination [41].

I.2.4 Traitement par oxydation chimique

L'oxydation chimique est utilisée dans le but de parfaire la destruction des bactéries ou d'employer des agents oxydants puissants et concentrés tels que l'acide nitrique, l'acide sulfurique, ou l'acide chromique. Ces acides causent des dommages irréversibles par oxydation des composés cellulaires. Cette méthode est normalement restreinte à la verrerie. L'acide chromique constitue l'agent le plus fréquemment utilisé.

I.2.5 Traitement par processus d'oxydation avancée (PsOA)

Au cours des dernières années, les procédés d'oxydation avancés (PsOA) ont pris de l'importance dans le traitement des effluents d'eau aux dépens de la technologie conventionnelle. Les PsOA peuvent être décrits comme des procédés d'oxydation en phase aqueuse et basés sur la génération d'espèces oxygénées hautement réactives, c'est-à-dire, des radicaux hydroxyles. Ces espèces sont capables de détruire les polluants organiques et les germes pathogènes. L'avantage des PsOA par rapport aux traitements d'oxydation classiques, est qu'ils ne génèrent pas de sous-produits de désinfection. Par conséquent, leur utilisation est une alternative au remplacement du traitement de chloration [42]. Néanmoins, l'inconvénient majeur de ces techniques prometteuses est le coût d'exploitation élevé, principalement dus à la source de rayonnement UV.

I.2.6 Traitement par sonorité

La sonorité est une technologie non médicale qui est utilisée dans le traitement des effluents de l'eau et des eaux usées, la biotechnologie et la transformation des aliments [43]. L'application de l'irradiation par ultrasons est une autre technologie novatrice pouvant présenter de bonnes caractéristiques pour la désinfection des eaux usées urbaines. La désinfection peut être réalisée par différents mécanismes:

1. La production de radicaux libres;
2. les forces de cisaillement produites par la cavitation ultrasonique;

3. la rupture de l'agglomération des bactéries, qui favorise la réaction entre les espèces oxydantes et les micro-organismes et, par conséquent la réalisation des procédés de désinfection [44].

La littérature a signalé que l'ultrason est parmi les techniques utilisées à l'échelle du laboratoire pour disperser les microorganismes agglomérés aux particules. L'ultrason est la propagation à haute fréquence (> 16 000 Hz) des ondes de pression dans un fluide. Ces ondes agissent à travers la création et l'effondrement à haute énergie des bulles (cavitation). Les vibrations de ces dernières, les micros jets et les ondes de choc créés par l'effondrement des bulles perturbent les particules et réduisent leur taille [45].

La désinfection à l'aide de l'ultrason nécessite toujours une consommation d'énergie spécifique élevée [43].

Les oscillateurs sonores sont généralement appliqués dans la virologie, l'effet sonore conduit à la destruction de certaines parties structurales du virus. De manière générale, le traitement prolongé avec une énergie de haute fréquence ne produit pas habituellement la disparition complète de l'infection.

I.2.7 Traitement par le froid

La multiplication des micro-organismes est stoppée, s'ils sont exposés à des températures proches de 0°C. Dans les procédés de décontamination par le froid, il est nécessaire de tenir compte des conditions nutritionnelles, du pH et de la composition chimique du milieu. Les bactéries sont par ailleurs susceptibles aux chocs thermiques. Ainsi, l'effet altéré de congélation et de décongélation conduit à l'endommagement de la membrane cellulaire. A ce jour, la plupart des tentatives de traitements des eaux usées domestiques à basse température, ont cherché à acclimater les boues mésophiles dans différents formats de réacteurs, y compris le bioréacteur à membrane anaérobie [46].

I.2.8 Traitement par pression hydrostatique

Dans certaines conditions de haute pression, les microorganismes sont inactivés. L'effet combiné de la chaleur et de la pression améliore notablement l'efficacité du traitement.

I.2.9 Traitement par variation du pH

La plupart des microorganismes sont sensibles aux valeurs extrêmes de pH. Le changement de pH des eaux usées par addition d'acide ou de base peut effectivement réduire le nombre des micro-organismes vivants. L'addition de la chaux pour stabiliser les effluents des eaux usées est fréquemment pratiquée. L'élévation du pH vers la zone basique réduit les organismes pathogènes et les indicateurs de contamination présents dans les effluents [47]. Counts et al. [48] ont rapporté qu'à pH=11 le nombre de coliformes fécaux est réduit de dix mille fois. Cette technique n'est justifiée que pour des exigences strictes de traitement d'inactivation microbienne et doit tenir compte du facteur économique.

I.2.10 Traitement par l'ozone

Dans la nature, l'ozone se trouve dans la stratosphère où, il joue un rôle protecteur vis-à-vis des radiations ultraviolettes. Il a été largement utilisé comme désinfectant dans le traitement de l'eau potable depuis plus de 100 ans [49], en raison de son grand pouvoir oxydant (2.1 eV), qui lui permet, d'oxyder sélectivement de nombreuses espèces organiques et inorganiques en solution aqueuse, et génère moins de sous-produits de désinfection halogénés.

L'ozonation des eaux usées permet une réduction efficace de la couleur, de l'odeur, de l'absorbance UV254, et des traces de produits chimiques organiques [50,51]. En outre, l'ozone peut être un désinfectant efficace de bactéries pathogènes plus résistantes telles que *Cryptosporidium* et *Giardia*. Il complète la filtration biologique en transformant les matières organiques plus fines et récalcitrantes en composés plus biodégradables [52].

La désinfection par l'ozone, qui est dépendante du soluté, se produit soit par oxydation directe d'un substrat, soit par décomposition par des radicaux hydroxyles, soit par combinaison des deux [49]. En outre, la performance de l'ozone est influencée par les niveaux de fer, de manganèse, de soufre, d'azote et de phosphore, en fonction de la température et du pH [49].

Le principal avantage de l'utilisation de l'ozone réside dans sa supériorité par rapport à d'autres désinfectants comme le chlore, pour trois raisons principales; premièrement, il est 1.5 fois plus fort que le chlore et agit 3000 fois plus vite sans générer des produits de décomposition nocifs [53]. Les inconvénients de la désinfection à l'ozone comprennent le coût élevé, les besoins en équipements de production d'ozone et les opérateurs spéciaux, la formation de quelques sous-produits d'hygiène et l'absence de désinfectants résiduels [54].

I.2.11 Traitement par l'iode

L'iode est un désinfectant très efficace et bien connu, non seulement à cause de son activité antimicrobienne à large spectre contre les bactéries, les moisissures et certains virus, mais également parce qu'il est relativement peu coûteux et facile à utiliser [55-57]. Son activité bactéricide résulte principalement d'un mode d'action non spécifique qui provoque des dommages irréversibles sur la cellule bactérienne sans tendance à la résistance [58].

Bien que l'iode soit largement utilisé comme étant un désinfectant d'actualité pendant des décennies, son utilisation pour le traitement de l'eau a été limitée à cause de sa mauvaise performance. Comparé au chlore, l'iode est très cher et son application en dose convenable est très difficile. La chimie de l'iode est qualitativement similaire à celle des autres halogènes. Dans l'eau, l'iode est moins soluble que le chlore ou le chlorure de brome. Comme les autres halogènes, l'iode réagit dans l'eau pour former l'acide hypo-iodé, toutefois, l'importance de cette réaction est limitée. Ainsi pour un dosage de 5 mg/L d'iode, à pH > 6.99% d'iode reste sous forme moléculaire I₂. A des valeurs de pH supérieures à 8, la moitié de l'iode s'hydrolyse. La dissociation de l'acide hypo-iodé est négligeable à toutes valeurs de pH admissible pour le dégagement des eaux usées (entre 6 et 9). A pH inférieur à 10, moins de 1% d'acide est sous la forme dissociée. L'ion iodate présente une toute petite ou presque aucune activité biocide. Les iodamines sont instables et ne se forment pas dans les solutions aqueuses [59]. L'iode est cependant moins actif vis à vis des matières organiques présentes dans l'eau naturelle.

L'introduction de l'iode dans certains produits permet d'augmenter leurs activités antibactériennes. Au-Duong et al. [60] ont montré que le cadre d'imidazolate zéolitique-8 (ZIF-8) s'est transformé en un bactéricide efficace après son chargement avec l'iode. En outre le dopage de l'iode dans les nanocristallites de TiO₂ améliore l'activité photocatalytique de la lumière visible dans la dégradation des polluants organiques [61]. Ainsi, il augmente significativement l'activité antibactérienne sous la lumière visible. De plus, l'iode a doté le TiO₂ d'une mémoire catalytique intéressante, ce qui lui permet d'inhiber la croissance des bactéries même après que la lumière visible soit coupée [61].

I.2.12 Traitement par le permanganate de potassium

Le permanganate de potassium, est un puissant agent oxydant. Il est utilisé dans le traitement chimique de l'eau municipale, comme algicide oxydant. Il permet le contrôle du

goût et de l'odeur, c'est un désinfectant. Le permanganate de potassium oxyde plusieurs composés organiques [62], et sature les alcools primaires et les alcools benzyliques et alléliques. Ainsi il est utilisé pour éliminer le fer de l'eau. Cependant, le coût et les chances de développement de la couleur rose dans les systèmes d'eau du au KMnO_4 limitent son utilisation à grande échelle [63].

Cleasby et *al.* ont évalué l'effet biocide du permanganate de potassium en fonction du pH, de la température et de la concentration. Leur travail a permis de conclure que le permanganate de potassium est un désinfectant inefficace pour les *Escherichia coli* et les bactéries dans la solution dans un large domaine de pH [64].

I.2.13 Traitement par la chaleur

Plusieurs recherches ont été effectuées concernant la destruction des microorganismes par la chaleur et spécialement dans les procédés de stérilisation. Ces travaux ont trait à l'étude de la résistance des foyers de spores de bactéries à la destruction thermique. Ils traitent également de l'effet de l'inactivation par la chaleur des microorganismes en suspension, dans la terre et sur les surfaces solides. Les méthodes d'application de la chaleur impliquent l'utilisation de la vapeur d'eau ou de l'air chaud. L'effet biocide dépend de plusieurs facteurs tels que, la résistance propre des microorganismes, la température d'incubation, les constituants nutritifs, les propriétés du milieu et l'importance des organismes sous forme de capsules. La vapeur sous pression constitue le véhicule calorifique dans ce procédé. La vapeur de stérilisation, est une technique rapide et relativement moins coûteuse. Elle dépend de la pénétration et du transfert de la chaleur dans la solution par la conduction et la convection.

Dans le traitement par la chaleur, le facteur temps joue un rôle important. Ainsi Ernst [65] a montré que les temps de maintien nécessaire pour la stérilisation à des températures de 121°C et de 126°C sont respectivement de 15 et 10 mn. Il n'est que de 3 min pour une température de 134°C . Des études ont montré qu'une température de l'ordre de 60°C durant quelques minutes permet de détruire la bactérie *Legionella* [66,67]. Il est évident que ces données sont d'un intérêt certain pour la pratique industrielle compte tenu des procédés en chaînes qui prévoient des temps relativement courts. Une méthode alternative consiste en l'application de la vapeur surchauffée qui manifeste alors des propriétés similaires à l'air chaud. Elle est généralement peu efficace pour la stérilisation en profondeur, cependant elle paraît bien adaptée pour les traitements en surface. Ainsi Collier et *al.* [68] ont pu mettre en

évidence le chauffage des surfaces dans un but de désinfection, nécessite une durée de 1 min à 350°F, alors qu'il est nécessaire de maintenir ces mêmes surfaces pendant 10 mn, si la température n'est que de 320°F. Cette technique alternative paraît bien adaptée aux traitements en surface des instruments tranchants, de la verrerie, etc...

La vapeur sèche a l'avantage d'être peu corrosive mais présente un certain nombre d'inconvénients pour la stérilisation en profondeur. En effet le mauvais transfert de chaleur conduit à des temps de maintien trop longs.

I.2.14 Traitement par radiation ionique

Nous distinguons la radiation électromagnétique, ainsi que celle par particules. La radiation électromagnétique utilisée pour des fins biocides comprend les micro-ondes, les ultraviolets et les ondes gamma (γ). La stérilisation par radiation de particules fait intervenir les particules Beta (β) ou les électrons. De manière générale, la radiation ionique a été utilisée avec succès dans le traitement des boues et des égouts industriels. Elle peut agir sur la molécule d'une manière directe ou indirecte. Dans le mode d'action, l'énergie du photon est transmise directement à la molécule. Les effets indirects sont liés à l'impact de la radiation sur des points névralgiques de la cellule. Parmi les techniques de décontamination par radiation, nous nous proposons de présenter la radiation ultraviolette qui a été la plus développée.

I.2.15 Traitement par radiation ultraviolet (U.V)

La radiation ultraviolette est une radiation électromagnétique non ionique entre les longueurs d'onde de 13.6 à 390 nm. La longueur d'onde la plus fréquemment utilisée est de 253.7 nm, pour laquelle l'effet biocide est maximum. La radiation par ultraviolet est généralement considérée plus intéressante par rapport au chlore dans la désinfection des eaux usées. En effet, la chloration produit des composés halogénés nuisibles à l'homme et aux animaux. Certaines concentrations de chlore résiduel sont toxiques au milieu aquatique, à l'inverse de la radiation par ultraviolet qui est un agent physique qui ne laisse pas des résidus toxiques [69,70].

Par ailleurs, une étude effectuée par Whitby *et al.* [71] montre que l'application des ultraviolets présente l'avantage d'être fortement adaptée aux installations sans impact important de maintenance. L'ultraviolet est produit par le passage de décharges électriques à travers des tubes de vapeur de mercure à basse pression, commercialement connu comme

ampoule germicide. L'intensité de sortie de la lampe germicide dépend du voltage, de la température de l'eau, et du temps d'usage [72,73]. Ces lampes se détériorent rapidement pendant les premières cent heures de fonctionnement. L'efficacité est maximale à une température de la lampe de 105°F (41°C). Elle diminue rapidement avec l'abaissement de la température. Elle n'est que de 50% à 80°F. Les unités commerciales des traitements par l'ultraviolet sont réalisables avec une capacité de 75 à 20000 gallons d'eaux usées par heure. Dans ces unités, les lampes sont séparées de l'eau par une enveloppe de quartz. La température de la lampe est contrôlée par une convection naturelle ou forcée de l'air dans l'enceinte de quartz. Des unités similaires ont été utilisées pour le traitement des effluents d'eau usée municipale et d'autres types d'eaux usées [74]. Il est à noter que le traitement par l'UV seul n'a pas un effet considérable sur les constituants de l'eau brute. En effet Chin et al. [75] ont montré que l'utilisation d'une dose maximale d'UV de 1.6 J.cm² n'induit aucune réduction significative du carbone total et de l'absorbance UV à 254nm.

La stérilisation des micro-organismes dans l'eau exige un plus haut degré de radiation que dans l'air. La survivance des différents organismes est fonction de la quantité d'ultraviolet absorbée. L'irradiation UV à 254 nm brise le code génétique de l'ADN bactérien et inhibe leur production [76]. Les avantages associés à ce type de biocide sont :

- ✓ La non production de sous-produits de désinfection ;
- ✓ L'indépendance du pH ;
- ✓ L'inutilisation de produits chimiques toxiques et dangereux.

Le degré de pénétration des ultraviolets varie inversement avec les constituants minéraux et organiques présents dans les eaux usées. En effet les particules en suspension absorbent et dispersent la lumière d'ultraviolet. L'énergie UV absorbée est atténuée par les particules protégées, et ne sert pas à la désinfection [74]. Severin et al. [77], ont étudié l'effet de la température de l'eau sur l'inactivation par ultraviolet. Ils ont pu mettre en évidence que la température de l'eau a un effet négligeable sur les bactéries (*Escherichia coli*); les virus et les levures. Cette particularité des ultraviolets représente un autre avantage sur les désinfectants chimiques qui perdent leur efficacité à basses températures. Chang et al. [78] ont tenté d'évaluer les doses d'ultraviolet nécessaires à l'inactivation de certains pathogènes à l'homme, tels que les bactéries, les virus et les spores présents dans les effluents secondaires des eaux usées.

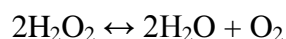
Les doses de lumière d'ultraviolet nécessaires pour une inactivation à 99.9% de culture végétative de bactéries (*Staphylocoques*, *Streptocoques*, *Salmonelles* et *Escherichia coli*) et des coliformes totaux sont comparables. Venosa et al. [79] ont reporté qu'une application séquentielle de l'ozone- ultraviolet ou ultraviolet - ozone est plus économiquement attractive que l'ultraviolet ou l'ozone seule. Bayliss et al. [80] ont reporté que la radiation UV de quelques spores de *Bacillus*Spp, en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit un effet biocide 2000 fois plus élevé que pour le cas des ultraviolets seul. Un prétraitement par ultrasons dans la désinfection de l'eau par UV pourrait améliorer l'efficacité de la désinfection, en réduisant également la photoréactivation dans l'effluent, ce qui offre une technologie d'application prometteuse dans la pratique [70]. Il apparaît alors que les combinaisons des UV avec d'autres désinfectants semblent être plus efficaces que les UV seul. Cependant, de pareilles applications pour des bio procédés des eaux usées demandent à être évaluées au cas par cas.

I.2.16 Traitement par le peroxyde d'hydrogène

I.2.16.1 Définition

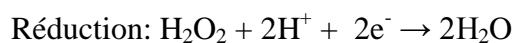
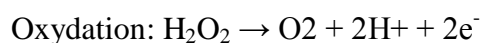
Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est un biocide largement utilisé pour la désinfection, la stérilisation et l'antisepsie. C'est un liquide incolore qui est disponible dans le commerce dans une variété de concentrations allant de 3 à 90%. Il est considéré comme respectueux de l'environnement, car il peut se dégrader rapidement en produits inoffensifs (eau et oxygène).

C'est une molécule simple, instable capable de se dismuter en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



Bien que les solutions pures soient généralement stables, la plupart contiennent des stabilisants pour empêcher la décomposition.

Le peroxyde d'hydrogène peut jouer le rôle d'un réducteur ou d'un oxydant selon les réactions suivantes :



Chez les êtres vivants le peroxyde d'hydrogène existe naturellement comme sous-produit de la respiration cellulaire. Tous les organismes aérobies possèdent des enzymes appelées peroxydases qui catalysent sa dismutation.

I.2.16.2 Historique

Le peroxyde d'hydrogène a été découvert en 1818 par Louis-Jacques Thénard [81]. Ce n'est qu'au début du XX^{ème} siècle, que ses premières applications industrielles ont vu le jour, dans la désinfection des plaies et le blanchiment des papiers et des textiles. Le premier qui a utilisé les propriétés de l'eau oxygénée est le scarabée bombardier *Brachinus crepitans* afin d'intimider ses ennemis. Pour cela il sécrète du H_2O_2 et de l'hydroquinone, qui une fois mélangés produisent une explosion sonore. L'homme égala bientôt les connaissances du scarabée, et la production d'eau oxygénée augmenta considérablement après la première guerre mondiale. Depuis les années 60, la consommation du peroxyde d'hydrogène a connu une ampleur considérable, non seulement à cause du marché du blanchiment, mais aussi grâce à ses multiples applications en chimie organique.

I.2.16.3 Propriétés physiques

Le peroxyde d'hydrogène est un liquide incolore, légèrement plus visqueux que l'eau. Il a une odeur piquante, qui augmente bien entendu avec la concentration. Sa masse molaire est de 34.0147 g/mol et sa température d'ébullition est de 150°C.

Il se décompose dans une réaction de dismutation, qui est une réaction lente et les solutions aqueuses de peroxyde d'hydrogène peuvent être conservées longtemps sous certaines conditions. Cette réaction peut se produire en phase solide, liquide et gazeuse. Elle est suffisamment exothermique pour vaporiser l'eau contenue dans les solutions d'eau oxygénée et elle devient alors auto catalysée. Elle ne se produit cependant pas spontanément et doit être initiée par un métal

Le peroxyde d'hydrogène contient des agents permettant de complexer ou d'adsorber les impuretés en solution. Ces agents stabilisants sont par exemple des phosphates, des stanates, des silicates de sodium, de l'acide phosphorique ou bien encore de l'acétanilide.

La décomposition homogène du peroxyde d'hydrogène peut être catalysée avec des substances solubles incompatibles, même à des teneurs très faibles (quelques ppm). Cette décomposition arrive avec une vaste gamme de polluants, en particulier les sels métalliques.

La décomposition hétérogène du peroxyde d'hydrogène peut être catalysée avec des matières solides insolubles (oxydes et hydroxydes de métaux). C'est une décomposition rapide dont la vitesse de réaction varie fortement en fonction de la nature et de l'état de surface.

I.2.16.4 Propriétés chimiques

Le peroxyde d'hydrogène est un fort oxydant où l'atome d'oxygène possède un nombre d'oxydation -I. Sa dissociation en solution aqueuse suit l'équation suivante :



H_2O_2 est un acide très faible avec un pK_A de 11.75 à 20°C [82] et 11.6 à 25°C [83], sa dissociation est plus facile au fur et à mesure que la température augmente.

HOO^- , l'anion perhydroxyle, est un fort nucléophile. Il est considéré comme l'espèce principale impliquée dans les réactions de blanchiment et participe également à la délignification à haute température en complément avec d'autres espèces oxygénées.

I.2.16.5 Utilisation du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est utilisé dans le blanchiment de pâte de papier, la synthèse organique et dans l'industrie du traitement de surface impliquant le nettoyage, la décoration, la protection et la gravure des métaux [84]. Il a été largement utilisé comme biocide et désinfectant dans la médecine, le commerce et les ménages [85]. De même, il est utilisé dans l'élimination des polluants des eaux usées, tels que les sulfites, les hypochlorites, les nitrites, les cyanures et le chlore [84].

Le peroxyde d'hydrogène gazeux a été utilisé comme décontaminant pour le traitement des équipements de laboratoire et médicaux, des installations pharmaceutiques, des chambres d'hôpital et des salles de détention des animaux [84].

I.2.16.6 Activité biocide

Le peroxyde d'hydrogène montre une efficacité à large spectre contre les virus, les bactéries, les levures et les spores bactériennes [86]. En général, une plus grande activité est observée contre les bactéries Gram-positives que Gram-négatives; cependant, la présence de catalase ou d'autres peroxydases dans ces organismes peut augmenter la tolérance en présence

de concentrations plus faibles. Des concentrations plus élevées de H_2O_2 et des temps de contact plus longs sont nécessaires pour l'activité sporicide [87]. Il agit comme un oxydant en produisant des radicaux libres hydroxyles ($OH\bullet$) [88] qui attaquent les composants cellulaires essentiels, y compris les lipides, les protéines et l'ADN [58]. Il a été proposé que les groupes sulfhydryle exposés et les doubles liaisons sont particulièrement ciblés [86]. Au cours des dernières décennies du XX^{ème} siècle, de nombreux efforts de recherche ont été consacrés à l'étude des effets du peroxyde d'hydrogène sur différentes variétés de bactéries [89]. Son activité peut être catalysée et étendue par l'addition de certains métaux, de la lumière UV et de l'ozone pour former $OH\bullet$, qui sont des oxydants très efficaces avec une réactivité juste après le fluor. Ces catalyseurs peuvent également être utilisés pour accélérer les réactions de H_2O_2 qui pourraient autrement prendre des heures ou des jours à se terminer [84].

I.2.16.7 Décontamination de l'eau par le peroxyde d'hydrogène

Des études, antérieures de désinfection de l'eau, axées sur l'inactivation de bactéries végétatives, de spores bactériennes, de virus ou de protozoaires ont montré que H_2O_2 est un désinfectant à action lente nécessitant des doses et des temps de contact élevés pour l'inactivation microbienne [90].

C'est un désinfectant, qui a une capacité antibactérienne beaucoup plus faible que celle du chlore. Cependant, il a un faible potentiel de production de sous-produits de désinfection [88].

Wang et al. [91] ont émet l'hypothèse que l'apport continu de H_2O_2 dans le système photocatalytique, était la raison principale pour l'inactivation des bactéries et pensaient que les cellules bactériennes seraient instantanément inactivées par H_2O_2 résultant in situ, avec une faible concentration détectée dans le système. Des études ont montré qu'il est possible de désinfecter l'eau de mer en utilisant H_2O_2 combiné avec l'UV [92].

Huang et al. [88] ont montré que la combinaison de H_2O_2 avec les nCu-MWCNTs donne une efficacité antimicrobienne exceptionnelle contre *E. coli* comparé avec celle de H_2O_2 seul. La libération d'ions de cuivre et la formation de radicaux hydroxyles ($\bullet OH$) ont tous les deux contribué à la capacité antibactérienne du système nCu-MWCNT / H_2O_2 .

I.3 Les nanoparticules de ZnO

I.3.1 Généralités sur le Zinc

Le zinc est un élément chimique, de symbole Zn et de numéro atomique 30. C'est un métal de transition de couleur bleu-gris, qui possède des propriétés électriques, thermiques, et optiques intéressantes. Il recouvre environ 0,02% de la lithosphère, c'est le 24^{ème} élément le plus abondant dans l'écorce terrestre. A l'état naturel, il existe sous forme de minerais tels que le sulfure de zinc (ZnS), l'oxyde de zinc (ZnO), la franklinite ($ZnFe_2O_4$), la willémite (Zn_2SiO_4). Il est recyclable à l'infini sans perte de ses propriétés physiques et chimiques. Il peut faire des combinaisons avec l'oxygène et d'autres non-métaux. Il est très réducteur et réagit avec les éléments ambiants tels que l'humidité, l'oxygène, le dioxyde de carbone, etc. Ainsi, il réagit avec des acides dilués en dégageant de l'hydrogène. Exposé à l'air, il forme en surface une couche mince d'oxyde imperméable, appelée rouille blanche.

Le zinc est couramment utilisé pour la galvanisation des aciers : le dépôt d'une couche mince de zinc en surface de l'acier le protège de la corrosion [93]. Chaque année, dans le monde, près de 3,5 millions de tonnes de zinc métallique sont utilisées pour protéger l'acier. Il est utilisé aussi dans la fabrication d'alliages comme le laiton, et la fabrication des piles électriques [94].

I.3.2 Propriétés structurales de l'oxyde de zinc

L'oxyde de zinc se trouve sous trois formes cristallographiques : la forme cubique, la forme blende, et la forme hexagonale (Würtzite) [95-97]. La structure hexagonale compacte (zincite) avec une structure de type Würtzite, est la plus stable thermodynamiquement. C'est un matériau à structure anisotrope dont l'axe sélectif de croissance cristalline est l'axe c. Cette structure est composée de couches d'atomes de zinc en alternance avec des couches d'oxygène (**Figure I.3.1**). La maille élémentaire contient deux côtés $a = b$ formant entre eux un angle de 120° . L'axe c est perpendiculaire au plan formé par les axes a et b. La structure Würtzite contient deux atomes de zinc par maille.

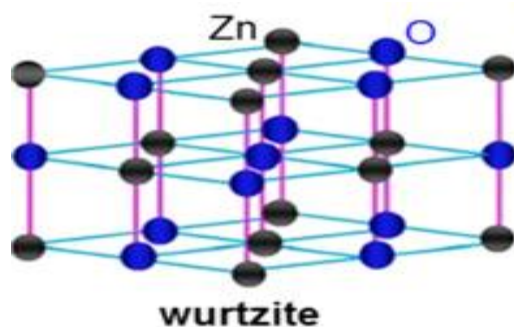


Figure I.3.1. Structure hexagonale de type Würtzite de ZnO.

I.3.3 Utilisation de l'oxyde de zinc

L'oxyde de zinc, est une substance insoluble dans l'eau, mais soluble dans les acides et les bases. Il est sous forme de cristaux hexagonaux blancs ou de poudre blanche. ZnO est un agent désinfectant [98, 99], il attire une attention considérable dans la dégradation photocatalytique des polluants environnementaux, suite à son écart de bande direct [100] et à son rendement élevé dans la photodégradation de divers colorants organiques, tel que la thionine, le bleu de méthylène, l'orange d'acridine, le benzène et ses dérivés [101-105]. Il est l'un des oxydes les plus utilisés en recherche en raison de sa grande efficacité catalytique et son coût peu élevé [106]. Il est employé dans l'élaboration de polymères (plastique et caoutchouc), la fabrication des céramiques et des ciments pour améliorer leur stabilité [107,108] et dans la composition des crèmes solaires, des peintures blanches, des verres conducteurs et des réactifs antibactériens [109-114].

C'est un matériau biocompatible ce qui lui vaut de pouvoir entrer dans la composition de médicaments et de nombreux produits cosmétiques. D'après ses propriétés électriques, l'oxyde de zinc est un semi-conducteur à grande bande interdite (3,37 eV) [115], ce qui lui vaut un intérêt pour des applications potentielles dans les domaines du photovoltaïque, des diodes électroluminescentes pour l'éclairage, les oxydes transparents conducteurs et la photonique ou encore des capteurs [116].

I.3.4 Définition des nanoparticules

Les nanoparticules sont des structures qui ont seulement une ou deux dimensions nanométriques [117, 118]. La littérature propose d'autres définitions basées également sur la taille et les propriétés physico-chimiques des nanoparticules. En effet Shaw et al [119] considèrent les nanoparticules comme des agrégats de taille nanométrique.

I.3.5 Propriétés caractéristiques des nanoparticules

Les nanoparticules en particulier métalliques ont des caractéristiques très spécifiques à cause du changement de leurs propriétés (optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques et biologique) en fonction de leur taille qui leur procure une excellente réactivité [120].

Depuis le 9^{ème} siècle, les artisans de la Mésopotamie ont exploité les propriétés optiques des nanoparticules afin que leurs poteries soient brillantes. L'utilisation de cette technique s'était poursuivie jusqu'au Moyen Age puis à la Renaissance, les artisans utilisaient un mélange d'argile et de sels métalliques (généralement cuivre et argent) [121, 122].

En 1847, les premières suspensions de nanoparticules étudiées scientifiquement sont attribuées à Faraday. Il a fondé une relation entre la taille des particules d'or et les couleurs de leurs solutions. Cette propriété était utilisée pour donner leurs couleurs vives aux vitraux.

I.3.6 Utilisation des nanoparticules de ZnO

Les nanoparticules (NPs) de ZnO sont utilisées dans la préparation des produits cosmétiques et les crèmes solaires, pour améliorer les propriétés rhéologiques (homogénéité, fluidité et transparence) de ces derniers [106, 123, 124] et comme colorants pour les peintures et les dentifrices. Elles sont employées pour la confection de textiles, de matériels médicaux [125], d'additifs ou d'emballages alimentaires [126, 127] et dans la dégradation et la minéralisation de polluants environnementaux [125, 128].

En outre les NPs de ZnO peuvent être utilisées dans différentes applications telles que la production des capteurs, les cellules solaires et voltaïques [129] ainsi que dans le domaine de la médecine [130]. Récemment, des recherches ont montré que les nanoparticules de ZnO ont une activité antibactérienne contre la bactérie *E.coli* [131-134]. Les nanoparticules de ZnO synthétisées selon une méthode de synthèse écologique présentent une activité photocatalytique élevée pour la dégradation de l'acide 2-phénylbenzimidazole-5-sulfonique [135]. Elles sont plus catalytiquement actives pour la photo-dégradation de l'orange méthylque, sous la lumière solaire simulée, que les nanoparticules de ZnO commercial [136]. Il est à noter que, la morphologie des nanoparticules de ZnO a une influence sur l'activité photocatalytique [137, 138]. Selon les applications envisagées, les NPs de ZnO sont commercialisées sous forme de nano poudres ou de suspensions, en présence ou non d'agents dispersant.

I.3.7 Méthodes de préparation des nanoparticules de ZnO

Les nanoparticules de ZnO peuvent être préparées soit par voie chimique qui se produit en milieu liquide, soit par voie physique qui consiste à des synthèses sous vide. Ces deux méthodes renferment des avantages et des inconvénients.

I.3.7.1 La voie chimique

Cette voie qui se produit à des températures (30-70°C), a généralement un coût fixe et permet d'obtenir une quantité considérable de nanoparticules. La variation du pH, de la température et d'autres facteurs intervenant lors de la synthèse des nanoparticules ont une influence marquée sur leurs tailles et leurs formes [139]. Les nanoparticules produites par les méthodes chimiques présentent une bande de luminescence visible allant du rouge au vert. Malgré qu'il soit possible de limiter la luminescence visible en ajustant les conditions expérimentales, il existe toujours une incertitude sur l'état de surface.

Il existe plusieurs méthodes de préparation des nanoparticules de ZnO par voie chimique, parmi lesquelles :

I.3.7.1.1 Méthode sol-gel

Elle consiste à l'hydrolyse des précurseurs métalliques ce qui permet l'obtention de l'hydroxyde correspondant. Un réseau d'hydroxyde métallique est produit suite à la condensation de ces hydroxydes par élimination de l'eau. La gélification est achevée et un gel poreux est obtenu, lorsque l'ensemble des fonctions hydroxydes est lié. Suite à l'élimination des molécules de solvants et un séchage convenable du gel, une poudre ultrafine de l'hydroxyde métallique est obtenue. Des traitements thermiques ultérieurs de cet hydroxyde métallique donne une poudre ultrafine correspondant à l'oxyde métallique souhaité.

I.3.7.1.2 Méthode de synthèse chimique à basse température

Cette méthode repose sur l'utilisation des sels précurseurs dissous comme les chlorures, oxychlorures ou les nitrates. Par l'addition d'une solution basique comme une solution d'hydroxyde d'ammonium ou un hydroxyde de sodium, il apparaît un précipité dans l'eau ce qui indique la formation d'oxyde métallique. Par la suite, les sels chlorés résultants (NaCl ou NH₄Cl) sont lavés et éliminés. L'hydroxyde métallique subit une filtration et un lavage, ensuite il est calciné pour obtenir la poudre finale [140].

I.3.7.1.3 Méthode de microémulsion

Dans cette méthode, le surfactant est dissout dans un solvant organique pour former des agrégats sphériques appelés micelles inverses. En présence d'eau, les groupes polaires des molécules de surfactant s'organisent autour de petites gouttes d'eau, ce qui conduit à la dispersion de la phase aqueuse dans une phase continue d'huile. Par conséquent, les précurseurs en solution dans l'eau peuvent être transformés en nanoparticules insolubles. Le produit final peut être obtenu par élimination du solvant suivit d'une calcination [141].

I.3.7.1.4 La mécanosynthèse

Cette méthode consiste au broyage des précurseurs utilisés sous forme de poudre comme des sels ou des oxydes métalliques. La formation de composites à l'échelle nanométrique peut être obtenue [142].

I.3.7.1.5 Méthode par précipitation

Elle consiste en l'ajout à une solution de soude une solution contenant comme précurseur l'acétate de zinc et du 2-propanol et en maintenant la température à 65°C, on obtient l'oxyde de zinc sous forme de petite particules et de l'acétate de sodium, selon la réaction suivante :



Cette méthode a fait l'objet de plusieurs publications [143-146].

I.3.7.1.6 Synthèses par voie organométallique

Dans cette méthode, on utilise des précurseurs moléculaires, possédant des liaisons métal-carbone, qui subissent des décompositions de ces derniers selon diverses façons. Le processus mis en jeu repose sur trois étapes distinctes, une étape de nucléation, une étape de croissance, et une dernière étape dite de mûrissement d'Ostwald [147, 148]. Contrôler ces étapes revient à contrôler la taille, la forme et l'organisation des particules.

I.3.7.1.7 Synthèse par voie polyol

Cette méthode est une alternative à la méthode sol-gel. Elle consiste à la réduction ou l'hydrolyse d'un sel métallique, dissous dans un polyol et chauffé à des températures modérées. La formation et la taille de l'oxyde dépend du taux d'hydrolyse définie par le

rapport H_2O/Zn , de la concentration en précurseur du métal et de la température de synthèse [149]. Les polyols sont utilisés, grâce à leur caractère polaire et leur point d'ébullition élevé, qui leur permettent de solubiliser un grand nombre de précurseurs métalliques et d'activer les réactions classiques de formation des nanoparticules (réduction, hydrolyse et polymérisation). La formation de l'oxyde dépendra de l'anion présent dans le milieu. Aucune précipitation ne sera observée, lors de l'utilisation des sels métalliques, des sulfates ou des chlorures de zinc. Au contraire, l'emploi de l'acétate de Zinc conduit à la précipitation de l'oxyde [150].

Comme dans le procédé sol-gel, le passage par la formation d'une espèce intermédiaire (complexe alcoxyacétate) est possible grâce à l'utilisation d'un précurseur acétate. La présence d'eau dans le milieu réactionnel conduit à la formation de l'oxyde ou de l'hydroxyacétate, tandis que son absence facilite la formation des métaux [150].

La température d'ébullition assez élevée des polyols, permet de réaliser cette synthèse dans un large domaine de températures, conduisant par conséquent à la formation des particules de très haute cristallinité. L'ajustement du diamètre moyen des particules est influencé par la température, la durée de réaction ou la présence de surfactant.

Récemment, He et *al.* [151] ont montré qu'il est possible de synthétiser les nanoparticules de ZnO, par la méthode des polyols, à température ambiante, sans utilisation de surfactant, par simple broyage mécanique d'une solution de NaOH et chlorure de zinc dans le triéthylène glycol. Cependant ces particules restent en suspension.

I.3.7.2 La voie physique

Elle consiste à synthétiser des NPs sous vide. Elle exige généralement des dispositifs compliqués et coûteux, qui ne permettent pas d'obtenir des nanoparticules en grande quantité. La surface des NPs est mieux définie, cependant les nanoparticules possèdent toujours des défauts variés du volume qui sont responsables d'une large bande de luminescence visible.

I.3.7.2.1 Les méthodes de condensation de vapeur

Cette méthode se déroule en deux étapes, la première consiste à la condensation de la poudre métallique sous gaz inerte, après l'obtention d'une sursaturation d'une vapeur en métal concerné, dans la chambre de préparation. La deuxième étape consiste à l'oxydation de la poudre avec l'oxygène introduit à l'intérieur de la chambre réactionnelle. Afin d'achever l'oxydation une étape de recuit est réalisée à plus haute température.

I.3.7.2.2 L'évaporation thermique

Afin d'obtenir de la vapeur saturée, différents types, de sources de chauffage, peuvent être utilisés dans cette méthode. La formation de l'oxyde métallique se fait par l'introduction de l'oxygène dans la vapeur métallique [152].

I.3.7.2.3 La méthode sputtering

Cette méthode est plus facile à mettre en œuvre et ses conditions sont très stables et contrôlables par le courant [153].

L'évaporation par laser nécessite la mise au point (focus) d'un laser pulsé à haute énergie sur un barreau du métal utilisé. La température au point de focus peut vaporiser toute substance parce qu'elle peut excéder 10000K. Par conséquent une phase vapeur d'oxyde métallique est formée suite à l'obtention des atomes métalliques chauds.

Les inconvénients des méthodes de condensation de gaz sont leurs coûts élevés de production et leurs faibles rendements. Dans les techniques de recuit utilisées il y a une possibilité de réactions entre les vapeurs métalliques et les matériaux de la source chauffante, ce qui induit une pollution des produits. En outre, ces méthodes utilisent des températures élevées et des appareils sophistiqués [154].

I.3.7.2.4 La méthode de pyrolyse par jet

Les matériaux de départ utilisés dans cette méthode sont des précurseurs chimiques, généralement des sels en solution, en sol ou en suspension. Par « atomisation » de la solution de départ du sol ou de la suspension, un aérosol constitué de gouttes est produit. Les gouttes s'exposent à une évaporation suivie d'une condensation, d'un séchage, d'une thermolyse des particules précipitées à haute température pour former des particules microporeuses, et finalement, une étape de recuit est nécessaire pour obtenir des particules denses.

L'avantage de cette méthode est que l'ensemble du procédé (évaporation, précipitation et thermolyse) a lieu en une étape. Ainsi, des particules de tailles nanométriques et de haute pureté peuvent être obtenues. L'inconvénient de cette méthode est l'utilisation d'une quantité importante du solvant et la difficulté des changements d'échelle de production [155].

I.3.7.2.5 Décomposition thermochimique ou par flamme de précurseurs organométalliques

Cette méthode est un autre type de technique de condensation de gaz avec comme matériau de départ un précurseur chimique liquide. Les précurseurs chimiques sont vaporisés et ensuite oxydés dans un procédé de combustion utilisant un mélange oxydant. La flamme produit généralement de hautes températures (1200-3000K), ce qui promet de rapides réactions chimiques en phase gazeuse. Cette méthode présente un coût de production inférieur aux autres méthodes citées précédemment [156].

I.4 Les films nanostructurés de ZnO

I.4.1 Utilisation des films nanostructurés de ZnO

Le domaine des films nanostructurés est actuellement un champ de recherche en pleine expansion. Des films minces de ZnO sont nécessaires pour faciliter leurs diverses applications. Les couches minces de ZnO attirent une attention considérable en raison de leurs propriétés typiques telles que l'excellente adhérence du substrat et les propriétés piézoélectriques dans la région visible et infrarouge proche [157, 158].

Elles ont été utilisées dans des varistances, des capteurs de gaz, des fabrications de contacts transparents pour cellules solaires, des systèmes d'ondes acoustiques de surface, des lasers UV, etc [157] En outre, la porosité développée, dans les couches minces de ZnO obtenues par sol-gel, favorise d'autres applications utiles comme substrats pour la catalyse et la détection des structures invisibles et des composants organiques biocompatibles. L'importance de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO sur les *E.Coli* a été confirmée [159, 160].

I.4.2 Préparation des films nanostructurés de ZnO

Les films nanostructurés de ZnO peuvent être élaborés sur une variété de substrats tels que : le silicium, le verre et l'oxyde d'indium [161]. Ces films peuvent être préparés de différentes façons telles que : la méthode sol-gel [162], la méthode spin-coating [163, 164], la méthode sol-gel spin-coating [165, 166], par spin-coating pyrolyse [167] par ablation laser [168], par méthode hydrothermal [161] et par la méthode de spray [169].

Dans ce qui suit, nous citons quelques méthodes de préparation :

I.4.2.1 La méthode sol-gel (solution-gélification)

Cette méthode consiste à la transformation d'une solution en phase liquide, à base de précurseurs en un solide, à travers un ensemble de réactions chimiques de type hydrolyse ou polymérisation à la température ambiante [170, 171]. En générale, la solution de départ est composée d'un précurseur, un solvant (généralement un alcool), parfois un catalyseur (acide ou basique) et de l'eau. Étant donné que les propriétés du gel dépendent de chaque composé, ce dernier doit être dosé avec précision. Le précurseur utilisé est imposé par la nature du matériau souhaité. Le choix, du solvant et du catalyseur, dépend des propriétés chimiques du précurseur. En effet ce dernier est le composé central de la solution [172].

I.4.2.2 Ablation laser

L'ablation laser PLD (Pulsed Laser Deposition) se définit comme la focalisation d'un faisceau laser sur un matériau, afin de le vaporiser puis de condenser les particules ionisées sur un substrat chauffé ou non. Les particules ionisées ont une haute énergie cinétique (quelques dizaines d'électronVolts). L'ablation par laser pulsé possède de nombreux avantages, parmi lesquels, le contrôle précis, à la fois, de l'état cristallin des matériaux synthétisés et de leur adhérence à la surface du substrat. Ainsi elle permet d'éviter l'incorporation de contaminants dans les films en croissance pendant le processus de dépôt. C'est une technique extrêmement polyvalente pour la préparation d'une large gamme de couches minces allant des supraconducteurs, aux isolants, aux structures multicouches et à la croissance hétéroépitaxiale d'oxydes métalliques multi-composants avec des meilleures propriétés structurelles et électriques. Les paramètres les plus importants qui affectent la qualité des couches minces de ZnO préparé par PLD sont l'énergie laser, la distance cible-substrat, la température du substrat et la pression partielle d'oxygène des dépôts.

Parmi les avantages du dépôt de couches minces de ZnO par PLD est la possibilité d'utilisation des pressions d'oxygène élevées et la réalisation des films cristallins de haute qualité avec une vitesse de croissance élevée même à basse température [173].

Vinodkumar et al. [168] ont montré que la microstructure, les propriétés électriques et d'émission des films ZnO préparés sur des substrats de quartz par PLD dépendent fortement de la température de croissance, et possèdent des propriétés optiques et électriques hautement souhaitables. Ainsi, ces films sont des matériaux prometteurs pour les applications de composants optiques.

I.4.2.3 Spray Pyrolyse

La pyrolyse par pulvérisation est une technique simple et peu coûteuse ayant la capacité de produire des revêtements uniformes à grande échelle [174]. Elle consiste à pulvériser une solution contenant des composés réactifs. Ces derniers sont généralement les chlorures et les acétates dissous dans l'eau distillée ou l'alcool. La pulvérisation de la solution est réalisée à l'aide d'un atomiseur, sur une surface chaude où il se produit une réaction chimique. Un film mince est obtenu après évaporation des produits volatils de la réaction. L'activation de la réaction chimique entre les composés est assurée par la température du substrat [175].

I.4.2.4 Spin-coating

Le processus de revêtement par centrifugation peut être décomposé en quatre étapes illustrées sur la figure I.4.2.

1-Le dépôt de la solution sur le substrat : le processus de dépôt implique le versement d'une quantité de la solution sur un substrat immobile ou tournant lentement. La solution est déposée à travers un micro-filtre au centre du substrat ou sur un chemin programmé. Une quantité suffisante de la solution est utilisée pour empêcher la formation des zones non recouvertes, provoquées par le séchage de la solution avant qu'elle n'atteigne le bord de la tranche.

2- L'accélération (spin up) : le substrat est accéléré à la vitesse de rotation désirée. Au début la solution s'étale lentement, puis elle s'écoule vers le bord du substrat par la force centrifuge, laissant derrière elle une couche relativement uniforme.

4-La rotation uniforme (Spin off) : elle est caractérisée par la rotation du substrat à une vitesse constante. C'est l'étape de revêtement où l'excès de solvant est éjecté hors de la surface du substrat par la force centrifuge. En effet, cette dernière amincie la couche de liquide jusqu'à l'évaporation du solvant et l'augmentation de la viscosité à un niveau où l'écoulement s'arrête. L'étape spin off a lieu environ 10 secondes après la spin up [176].

5-L'évaporation : C'est la dernière étape, où la rotation du substrat est toujours constante. Elle est caractérisée par la domination de l'évaporation des solvants les plus volatils. L'avantage de cette technique est qu'elle est facile à mettre en œuvre, et permet l'élaboration des films d'excellente qualité sur des substrats de grande taille, allant jusqu'au

quelques centimètres carrés. Ainsi que la capacité du film à devenir progressivement plus uniforme à mesure qu'il s'amincit.

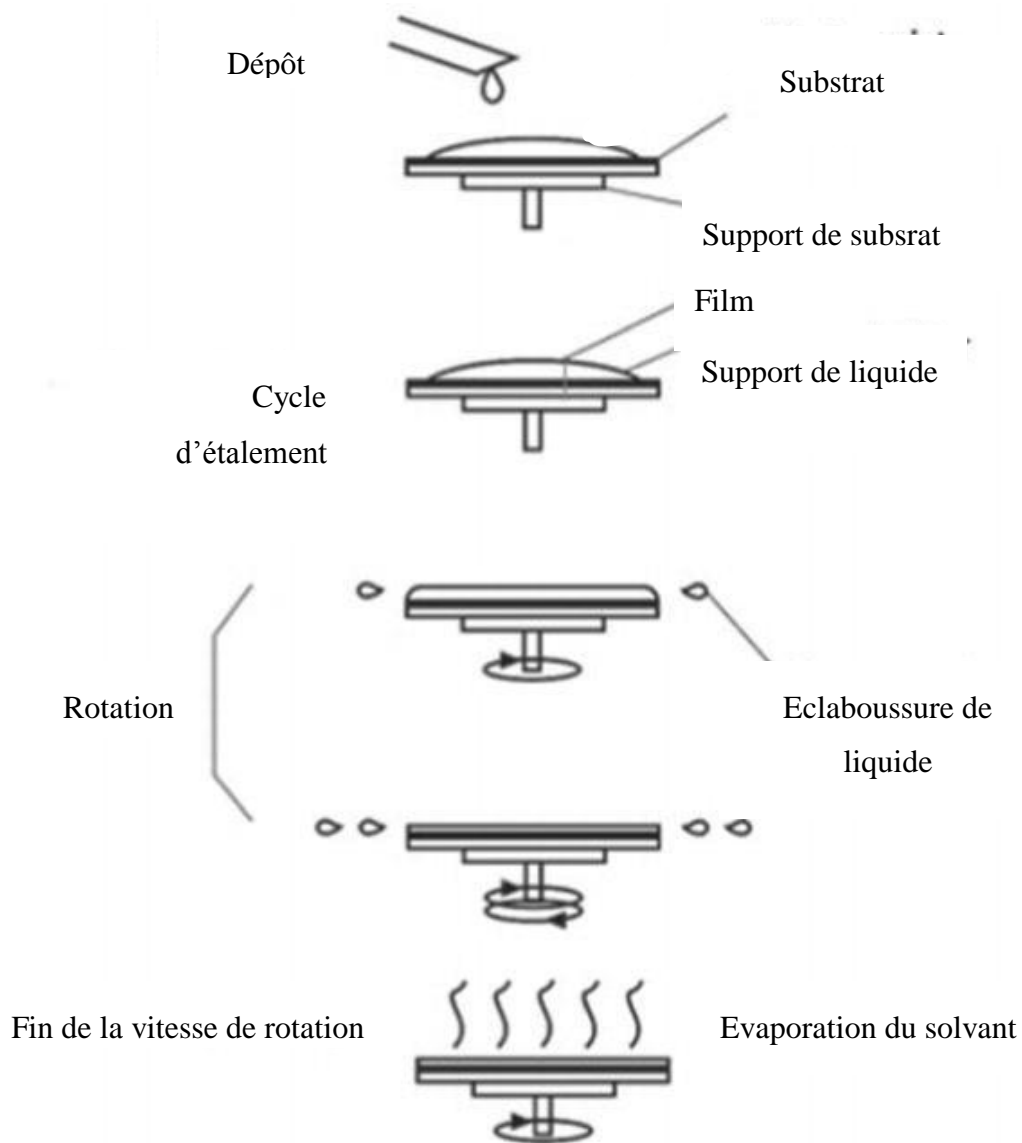


Figure I.4.1. Les différentes étapes de la méthode spin-coating.

I.5 Les nanoparticules du sulfure de zinc

I.5.1 Généralités sur le sulfure de zinc

Le sulfure de zinc (ZnS) est un semi-conducteur à large bande interdite. A l'état naturel il existe habituellement sous la forme cristallisée dans le système cubique ; il est connu sous le nom de blende ou sphalérite. Rarement, il peut exister dans le système hexagonal, que l'on appelle wurtzite.

Le ZnS est utilisé dans divers dispositifs tels que : les dispositifs électrochromiques, les cellules voltaïques [177], les capteurs de taille nanométrique et les photocatalyseurs pour la dégradation des colorants organiques [178, 179]. En raison de sa non-toxicité, le sulfure de zinc est maintenant utilisé dans le traitement des eaux usées comme photocatalyseur dans la dégradation des polluants organiques, tels que les colorants, les dérivés halogénés et le p-nitrophénol [180].

I.5.2 Utilisation des nanoparticules de ZnS

Les nanoparticules de ZnS ont des propriétés optiques et électriques particulières. Elles sont utilisées dans la catalyse et l'imagerie biochimique [181, 182], les applications émettant de la lumière et les cellules solaires [183], dans la protection de l'environnement comme réducteurs des métaux lourds toxiques [184] et la dégradation des polluants de l'eau [185], ainsi que pour la détection des molécules organiques, des protéines, le DNA moléculaire et la valeur du pH [186]. Les nanoparticules de ZnS pourraient être utilisées comme des bons photocatalyseurs, car la bande de conduction de ZnS en solution aqueuse est supérieure à celle d'autres semi-conducteurs tels que TiO₂ et ZnO [187].

Références bibliographiques

- [1] **VAILLANT**, "Perfectionnement et nouveautés pour l'épuration des eaux résiduaires" Editions Eyrolles, collection de BCE OM., 412 **1974**.
- [2] http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Average_prokaryote_cell-_fr.svg.
- [3] **J. P. Euzéby**, "Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire", **2011**.
- [4] **M. Kosek, C. Bern, R.L. Guerrant**, "The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000", *Bull. World Health Organ.*, 81 (**2003**) 197–204.
- [5] **T.A. Russo, J.R. Johnson**, "Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem", *Microbes Infect. Inst. Pasteur*, 5 (**2003**) 449–456.
- [6] **J.B. Kaper, J.P. Nataro, H.L. Mobley**, "Pathogenic *Escherichia coli*", *Nat. Rev. Microbiol.*, 2 (**2004**) 123–140.
- [7] **R. Dewanti, A.C. Wong**, "Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7", *Int. J. Food. Microbiol.*, 26 (**1995**) 147-64.
- [8] **D. Ackman, S. Marks, P. Mack, M. Caldwell, T. Root, G. Birkhead**, "Swimming-associated haemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7 infection: evidence of prolonged contamination of a fresh water lake", *Epidemiol. Infect.*, 119 (**1997**) 1-8.
- [9] **S. Akashi, K. Joh, T. Mori, A. Tsuji, H. Ito, H. Hoshi, T. Hayakawa, J. Ihara, T. Abe, M. Hatori, T. Nakamura, S. Akashi**, "A severe outbreak of haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Japan", *Eur. J. Pediatr.*; 153 (**1994**) 650-5.
- [10] **V.J. Dev, M. Main, I. Gould**, "Waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157", *Lancet.*, 337 (**1991**) 1412.
- [11] **I. G. Jones, M. Roworth**, "An outbreak of *Escherichia coli* O157 and campylobacteriosis associated with contamination of a drinking water supply", *Public Health*, 110 (**1996**) 227-82.
- [12] **R. Ducluzeau, P. Raibaud**, "Microbial ecology of the digestive system", *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression*, 26 (**1985**) 161-163.
- [13] **M. Smati, O. Clermont, A. Bleibtreu, F. Fourreau, A. David, A.S. Daubie, C. Hignard, O. Loison, B. Picard, E. Denamur**, "Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level", *MicrobiologyOpen*, 4 (**2015**) 604-615.

- [14] **S.T. Walk, E.W. Alm, L.M. Calhoun, J.M. Mladonicky, T.S. Whittam**, "Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches", *Environ. Microbiol.*, 9 (2007) 2274-2288.
- [15] **J.J. Farmer, K.D. Boatwright, J.M. Janda**, "Enterobacteriaceae: Introduction and identification. Manual of Clinical microbiology", Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669 2007.
- [16] [http://www.google.fr/imgres?q=Escherichia coli](http://www.google.fr/imgres?q=Escherichia+coli).
- [17] **R. Hugh, E. Leifson**, "The proposed neotype strains of *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900", *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 14 (1964) 69-84.
- [18] **M. Véron**, "Sur l'opportunité de conserver le nom d'espèce *Pseudomonas pyocyanea* (Gessard 1882) Migula 1895", *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 15 (1965), 187-190.
- [19] **N.H. Khan, Y. Ishii, N. Kimata-Kino, H. Esaki, T. Nishino, M. Nishimura, K. Kogure**, "Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates", *Microb. Ecol.*, 53 (2007) 173–86.
- [20] **M.E. Hibbing, C. Fuqua, M.R. Parsek, S.B. Peterson**, "Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle", *Nat. Rev. Micro.*, 8 (2010) 15–25.
- [21] **A.S. Griffin, S.A. West, A. Buckling**, "Cooperation and competition in pathogenic bacteria", *Nature*, 430 (2004) 1024.
- [22] **K. Bogunia-Kubik, D. Duda, K. Suchnicki, A. Lange**, "CCR5 deletion mutation and its association with the risk of developing acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation", *Haematologica*, 91 (2006) 1628–34.
- [23] <https://fineartamerica.com>.
- [24] **P. Breche, J. Gaillard, M. Simonet**, "Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines", Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 267-277 1988.
- [25] **A. van Belkum, N.J. Verkaik, C.P. de Vogel, H.A. Boelens, J. Verveer, J.L. Nouwen, H.A. Verbrugh, H.F.L. Wertheim**, "Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types", *J. Infect. Dis.*, 199 (2009) 1820-1826.
- [26] **J. Kluytmans, A. van Belkum, H. Verbrugh**, "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks", *Clin. Microbiol. Rev.*, 10 (1997) 505-520.
- [27] **H.F. Wertheim, M.C. Vos, A. Ott, A. van Belkum, A. Voss, J.A. Kluytmans, P.H.J. van Keulen, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls, M.H.M. Meester, H.A. Verbrugh**, "Risk

and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus noncarriers", *Lancet*, 364 (2004) 703-705.

[28] **L. Le Minor, M. Veron**, "Bactériologie Médicale, *Staphylococcus* et *Micrococcus*", J.Fleurette, 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794 **1990**

[29] <https://www.popsoci.com>.

[30] **R. Sadiq, M.J. Rodriguez**, "Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and the predictive models for their occurrence: a review", *Sci .Total. Environ.* 321 (2004) 21-46

[31] **M. Franceschi, A. Girou, A.M. Carro-Diaz, M.T. Maurette, E.Puech-Costes**, "Optimisation of the coagulation–flocculation process of raw water by optimal design method", *Water. Res.*, 36 (2002) 3561–3572.

[32] **O.K. Dalrymple, E.Stefanakos, M.A. Trotz, G.D. Yogi**, "A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection", *App. Catal. B: Environ.*, 98 (2010) 27–38.

[33] **H. Gallard, U. VonGunten**, "Chlorination of Natural Organic Matter: Kinetics of Chlorination and of THM Formation", *Water. Res.* 36 (2002) 65-74.

[34] **H. Arora, M.W. LeChevallier, K.L. Dixon**, "DBP occurrence survey", *J.Am. Wat. Wor Ass.*, 89 (1997) 60 –68.

[35] **W.J. Chen, C.P. Weisel**, "Halogenated DBP concentrations in a distribution system", *J. Am. Wat. Wor. Ass.*, 90 (1998) 151-163.

[36] **E.W. Rice, J.C. Hoff, F.W. Schaefer III**, "Inactivation of *Giardia* Cysts by Chlorine", *Appl. Environ. Microbiol.*, 43 (1982) 250–251.

[37] **Q.B. Walter, B.R. Joan**, "Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*", *Veter. Parasit.*, 126 (2004) 219–234.

[38] **G.R. Dychdala**, "Chlorine and chlorire compounds, in disinfection, stérilization and preservation", 3rd ed. Block, S.S., ed. LEA and Febiger Philadelphia **1983**.

[39] **L. Li, Y. Zhao, H. Zhou, A. Ning, F. Zhang, Z. Zhao**, "Synthesis of pyridinium N-chloramines for antibacterial applications", *Tetrahedron Lett.*, 58 (2017) 321-325.

[40] **Z.T. How, I. Kristiana, F. Buseti, K.L. Linge, C.A. Joll**, "Organic chloramines in chlorine-based disinfected water systems: A critical review", *J. Environ. Sci.*, 58 (2017) 2-18.

[41] **G.B. Wickramanayake**, "decontamination technologies for release from bioprocessing facilities I, II", *Crit. Rev. Environ. Control*, 19, (1990) 359-446.

- [42] **D. Rubio, E. Nebot, J.F. Casanueva, C. Pulgarin**, "Comparative effect of simulated solar light, UV, UV/H₂O₂ and photo-Fenton treatment (UV-Vis/H₂O₂/Fe²⁺, 3+) in the *Escherichia coli* inactivation in artificial seawater", *Water Res.*, 47 (2013) 6367-6379.
- [43] **X. Zhou, H. Guo, Z. Li, J. Zhao, Y. Yun**, "Experimental study on the disinfection efficiencies of a continuous-flow ultrasound/ultraviolet baffled reactor", *Ultrason. Sonochem.*, 27 (2015) 81-86.
- [44] **S. Cotillas, J. Llanos, K. Castro-Ríos, G. Taborda-Ocampo, M.A. Rodrigo, P. Cañizares**, "Synergistic integration of sonochemical and electrochemical disinfection with DSA anodes", *Chemosphere*, 163 (2016) 562-568.
- [45] **J.H. Gibson, H. Hon, R. Farnood, I.G. Droppo, P. Seto**, "Effects of ultrasound on suspended particles in municipal wastewater", *Water Res.*, 43 (2009) 2251-2259.
- [46] **E. Petropoulos, J. Dolfing, R.J. Davenport, E.J. Bowen, T.P. Curtis**, "Developing cold-adapted biomass for the anaerobic treatment of domestic wastewater at low temperatures (4, 8 and 15 C) with inocula from cold environments", *Water Res.*, 112 (2017) 100-109.
- [47] WPCF (Water Pollution Control Federation) *Sludge Disinfection : A review of the Literature* WPCF Washington, D.C., 20 1984.
- [48] **C.A. Counts, A.J. Shuckrow**, "Lime stabilized sludge: its stability and effect on agricultural land", *Environ Prot. Technol. Ser EPA US Environ Prot Agency*, (1975).
- [49] **E. Zanacic, J. Stavrinides, D.W. McMartin**, "Field-analysis of potable water quality and ozone efficiency in ozone-assisted biological filtration systems for surface water treatment", *Water Res.*, 104 (2016). 397-407.
- [50] **C. Ni, J. Chen, Y. Tsai, W. Chen, C. Chen**, "Ozonation of domestic secondary effluent for recycling and reuse-a pilot plant study", *Water. Sci. Technol.*, 46 (2002) 361-366.
- [51] **P. Paraskeva, N. Graham**, "Treatment of a secondary municipal effluent 562 by ozone, UV and microfiltration: microbial reduction and effect on effluent quality", *Desalination*, 186 (2005) 47-56.
- [52] **G. Carvajal, A. Branch, P. Michel, S.A. Sisson, D.J. Roser, J.E. Drewes, S.J. Khan**, "Robust evaluation of performance monitoring options for ozone disinfection in water recycling using Bayesian analysis", *Water Res.*, 124 (2017) 605-617.
- [53] **E. Bezirtzoglou, S.M. Cretoiu, M. Moldoveanu, A. Alexopoulos, V. Lazar, M. Nakou**, "A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes", *J. Dent.*, 36 (2008) 600-605.

- [54] **H.T. Vo, T. Imai, T.T. Ho, T.L.T. Dang, S.A. Hoang**, "Potential application of high pressure carbon dioxide in treated wastewater and water disinfection: Recent overview and further trends", *J. Environ. Sci.*, 36 (2015) 38-47.
- [55] **L. Gershenfeld, B. Witlin**, "Iodine as an antiseptic", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 53 (1950) 172-182.
- [56] **J.L. Zamora**, "Chemical and microbiologic characteristics and toxicity of povidone-iodine solutions", *Am. J. Surg.*, 151 (1986) 400-406.
- [57] **H.U. Schenck, P. Simak, E. Haedicke**, "Structure of polyvinylpyrrolidone-iodine (povidone-iodine)", *J. Pharm. Sci.*, 68 (1979) 1505-1509.
- [58] **G. McDonnell, A.D. Russell**, "Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance", *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (1999) 147-179.
- [59] **R.L. Jolley, J.H. Carpenter**, "Review of the chemistry and environmental fate of reactive oxidant species in chlorinated water", *Water Chlorination : Environmental Impact and Health effects*, 4 (1983).
- [60] **A.N. Au-Duong, C.K. Lee**, "Iodine-loaded metal organic framework as growth-triggered antimicrobial agent", *Mater. Sci. Eng. C*, 76 (2017) 477-482.
- [61] **H. Lin, W. Deng, T. Zhou, S. Ning, J. Long, X. Wang**, "Iodine-modified nanocrystalline titania for photo-catalytic antibacterial application under visible light illumination", *Appl. Catal. B*, 176 (2015) 36-43.
- [62] **A. Streitwieser, A.H. Heathcock**, "Introduction to Organic Chemistry", 2nd ed. Macmillan. New York, 289 1976.
- [63] **N. Khatri, S. Tyagi, D. Rawtani**, "Recent strategies for the removal of iron from water: A review", *J. Water Process Eng.*, 19 (2017) 291-304.
- [64] **J.L. Cleasby, E.R. Baumann, C.D. Black**, "Effectiveness of potassium permanganate for disinfection", *J. Am. Water Works Assoc.*, 56 (1964) 466-474.
- [65] **R.R. Ernst**, "Sterilisation by heat, in disinfection sterilization and preservation", 2nd Ed. Block, S.S., Ed., Lea and Febiger, PHILADELPHIA, 493 1977.
- [66] **B.S. Fields, R.F. Benson, R.E. Besser**, "Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation", *Clin. Microbiol. Rev.*, 15 (2002) 506-526.
- [67] **F. Leteneur**, "Prevention de la légionellose sur les réseaux d'eau chaude sanitaire et les tours aéroréfrigérantes", *L'eau, l'industrie, les nuisances* 266 (2003) 103-107.
- [68] **C.P. Collier, C.T. Townsend**, "The resistance of bacterial spores to superheated steam", *food technol.*, 10 (1956) 477-481.

- [69] **B.G. Oliver, J.H. Carey**, "Ultraviolet disinfection an alternative to chlorination", *J. Water Pollut. Control fed.*, 48 (1976) 2619-2624.
- [70] **X. Zhou, Z. Li, J. Lan, Y. Yan, N. Zhu**, "Kinetics of inactivation and photoreactivation of *Escherichia coli* using ultrasound-enhanced UV-C light-emitting diodes disinfection", *Ultrason. Sonochem.*, 35 (2017) 471-477.
- [71] **G.E. Whitby, G. Palmateer, W.G. Cook, J. Maarschalkerweerd, D. Huber, K. Flood**, "Ultraviolet disinfection of secondary effluent", *J. water Pollut. Control fed.*, 56 (1984) 844-850.
- [72] **J.R. Cortelyou, M.A. Mc Whinnie, M. S.Riddiford, J.E. Semrad**, "Effects of ultraviolet irradiation on large populations of certain water - Borne Bacteria in motion: I. The Development of adequate Agitation to Provide an Effective exposure period", *Appl. Microbiol.*, 2 (1954) 227.
- [73] **J.R. Cortelyou, M.A. Mc Whinnie, M.S. Riddiford, J.E. Semrad**, "The effect of ultraviolet irradiation on large populations of certain water-borne Bacteria in motion II. Some physical factors affecting the effectiveness of germicidal ultraviolet irradiation", *Appl. Microbiol.*, 2 (1954)269.
- [74] **R.G. Qualls, S.F. Ossoff, J.C.H. Chang, M.H. Dorfman, C.M. Dumais, D.C. Lobe, J.D. Johnson**, "Factors controlling sensitivity in ultraviolet disinfection of secondary Effluents", *J. Water Pollut. Control Fed.*, 57 (1985) 1006-1011.
- [75] **A. Chin, P.R. Bérubé**, "Removal of disinfection by-product precursors with ozone-UV advanced oxidation process", *Water Res.*, 39 (2005) 2136-2144.
- [76] **B.S. Oh, H.Y. Jang, Y.J. Jung, J.W. Kang**, "Microfiltration of MS2 bacteriophage: effect of ozone on membrane biofouling", *J. Membr. Sci.*, 306 (2007) 244-252.
- [77] **B.F. Severin, M.T. Suidan, R.S. Engelbrecht**, "Effects of temperature on ultraviolet light disinfection", *Environ. Sci. Technol.*, 17, (1983) 717-721.
- [78] **J.C. Chang, S.E. Ossoff, D.C. Lobe, M.H. Dorfman, C. M. Dumais, R.G. Qualls, J. D. Johnson**, "UV inactivation of Pathogenic and Indicator microorganisms", *Appl. Environ. Microbiol.*, 49 (1985), 1361-1365.
- [79] **A.D. Venosa, A.C. Petrasek, D.Brown, H.L. Sparks, D.M. Allen**, "Disinfection of secondary effluent with ozone / U.V", *J. water pollut. control. fed.*, 2 (1984) 137-142.
- [80] **C.E. Bayliss, W.M. Waites**, "The combined effect of Hydrogen peroxide and ultraviolet irradiation on bacterial spores", *J. appl. Bacteriol.*, 47 (1979)263-269.
- [81] **L.J. Thénard**, "Observations sur des combinaisons nouvelles entre l'oxygène et divers acides", *Annales de Chimie et de Physique*, 8 306-313 1818.
- [82] **S.H. Zeronian, M.K. Inglesby**, "Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide", *Cellulose*, 2 (1995) 265-272.

- [83] **J. Sundholm, J.A. Kurdin, P.Y. Suomen**, "Mechanical pulping", Helsinki: Fapet Oy - published in cooperation with the Finnish Paper Engineers' Association and TAPPI, **1999**.
- [84] **E. Neyens, J. Baeyens**, "A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique", *J. Hazard. Mater.*, 98 (**2003**) 33-50.
- [85] **E. Linley, S.P. Denyer, G. McDonnell, C. Simons, J.Y. Maillard**, "Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action", *J. Antimicrob. Chemoth.*, 67 (**2012**) 1589-1596.
- [86] **S.S. Block**, "Peroxygen compounds" In: Block S S, editor. *Disinfection, sterilization, and preservation*. 4th ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger, 167–181 **1991**.
- [87] **A.D. Russell**, "Chemical sporicidal and sporostatic agents", In: Block S S, editor. *Disinfection, sterilization, and preservation*. 4th ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger, 365–376, **1991**.
- [88] **T. Huang, M. Sui, J. Li**, "Inactivation of E. coli by nano-Cu/MWCNTs combined with hydrogen peroxide", *Sci. Total Environ.*, 574 (**2017**) 818-828.
- [89] **M.D. Labas, C.S. Zalazar, R.J. Brandi, A.E. Cassano**, "Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen peroxide", *Biochem. Eng. J.*, 38 (**2008**) 78-87.
- [90] **S. Van Haute, I. Tryland, A. Veys, I. Sampers**, "Wash water disinfection of a full-scale leafy vegetables washing process with hydrogen peroxide and the use of a commercial metal ion mixture to improve disinfection efficiency", *Food Control*, 50 (**2015**) 173-183.
- [91] **W. Wang, L. Zhan, T. An, G. Li, H.Y. Yip, P.K. Wong**, "Comparative study of visible-light-driven photocatalytic mechanisms of dye decolorization and bacterial disinfection by B–Ni-codoped TiO₂ microspheres: the role of different reactive species", *Appl. Catal. B: Environ.*, 108–109 (**2011**) 108–116.
- [92] **Y. Penru, A. R. Guastalli, S. Esplugas, S. Baig**, "Application of 783 UV and UV/H₂O₂ to seawater: disinfection and natural organic matter removal", *J. Photochem. Photobiol. A*, 233 (**2012**) 40-45.
- [93] Union des métalliers, A. Garré – président de l'Union des Métalliers, *La protection de l'acier par le zinc*, Guide technique 18-22 juin (**2005**).
- [94] **P.Baud, H.Brusset, J.Joussot_Dubien, J.Lamure, P.Pascal**, "Nouveau traité de chimie minérale", Tome V, 31-193 **1962**.
- [95] **A.J. Skinner, J.P. LaFemina**, "Surface atomic and electronic structure of ZnO polymorphs", *Phys. Rev. B*, 45 3557(**1992**).
- [96] **S. Desgreniers**, "High-density phases of ZnO: Structural and compressive parameters Phys", *Rev. B*, 58 (**1998**) 14102.

- [97] **J.E. Jaffe, A.C. Hess**, "Hartree-Fock study of phase changes in ZnO at high pressure", *Phys. Rev. B*, 48 (1993) 7903.
- [98] **H. Wang, C. Xie, W. Zhang, S. Cai, Z. Yang, Y. Gui**, "Comparison of dye degradation efficiency using ZnO powders with various size scales", *J. Hazard. Mater.*, 141 (2007) 645–652.
- [99] **N. Padmavathy, R. Vijayaraghavan**, "Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study", *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 9 (2008) 0354004.
- [100] **S. Sakthivel, B. Neppolian, M.V. Shankar, B. Arabindoo, M. Palanichamy, V. Murugesan**, "Solar photocatalytic degradation of azo dye: comparison of photocatalytic efficiency of ZnO and TiO₂", *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 77 (2003) 65–82.
- [101] **S. Anandan, A. Vinu, T. Mori, N. Gokulakrishnan, P. Srinivasu, V. Murugesan, K. Ariga**, "Photocatalytic degradation of 2,4,6-trichlorophenol using lanthanum doped ZnO in aqueous suspension", *Catal. Commun.*, 8 (2007) 1377–1382.
- [102] **H. Fan, X. Zhao, J. Yang, X. Shan, L. Yang, Y. Zhang, X. Li, M. Gao**, "ZnO-graphene composite for photocatalytic degradation of methylene blue dye", *Catal. Commun.*, 29 (2012) 29–34.
- [103] **B. Pare, S.B. Jonnalagadda, H. Tomar, P. Singh, V.W. Bhagwat**, "ZnO assisted photocatalytic degradation of acridine orange in aqueous solution using visible irradiation", *Desalination*, 232 (2008) 80–90.
- [104] **R.Y. Hong, J.H. Li, L.L. Chen, D.Q. Liu, H.Z. Li, Y. Zheng, J. Ding**, "Synthesis, surface modification and photocatalytic property of ZnO nanoparticles", *Powder Technol.*, 199 (2009) 426–432.
- [105] **S.A. Khayyat, M.S. Akhtar, A. Umar**, "ZnO nanocapsules for photocatalytic degradation of thionine", *Mater. Lett.*, 81 (2012) 239–241.
- [106] **J. Liqiang, S. Xiaojun, S. Jing, C. Weimin, X. Zili, D. Yaoguo, F. Honggang**, "Review of surface photovoltage spectra of nano-sized semiconductor and its applications in heterogeneous photocatalysis", *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 79 (2003) 133–151.
- [107] **H.A. Jeng, J. Swanson**, "Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells", *J. Environ. Sci. Health A*, 41 (2006) 2699–2711.
- [108] **B.C. Heng, X. Zhao, S. Xiong, K.W. Ng, F.Y. Boey, J.S. Loo**, "Cytotoxicity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles is influenced by cell density and culture format", *Arch. Toxicol.*, 85 (2011) 695–704.
- [109] **Y.S. Fu, X.W. Du, S.A. Kulinich, J.S. Qiu, W.J. Qin, R. Li, J. Sun, J. Liu**, "Stable aqueous dispersion of ZnO quantum dots with strong blue emission via simple solution route", *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (2007) 16029–16033.

- [110] **T. Pellegrino, L. Manna, S. Kudera**, "Hydrophobic nanocrystals coated with an amphiphilic polymer shell: a general route to water soluble nanocrystals", *Nano Lett.*, 4 (2004) 703-707.
- [111] **Z.L. Wang, J. H. Song**, "Piezoelectric nanogenerators based on zinc oxide nanowire arrays", *Science*, 312 (2006) 242-246.
- [112] **C.H. Liu, J.A. Zapien, Y. Yao, X.M. Meng, C.S. Lee, S.S. Fan, Y. Lifshitz, S.T. Lee**, "High-Density, ordered ultraviolet light-emitting ZnO nanowire arrays", *Adv. Mater.*, 15 (2003) 838-841.
- [113] **Z.L. Wang, X.Y. Kong, Y. Ding, P.X. Gao, W.L. Hughes, R.S. Yang, Y. Zhang**, "Semiconducting and piezoelectric oxide nanostructures induced by polar surfaces", *Adv. Funct. Mater.*, 14 (2004) 943-956.
- [114] **C. Johnson, H.Q. Yan, P.D. Yang, R.J. Saykally**, "Optical cavity effects in ZnO nanowire lasers and waveguides", *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 8816-8820.
- [115] **D. Kim, H. Kim**, "Self-textured transparent conductive oxide film improves efficiency of solar cells", *Proc. of SPIE*, 7603 (2010) 76030G-1-76030G-8.
- [116] **W. Lee, M. C. Jeong, J.M. Myoung**, "Catalyst-free growth of ZnO nanowires by metal-organic chemical vapour deposition (MOCVD) and thermal evaporation", *Acta Mater.*, 52 (2004) 3949-3957.
- [117] **P.J. Borm, D. Robbins, S. Haubold, T. Kuhlbusch, H. Fissan, K. Donaldson, R. Schins, V. Stone, W. Kreyling, J. Lademann, J. Krutmann, D. Warheit, E. Oberdorster**, "The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC", *Part. Fibre Toxicol.*, 3 (2006) 11.
- [118] **C.F. Jones, D.W. Grainger**, "In vitro assessments of nanomaterial toxicity", *Adv. Drug. Deliv. Rev* 61 (2009) 438-456.
- [119] **B.J. Shaw, R.D. Handy**, "Physiological effects of nanoparticles on fish: a comparison of nanometals versus metal ions", *Environ.Int.*, 37 (2011) 1083-1097.
- [120] **C.P. Poole, F.J. Owens**, "Introduction to Nanotechnology", Editions Wiley-Interscience. 2003.
- [121] **S. Padovani, C. Sada, P. Mazzoldi, B. Brunetti, I. Borgia, A. Sgamellotti, A. Giulivi, F. D'Acapito, G. Battaglin**, "Copper in glazes of renaissance luster pottery: Nanoparticles, ions, and local environment", *J. Appl. Phys.*, 93 (2003) 10058-10063.
- [122] **T. Pradell, J. Molera, A.D. Smith, M.S. Tite**, "The invention of lustre: Iraq 9th and 10th centuries AD" *J. Archaeol. Sci.*, 35 (2008) 1201-1215.

- [123] **I.F. Osman, A. Baumgartner, E. Cemeli, J.N. Fletcher, D. Anderson**, "Genotoxicity and cytotoxicity of zinc oxide and titanium dioxide in HEp-2 cells", *Nanomedicine*, 5 (2010) 1193-1203.
- [124] **M.J. Osmond, M.J. McCall**, "Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard", *Nanotoxicology*, 4 (2010) 15-41.
- [125] **S. Hackenberg, A. Scherzed, A. Technau, M. Kessler, K. Froelich, C. Ginzkey, C. Koehler, M. Burghartz, R. Hagen, N. Kleinsasser**, "Cytotoxic, genotoxic and pro-inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells in vitro" *Toxicol. In Vitro*, 25 (2011) 657-663.
- [126] **W. Song, J. Zhang, J. Guo, F. Ding, L. Li, Z. Sun**, "Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles", *Toxicol. Lett.*, 199 (2010) 389-397.
- [127] **V. Sharma, D. Anderson, A. Dhawan**, "Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress and genotoxicity in human liver cells (HepG2)", *J. Biomed. Nanotechnol.*, 7 (2011) 98-99.
- [128] **S. Manzo, A. Rocco, R. Carotenuto, F.D.L. Picione, M.L. Miglietta, G. Rametta, G. Di Francia**, "Investigation of ZnO nanoparticles' ecotoxicological effects towards different soil organisms", *Enviro. Sci. Pollut. Res.*, 18 (2011) 756-763.
- [129] **Y. Ju-Nam, J.R. Lead**, "Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications", *Sci. Total Environ.*, 400 (2008) 396-414.
- [130] **J. Zhou, N. Xu, Z.L. Wang**, "Dissolving behavior and stability of ZnO wires in biofluids: a study on biodegradability and biocompatibility of ZnO nanostructures", *Adv. Mater.*, 18 (2006) 2432-2435.
- [131] **H. Masoumbaigi, A. Rezaee, H. Hosseini, S. Hashemi**, "Water disinfection by zinc oxide nanoparticle prepared with solution combustion method", *Desal. Wat. Treat.*, 56 (2015) 2376-2381.
- [132] **R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M.F. Benedetti, F. Fiévet**, "Toxicological impact studies based on Escherichia coli bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium", *Nano Lett.*, 6 (2006) 866-870.
- [133] **R. Brayner**, "The toxicological impact of nanoparticles", *Nano Today*, 3 (2008) 48-55.
- [134] **Y. Liu, L. He, A. Mustapha, H. Li, Z.Q. Hu, M. Lin**, "Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli 0157:H7", *J. Appl. Microbiol.*, 107 (2009) 1193-1201.

- [135] **L. Soto-Vázquez, M. Cotto, C. Morant, J. Duconge, F. Márquez**, "Facile synthesis of ZnO nanoparticles and its photocatalytic activity in the degradation of 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid", *J. Photochem. Photobiol., A*, 332 (2017) 331–336.
- [136] **C. Gomez-Solís, J.C. Ballesteros, L.M. Torres-Martínez, I. Juárez-Ramírez, L.A.D. Torres, M.E. Zarazua-Morin, S.W. Lee**, "Rapid synthesis of ZnO nano-corncoobs from Nital solution and its application in the photodegradation of methyl orange", *J. Photochem. Photobiol., A*, 298 (2014) 49–54.
- [137] **N. Talebian, S.M. Amininezhad, M. Douidi**, "Controllable synthesis of ZnO nanoparticles and their morphology-dependent antibacterial and optical properties", *J. Photochem. Photobiol., B*, 120 (2013) 66–73.
- [138] **C.W. Tang**, "Study of photocatalytic degradation of methyl orange on different morphologies of ZnO catalysts", *Mod. Res. Catal.*, 2 (2013) 19–24.
- [139] **M.L. Kahn, M. Monge, V. Collière, F. Senocq, A. Maisonnat, B. Chaudret**, "Size- and Shape-Control of crystalline zinc oxide nanoparticles : A new organometallic synthetic method", *Adv. Funct. Mater.*, 15 (2005) 458–468.
- [140] **L. Guo, Y.L. Ji, H. Xu, P. Simon, Z. Wu**, "Regularly shaped, single-crystalline ZnO nanorods with wurtzite structure", *J. AM. Chem. Soc.*, 124 (2002) 14864-14865.
- [141] **P. Sharma, A. Gupta, K.V. Rao, F.J. Owens, R. Sharma, R. Ahuja, J.M.O. Guillen, B. Johansson, G.A. Gehring**, "Ferromagnetism above room temperature in bulk and transparent thin films of Mn-doped ZnO", *Nat. Mater.*, 2 (2003) 673–677.
- [142] **M.L. Kahn, T. Cardinal, B. Bousquet, M. Monge, V. Jubera, B. Chaudret**, "Optical properties of zinc oxide nanoparticles and nanorods synthesized using an organometallic method", *ChemPhysChem*, 7 (2006) 2392–2397.
- [143] **N.S. Pesika, Z.Hu, K.J. Stebe, P.C. Searson**, "Quenching of growth of ZnO nanoparticles by adsorption of octanethiol", *J. Phys. Chem. B*, 106 (2002) 6985-6990.
- [144] **P.V. Radovanovic, N.S. Norberg, K.E. McNally, D.R. Gamelin**, "Colloidal transition-metal-doped ZnO quantum dots", *J. Am. Chem. Soc.*, 124 (2002) 15192-15193.
- [145] **E.W. Seelig, B. Tang, A. Yamilov, H. Cao, R.P.H. Chang**, "Self-assembled 3D photonic crystals from ZnO colloidal spheres", *Mater. Chem. Phys.*, 80 (2003) 257-263.
- [146] **D.W. Bahnemann, C. Kormann, M.R. Hoffmann**, "Preparation and characterization of quantum size zinc oxide: a detailed spectroscopic study", *J. Phys. Chem.*, 91 (1987) 3789-3798
- [147] **J.P. Jolivet, M. Henry, J. Livage**, "De la solution à l'oxyde", InterEditions/CNRS ed, Paris, 383 1994.
- [148] **R. Boistelle, J.P. Astier**, "Crystallization mechanisms in solution" *J. Crystal Growth*, 90 (1988) 14-30.

- [149] **R. Brayner, S.A. Dahoumane, C. Yéprémian, C. Djediat, M. Meyer, A. Couté, F. Fiévet**, "ZnO Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Ecotoxicological Studies", *Langmuir*, 26 (2010) 6522-6528.
- [150] **L. Poul, S. Ammar, N. Jouini, F. Fievet, F. Villain**, "Synthesis of Inorganic Compounds (Metal, Oxide and Hydroxide) in Polyol Medium: A Versatile Route Related to the Sol-Gel Process", *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 26 (2003) 261-265.
- [151] **R. He, T. Tsuzuki**, "Room temperature synthesis of ZnO quantum dots by polyol methods, in State-of-the-art of quantum dot system fabrications", A. Al-Ahmadi, Editor, InTech Publishing, 161 2012.
- [152] **B.D. Yao, Y.F. Chan, N. Wang**, "Formation of ZnO nanostructures by a simple way of thermal evaporation", *Appl. Phys. Lett.*, 81 (2002) 757-759.
- [153] **S.H. Bae, S.Y. Lee, B.J. Jin, S. Im**, "Pulsed laser deposition of ZnO thin films for applications of light emission", *Appl. Surf. Sci.*, 154 (2000) 458-461.
- [154] **X.Q. Zhao, F. Zheng, Y. Liang, Z.Q. Hu, Y.B. Xu**, "Preparation and characterization of single phase γ -Fe nanopowder from cw CO₂ laser induced pyrolysis of iron pentacarbonyl", *J. Mater. Lett.*, 21 (1994) 285-288.
- [155] **M.H. Huang, S. Mao, H. Feick, H. Yan, Y. Wu, H. Kind, E. Weber, R. Russo, P. Yang**, "Room-temperature ultraviolet nanowire nanolasers", *Science*, 292 (2001) 1897-1899 .
- [156] **P.H. Hess, P.H. Parker**, "Polymers for stabilization of colloidal cobalt particles", *J. Appl. Polym. Sci.*, 10 (1966) 1915-1927.
- [157] **V.R. Shinde, T.P. Gujar, C.D. Lokhande, R.S. Mane, S.H. Han**, "Mn doped and undoped ZnO films: A comparative structural, optical and electrical properties study", *Mater. Chem. Phys.*, 96 (2006) 326-330.
- [158] **A. Sanchez-Juarez, A. Tiburcio-Silver, A. Ortiz**, "Properties of fluorine-doped ZnO deposited onto glass by spray pyrolysis", *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 52 (1998) 301-311.
- [159] **K. Thongsuriwong, P. Amornpitoksuk, S. Suwanboon**, "Structure, morphology, photocatalytic and antibacterial activities of ZnO thin films prepared by sol-gel dip-coating method", *Adv. Powder Technol.*, 24 (2013) 275-280.
- [160] **G. Applerot, N. Perkas, G. Amirian, O. Girshevitz, A. Gedanken**, "Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties", *Appl. Surf. Sci.*, 256 (2009) S3-S8.
- [161] **N. Ekthammathat, S. Thongtem, T. Thongtem, A. Phuruangrat**, "Characterization and antibacterial activity of nanostructured ZnO thin films synthesized through a hydrothermal method", *Powder Technol.*, 254 (2014) 199-205.

- [162] **L. Znaidi**, "Sol-gel-deposited ZnO thin films: a review", *Mater. Sci. Eng., B*, 174 (2010) 18–30.
- [163] **M. Berber, V. Bulto, R. Kließ, H. Hahn**, "Transparent nanocrystalline ZnO films prepared by spin coating", *Scr. Mater.*, 53 (2005) 547–551.
- [164] **H. Çolak, E. Karaköse**, "Green synthesis and characterization of nanostructured ZnO thin films using Citrus aurantifolia (lemon) peel extract by spin-coating method", *J. Alloys Compd.*, 690 (2017) 658–662.
- [165] **Y. Natsume, H. Sakata**, "Zinc oxide films prepared by sol-gel spin-coating", *Thin Solid Films*, 372 (2000) 30–36.
- [166] **E. Heredia, C. Bojorge, J. Casanova, H. Cánepa, A. Craievich, G. Kellermann**, "Nanostructured ZnO thin films prepared by sol-gel spin-coating", *Appl. Surf. Sci.*, 317 (2014) 19–25.
- [167] **T. Sahoo, M. Kim, M.H. Lee, L.W. Jang, J.W. Jeon, J.S. Kwak, I.Y. Ko, I.H. Lee**, "Nanocrystalline ZnO thin films by spin coating-pyrolysis method", *J. Alloys Compd.*, 491 (2010) 308–313.
- [168] **R. Vinodkumar, I. Navas, K. Porsezian, V. Ganesan, N.V. Unnikrishnan, V.P. Mahadevan Pillai**, "Structural, spectroscopic and electrical studies of nanostructured porous ZnO thin films prepared by pulsed laser deposition", *Spectrochim. Acta, Part A*, 118 (2014) 724–732.
- [169] **A. Mortezaali, O. Taheri, Z.S. Hosseini**, "Thickness effect of nanostructured ZnO thin films prepared by spray method on structural, morphological and optical properties", *Microelectron. Eng.*, 151 (2016) 19–23.
- [170] **J. Livage, D. Ganguli**, "Sol-gel electrochromic coatings and devices: a review", *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 68 (2001) 365–381.
- [171] **J. Livage**, "Sol-gel processes", *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 2 (1997) 132–138.
- [172] **R. Ghomri**, "Étude des propriétés de l'oxyde de zinc non dopé et dopé", Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, (2017).
- [173] **S.J. Chen, Y.C. Liu, J.G. Ma, D.X. Zhao, Z.Z. Zhi, Y.M. Lu, J.Y. Zhang, D.Z. Shen, X.W. Fan**, "High-quality ZnO thin films prepared by two-step thermal oxidation of the metallic Zn", *J. Cryst. Growth*, 240 (2002) 467–472.
- [174] **S. Benramache, F. Chabane, B. Benhaoua, F.Z. Lemmadi**, "Influence of growth time on crystalline structure, conductivity and optical properties of ZnO thin films", *J. Semiconductors*, 34 (2013) 023001.

- [175] **J.H. Jou, M.Y. Han, D.J. Cheng**, "Substrate dependent internal stress in sputtered zinc oxide thin films", *J. Appl. Phys.*, 71(1992) 4333-4336.
- [176] **G. Carcano, M. Ceriani, F. Soglio**, "Spin Coating with High Viscosity Photoresist on Square Substrates-Applications in the Thin Film Hybrid Microwave Integrated Circuit Field" 10, (1993) 12-20.
- [177] **F. Ghribi, L. El Mir, K. Omri, K. Djessas**, "Sputtered ZnS thin film from nanoparticles synthesized by hydrothermal route", *Optik- Int. J. Light Electron Opt.*, 127 (2016) 3688-3692.
- [178] **I. Altin, I. Polat, E. Bacaksız, M. Sökmen**, "ZnO and ZnS microrods coated on glass and photocatalytic activity", *Appl. Surf. Sci.*, 258 (2012) 4861-4865.
- [179] **J.S. Jang, C.J. Yu, S.H. Choi, S.M. Ji, E.S. Kim, J.S. Lee**, "Topotactic synthesis of mesoporous ZnS and ZnO nanoplates and their photocatalytic activity", *J. Catal.*, 254 (2008) 144-155.
- [180] **D.C. Onwudiwe, T.P. Krüger, A. Jordaan, C.A. Strydom**, "Laser-assisted synthesis, and structural and thermal properties of ZnS nanoparticles stabilised in polyvinylpyrrolidone", *Appl. Surf. Sci.*, 321 (2014) 197-204.
- [181] **M.E. Åkerman, W.C.W. Chan, P. Laakkonen, S.N. Bhatia, E. Ruoslahti**, "Nanocrystal targeting in vivo", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99 (2002) 12617-12621.
- [182] **B. Dubertret, P. Skourides, D.J. Norris, V. Noireaux, A.H. Brivanlou, A. Libchaber**, "In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles", *Science*, 298 (2002) 1759-1762.
- [183] **D.C. Onwudiwe, C.A. Strydom**, "The bipyridine adducts of N-phenyldithiocarbamate complexes of Zn (II) and Cd (II); synthesis, spectral, thermal decomposition studies and use as precursors for ZnS and CdS nanoparticles", *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 135 (2015) 1080-1089.
- [184] **J. Ke, X. Li, Y. Shi, Q. Zhao, X. Jiang**, "A facile and highly sensitive probe for Hg (II) based on metal-induced aggregation of ZnSe/ZnS quantum dots", *Nanoscale*, 4 (2012) 4996-5001.
- [185] **T. Mahvelati-Shamsabadi, E.K. Goharshadi**, "Photostability and visible-light-driven photoactivity enhancement of hierarchical ZnS nanoparticles: The role of embedment of stable defect sites on the catalyst surface with the assistant of ultrasonic waves", *Ultrason. Sonochem.*, 34 (2017) 78-89.
- [186] **Z. Li, J. Ma, Y. Zong, Y. Men**, "ZnS nanoparticles for high-sensitive fluorescent detection of pyridine compounds", *J. Alloys Compd.*, 559 (2013) 39-44.
- [187] **J.Y. Liao, K.C. Ho**, "A photovoltaic cell incorporating a dye-sensitized ZnS/ZnO composite thin film and a hole-injecting PEDOT layer", *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 86 (2005) 229-241.

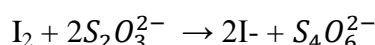
Chapitre II
Techniques et méthodes
expérimentales

II.1 Traitement biocide par le peroxyde d'hydrogène

II.1.1 Dosage du peroxyde d'hydrogène

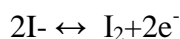
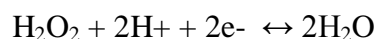
Le peroxyde d'hydrogène utilisé est une solution commerciale à 10V. Nous avons déterminé sa concentration en utilisant le dosage iodométrique.

L'iodométrie est un dosage faisant intervenir la réaction du diiode avec l'ion thiosulfate :



Cette méthode est basée sur le pouvoir oxydant du couple $I_2/2I^-$.

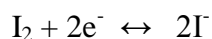
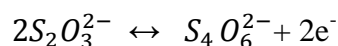
Le principe du dosage d'une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par iodométrie est comme suit : en milieu acide, en présence d'anions iodure, l'eau oxygénée se comporte comme un oxydant, susceptible d'oxyder l'anion iodure I^- , et de donner de l'eau H_2O .



La réaction globale est :



Le diiode formé lors de cette réaction est ensuite réduit à nouveau à l'état d'anion I^- par le thiosulfate $S_2O_3^{2-}$



La connaissance de la quantité de thiosulfate versé permet de connaître la quantité de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) présent dans la prise d'essai.

La concentration de la solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) obtenue par iodométrie est de $99.76 \cdot 10^{-2} \text{ mol/L}$. Les concentrations utilisées sont : 0.847 ; 1.270 ; 1.690 ; 2.540 ; 500 ; 1000 ; 1500 ; 2500 et 3500ppm.

II.1.2 Préparation des souches bactériennes

II.1.2.1 Souches utilisées

Les souches bactériennes utilisées sont :

- La bactérie *Escherichia coli* (*E.coli*) provenant du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ibn Zohr Guelma. Cette dernière a été utilisée dans la partie du traitement biocide par le peroxyde d'hydrogène.
- La bactérie *E.coli* ATCC 43897 obtenue du laboratoire de bactériologie de l'université de Bingol-Turquie . Elle a été utilisée dans l'étude de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO.
- La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) provenant du Laboratoire de microbiologie de l'hôpital Bouzid Ammar El-Kala -Wilaya d'El TARF.
- La bactérie *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) provenant du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Bouzid Ammar El-Kala-Wilaya d'El TARF.

II.1.2.2 Préparation des milieux de culture

Le milieu de culture de la souche bactérienne *E.Coli* est dénommé PCA (plate Count Agar) (Composition voir Annexe).

Pour préparer le milieu de culture PCA, nous avons fait dissoudre 23.5 g de la poudre PCA dans 800mL d'eau distillée stérilisée, puis nous l'avons chauffé sous agitation fréquente de manière à dissoudre complètement la poudre, après nous l'avons laissé bouillir pendant une minute. Nous avons mis le mélange obtenu dans une fiole de 1L en rajoutant de l'eau distillée stérilisée chaude. Ensuite, nous avons placé la fiole contenant le mélange dans un autoclave à 121°C pendant 15 mn.

Le milieu de culture de la souche bactérienne *P.aeruginosa* est dénommé MHB (Muller Hinton Broth). Il est commercialisé par l'institut Pasteur (Alger) (Composition voir Annexe). Il doit être stérilisé, avant son utilisation, dans un autoclave à 121°C pendant 15mn.

Le milieu de culture, de la souche bactérienne *S. aureus*, est dénommé la gélose Chapman (Composition voir Annexe).Il provient de l'institut Pasteur (Alger). Il doit être stérilisé, avant son utilisation, dans un autoclave à 121°C pendant 15mn.

II.1.2.3 Activation de la souche bactérienne

Dans un tube à hémolyse, contenant de l'eau physiologique, nous avons mis quelques colonies de la souche bactérienne, puis nous l'avonsensemencé dans des boîtes de pétri, préalablement coulées du milieu de culture spécifique. Enfin nous avons placé ces boîtes dans une étuve de marque Memmert à 37°C pendant 48h d'incubation.

L'état d'activation de la bactérie est confirmé par l'apparition de colonies à la surface de la gélose (**Figure.II.2.1**).



Figure II.1.1. Dénombrement des bactéries.

II.1.2.4 Préparation de la solution bactérienne à 0,5 de D.O.

Pour préparer la solution bactérienne de *E.coli*, cette dernière estensemencée dans le milieu liquide MHB, ensuite incubée à 37°C sous agitation continue pendant 18 h .Pour obtenir un culot, nous avons utilisé une centrifugeuse de marque NF 200 BENCH-TOP Centrifuge, pendant 10 minutes à une vitesse de 4500 rpm. Nous avons rajouté au culot obtenu de l'eau physiologique pour obtenir une solution cellulaire. Cette dernière est diluée avec de l'eau distillée stérilisée jusqu'à une densité optique (D.O.) de 0.5 correspondant à $4 \times 10^8 UFC$ (unité formant colonie) (solution mère).

II.1.2.5 Spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui permet de déterminer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution. Elle est

basée sur la mesure de la différence entre lumière incidente et lumière transmise par la solution.

En effet, après le passage d'une lumière d'intensité I_0 à travers cette solution, une partie de celle-ci, est absorbée par le soluté, ce qui conduit par conséquent à la transmission de la lumière avec une intensité inférieure à I_0 . Plus l'intensité transmise est faible plus l'absorbance est grande. Cette dernière est une valeur positive, sans unité.

Dans notre travail, l'évolution de la densité cellulaire des bactéries est estimée à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Jenway 6405UV/VIS, à une longueur d'onde de 546 nm. La solution cellulaire est diluée avec de l'eau distillée de façon à obtenir une densité optique de 0.5 d'absorbance. Nous avons utilisé comme référence l'eau distillée.

II.1.3 Effet biocide de H_2O_2 sur les différentes bactéries

Pour étudier l'effet biocide de H_2O_2 sur les différentes bactéries, nous avons introduit 25 μ L de H_2O_2 de concentration choisie dans un tube à urine contenant la solution bactérienne à 0.5 de DO diluée à 10^{-1} ou 10^{-2} (**Figure II.2.2**).

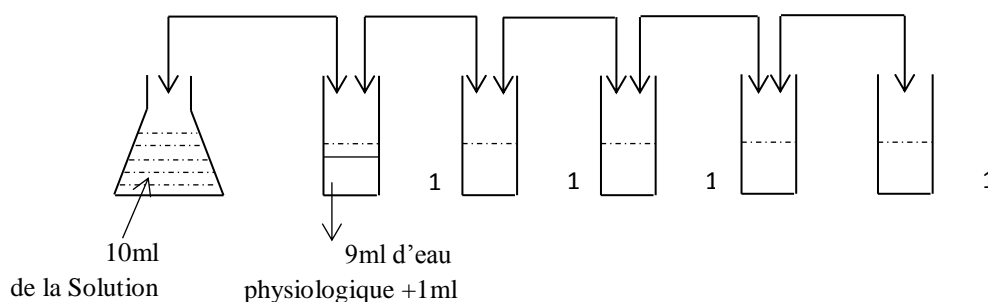


Figure II.1.2. Préparation des dilutions.

Nous avons agité la solution obtenue, puis nous l'avons laissé reposer en fonction de différents temps de contact (courts et longs), ensuite nous avons procédé à l'ensemencement dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture adéquat et enfin nous avons placé ses boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24 ou 48heures d'incubation. Pour mettre en évidence l'effet biocide de H_2O_2 sur l'inactivation des bactéries, nous avons utilisé comme témoin, la solution bactérienne sans peroxyde d'hydrogène.

II.1.4 Dénombrement des bactéries par comptage des Unités Formant Colonie (UFC)

La méthode de référence pour le comptage des bactéries est le dénombrement des UFC. Pour ce faire, un échantillon de volume connu est déposé sur un milieu gélosé et après incubation (48h, 37°C), le nombre de colonies est compté. Celui-ci correspond au nombre de bactéries cultivables présentes dans l'échantillon (**Figure II.2.1**).

Dans ce type de méthode, les bactéries maintenues dispersées dans un milieu solide (ou à sa surface), donnent naissance, dans des conditions favorables, à des colonies isolées les unes des autres qui, de ce fait, peuvent être directement comptées.

Connaissant le volume d'échantillonensemencé, il est possible d'exprimer le résultat final du dénombrement en fonction d'un volume d'eau pris comme unité: X colonies pour 1 mL, ou Y colonies pour 100 mL.

On admet comme hypothèse de travail que chaque colonie correspond à une bactérie, ce qui est d'ailleurs en pratique loin d'être toujours exact; plusieurs bactéries s'adsorbent, par exemple sur une même particule et ne donnent naissance qu'à une seule colonie.

Le nombre final de colonies obtenus est multiplié par l'inverse de la dilution utilisée.

II.2 Traitement biocide par les films nanostructurés de ZnO

II.2.1 Synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS

Pour synthétiser les nanoparticules de ZnO, nous avons appliqué l'hydrolyse forcée de l'acétate de zinc dihydraté dans le diéthylène glycol (DEG) de marque Aldrich [1]. Pour cela, nous avons mis 80 mL du DEG dans un ballon tricol et nous avons ajouté 1.6g l'acétate et 1 mL d'eau. Le rapport d'hydrolyse est : $H = \frac{n_{H_2O}}{n_{Zn^{2+}}} = 7.62$ (1)

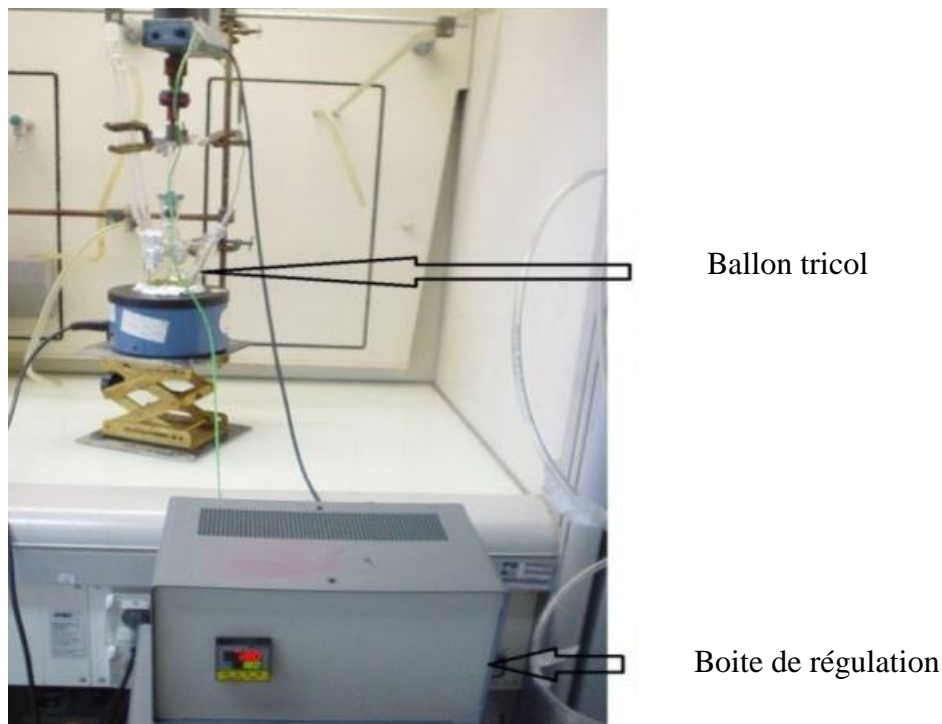


Figure II.2.1. Dispositif expérimental de la synthèse des NPs de ZnO et ZnS

Pour la synthèse du ZnS, nous avons ajouté à ce mélange 0.5 M de la thiourea $SC(NH_2)_2$ de marque Alfa Aesar. Afin de disperser les nanoparticules de ZnO et ZnS, nous avons rajouté 0.3 mL du trioctylphosphine (TOP) (Sigma-Aldrich) au milieu réactionnel. Ce dernier est ensuite mis sous agitation à 180°C pendant une heure. Le contrôle de la température est assuré à l'aide d'un thermocouple plongé dans le milieu réactionnel et relié à une boîte de régulation en puissance de chauffage sur laquelle est branché le chauffe-ballon. Nous avons utilisé une colonne à reflux verticale qui permet la recondensation des produits gazeux dégagés lors de la synthèse (**Figure II.3.1**).

A la fin de la réaction, nous avons obtenu une solution blanche dans le cas des NPs de ZnO, et une solution marron dans le cas des NPs de ZnS. Après refroidissement de la solution, nous avons éliminé le polyol par centrifugation (centrifugeuse de marque AventiJ-26XP/ beckman coulter) à une vitesse de 22000tr/min, pendant 10mn, sous une température de 15°C . Le culot obtenu a été lavé trois fois avec de l'éthanol pour éliminer toutes traces de polyol. Ce lavage a été réalisé à l'aide de la centrifugeuse aux mêmes conditions. Avant chaque lavage, il est nécessaire de mélanger les poudres obtenues avec de l'éthanol à l'aide d'un vortex et de les disperser aux ultrasons. A la fin, le séchage de ces poudres a été réalisé dans une étuve à 60°C pendant une nuit.

II.2.2 Préparation des films nanostructurés de ZnO

Dans notre travail, les dépôts par spin-coating sont réalisés sur des substrats en verre. La méthode spin-coating consiste à l'étalement d'une quantité de solution liquide versée au centre du substrat par force centrifuge. Cette dernière met le substrat en rotation, ce qui conduit à l'étalement radial du liquide vers l'extérieur et au recouvrement de toute la surface du substrat. Enfin l'excès de liquide est poussé du substrat par la force centrifuge.

Le processus de spin coating est constitué de quatre étapes (**Figure II.3.2**) :

1. Dépôt de solution sur le substrat.
2. Spin-on: accélération et étalement de la solution.
3. Spin-off: homogénéisation en jouant sur l'épaisseur.
4. Evaporation du solvant et l'obtention du film.

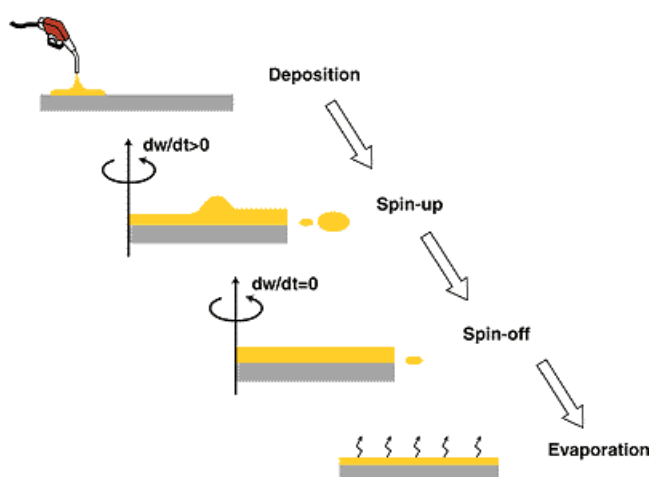


Figure II.2.2. Etapes du processus de dépôt par spin-coating.

Dans notre travail, nous avons utilisé un spin-coater (**Figure II.3.3**) de marque (DOLOS)ESC (cTagLaSDIN 1949) muni d'un capot amovible. Ce dernier, lors de l'étalement de la solution, permet l'isolement du film liquide déposé, de l'atmosphère ambiante. Pour préparer le film de ZnO, nous avons réalisé plusieurs essais en essayant de jouer sur les différents paramètres tels que la quantité des NPs de ZnO, le choix du solvant, le volume du solvant déposé, la vitesse de rotation, le temps du dépôt et l'accélération. Avant chaque essai, la lame de verre a subi un pré-lavage, qui consiste en un rinçage à l'acide nitrique concentré

pendant 30mn, puis à l'eau distillée et enfin à l'acétone pendant 30mn suivi d'un séchage à l'air sous vide.

Pour la préparation du meilleur film nanostructuré de ZnO, nous avons mis 200 mg de la poudre séchée des nanoparticules de ZnO et 25ml d'éthanol-2- méthoxy dans un bécher placé dans un bain à ultrason. La solution obtenue est ensuite déposée sur une lame en verre. Un volume de 300 μ L de la solution a été déposé goutte à goutte à l'aide d'une micropipette sur le substrat en verre et puis dispersé en utilisant un spinner, à une vitesse de rotation de 2500 rpm pendant 40 s.



Figure II.2.3. Spin-coater

II.2.3 Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est une technique qui permet de déterminer la phase cristalline d'une poudre. Dans un cristal, les atomes forment un réseau périodique tridimensionnel. Lorsque tous les nœuds du réseau diffusent un rayonnement en phase dans une direction donnée, il y aura diffraction d'une onde dans cette direction. Les centres de diffusion sont organisés au sein de la matière, ce qui conduit à l'interférence des ondes diffusées, et par conséquent, la diffraction des rayons X, si la relation (2) de Bragg [2] est vérifiée.

$$2d_{hkl} \sin \theta = n \lambda \quad (2)$$

Avec n : ordre de diffraction,

λ : longueur d'onde d'émission des rayons X,

d_{hkl} : distance entre deux plans d'une même famille de plans d'indices de Miller (hkl),

θ : angle de diffraction.

La mesure de l'intensité diffractée est réalisée en fonction de l'angle 2θ , pour obtenir un diffractogramme formé des pics correspondant aux réflexions (hkl). Chaque pic de position en angle 2θ , correspond à une distance d et l'aire mesurée d'un pic est proportionnelle à l'intensité diffractée (I). Une liste de données (I , d) caractéristiques d'une espèce cristalline est obtenue. Le fichier JCPDS (Joint Comitee for powder Diffraction Standard), qui contient ces données pour toutes les espèces cristallines connues, est utilisé pour l'identification de l'échantillon.

Dans notre travail, l'échantillon est placé au centre d'un goniomètre en géométrie Bragg-Brentano. Un diffractomètre de marque Panalytical, modèle Empyrean à rayon $C\alpha$ avec une longueur d'onde $\lambda = 1.78 \text{ \AA}$ équipé d'un détecteur multicanal (Pixcel) qui enregistre les diagrammes de diffraction.

Les acquisitions sont réalisées en mode θ - θ dans un intervalle angulaire en 2θ de 10.02° à 119.92° , avec un pas de 0.0500° et un temps de comptage de 99.46 s par pas. La poudre des NPs est déposée sur un monocristal de Si, en veillant que la surface soit plane et bien tangente au cercle de focalisation. L'échantillon est placé ensuite dans un support rotatif (1 tour/s).

Les diffractogrammes ont été traités par le logiciel Highscore pour déterminer la position exacte des raies de diffraction et estimer la taille des cristallites à partir de la largeur à mi-hauteur de ces raies en utilisant la formule de Scherrer [3,4].

$$D = \frac{K\lambda}{\beta_{hkl}\cos\theta} \quad (3)$$

Tels que :

$K=0.9$

λ : la longueur d'onde des rayons X, soit $\lambda=1.78 \text{ \AA}$;

θ : représente le maximum de diffraction du pic de Bragg, en degré ;

β_{hkl} : la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) du pic DRX, en radian.

II.2.4 Microscopie électronique à transmission (MET)

La microscopie électronique à transmission (MET) est une technique, qui nous permet d'avoir des informations, sur la structure cristalline des particules nanométriques ou des composés massiques à basse résolution. Elle consiste à l'envoi d'un faisceau d'électrons de forte énergie (10 à 100 keV) sur un mince échantillon pour réduire la perte énergétique des électrons présents dans l'échantillon, lors de sa traversée. Lorsque les électrons incidents traversent un matériau, il y aura des interactions, entre ces électrons et les atomes constituant le matériau, ce qui conduit par conséquent à la formation d'images ou clichés de diffraction. Les images contiennent des informations sur la taille et la forme des grains. Les clichés de diffraction donnent des indications, sur la structure cristallographique du matériau à l'échelle locale. Il est nécessaire, qu'un vide de l'ordre de 10^{-6} Torr, soit poussé au sein du microscope, pour que les trajectoires rectilignes des électrons soient réalisables avant qu'ils rentrent dans la cible.

Dans notre travail nous avons réalisé des clichés de microscopie électronique en transmission conventionnelle sur un microscope JEOL-100 soumis à une tension de 100 keV et équipé d'un filament en tungstène. Pour l'observation des échantillons, une très petite quantité de NPs est dispersée par des ultra-sons dans l'éthanol.

La distribution en taille des particules a été obtenue à partir des images MET enregistrées à l'aide d'un appareil photo numérique et du logiciel SAISAM (Microvision Instruments), en calculant le diamètre moyen de la surface par une analyse statistique effectuée en comptant quelques centaines de particules considérées comme sphériques.

II.2.5 Microscopie électronique à balayage (MEB)

Le principe du MEB se base sur des interactions électrons-matière. Un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon qui, en réponse réémet certaines particules. Ces dernières sont des électrons secondaires ou rétrodiffusés. Les électrons secondaires prennent naissance lors du passage d'un électron incident à côté d'un atome. Etant donné que leurs

énergies sont faibles, un détecteur recueille seulement les électrons secondaires émis proches de la surface.

Les électrons rétrodiffusés résultent de la collision entre un électron incident et un atome de l'échantillon. Ils proviennent d'une plus grande profondeur que les électrons secondaires, à cause de leur forte énergie. Lorsque le numéro atomique des atomes constitutifs de la cible croît, la quantité d'électrons rétrodiffusés augmente.

Différents détecteurs permettent d'analyser ces électrons secondaires et rétrodiffusés et de reconstruire une image de la surface. Les images MEB obtenues nous permettent de retirer des informations telles que la morphologie de surface (rugosité, porosité) et la composition.

Dans notre travail, nous avons utilisé un microscope électronique à balayage de marque Zeiss supra 40 avec un canon d'électrons, à effet de champ, opérant à 2.5 kV, dans le but d'obtenir des micrographies des films nanostructurés de ZnO.

II.2.6 Appareil de mesure de l'angle de contact (DIGIDROP)

L'étude de l'angle de contact permet de rendre compte du comportement des liquides sur des substrats solides. Lorsqu'on dépose une goutte sur une surface plane d'un corps solide et homogène, elle forme un angle à l'interface liquide/solide, appelé angle de contact.

Dans notre travail, nous avons mesuré l'angle de contact en utilisant l'appareil DIGIDROP de GBX. Ce dernier est composé d'un plateau horizontal capable de se déplacer automatiquement selon 3 axes, d'une caméra, assistée par microordinateur, capable de capturer des images, d'une source de lumière, d'une seringue en verre équipée d'aiguilles pilotée par PC et d'un logiciel d'analyse d'images (Windrop). L'ensemble de l'appareil est piloté par une interface graphique. Cette dernière permet le contrôle du dépôt de la goutte automatiquement à l'aide d'un pousse-seringue.

II.2.7 Etude de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO

Afin d'étudier l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO sur *E.coli*, une lame de verre de 2.5cm^2 , revêtue de nanoparticules de ZnO, est placée dans un bécher contenant 150 ml d'une solution de Phosphate Buffer Saline (PBS) et 300 μL de la solution mère diluée à 10^{-1} . La solution obtenue a été incubée à 37°C pendant 2h, sous agitation, en prélevant chaque 30 mn, 25 μL que nous avonsensemencé dans des boîtes de pétri, contenant de la gélose nutritive PCA (Place Count Agar), ces dernières ont été ensuite placées dans un

incubateur à 37°C pendant 48 h et enfin nous avons procédé au dénombrement bactériologique.

Afin de mettre en évidence l'efficacité biocide des films nanostructurés de ZnO, nous avons procédé à la comparaison du nombre de colonies obtenues avec celui d'une expérience réalisée à l'aide de la même solution bactérienne en présence d'une lame de verre sans film nanostructuré.

II.2.8 Méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

La spectroscopie d'impédance électrochimique repose sur la mesure d'une fonction de transfert (Z) suite à la perturbation du système. La représentation se fait dans un domaine fréquentiel (figures II.3.4 et II.3.5).

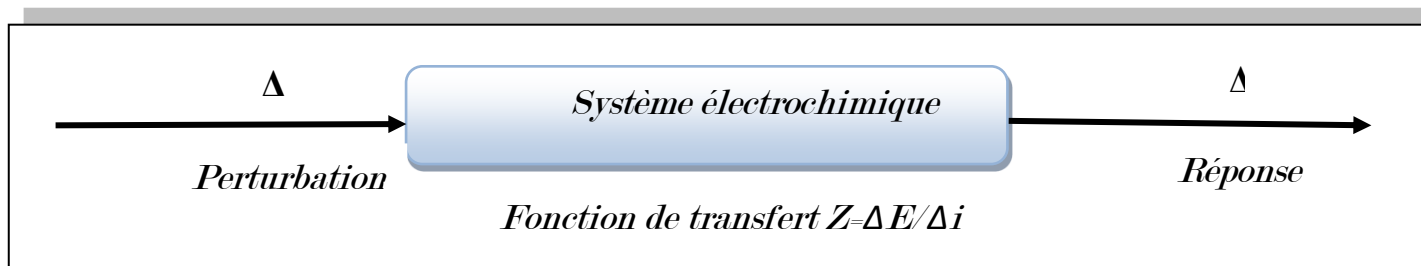


Figure II.2.4. Principe général de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

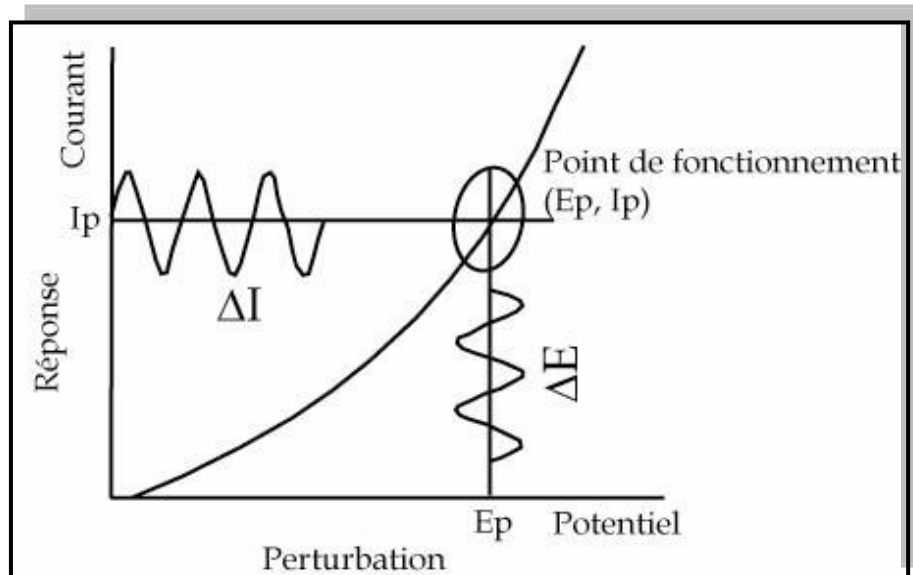


Figure II.2.5 . Schéma de fonctionnement de la SIE représentant la perturbation sinusoïdale en potentiel et sa réponse en courant.

L'impédance $Z(\omega)$ est définie comme étant le rapport entre le signal de perturbation et la réponse associée [5] :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta E(\omega)}{\Delta I(\omega)} = \frac{|\Delta E| \cdot e^{j \cdot \omega \cdot t}}{|\Delta I| \cdot e^{j \cdot \omega \cdot t \cdot \varphi}} = |Z| \cdot e^{j \cdot \varphi} \quad (4)$$

L'impédance $Z(\omega)$ est un nombre complexe caractérisé par son module $|Z|$ et sa phase φ

La représentation des diagrammes d'impédance se fait par deux modes Nyquist et Bode.

- ✓ Mode Nyquist : il s'agit de la représentation graphique de la partie imaginaire ($-Z\text{Im}(\omega)$) en fonction de la partie réelle ($Z\text{Re}(\omega)$) pour les différentes fréquences. Il permet de visualiser les différentes boucles et droites.
- ✓ Mode Bode : il s'agit de deux graphiques, le logarithme décimal du module de la fonction de transfert $\ln [Z(2\pi f)]$ et l'angle de phase (φ) en fonction du logarithme décimal de la fréquence $\ln(f)$.

Il est préférable d'aller à la représentation de Bode, lorsque la représentation de Nyquist masque des informations observées à haute fréquence. À l'inverse certains phénomènes caractéristiques qui se déroulent à l'interface électrode de travail/électrolyte seront facilement identifiés par la représentation de Nyquist.

L'interprétation des diagrammes permet de déterminer les différents processus, à savoir : le transfert de charge, la diffusion et l'adsorption, qui ont lieu à l'interface (électrode/électrolyte). Il est nécessaire de modéliser l'impédance du système électrochimique par des circuits électriques équivalents (CEE).

II.2.8.1 Montage et conditions expérimentales

Le dispositif expérimental, que nous avons utilisé pour étudier la réponse en courant du film nanostructuré de ZnO, est constitué d'un potentiostat/ Galvanostat/ ZRA de type Gamry Interface 1000 avec un logiciel Gamry-Framework. Ce dispositif est associé à un microordinateur et relié à une cellule électrochimique à trois électrodes (**Figure II.3.6**):

- Electrode de travail : film nanostructuré de ZnO sur substrat de verre de 2.5cm^2 .

Chapitre II. Techniques et méthodes expérimentales

- Electrode de référence au calomel saturé.
- Electrode auxiliaire en platine à fil.

Nous avons lavé l'électrode de référence et auxiliaire, à l'eau distillée stérilisée puis à l'acétone et les avons immergées pendant 1 mn dans la solution piranha, et enfin nous les avons rincées à l'eau distillée stérilisée.

Notre électrolyte est la solution bactérienne constituée de 150 mL de PBS et 300 μL de la solution mère diluée à 10^{-1} , et incubée à 37°C pendant 30 mn, dans laquelle est plongée l'électrode de travail. Dans notre étude, les diagrammes d'impédance électrochimiques ont été relevés au potentiel de corrosion, après 2 heures d'immersion. Les mesures ont été effectuées dans la gamme de fréquences (de 100 kHz à 10 mHz) avec cinq points par décade.

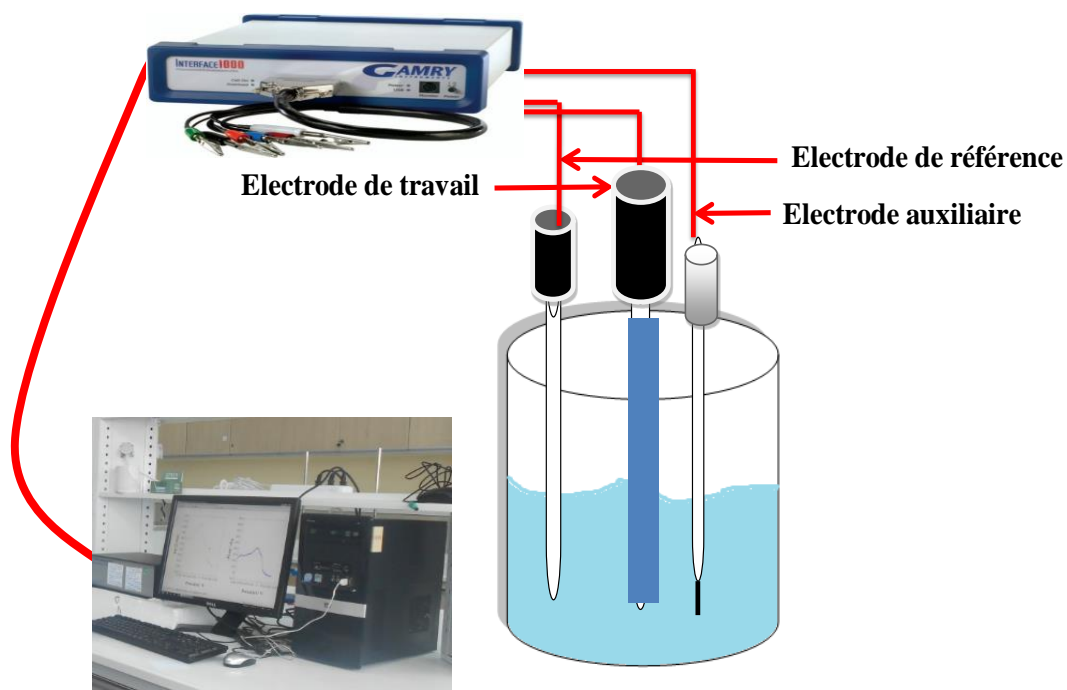


Figure II.2.6. Schéma du montage électrochimique

Références bibliographiques

- [1] **R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M.F. Benedetti, F. Fiévet**, "Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium", *Nano Lett.*, 6 (2006) 866–870.
- [2] **C.Kittel**, "Introduction à la physique de l'état solide", ed., Dinond, 1972.
- [3] **R. Yogamalar, R. Srinivasan, A. Vinu, K. Ariga, A. C. Bose**, "X-ray peak broadening analysis in ZnO nanoparticles", *Solid State Commun.*, 149 (2009) 1919-1923.
- [4] **V. Biju, N. Sugathan, V. Vrinda, S. L. Salini**, "Estimation of lattice strain in nanocrystalline silver from X-ray diffraction line broadening", *J.Mater.Sci.*, 43 (2008) 1175-1179.
- [5] **C. Gabrielli**, "Les 1001 utilisations des fonctions de transfert en électrochimie", *Surf. Sci. Spectra.*, 159 (1991) 24–34

Chapitre III
Résultats et discussion

PARTIE 1
TRAITEMENTS BIOCIDES PAR LE
PEROXYDE D'HYDROGENE
(H₂O₂)

III.1.1 Effet biocide de H₂O₂ sur la bactérie *E. coli*

La cinétique de l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) a été étudiée en procédant au dénombrement bactérien à différents temps de contact sur plusieurs échantillons. A l'issue de chaque expérience, l'effet biocide est bloqué par addition de thiosulfate de sodium en excès par rapport à la concentration équivalente de H₂O₂.

III.1.1.1 Effet biocide de H₂O₂ aux faibles concentrations sur les *E.coli* durant 900s

Pour étudier l'effet biocide de H₂O₂ aux concentrations (0.847 ; 1.270 ; 1.690 et 2.540ppm) sur les *E.coli*, nous avons introduit 25μL de H₂O₂ à la concentration choisie dans la solution bactérienne à 0.5 de D.O. diluée à 10⁻¹, puis nous avonsensemencé 25μL de cette solution, dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture PCA, spécifique aux *E. coli*. Le dénombrement des *E. coli* exprimé en UFC/mL, a été effectué après 48h d'incubation.

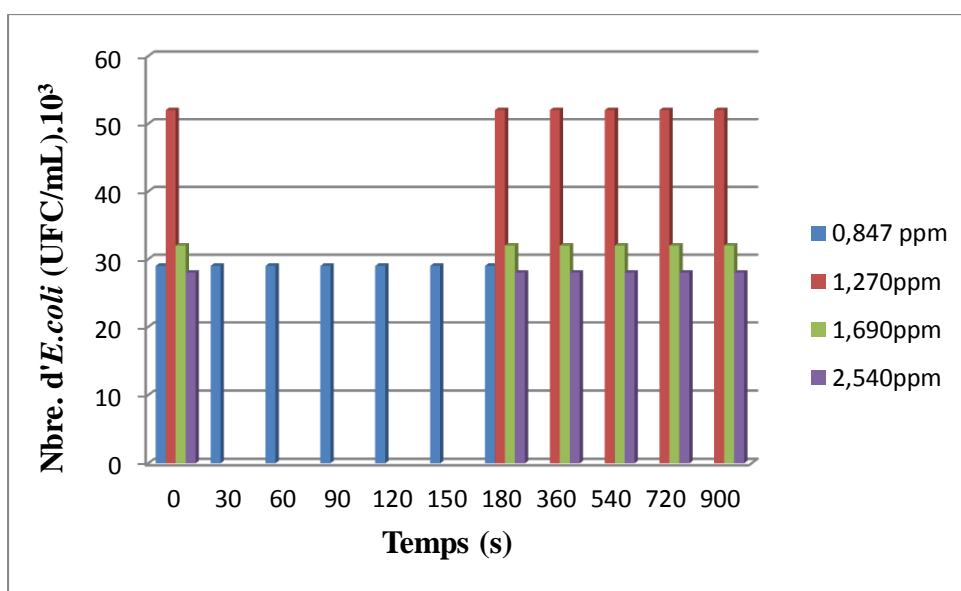


Figure III.1.1. Effet biocide de H₂O₂ aux faibles concentrations sur les *E.coli* durant 900s.

La figure III.1.1 montre que le nombre de *E.coli* reste constant aux différents temps de contact jusqu'à 900s, en utilisant différentes concentrations. Ceci indique que H₂O₂ n'a pas un effet biocide sur les *E.coli* à ces concentrations.

III.1.1.2 Effet biocide de H₂O₂ à 500ppm sur les *E.coli* en fonction de différents temps de contact

III.1.1.2.1 Influence du temps de contact de 2h et 3 h

Dans le but d'étudier l'effet biocide de H₂O₂ à 500ppm, à différent temps de contact, nous avons procédé de la même manière que précédemment. Les résultats obtenus pour les temps de contact de 2h et 3h sont présentés dans les figures III.1.2 et III.1.3 respectivement. Nous remarquons une diminution du nombre de *E.coli*, où nous avons obtenu une efficacité d'inactivation de 43% pendant 90mn. Cette dernière n'a pas augmenté de manière remarquable pendant 3h (≈49%). Ces résultats peuvent être expliqués par la formation des espèces chimiques fortement oxydantes (c'est-à-dire des radicaux [•]OH) à l'intérieur du cytoplasme lors de l'inactivation des cellules bactériennes par le peroxyde d'hydrogène [1-3]. Pour améliorer les efficacités d'inactivation obtenues, au bout de 2h et 3h de temps de contact, nous avons décidé de prolonger les temps de contact jusqu'à 7h.

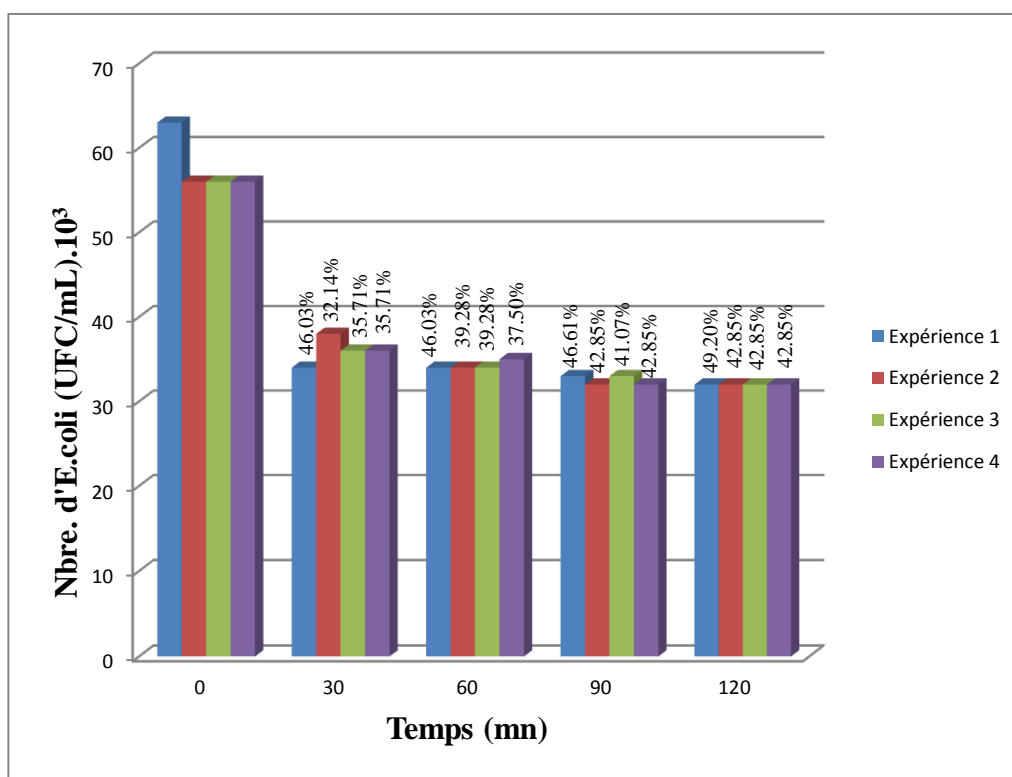


Figure III.1.2. Effet biocide de H₂O₂ à 500 ppm sur les *E.coli* durant 2h.

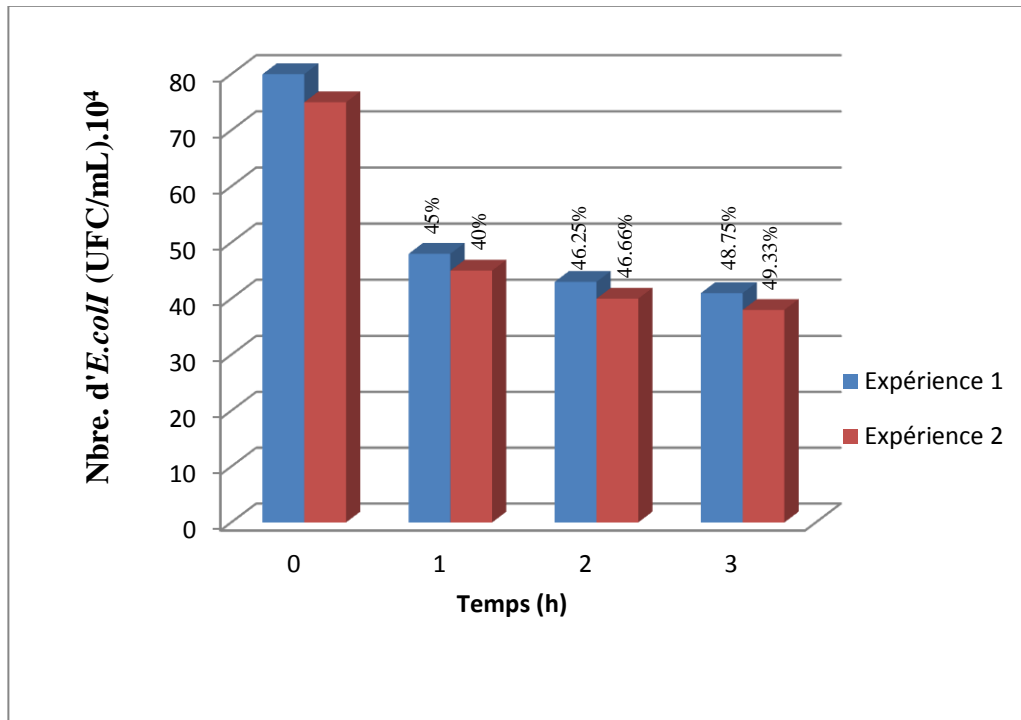


Figure III.1.3. Effet biocide de H₂O₂ à 500ppm sur les *E. coli* durant 3h.

III.1.1.2.2 Influence du temps de contact de 6h

D'après la **figure III.4** représentant le nombre de bactéries *E.coli* en fonction du temps de contact jusqu'à 6h, sous l'action biocide de H₂O₂ à 500ppm, nous remarquons une diminution du nombre de *E.coli*, et cela pour toutes les expériences réalisées. Les efficacités d'inactivation obtenues pour chaque temps de contact sont présentées dans la **figure III.1.5**. Sur laquelle nous observons une augmentation exponentielle de l'efficacité d'inactivation pendant la première heure, qui se poursuit lentement jusqu'à 6heures.

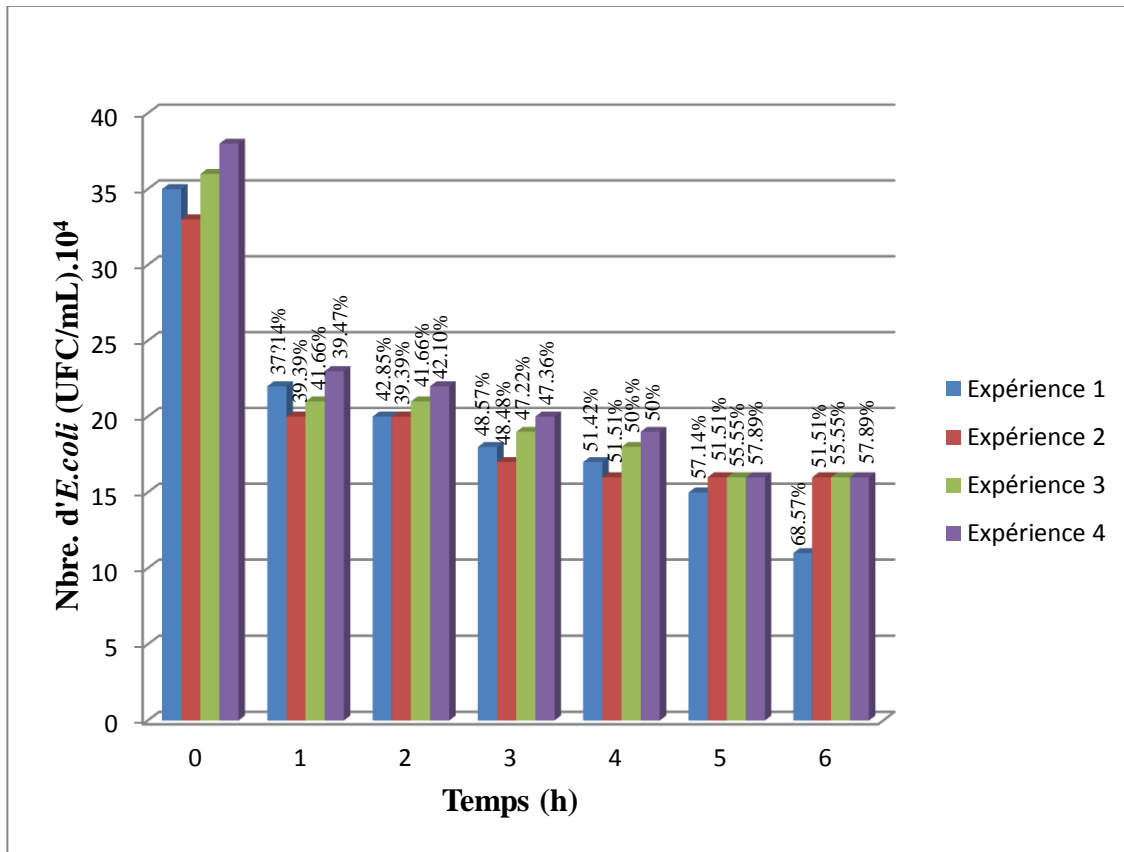


Figure III.1.4 . Effet biocide de H_2O_2 à 500 ppm sur les *E.coli* durant 6h.

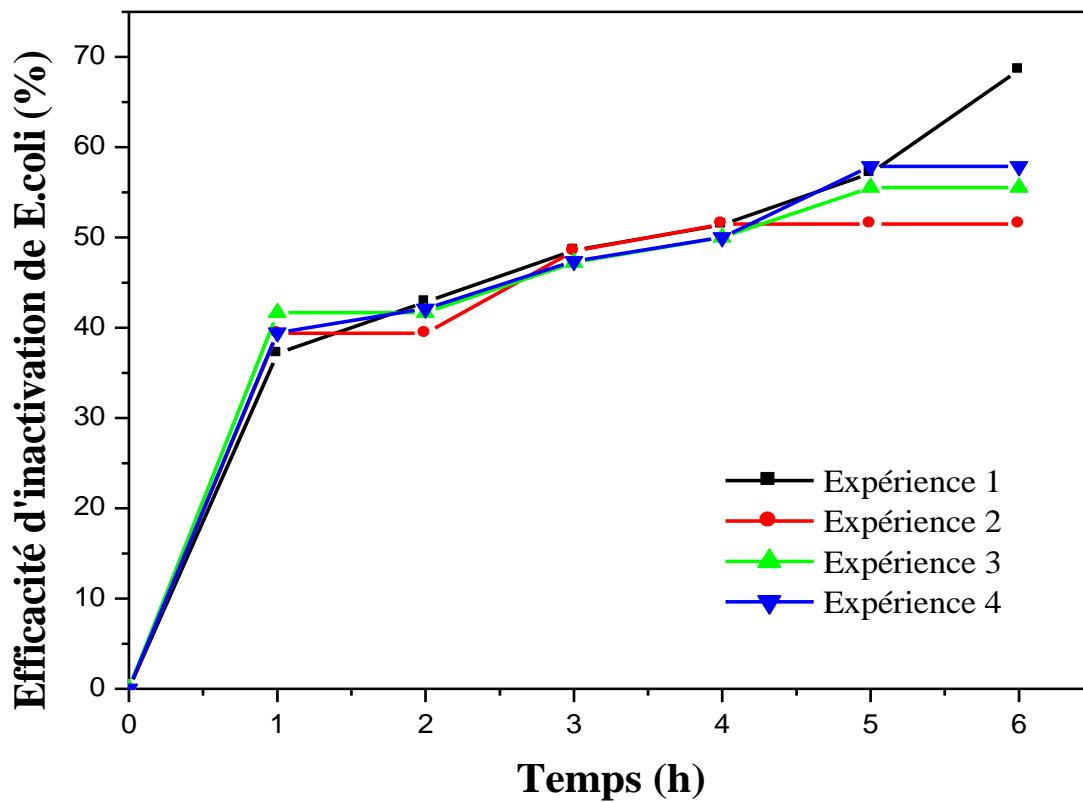


Figure III.1.5. Efficacité d'inactivation de *E.coli* à 500 ppm de H_2O_2 pendant 6h.

III.1.1.2.3 Influence du temps de contact de 7 h

La figure III.1.6 montre une diminution du nombre de *E.coli* en fonction du temps de contact jusqu'à 7h, et cela pour toutes les expériences réalisées

Au bout de 7h, l'efficacité d'inactivation augmente d'une manière significative (Figure III.1.7).

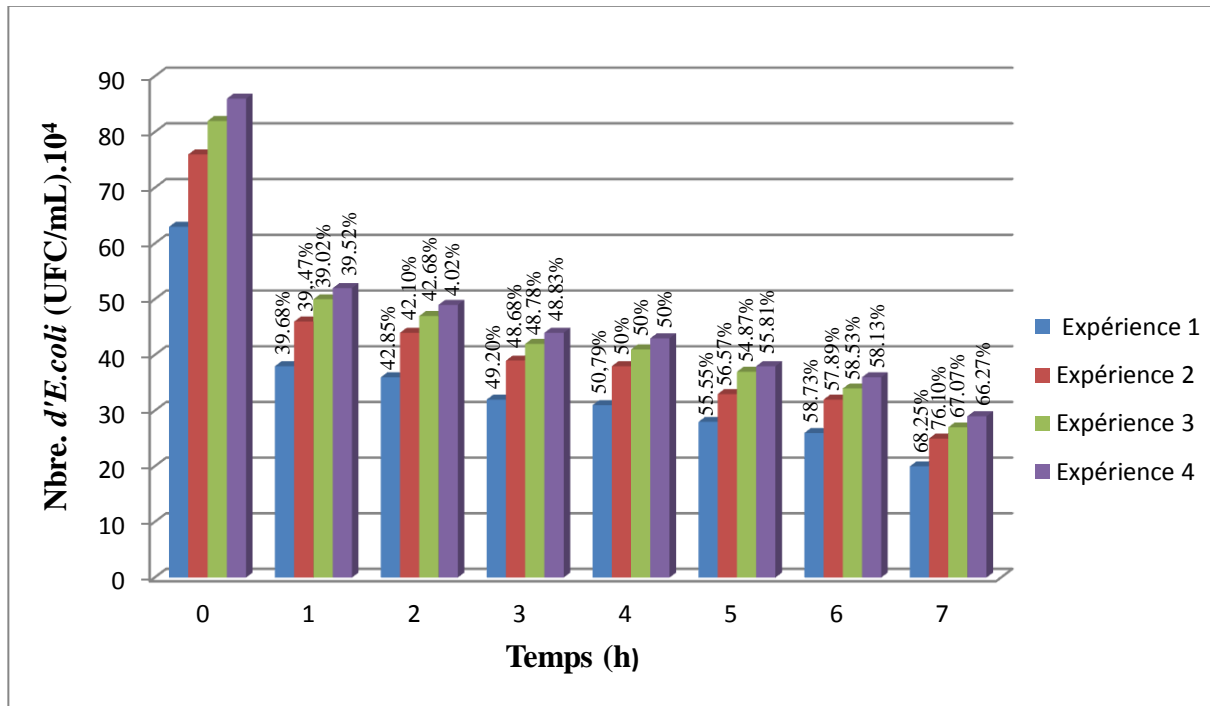


Figure III.1.6 . Effet biocide de H_2O_2 à 500 ppm sur les *E.coli* durant 7h.

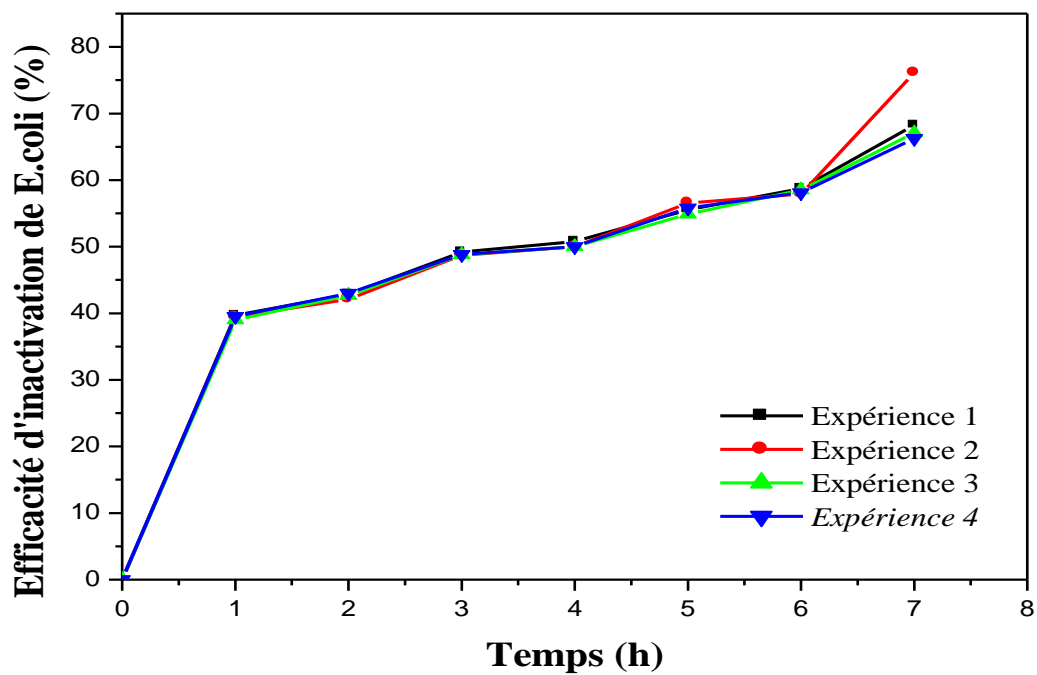


Figure III.1.7. Efficacité d'inactivation de *E.coli* à 500ppm de H_2O_2 pendant 7h.

III.1.1.3 Effet biocide de H₂O₂ à 1000ppm sur les *E.coli* durant 5 h

La **figure III.1.8** présente le nombre de *E.coli* en fonction du temps de contact, allant jusqu'à 5h, sous l'effet biocide de H₂O₂ à 1000ppm, nous observons une diminution du nombre de bactéries.

D'après la **figure III.1.9**, en doublant la concentration à 1000ppm, nous n'observons pas une augmentation importante de l'efficacité d'inactivation des bactéries *E.coli* en fonction du temps. Ainsi nous remarquons une nette augmentation de l'efficacité d'inactivation pendant la première heure, estimée au 2/3, suivi d'une légère augmentation (1/3) allant de 1h jusqu'à 5h, et cela pour toutes les expériences réalisées.

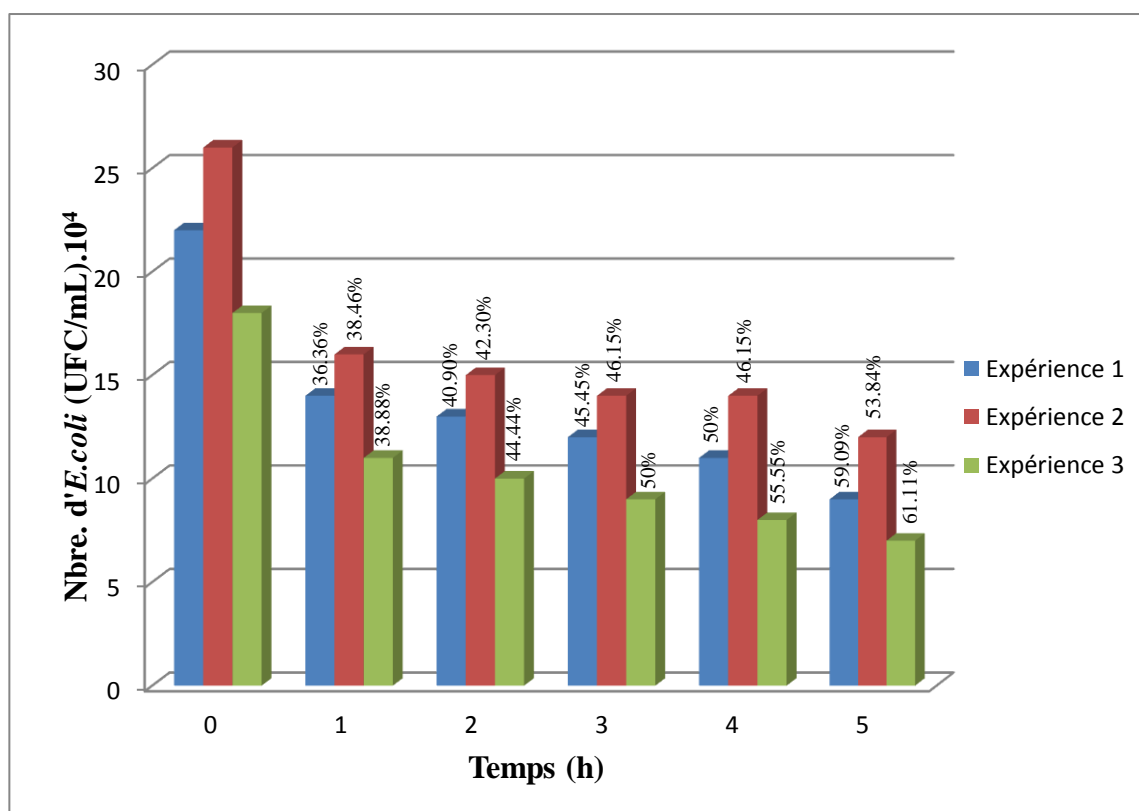


Figure III.1.8. Effet biocide de H₂O₂ à 1000 ppm sur les *E.coli* durant 5h.

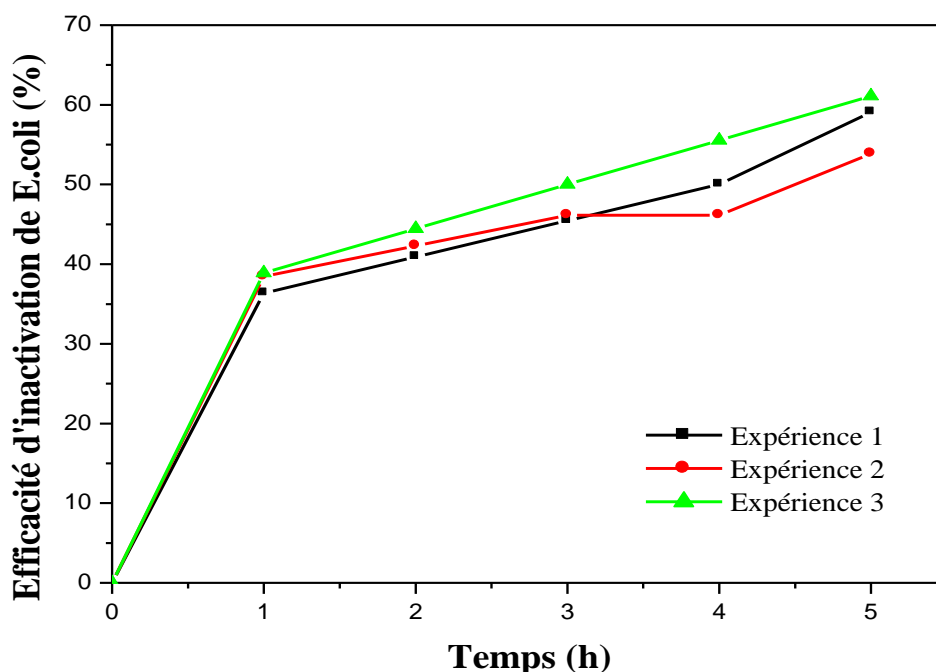


Figure III.1.9. Efficacité d'inactivation de *E.coli* à 1000 ppm de H₂O₂ durant 5h.

III.1.1.4 Effet biocide de H₂O₂ à 1500ppm sur les *E.coli* durant 6 h

Nous observons sur la **figure III.1.10**, une nette diminution du nombre de *E.coli* en fonction des différents temps de contact à savoir 2h ,4h et 6h, sous l'effet biocide de H₂O₂ à 1500ppm. Et cela a été remarqué pour toutes les expériences réalisées.

La **figure III.1.11** montre une augmentation de l'efficacité d'inactivation pendant les 2 premières heures, qui se poursuit jusqu'à 6h. Et cela pour toutes les expériences réalisées. Cependant, ce taux d'inactivation reste insuffisant, ce qui nous a incité à augmenter encore la concentration du biocide H₂O₂ à 2500ppm.

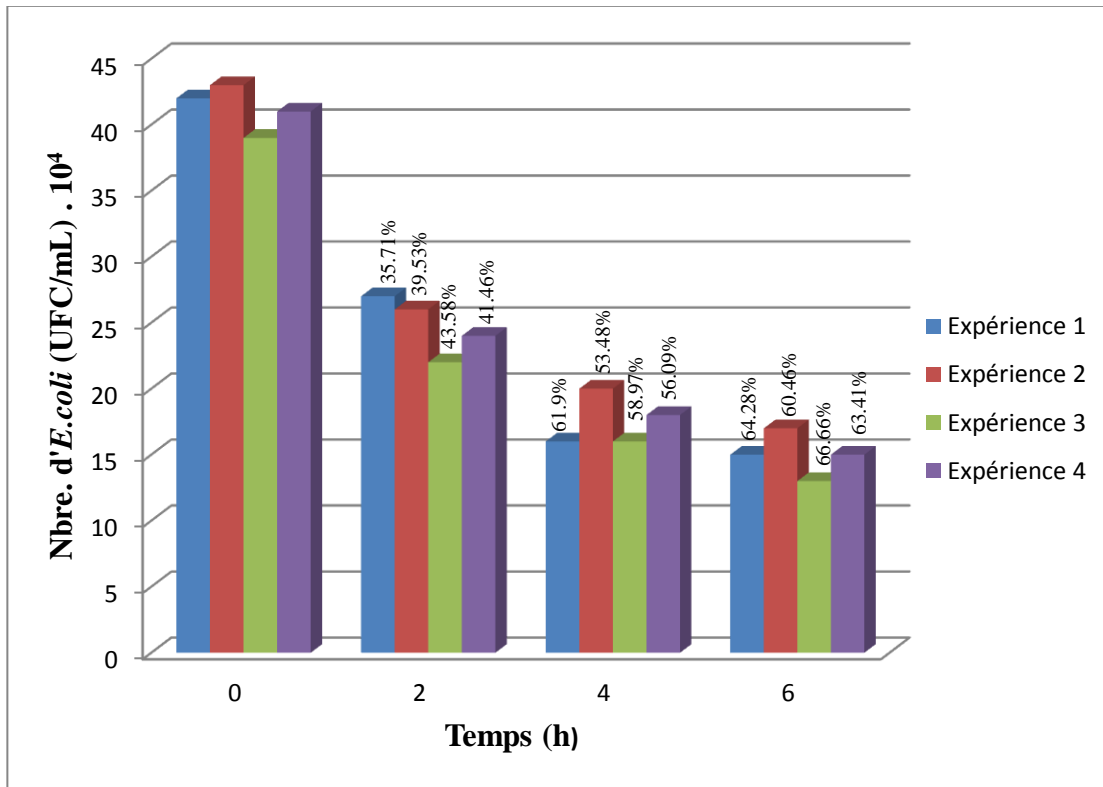


Figure III.1.10. Effet biocide de H₂O₂ à 1500 ppm sur les *E.coli* durant 6h.

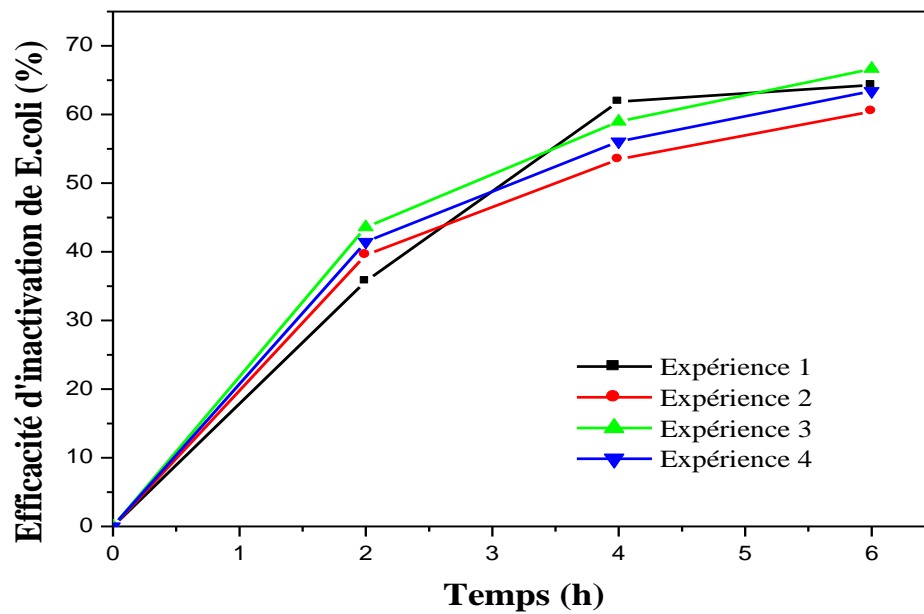


Figure III.1.11. Efficacités d'inactivation de *E.coli* à 1500ppm de H₂O₂ durant 6h

III.1.1.5 Effet biocide de H₂O₂ à 2500ppm sur les *E.coli* durant 6 h

L'effet biocide du peroxyde d'hydrogène à 2500ppm conduit à une diminution du nombre de bactéries *E.coli* en fonction du temps de contact, et cela pour toutes les expériences réalisées (Figure III.1.12).

La figure III.1.13 représentant l'efficacité d'inactivation des *E.coli* en fonction du temps de contact, nous montre que pendant les 2 premières heures, l'efficacité a augmenté d'une manière plus importante et le taux d'inactivation maximale obtenu au cours de 6 heures est de 69%. Ce dernier a augmenté de 6% par rapport à celui obtenu en utilisant 1500ppm de H₂O₂, ce qui nous a menés à augmenter encore la concentration du biocide à 3500ppm.

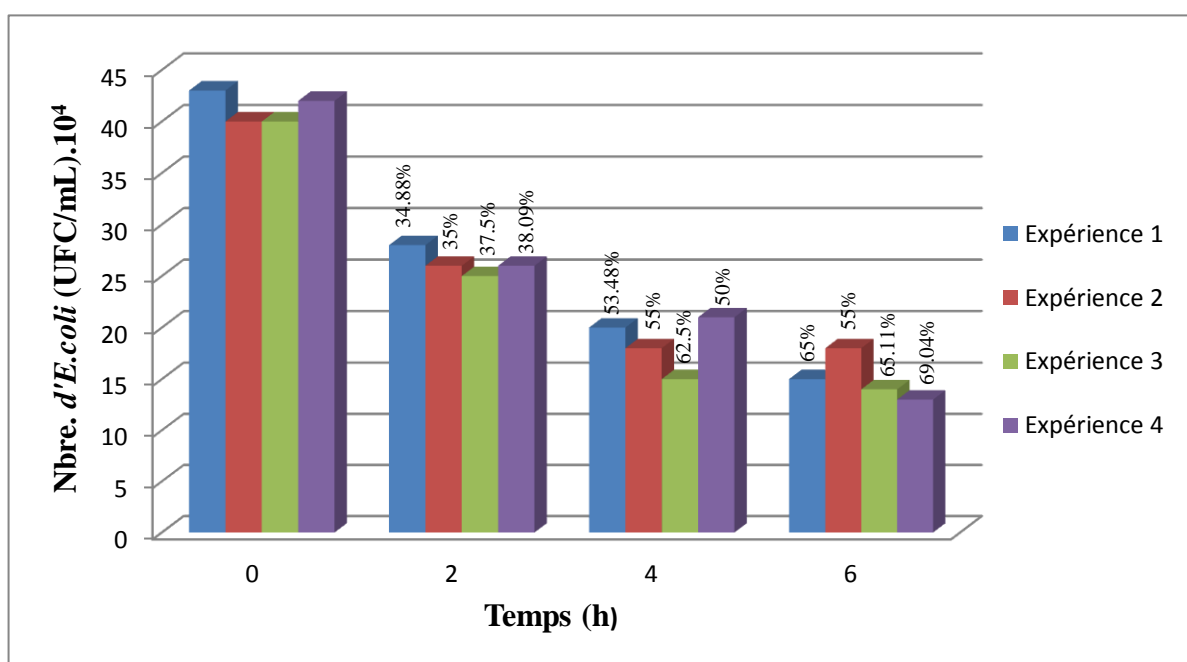


Figure III.1.12. Effet biocide de H₂O₂ à 2500 ppm sur les *E.coli* durant 6h

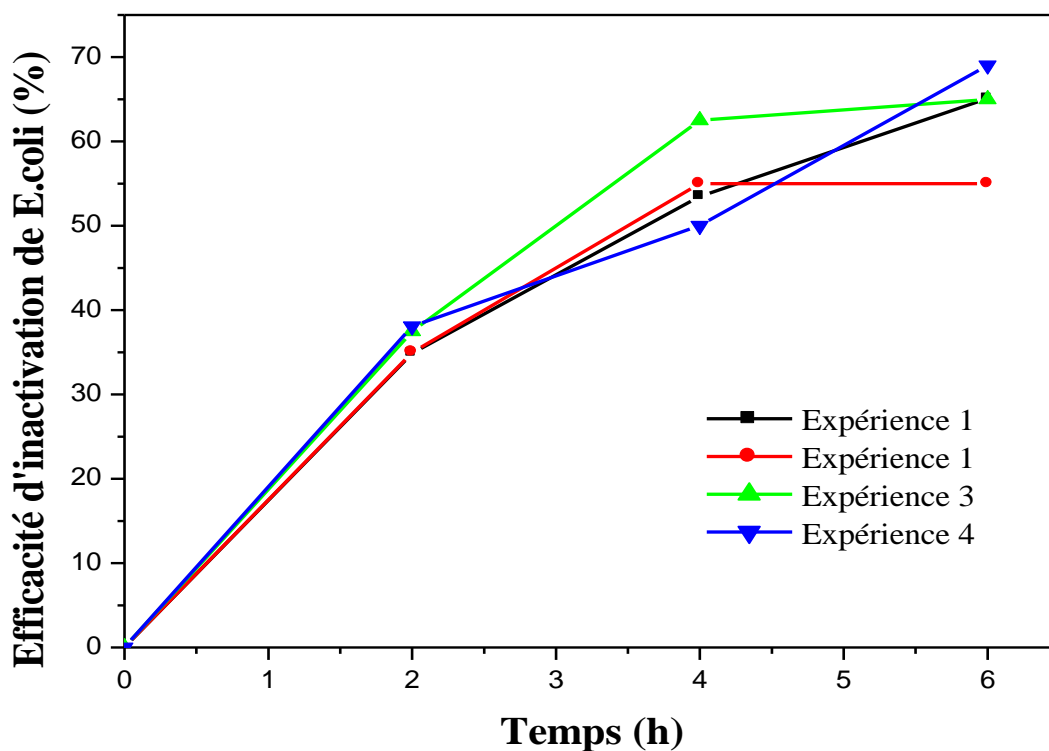


Figure III.1.13. Efficacité d'inactivation de *E.coli* à 2500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.1.6 Effet biocide de H₂O₂ à 3500ppm sur les *E.coli* durant 6 h

La figure III.1.14 montre qu'en utilisant le peroxyde d'hydrogène à 3500ppm, nous observons une nette diminution du nombre de *E.coli*, qui se traduit par une augmentation de l'efficacité d'inactivation à 73% atteinte après 6h. Ce résultat est bien illustré sur la figure III.1.15, où nous remarquons une augmentation marquée de l'inactivation pendant 6h.

En conclusion, l'augmentation de la concentration du biocide de 2500ppm à 3500ppm a induit une augmentation de l'efficacité d'inactivation de 4%.

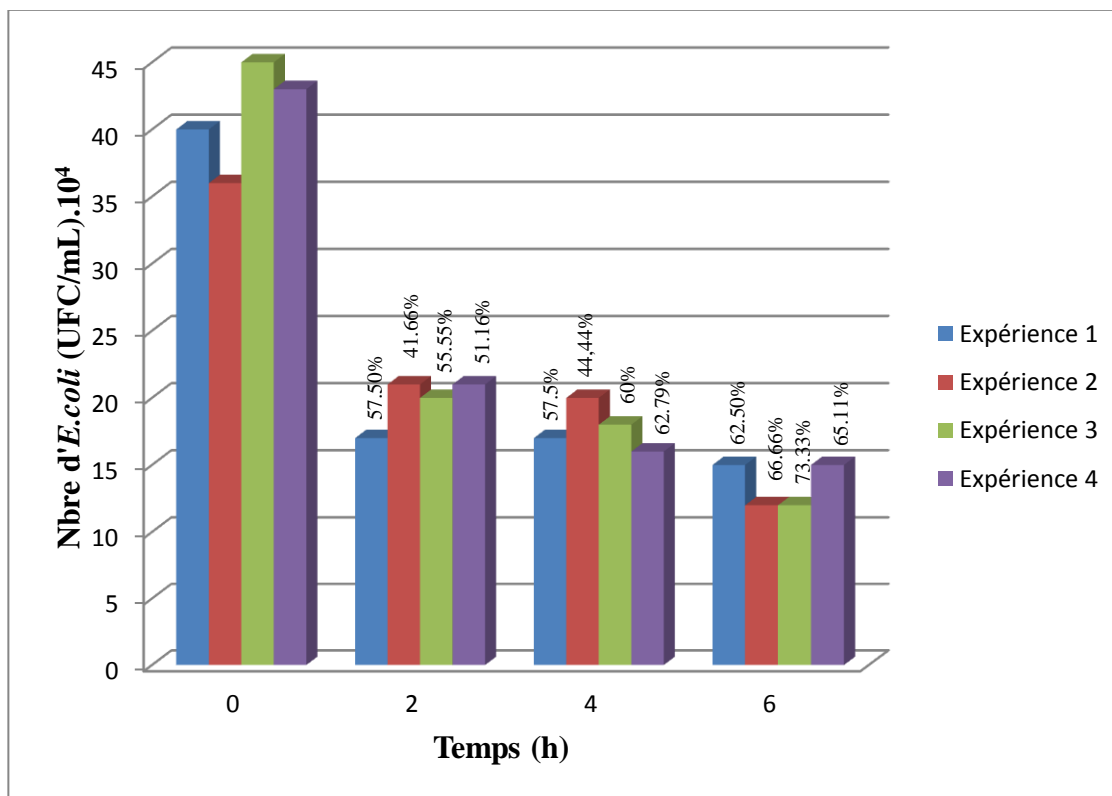


Figure III.1.14 . Effet biocide de H₂O₂ à 3500 ppm sur les *E.coli* durant 6h.

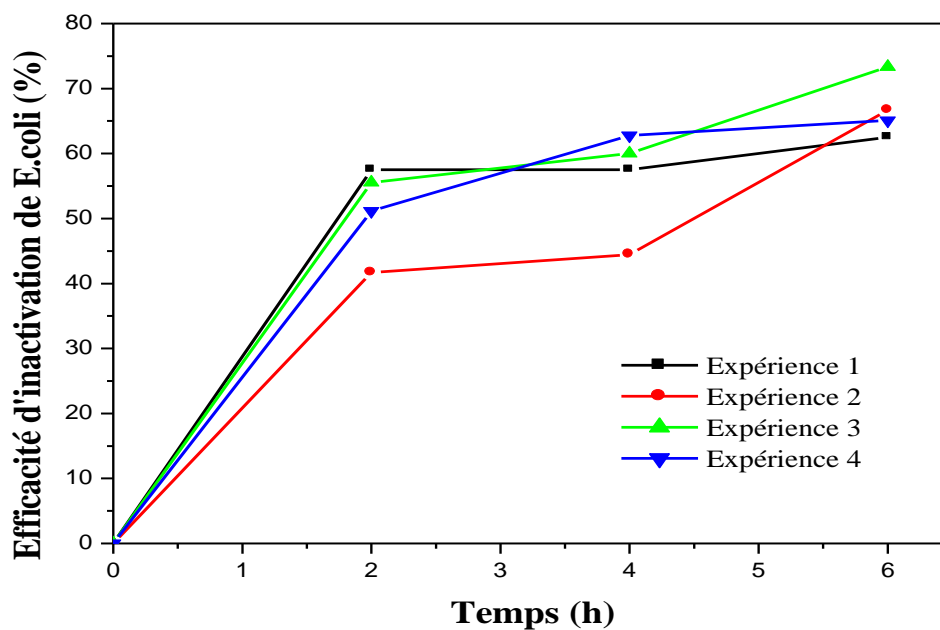


Figure III.1.15 . Efficacité d'inactivation de *E.coli* à 3500ppm de H₂O₂ durant 6h

III.1.2 Effet biocide de H₂O₂ sur la bactérie *P. aeruginosa*

III.1.2.1 Effet biocide de H₂O₂ à 500ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h

L'effet biocide du peroxyde d'hydrogène à 500ppm sur *P. aeruginosa* est illustré dans la **figure III.1.16**, sur laquelle, nous remarquons une diminution du nombre de bactéries de 1/7 après 2h de temps de contact suivi d'une stabilité entre 2h et 4h, suivi d'une diminution de 1/3 après 6h de temps de contact, et cela sur toutes les expériences effectuées. Cela peut s'expliquer comme suit : entre 0h et 2h, l'agent biocide est en contact direct avec les bactéries qui sont à la périphérie seulement, tandis que celles qui sont au cœur sont protégées entre 2h et 4h. Au-delà de cet intervalle de temps de contact c'est-à-dire à 6h, les bactéries mortes à la surface seront relarguées dans la solution et laissent la place au biocide pour atteindre les bactéries du cœur.

D'après la **figure III.1.17**, nous avons constaté que l'efficacité de l'inactivation de *P. aeruginosa* sous l'effet biocide de H₂O₂ à 500ppm, augmente de 25% après 2h, puis l'apparition d'un pallier de stabilité entre 2h et 4h jusqu'à ce qu'elle atteigne une valeur maximale de 43% après 6h. Ce dernier résultat peut être expliqué, par l'avancement de la décomposition de H₂O₂, suite à l'augmentation de la concentration de la catalase. En effet, à une densité cellulaire élevée, la catalase est plus abondante, conduisant par conséquent à une désactivation rapide de H₂O₂ [4].

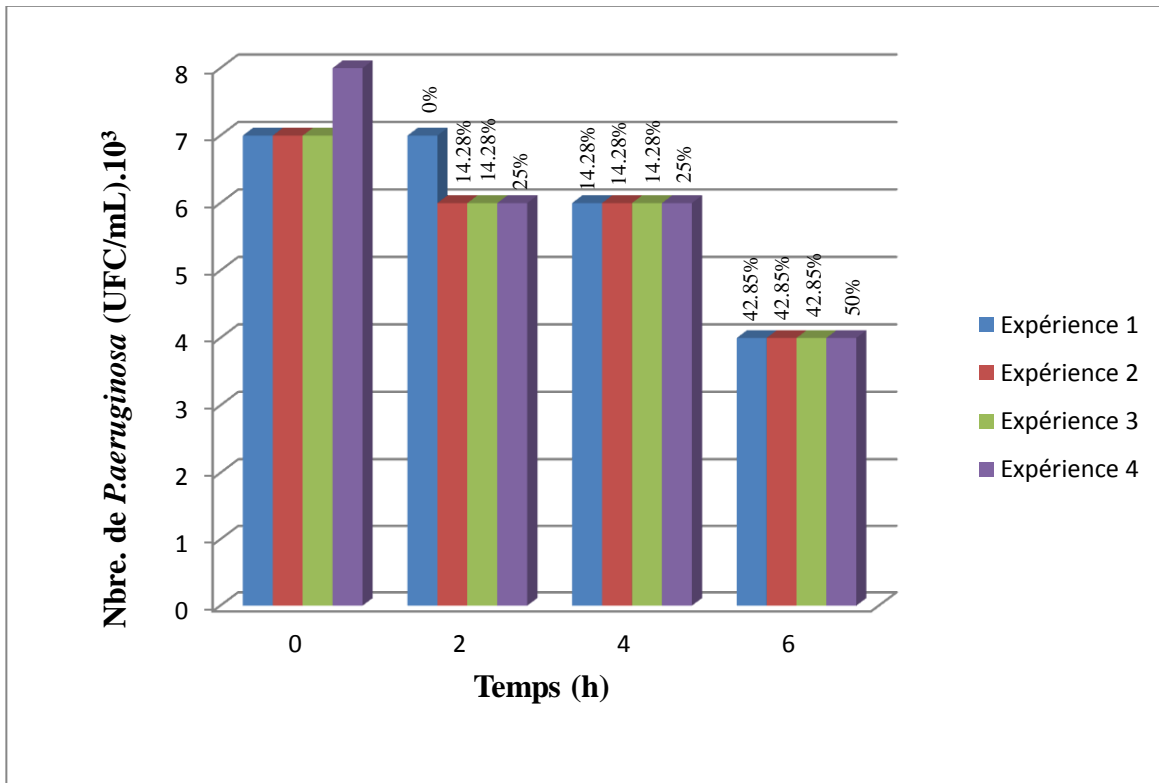


Figure III.1.16 . Effet biocide de H₂O₂ à 500 ppm sur les *P.aeruginosa* durant 6h.

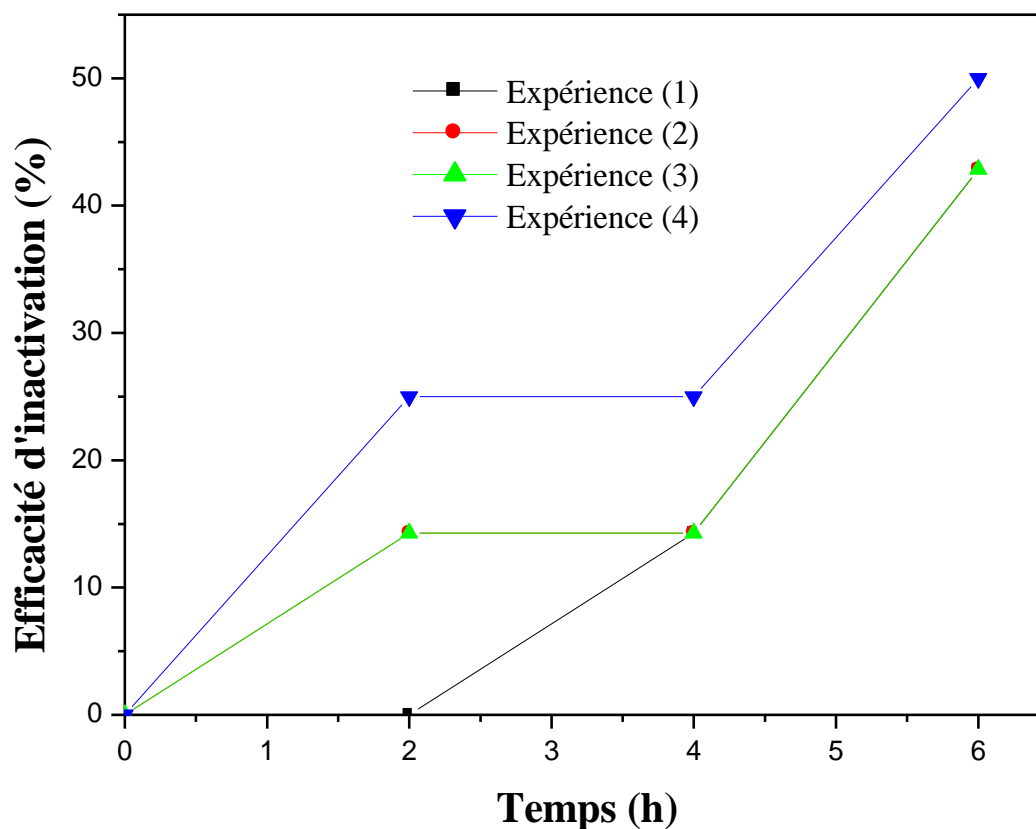


Figure III.1.17. Efficacité d'inactivation de *P. aeruginosa* à 500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.2.2 Effet biocide de H₂O₂ à 1500ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h

Les histogrammes de la **figure III.1.18** montrent que l'augmentation de la concentration de H₂O₂ conduit à la diminution du nombre de *P. aeruginosa*. La **figure III.1.19** montre que l'efficacité d'inactivation de *P. aeruginosa* augmente lentement au bout de 2h, ensuite elle reste constante jusqu'à 4h. Après elle augmente exponentiellement jusqu'à 6h, en atteignant des efficacités d'inactivation variant entre 57 et 67%.

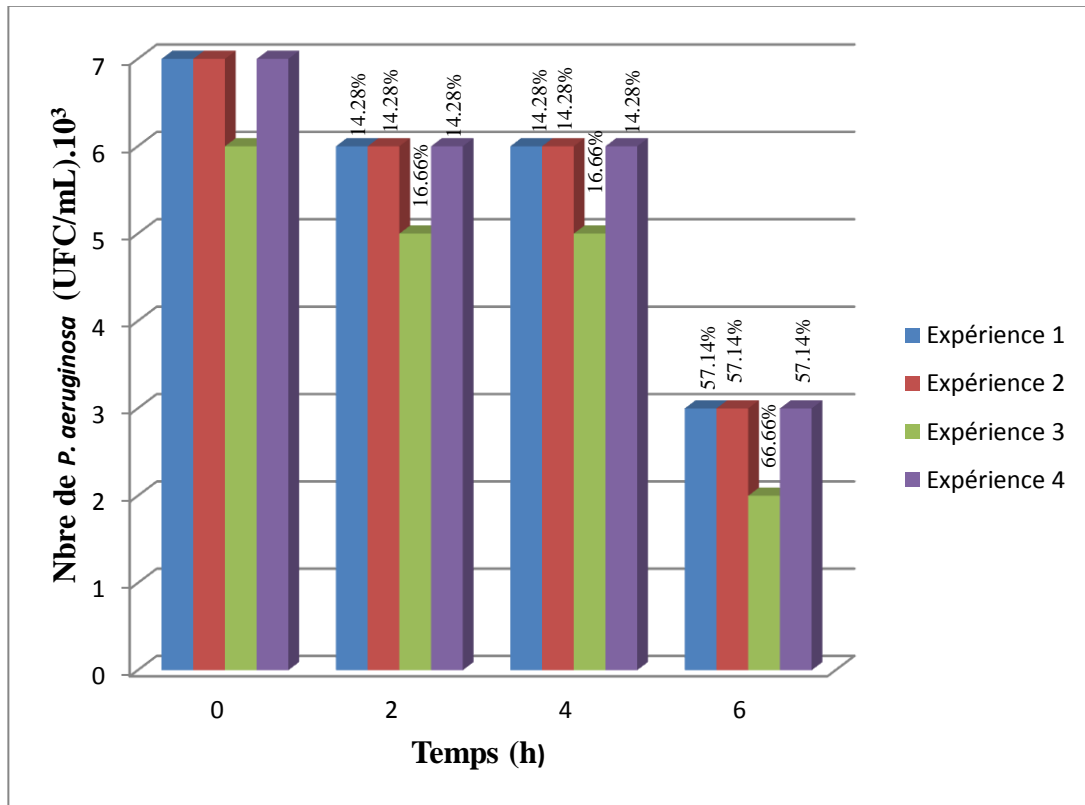


Figure III.1.18 . Effet biocide de H₂O₂ à 1500 ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h.

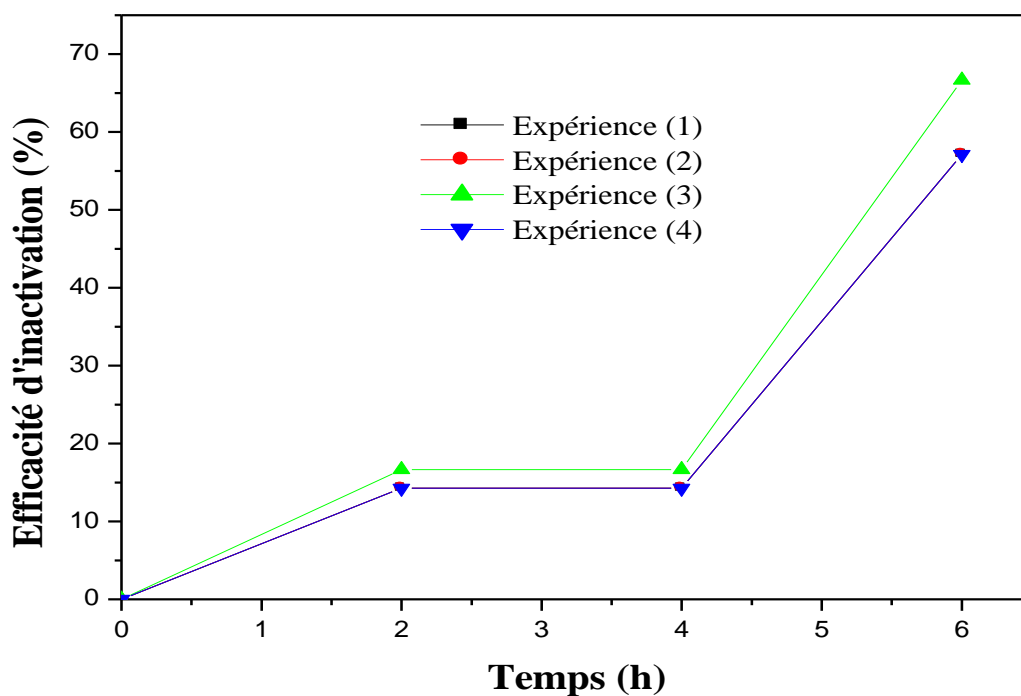


Figure III.1.19. Efficacité d'inactivation de *P. aeruginosa* à 1500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.2.3 Effet biocide de H₂O₂ à 2500ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h

Les figures III.1.20 et III.1.21 montrent que l'utilisation du peroxyde d'hydrogène à 2500ppm comme agent biocide induit une diminution du nombre de *P. aeruginosa* au bout de 6h, avec toujours l'apparition du palier de stabilité entre 2h et 4h de temps de contact. Cependant l'inactivation maximale atteinte est presque similaire (67%) à celle obtenue à 1500ppm durant le même temps de contact (6h).

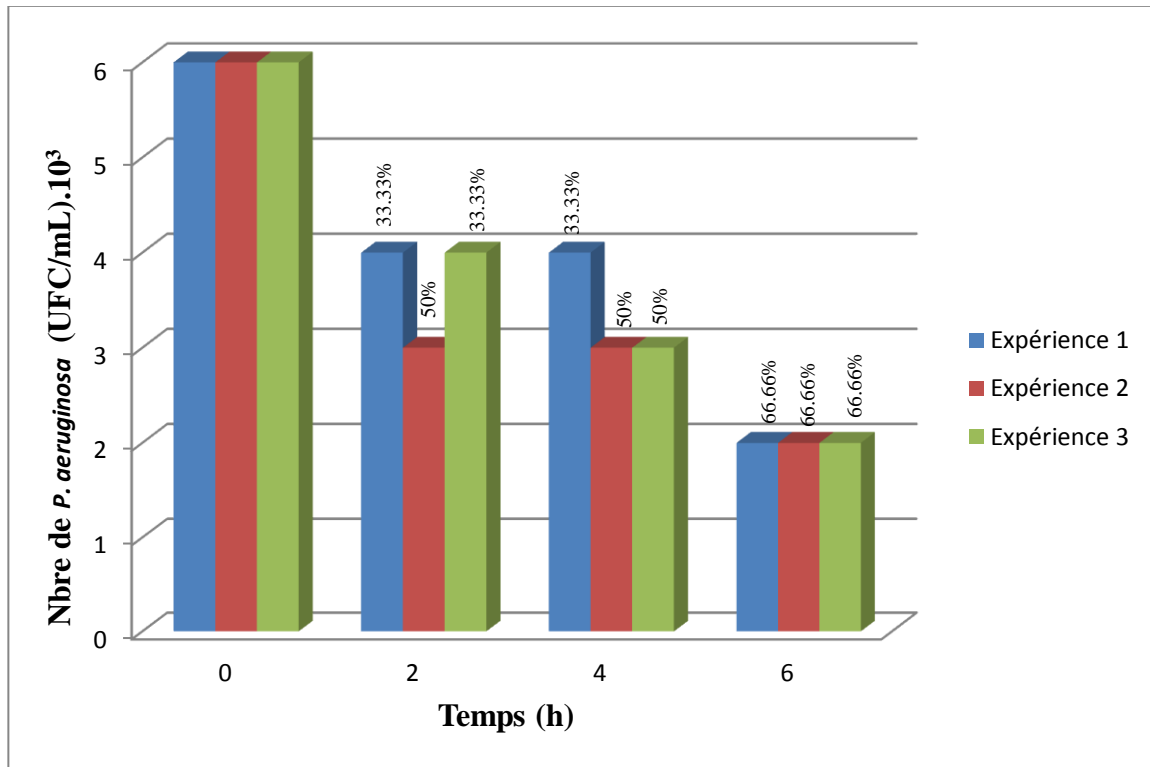


Figure III.1.20 . Effet biocide de H₂O₂ à 2500 ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h.

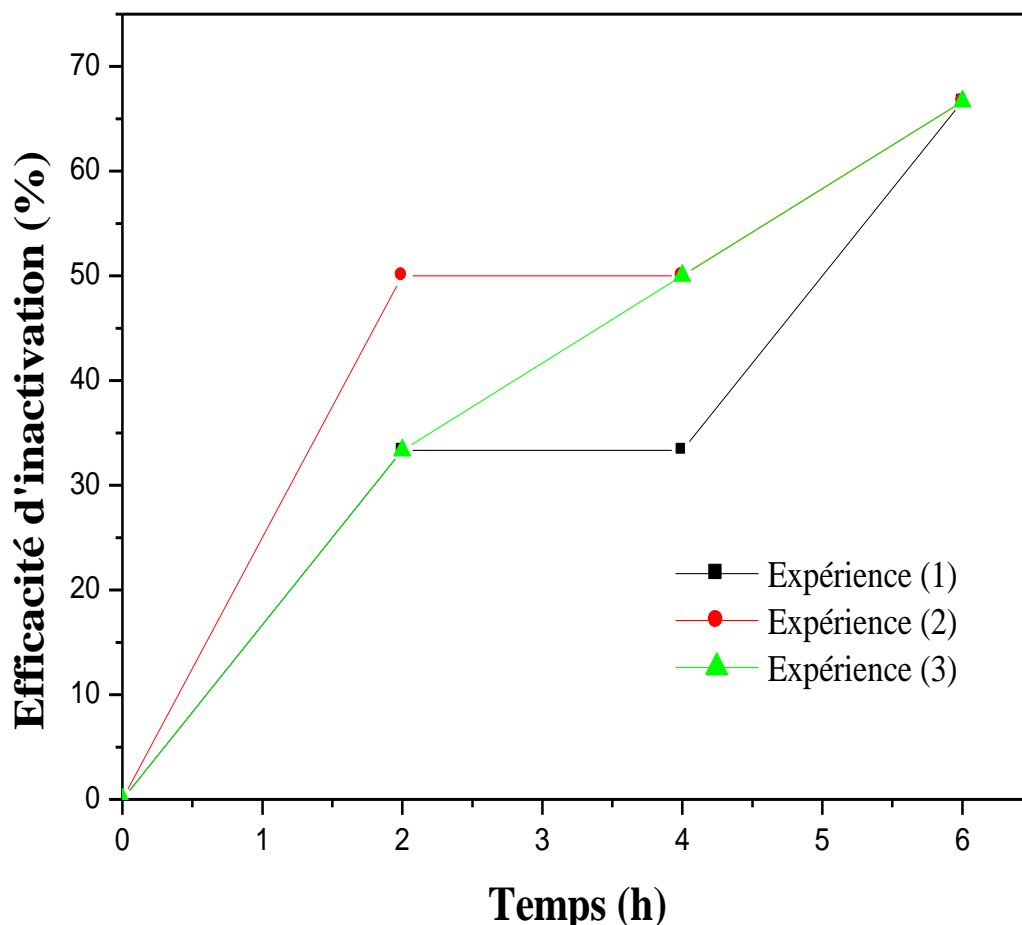


Figure III.1.21. Efficacité d'inactivation de *P. aeruginosa* à 2500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.2.4 Effet biocide de H₂O₂ à 3500ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h

Les histogrammes de la **figure III.1.22**, montrent que l'effet biocide de H₂O₂ à 3500ppm, conduit à une diminution progressive du nombre de *P. aeruginosa* durant 6h avec l'absence du pallier de stabilité entre 2h et 4h qui a apparu avec toutes les concentrations utilisées (500,1500 et 2500ppm). La **figure III.1.23**, représentant l'efficacité d'inactivation des *Pseudomonas aeruginosa* en fonction du temps de contact, nous montre l'influence de ce dernier sur l'inactivation. Nous remarquons que l'efficacité d'inactivation augmente de moitié pendant 2h, et presque de 3/4 pendant 4h, jusqu'à ce qu'elle atteigne 86% après 6h. Il est à noter

que le peroxyde d'hydrogène à 3500ppm donne de meilleur résultat d'inactivation par rapport à celui obtenu (67%) à 2500ppm.

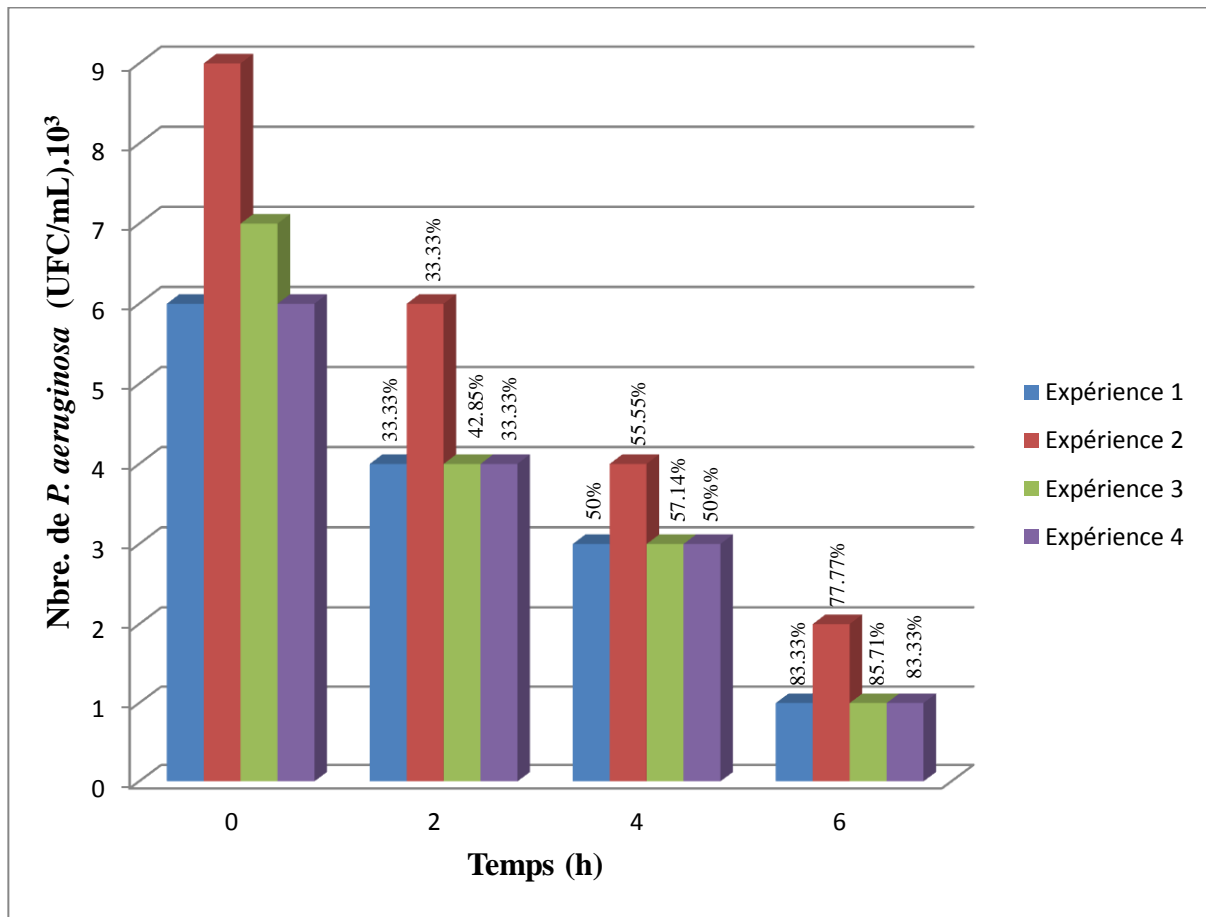


Figure III.1.22. Effet biocide de H₂O₂ à 3500 ppm sur les *P. aeruginosa* durant 6h.

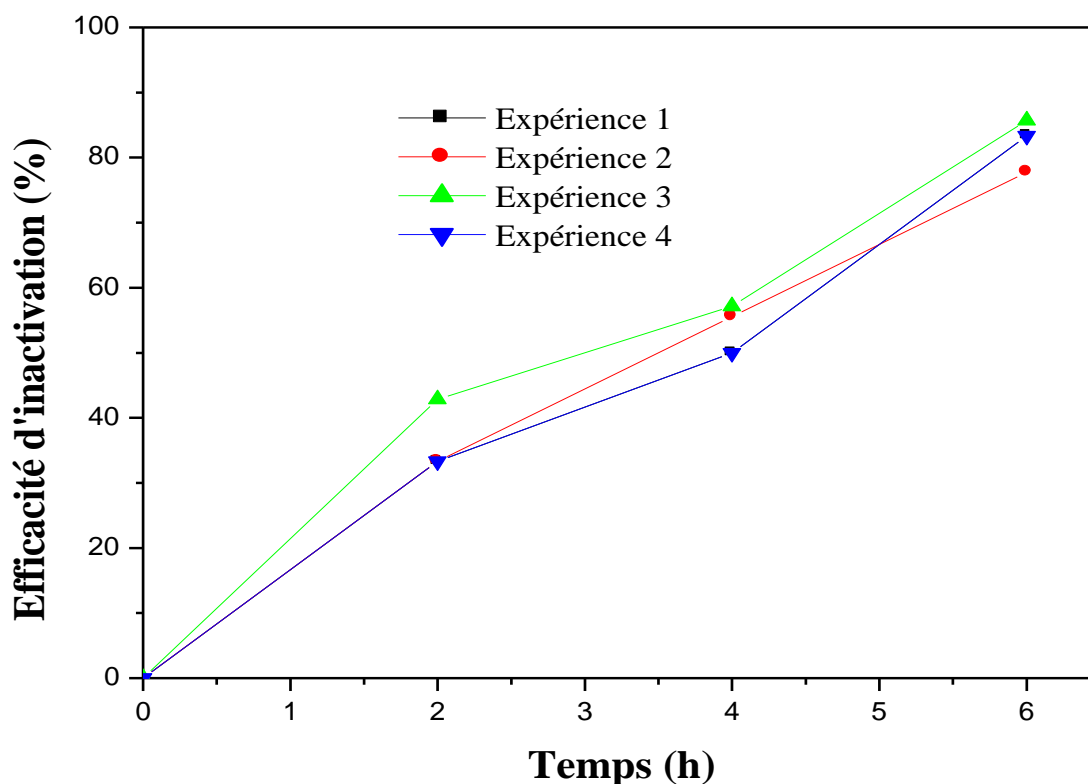


Figure III.1.23. Efficacité d'inactivation des *P. aeruginosa* à 3500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.3 Effet biocide de H₂O₂ sur la bactérie *S. aureus*

III.1.3.1 Effet biocide de H₂O₂ à 500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h

La figure III.1.24 montre l'effet biocide de H₂O₂ sur les *S. aureus*. Les résultats obtenus indiquent que le peroxyde d'hydrogène inhibe les *S. aureus* d'une manière remarquable durant 6h. La figure III.1.25 représente l'efficacité d'inactivation des *S.aureus* en fonction du temps de contact. Nous constatons que l'efficacité augmente progressivement jusqu'à 67% au bout de 6h.

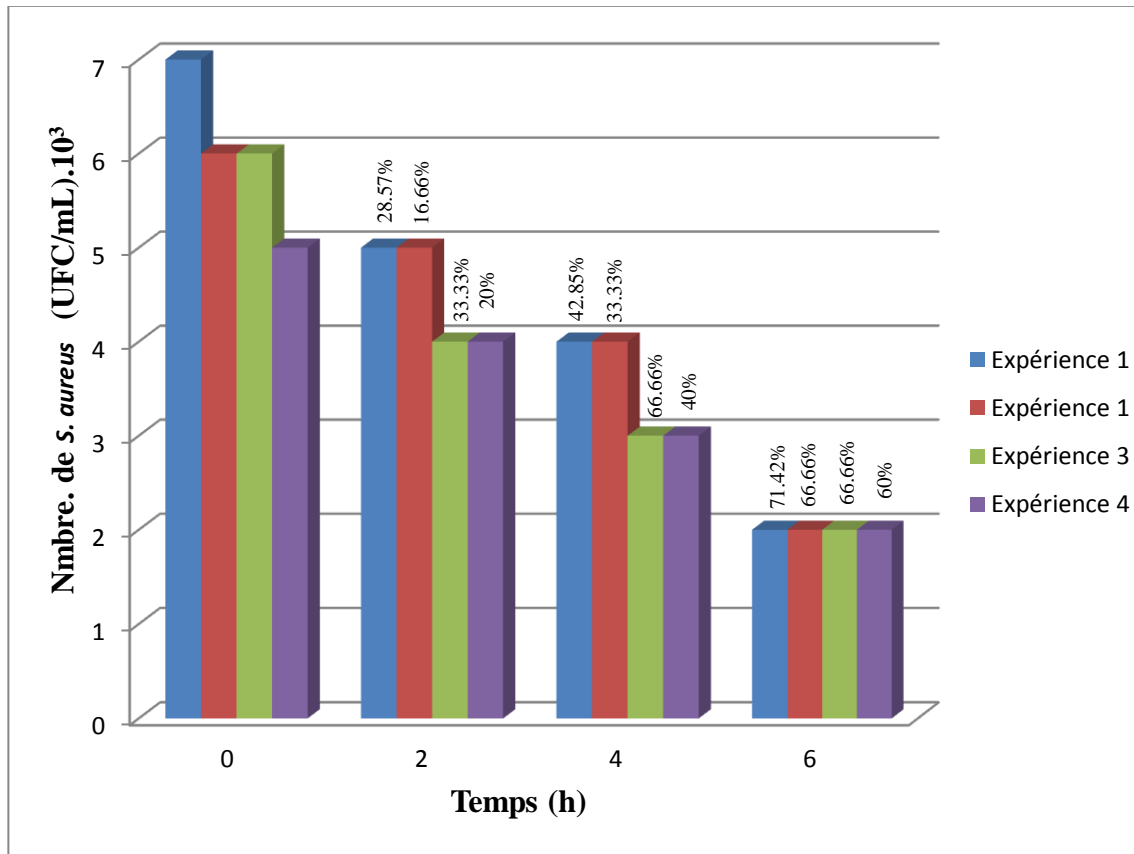


Figure III.1.24. Effet biocide de H₂O₂ à 500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h.

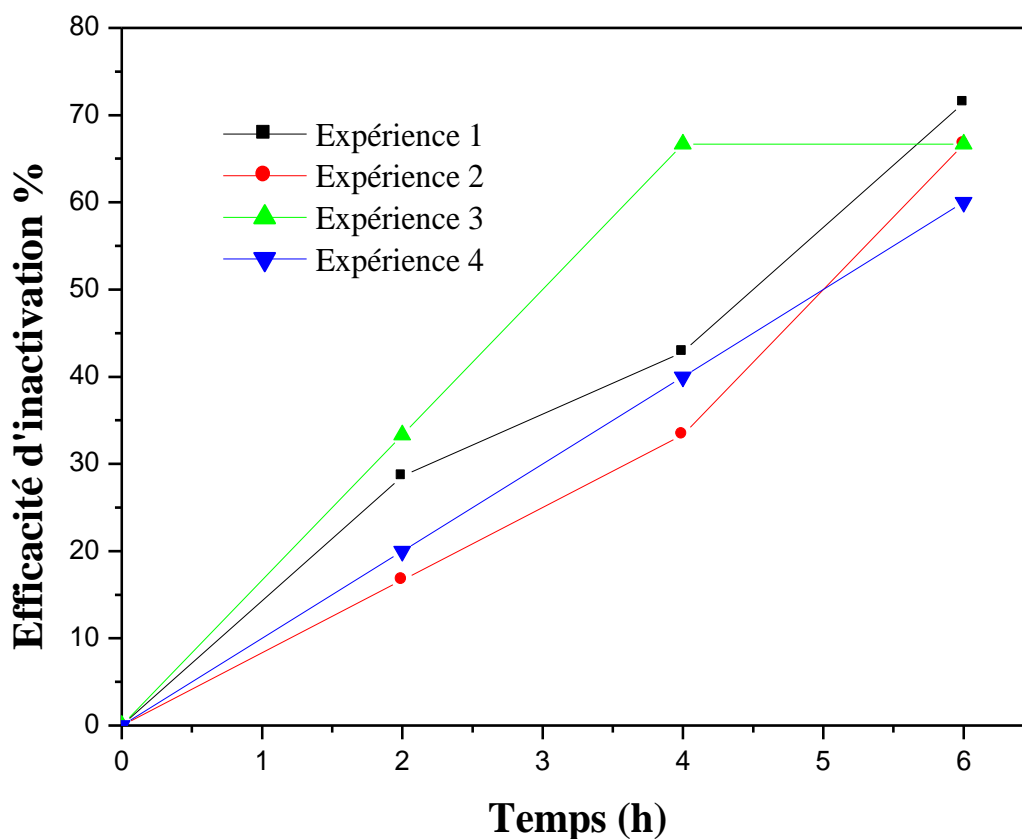


Figure III.1.25. Efficacité d'inactivation de *S. aureus* à 500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.3.2 Effet biocide de H₂O₂ à 1500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h

La figure III.1.26 montre l'effet biocide de H₂O₂ à 1500ppm sur l'inactivation des *S.aureus* aux différents temps de contact, où nous observons une nette diminution du nombre de bactéries à chaque temps de contact.

D'après la figure III.1.27, nous remarquons que l'efficacité d'inactivation des *S.aureus* augmente brusquement pendant les deux premières heures, puis continue lentement jusqu'à ce qu'elle atteigne une valeur maximale de 77.77% pendant 6h.

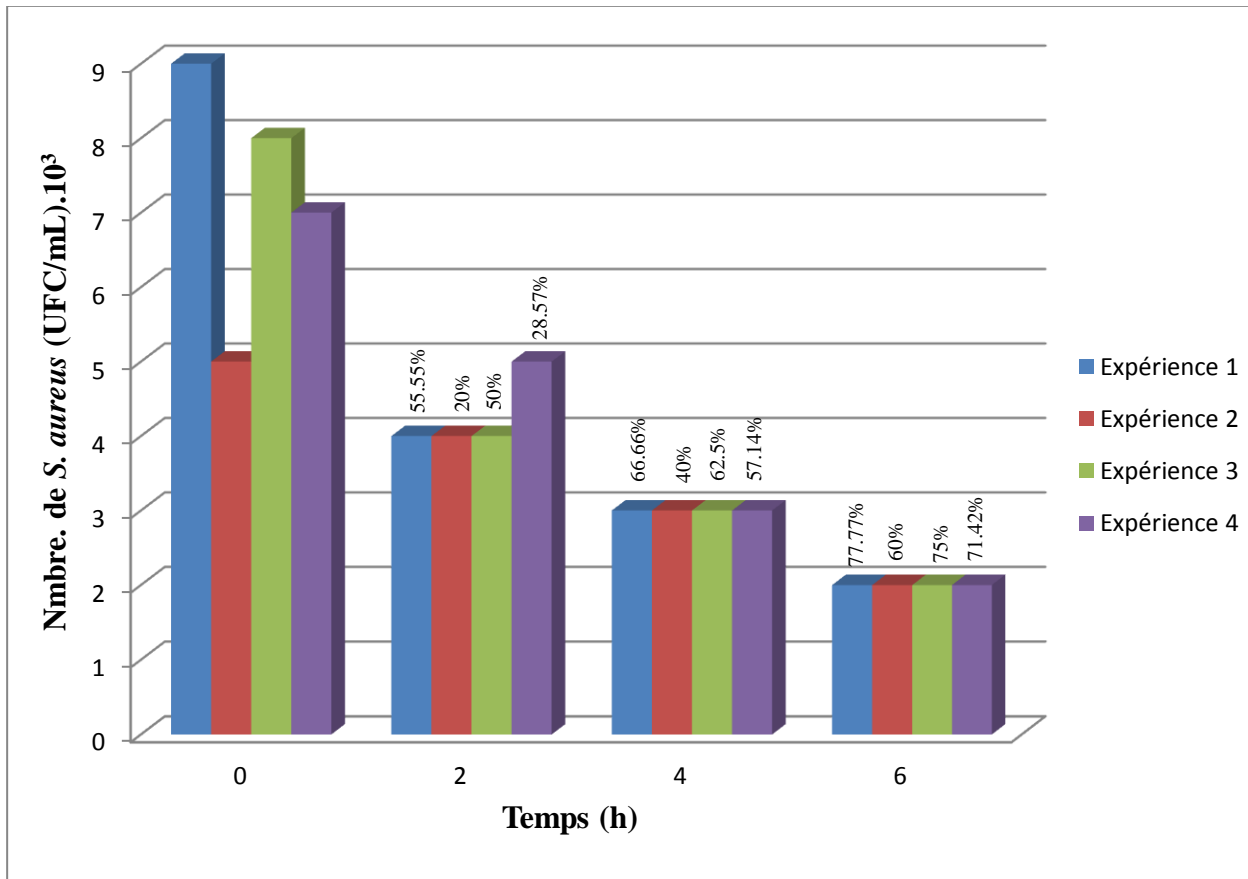


Figure III.1.26. Effet biocide de H₂O₂ à 1500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h.

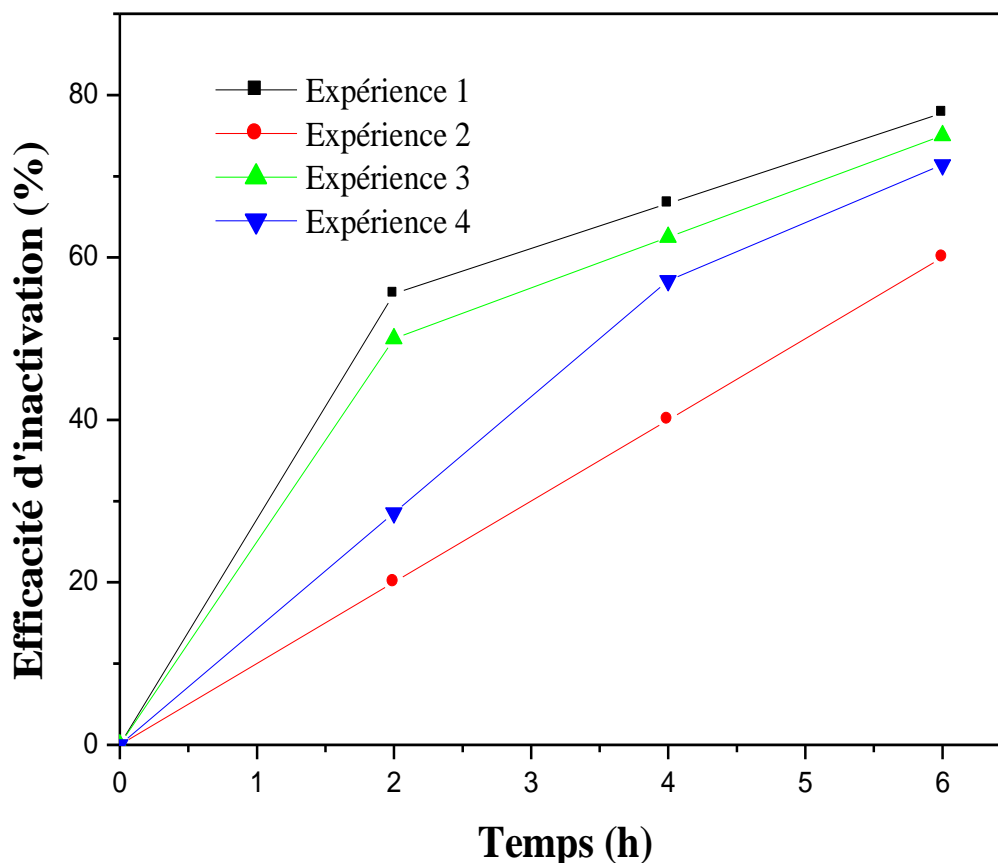


Figure III.1.27. Efficacité d'inactivation de *S. aureus* à 1500ppm de H₂O₂ durant 6h.

L'ensemble des résultats obtenus en utilisant les concentrations 500 et 1500 ppm, pourrait s'expliquer par le fait qu'à ces concentrations, les *S. aureus* présentent une résistance à la décontamination par le peroxyde d'hydrogène, suite à la production de la catalase, qui pourrait décomposer le H₂O₂, entraînant par conséquent une réduction de son efficacité [6].

III.1.3.3 Effet biocide de H₂O₂ à 2500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h

La figure III.1.28, met en évidence l'effet biocide important du peroxyde d'hydrogène à 2500 ppm sur les *S. aureus* en fonction du temps de contact, où nous obtenons une inactivation totale après 6h.

La figure III.1.29, nous montre que l'efficacité d'inactivation augmente de moitié pendant les deux premières heures, de presque 4/5 pendant 4h et après un temps de contact de 6h, elle est totale (100%).

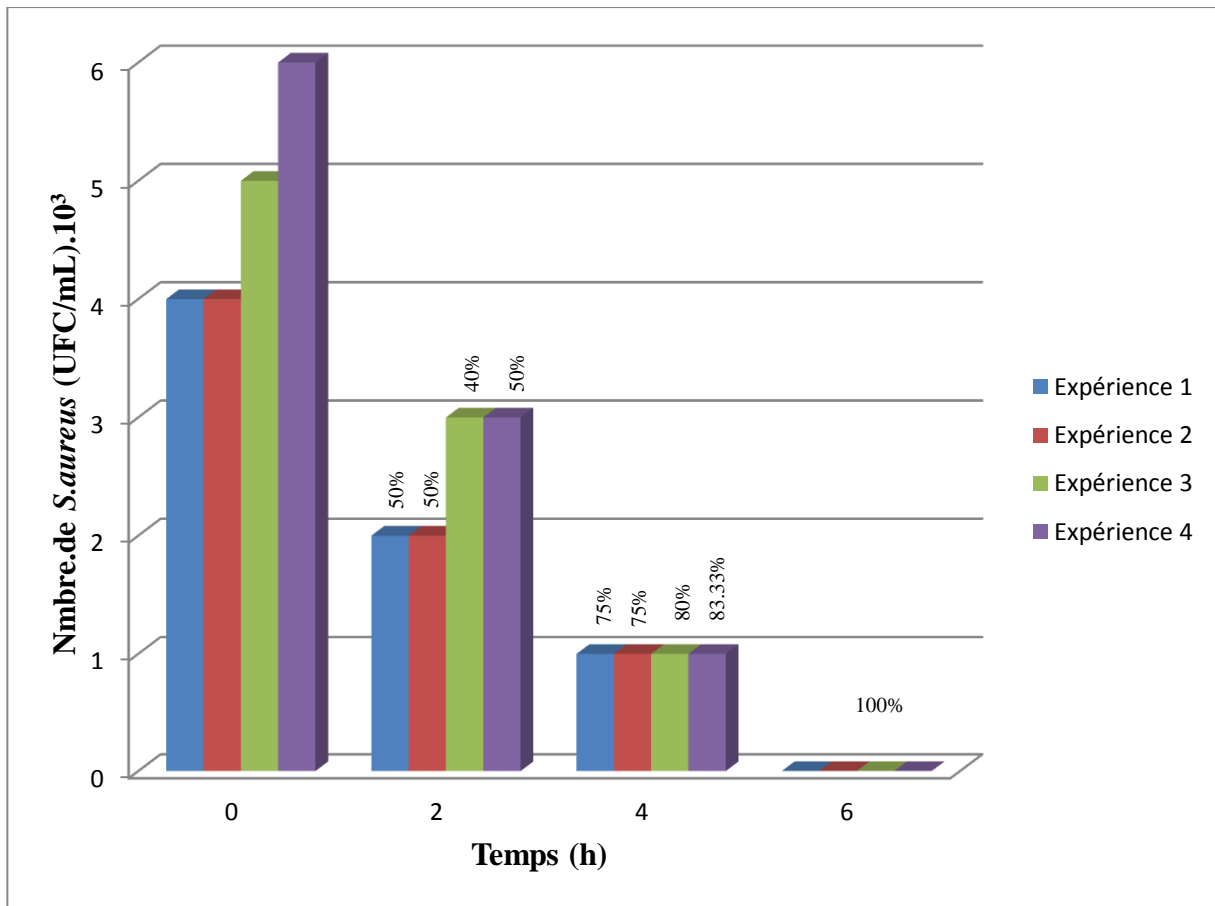


Figure III.1.28. Effet biocide de H₂O₂ à 2500 ppm sur les *S.aureus* durant 6h

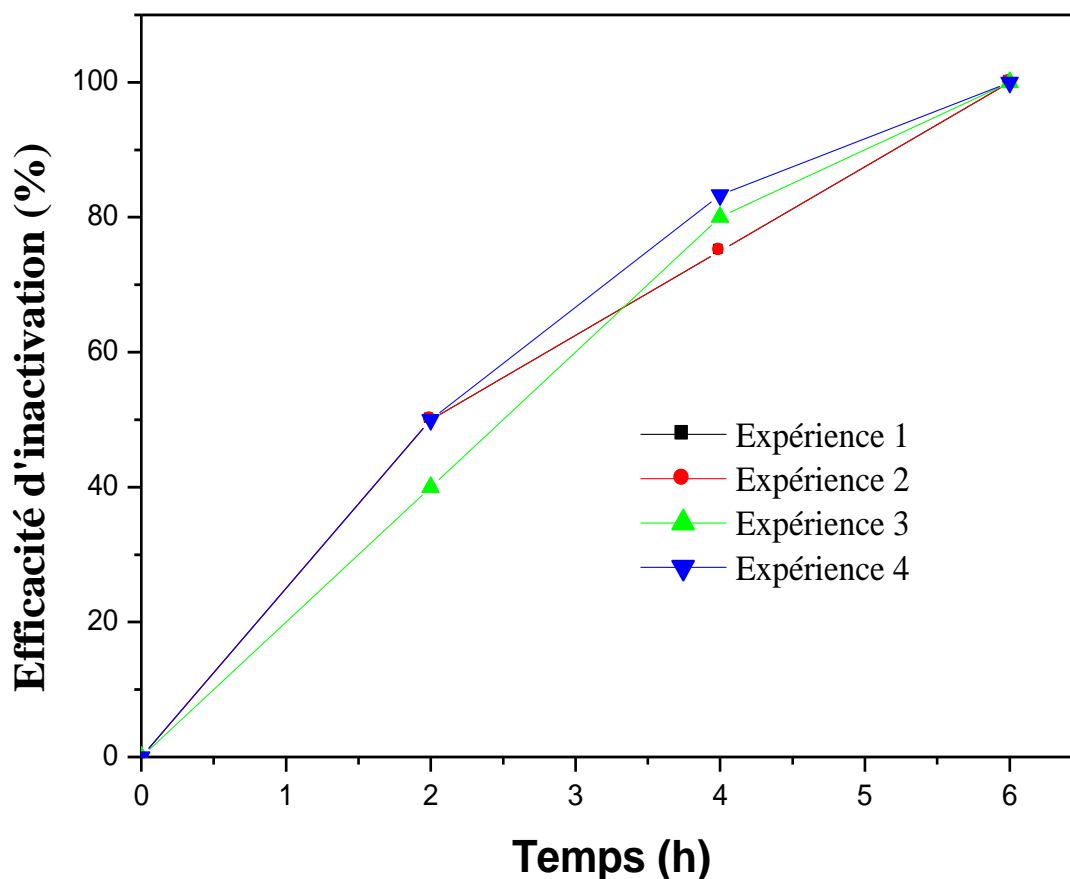


Figure III.1.29. Efficacité d'inactivation de *S. aureus* à 2500ppm de H₂O₂ durant 6h.

III.1.3.4 Effet biocide de H₂O₂ à 3500 ppm sur les *S. aureus* durant 6h

L'efficacité d'inactivation maximale (100%) obtenue durant 6h sur les *S. aureus*, en utilisant le peroxyde d'hydrogène à 2500ppm, nous a encouragé à augmenter la concentration de l'agent biocide, dans le but d'obtenir une excellente efficacité d'inactivation, durant un temps de contact moindre.

Les résultats obtenus, indiquent que pour toutes les expériences réalisées, nous remarquons que le nombre de *S.aureus* diminue de 2/3 pendant les deux premières heures jusqu'à une inactivation totale (100%) au bout de 4heures (Figure III.1.30).

La **figure III.1.31** montre une efficacité d'inactivation de 67% obtenue pendant 2h, et atteint 100% au bout de 4h.

L'excellente efficacité d'inactivation obtenue à 2500 et 3500ppm, au bout de 6h et 4h respectivement peut être expliquée par la concentration élevée de H₂O₂, qui rend sa dégradation par la catalase non significative, ce qui rend l'efficacité de H₂O₂ excellente à ces concentrations.

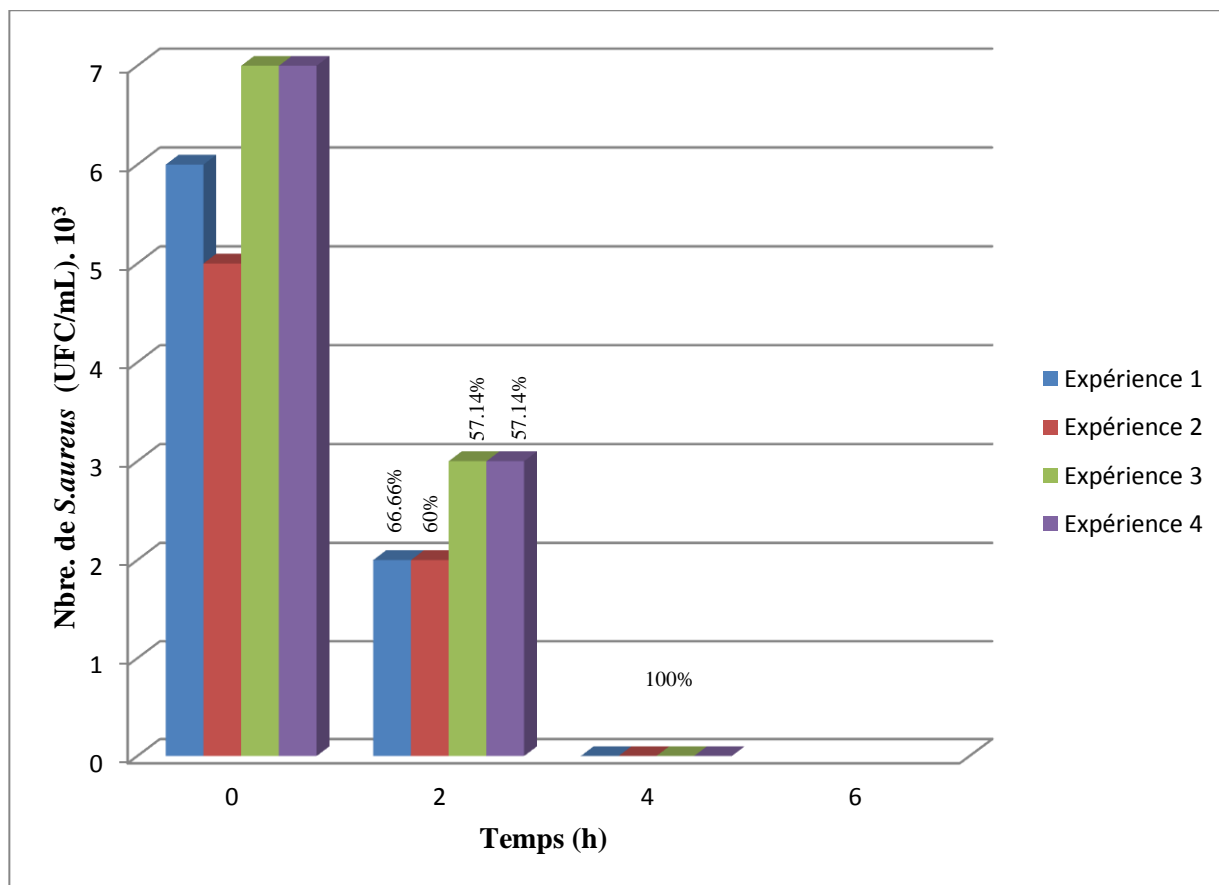


Figure III.1.30. Effet biocide de H₂O₂ à 3500 ppm sur les *S.aureus* durant 6h.

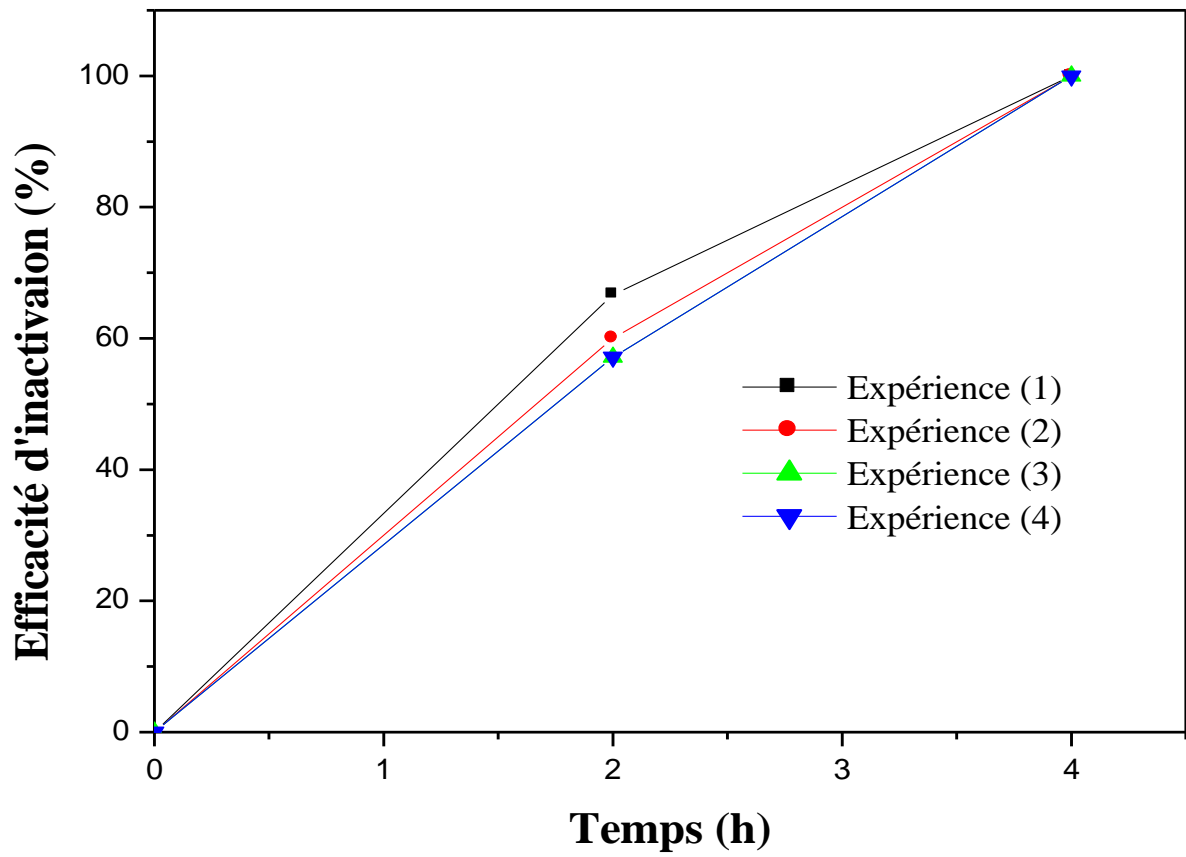


Figure III.1.31. Efficacité d'inactivation de *S. aureus* à 3500ppm de H_2O_2 durant 6h.

PARTIE 2

SYNTHESE DES

NANOPARTICULES DE ZnO ET ZnS

ET EFFET BIOCIDES DES FILMS

NANOSTRUCTURES DE ZnO SUR

LES E. COLI

III.2.1 Caractérisation des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP

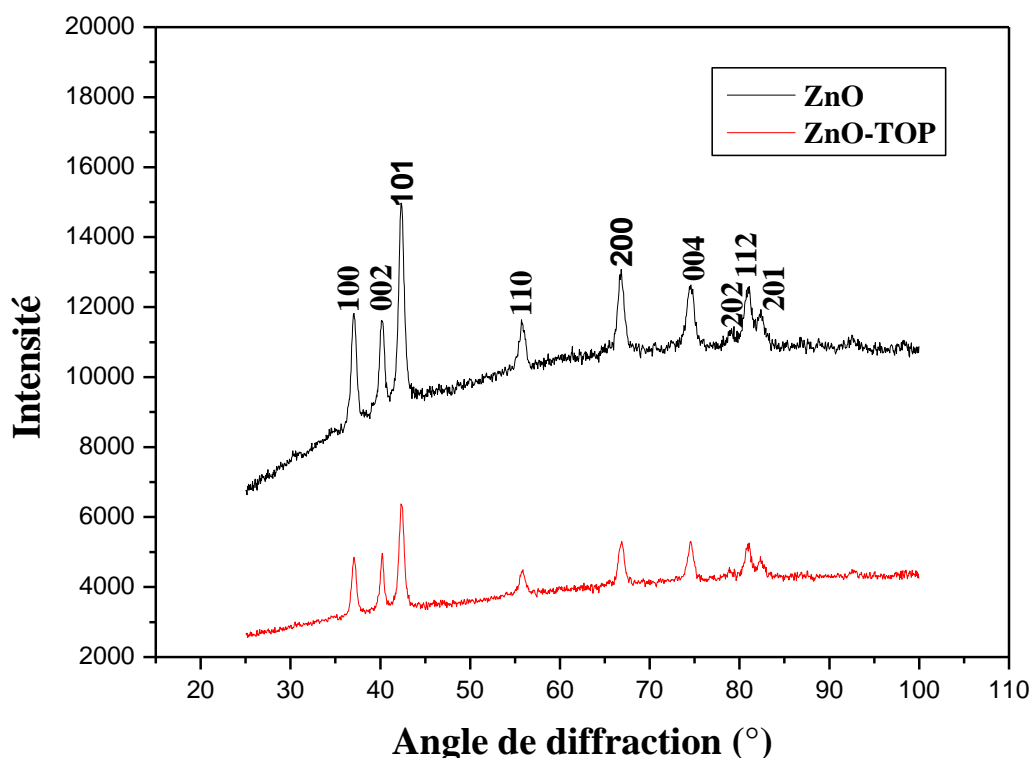


Figure III.2.1. Spectre des rayons X des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP.

D'après la **figure III.2.1** présentant le spectre des rayons X des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP, nous observons, pour les deux échantillons, des pics de diffraction bien définis et larges, correspondant aux plans (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112) et (201) et qui diffractent respectivement à 37.05°, 40.18°, 42.34°, 55.78°, 66.78°, 74.51°, 78.85°, 80.89°, 82.33°, indiquant une structure de ZnO hexagonal wurtzite (carte JCPDS N° 80-0075 pour ZnO) qui a un groupe spatial P63mc. Dans les 2 cas nous avons remarqué que l'intensité des pics est relativement élevée, ce qui indique une haute qualité et une bonne cristallinité. Cependant, les pics de ZnO sont relativement plus intenses comparés à ceux de ZnO-TOP, en raison de la trioctylphosphine (TOP). De plus, la largeur relativement importante des réflexions est principalement associée à la petite taille des grains et à la faible contrainte interne induite par une forte déformation mécanique [6].

La taille moyenne des cristallites (D) de ZnO et ZnO-TOP est calculée à l'aide de l'équation Debye-Scherer [7,8] :

$$D = \frac{K\lambda}{\beta_{hkl}\cos\theta} \quad (1)$$

Tels que :

- K = 0,9
- λ : la longueur d'onde des rayons X, soit $\lambda=1.78 \text{ \AA}$;
- θ : représente le maximum de diffraction du pic de Bragg, en degré ;
- β_{hkl} : la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) du pic DRX, en radian.

L'élargissement instrumental (β_{hkl}) correspondant à chaque pic de diffraction des nanoparticules de ZnO a été corrigé en utilisant l'équation :

$$\beta_{hkl} = [(\beta_{hkl})_{\text{mesurée}} - (\beta_{hkl})_{\text{instrumentale}}] \quad (2)$$

D'après le **tableau III.2.1**, la taille moyenne des cristallites de ZnO et de ZnO-TOP est respectivement de 20.59 et 16.57 nm. La diminution de la taille des cristallites ZnO-TOP peut être attribuée à l'ajout de la trioctylphosphine, jouant un double rôle; inhibiteur de croissance des grains et favorisant une meilleure dispersion des NPs.

La distance interréticulaire d_{hkl} et les paramètres de réseau a et c du réseau hexagonale wurtzite des nanoparticules de ZnO et ZnO-TOP sont calculés à partir de l'équation de la géométrie de réseau comme indiqué ci-dessous [7, 8].

$$\lambda = 2d\sin\theta \quad (3)$$

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \cdot \frac{(h^2+hk+k^2)}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad (4)$$

Les paramètres de réseau a et c peuvent être calculés respectivement à partir des pics (100) et (002).

Le volume de la maille élémentaire du système hexagonal a été calculé à partir de l'équation suivante [9] :

$$V = 0.866X a^2 X C \quad (5)$$

Les valeurs calculées de la distance interréticulaire (d_{hkl}) obtenues à partir du modèle DRX mesurées sont presque identiques aux valeurs d_{hkl} standard correspondant à JCPDS 80-0075 (**Tableau III.2.1**).

Tableau III.2.1. Les données de la DRX des NPs ZnO et ZnO-TOP.

Echantillon	[2θ] (°)	(hkl)	d (Å)	FWHM (rad)	Taille des crystallites (nm)
ZnO	37.05	(100)	2.8031	0.0088	19.33
	40.18	(002)	2.5812	0.0068	25.30
	42.35	(101)	2.4688	0.0090	19.14
	55.78	(102)	1.9037	0.0113	16.11
	66.78	(110)	1.6182	0.0105	18.27
	74.52	(103)	1.4711	0.0104	19.37
	78.86	(200)	1.4016	0.0081	25.74
	80.90	(112)	1.3798	0.0098	21.50
	82.33	(201)	1.3588	0.0140	15.32
ZnO-TOP	37.11	(100)	2.79874	0.0114	20.59
	40.23	(002)	2.59097	0.0094	18.13
	42.40	(101)	2.46196	0.0112	15.35
	55.86	(102)	1.90170	0.0113	16.15
	66.82	(110)	1.61671	0.0129	14.96
	74.55	(103)	1.46985	0.0137	14.74
	79.02	(200)	1.39937	0.0081	23.96
	80.94	(112)	1.37134	0.0147	14.40
	82.33	(201)	1.35877	0.0103	20.85

D'après le **tableau III.2.2**, nous observons que les valeurs des paramètres de réseau diminuent pour ZnO et ZnO-TOP par rapport à ceux des paramètres de réseau standard indiquant la présence de contraintes. La contrainte du réseau peut résulter des déplacements des mailles élémentaires par rapport à leurs positions normales ainsi à d'autres facteurs tels que : la dislocation, la restructuration de surface, les espaces vacants, les interstitiels, etc [10].

Tableau III.2.2. Paramètres de réseau et volume de la maille élémentaire des NPs ZnO et ZnO-TOP.

Échantillon	Paramètres de réseau (Å°)		Rapport	Volume (Å°) ³
	a = b	c	c/a	
ZnO	3.236	5.161	1.597	46.802
ZnO-TOP	3.226	5.179	1.605	46.675
JCPDS N° 80-0075	3.253	5.206	1.603	47.77

Afin de connaître la quantité de contraintes présente dans les échantillons ZnO et ZnO-TOP, nous avons utilisé la méthode de Williamson-Hall (W-H) à partir de laquelle, l'élargissement de la ligne DRX observée dû à la taille des cristallites et à la contribution de la contrainte, peut être écrite comme suite [11] :

$$\beta_{hkl} = \beta_t + \beta_\varepsilon \quad (6)$$

Où :

β_t : élargissement de la taille des cristallites ;

β_ε : élargissement induit par la déformation ;

β_{hkl} : FWHM de l'élargissement corrigé des instruments.

L'élargissement de la ligne de diffraction en raison de la contrainte du réseau qui est induite en raison de l'imperfection et de la distorsion des cristaux, est donnée par :

$$\beta_\varepsilon = 4\varepsilon \tan \theta_{hkl} \quad (7)$$

Où ε est la valeur carrée moyenne de la micro-déformation.

L'élargissement de la ligne de diffraction en raison de la taille des cristallites peut être obtenu à partir de la formule Debye-Scherer.

En considérant la contribution de ces deux élargissements, nous pouvons écrire l'équation (6) comme suit [11,12] :

$$\beta_{hkl} \cos\theta = \frac{K\lambda}{D} + 4\varepsilon \sin\theta \quad (8)$$

L'équation (8) représente le modèle de déformation uniforme (UDM), où toutes les propriétés du matériau sont indépendantes de la direction dans laquelle elles ont été mesurées. Nous avons tracé le graphe ($\beta_{hkl} \cos\theta = f(4\sin\theta)$) pour ZnO (Figure III.2.2. (a)) et ZnO-TOP (Figure III.2.2 (b)).

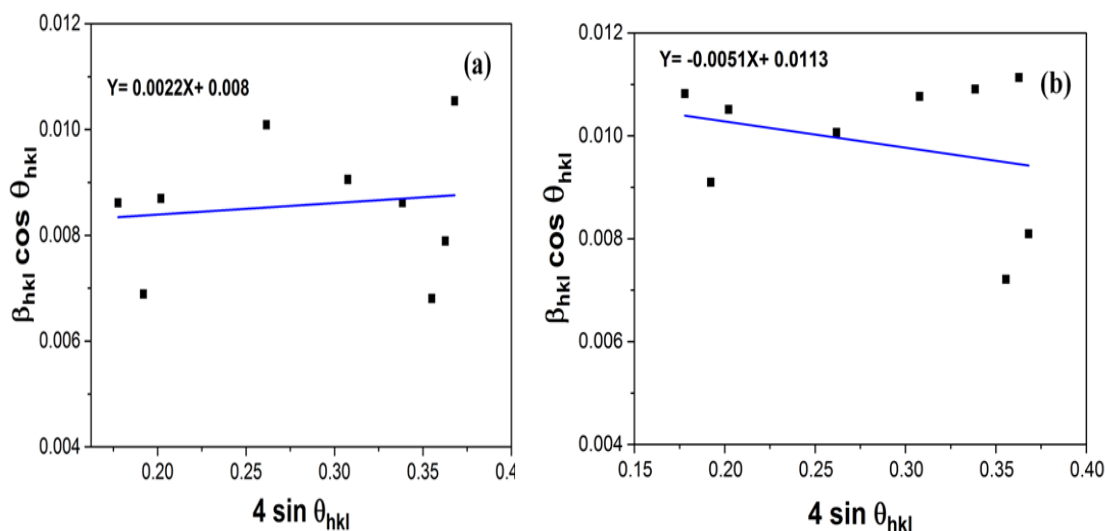


Figure III.2.2. L'analyse W-H de ZnO(a) et ZnO-TOP (b) d'après l'UDM.

La contrainte (ε) peut être exprimée en termes de FWHM (β) et de taille de cristal (D). Elle peut être déterminée à partir de la pente de la ligne et de l'intersection avec l'axe vertical en utilisant la formule Williamson-Hall [13].

D'après la Figure III.2.2. (a), nous observons une pente positive (0.0022), qui peut être dû à la présence de contraintes de traction attribuées à la distorsion du réseau [12], alors que nous constatons une diminution des paramètres de ce dernier. L'obtention d'une pente négative

(-0.0051) (**Figure III.2.2 (b)**) indique la présence de contraintes compressives qui peuvent apparaître en raison du rétrécissement du réseau [10]. Ces observations confirment les résultats des paramètres du réseau calculés.

Tableau III.2.3. Paramètres microstructuraux des NPs de ZnO et de ZnO-TOP.

Echantillon	Formule de Debye-Scherrer D (nm)	(Méthode W-H) UDM		Taille (MET) (nm)
		D (nm)	$\epsilon \times 10^{-3}$	
ZnO	20.59	12.57	2.2	21.96
ZnO-TOP	16.57	8.85	5.5	16.28

Le **tableau III.2.3** regroupe les paramètres géométriques des nanoparticules de ZnO obtenus à partir de la formule de Scherrer, de l'analyse W-H et des résultats de la MET.

Nous notons que les valeurs de la taille moyenne des cristallites obtenues à partir d'UDM sont en accord avec celles obtenues à partir de la formule de Scherrer et de MET.

Il est important de mettre en évidence la différence entre la taille des cristallites calculée à partir de la diffraction des rayons X et la taille des particules estimée à partir des images MET; une particule est faite de plusieurs cristallites. Comme les deux valeurs sont proches, cela signifie que les nanoparticules telles que préparées sont en fait constituées d'une cristallite (cristal).

Etant donné que le calcul de la taille des cristallites à l'aide de la relation de Scheerer ne peut pas être toujours précis, nous avons réalisé des analyses avec le MET afin de confirmer la dimension des nanoparticules de ZnO. La **figure III.2.3 (a)** montre que les nanoparticules de ZnO sont sphériques et possèdent une taille de l'ordre de 21.96 nm.

Dans le cas de ZnO-TOP, la **figure III.2.3 (b)** présente des nanoparticules de ZnO dispersées possédant une taille de l'ordre de 16.28 nm. Il ressort clairement de la distribution granulométrique que la taille des particules varie dans une gamme relativement étroite de 15-35 nm pour ZnO (**figure III.2.3(c)**) alors que pour ZnO-TOP (**figure III.2.3(d)**) dans l'intervalle 5-25 nm. Nous avons obtenu pour ZnO et ZnO-TOP respectivement environ 59% et 78% de particules ayant une taille moyenne de l'ordre de 21.96 et 16.28 nm, indiquant ainsi un autre avantage de l'utilisation de la trioctylphosphine. Ces particules ont approximativement la taille moyenne des cristallites déterminées par DRX.

À partir de ces résultats, nous pouvons conclure que le TOP est un bon agent dispersant.

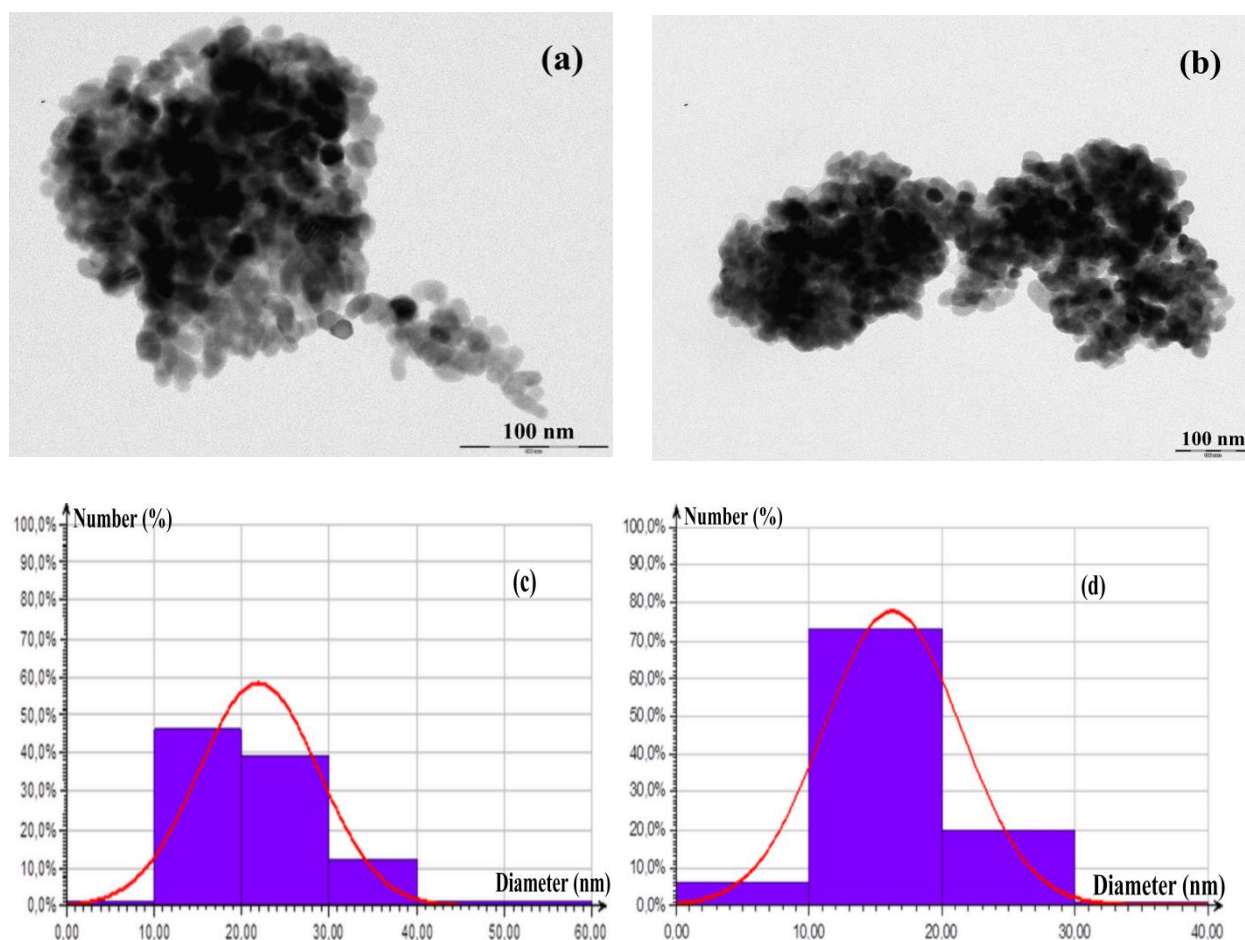


Figure III.2.3. Micrographies MET des NPs de ZnO (a) et ZnO-TOP(b) et les histogrammes de leurs distribution de tailles ZnO (c) et ZnO-TOP (d).

III.2.2 Caractérisation des nanoparticules de ZnS et ZnS-TOP

La **figure III.2.4** présente le spectre des rayons x des nanoparticules de ZnS et ZnS-TOP, qui ont été synthétisées à partir de l'hydrolyse forcée de l'acétate de Zinc. Des pics larges bien définis avec une intensité relativement faible indiquent la formation de particules nanométriques et la distribution de la déformation locale dans la structure cristalline en raison de défauts tels que les dislocations [14]. Les valeurs observées sont indexées dans la structure cubique ZnS de type sphalérite, conformément à la carte JCPDS n ° 01-080-0020. Pendant ce temps, un léger décalage vers des angles plus élevés est observé, ce qui peut être associé à une

contraction du réseau cristallin [15]. De plus, aucun pic de diffraction caractéristique d'impureté n'a pu être observé, ce qui indique une pureté élevée de ZnS.

En utilisant la formule de Scherrer (**Tableau III.2.4**), la taille moyenne des cristallites de ZnS est beaucoup plus petite que celle de ZnO; i.e.3.63 nm. L'addition du TOP au cours de la synthèse n'induit aucun changement de la structure cristalline originale de la phase ZnS, car des pics identiques d'intensité relativement faible sont observés aux mêmes positions, voir la **figure III.2.4**.

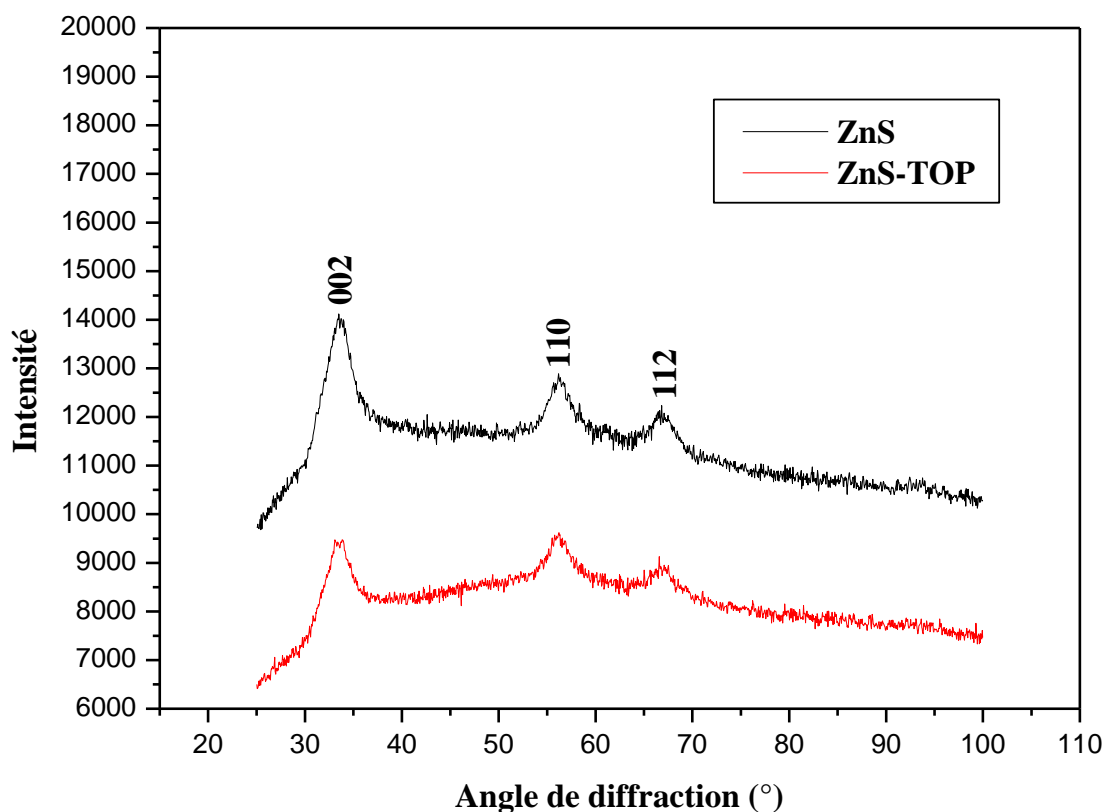


Figure III.2.4. Spectre DRX des NPs ZnS et ZnS-TOP.

Tableau III.2.4. Les données de la DRX des NPs ZnS.

Échantillon	[2 θ] (°)	(hkl)	d (Å)	FWHM (rad)	Taille cristalline (nm)
ZnS	33.3811	(111)	3.09888	0.05081824	3.307704476
	35.9116	(200)	2.88698	0.05080428	3.331481999
	56.3725	(220)	1.88425	0.04115467	4.438665005
	66.7145	(311)	1.61860	0.05588579	3.449297291

Tableau III.2.5. Paramètres de réseau et volume de la maille élémentaire des NPs de ZnS

Échantillon	Paramètres du réseau a=b=c (Å)	Volume (Å) ³
ZnS	5.3671	154.63085

Les paramètres microstructuraux des NPs de ZnS (**Tableau III.2.6**) déduit de la **figure III.2.5**, représentant l'analyse W-H d'après l'UDM sont la contrainte ($\varepsilon = -3.5 \cdot 10^{-3}$) et la taille des cristallite ($D = 3.5 \cdot 10^{-3}$). La micro-déformation négative indique la présence d'une contrainte compressive [17]. La taille des cristallites déterminée par la formule de W-H est en accord avec celle obtenue par la formule de Scherrer.

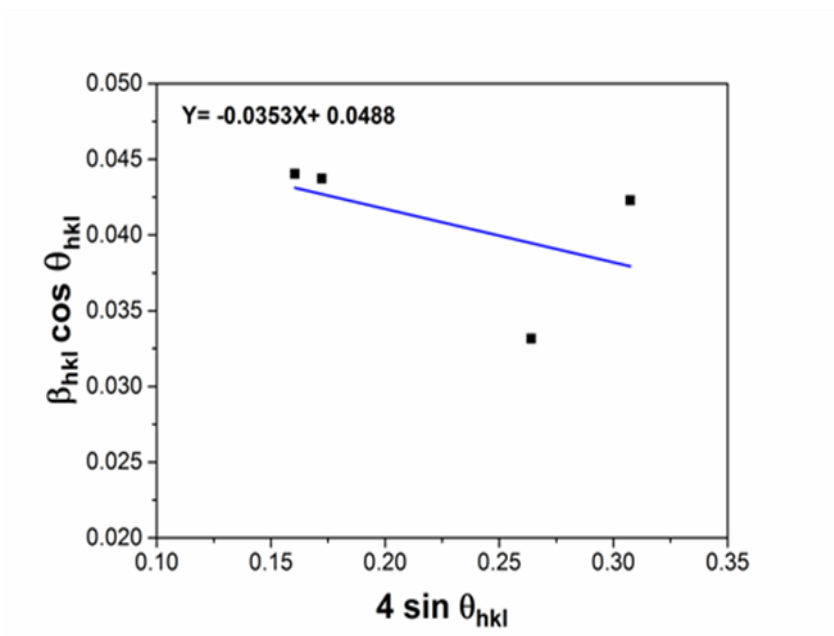


Figure III.2.5. Analyse W-H des NPs de ZnS d'après l'UDM.

Tableau III.2.6. Paramètres microstructuraux des NPs de ZnS

Echantillon	Formule de Debye-Scherrer D (nm)	(Méthode W-H) UDM	
		D (nm) $\times 10^{-3}$	
ZnS	3.63	2.05	3.5

La distance inter-réticulaire (d_{hkl}) est calculée à partir de la relation de Bragg (3). La constante (a) du réseau de ZnS cubique peut être obtenue à partir de l'équation suivante [16] :

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2} \quad (9)$$

La constante de réseau calculée en utilisant le plan (111) est d'environ 5.36 \AA , elle est légèrement plus petite par rapport à la valeur standard. Cette régression confirme bien la présence de la contrainte de compression indiquée ci-dessus.

Comme l'indique la **figure III.2.4**, les pics obtenus des NPs de ZnS-TOP sont identiques à ceux des NPs de ZnS. De ce fait, nous pouvons déduire que le TOP n'a aucune influence sur les nanoparticules de ZnS.

D'après les micrographies MET des nanoparticules de ZnS et ZnS-TOP présentées respectivement dans la **figure III.2.6 (a)** et **III.2.6 (b)**, nous remarquons que, les NPs de ZnS ont tendance à former de grands agrégats, ce qui empêche l'évaluation de leur taille. Par conséquent, nous pouvons conclure que l'utilisation du TOP pendant la synthèse ne joue pas le rôle d'agent dispersant comme c'était le cas pour les NPs de ZnO, ce qui peut être dû à sa structure cristalline [17].

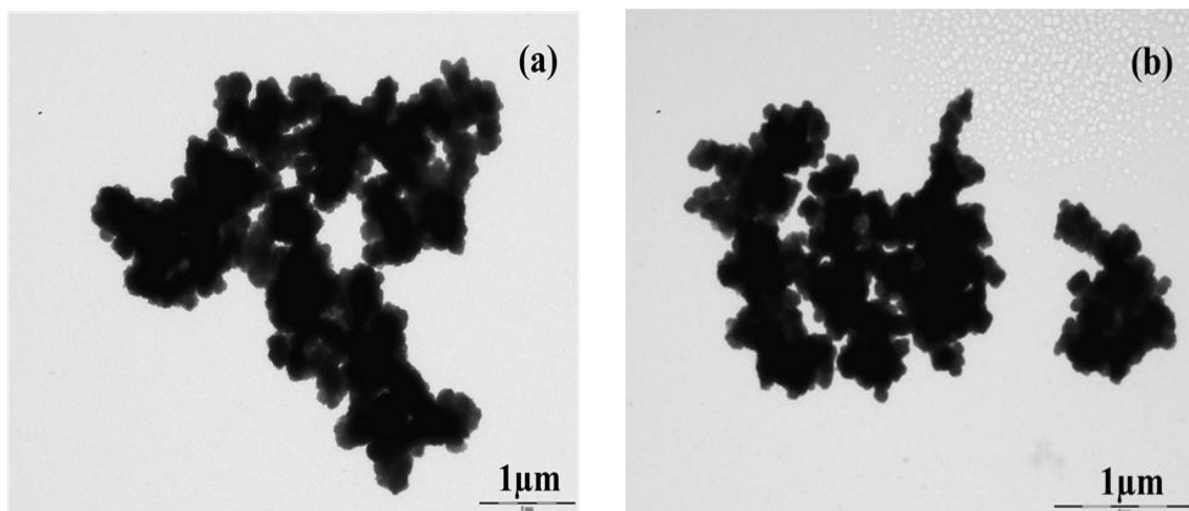


Figure III.2.6. Micrographies MET des nanoparticules de ZnS (a) et ZnS-TOP (b).

III.2.3 Caractérisation des films nanostructurés de ZnO par MEB

Dans notre travail, nous avons essayé de déposer des films nanostructurés de ZnO sur un substrat en verre par le procédé de revêtement par centrifugation (spin-coating). Pour cela nous avons utilisé deux types de solvant à savoir l'éthanol et l'éthanol-2-méthoxy. Le dépôt par centrifugation a été effectué à température ambiante. Les cycles de revêtement ont été répétés plusieurs fois jusqu'à l'obtention de l'épaisseur désirée.

Les **tableaux III.2.7 et III.2.8** rassemblent les conditions et les paramètres de dépôts utilisés pour la préparation des films nanostructurés de ZnO.

Tableau III.2.7. Conditions opératoires de préparation des films nanostructurés de l'essai 1 à l'essai 6.

Essai Paramètres	1	2	3	4	5	6
Concentration de ZnO.10⁻³ (mol/L)	49	49	49	49	49	49
Solvant	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol-2- méthoxy	Ethanol-2- méthoxy	Ethanol-2- méthoxy
Vitesse de rotation (rpm)	2000	2000	1500	5000	5000	5000
Accélération (rpm/s)	1500	500	500	700	700	1000
Durée (s)	30	30	30	20	20	20
Volume (μL)	150	250	500	100	200	100
Nombre de répétition	1	4	10	4	4	10
Durée entre les répétitions (s)	-	10	15	10	10	10
Observations MEB	Figures III.2.7.a III.2.7.b III.2.7.c III.2.7.d	Figures III.2.8.a III.2.8.b III.2.8.c	Figures III.2.9.a III.2.9.b III.2.9.c	Figures III.2.10.a III.2.10.b III.2.10.c	Figures III.2.11.a III.2.11.b III.2.11.c	Figures III.2.12.a III.2.12.b III.2.12.c

Les micrographies des films nanostructurés obtenues par MEB, en utilisant l'éthanol comme solvant, ont montré que les dépôts des NPs de ZnO sont non homogènes (**Figures III.2.7 (a, b, c et d), III.2.8 (a, b et c) et III.2.9 (a, b et c)** aux différents grossissements). Nous observons une mauvaise dispersion des nanoparticules à la surface de la lame en verre. Ces résultats sont peut-être dus à la faible polarité du solvant (Ethanol).

En utilisant l'éthanol-2-méthoxy comme solvant, nous avons obtenus des films nanostructurés non uniformes (**Figures III.2.10 (a,b et c) et III.2.11(a,b et c)**) malgré que nous avons doublé le volume de la solution de ZnO.

En augmentant l'accélération du spineur de 700 à 1000 rpm/s, les films obtenus sont toujours non uniforme (**Figures III.2.12 (a, b, et c)**).

Notons que tous les films obtenus n'ont pas une bonne adhérence au substrat (lame de verre).

Les **figures III.2.13 (a, b, c, et d), III.2.14 (a, b, c, et d) et III.2.15 (a, b et c)** (aux différents grossissements) qui montrent que les conditions opératoires utilisées, permettent d'obtenir des films non uniforme, ceci peut-être dû à la présence d'eau dans le solvant ou dans l'atmosphère, en empêchant ainsi un mouillage complet de la surface du substrat, comme il a été observé par Partridge *et al.*[18].

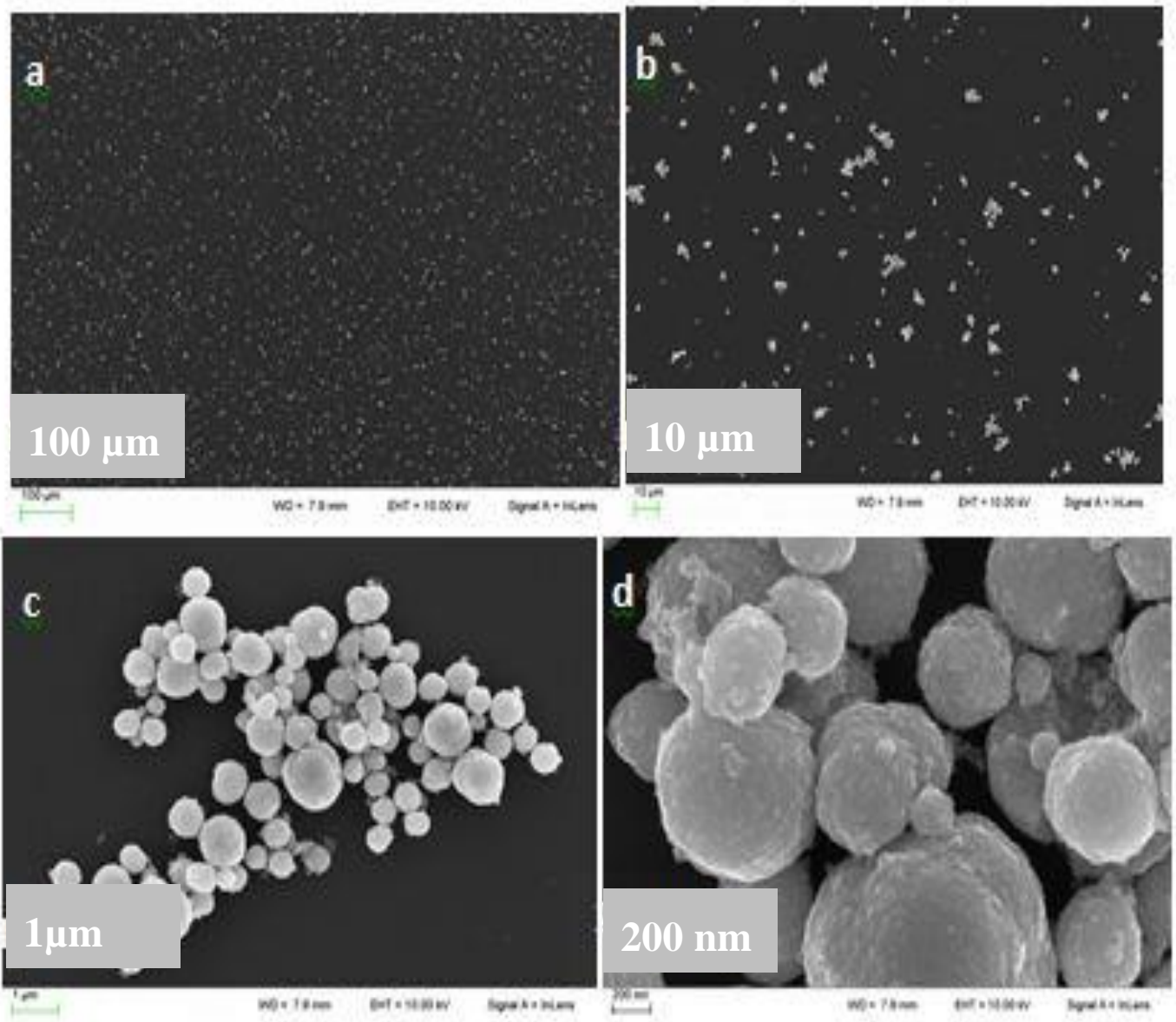


Figure III.2.7. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x100μm), b(x10μm), c(x1μm) et d (x200 nm) de l'essai 1.

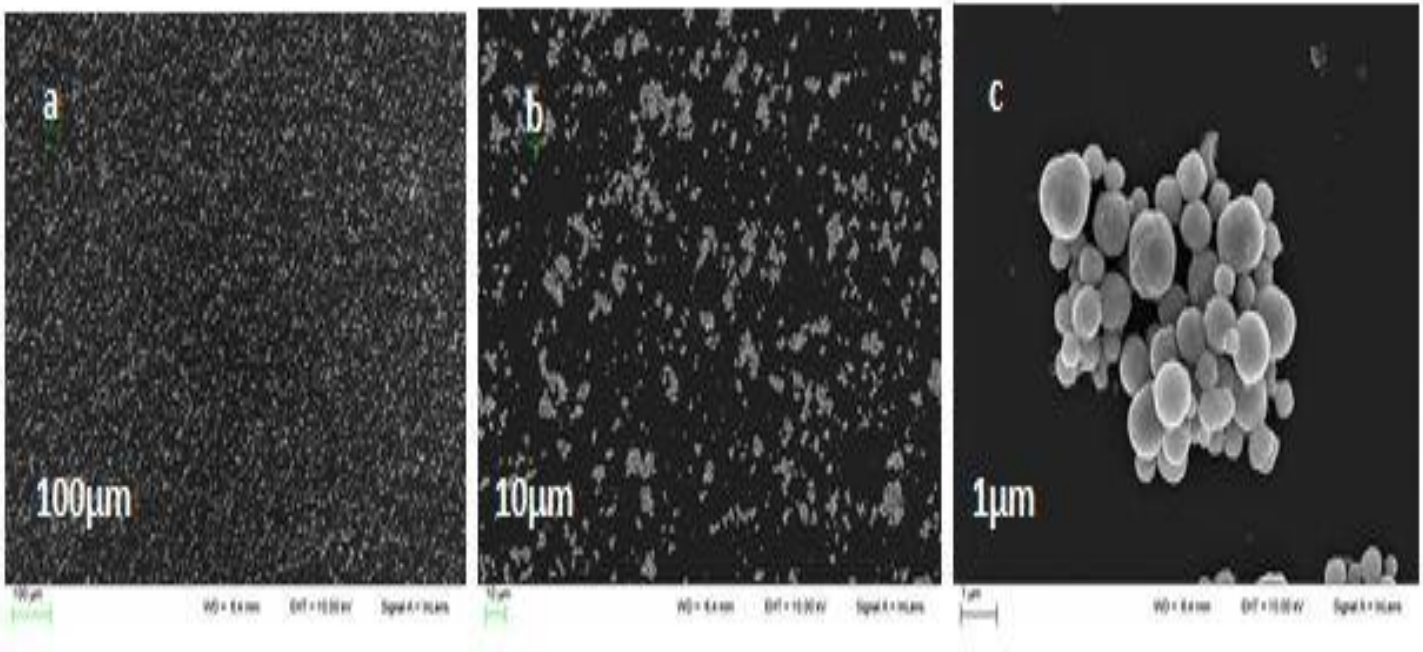


Figure III.2.8. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO (x100μm), b(x10μm) et c(x1μm) de l'essai 2.

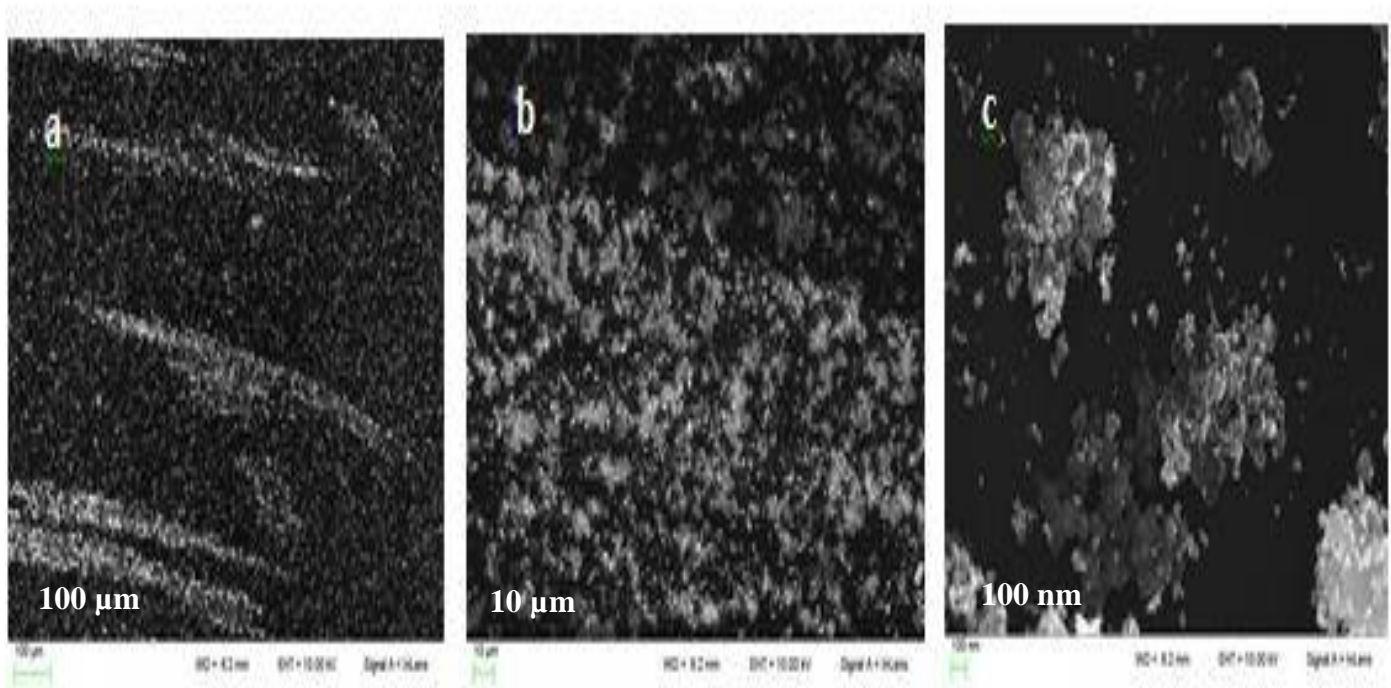


Figure III.2.9. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x100μm), b(x10μm) et c(x100nm) de l'essai 3.

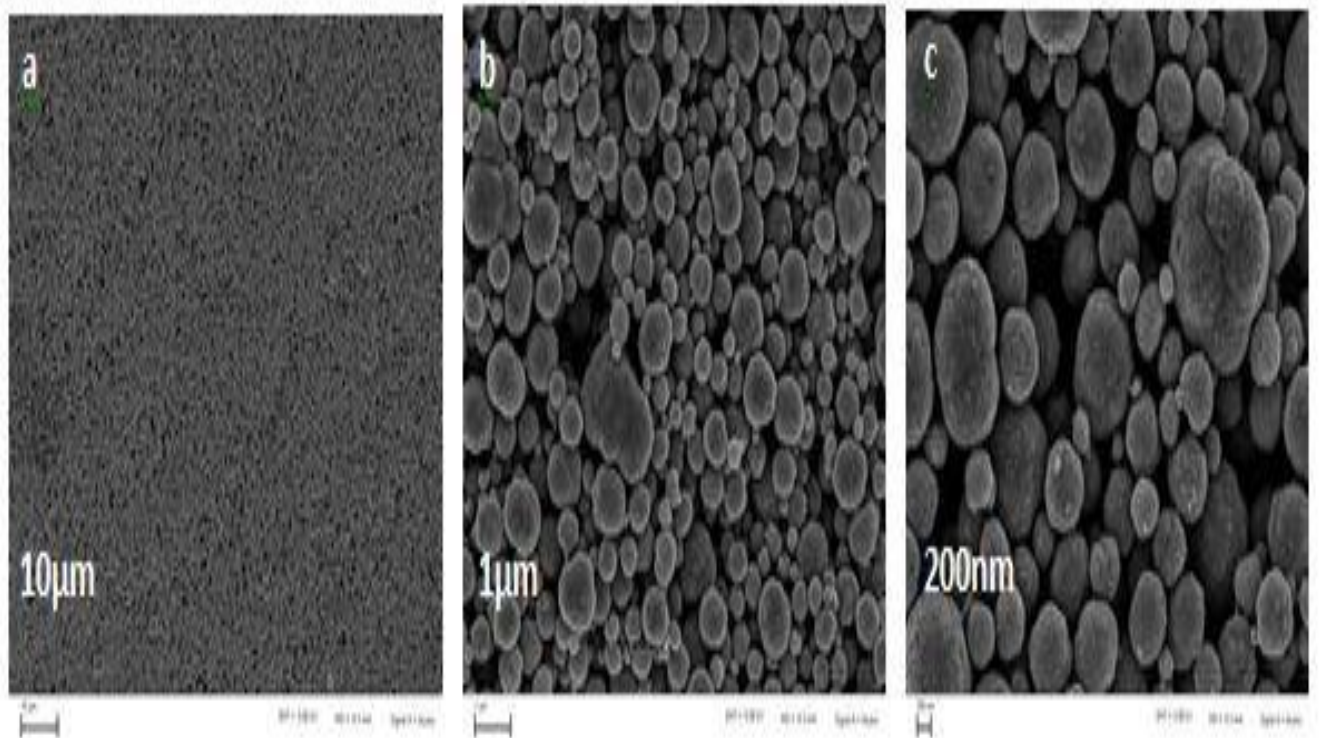


Figure III.2.10. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10μm), b(x1μm) et c(x200 nm) de l'essai 4.

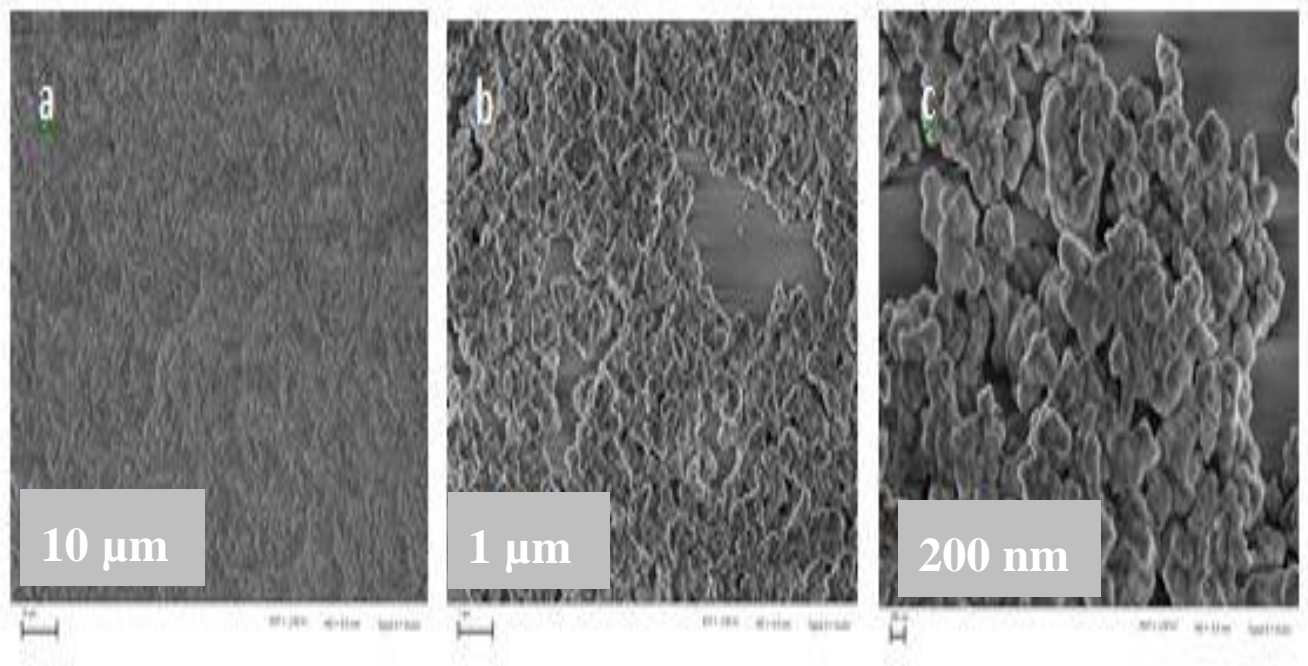


Figure III.2.11. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10μm), b(x1μm) et c(x200 nm) de l'essai 5.

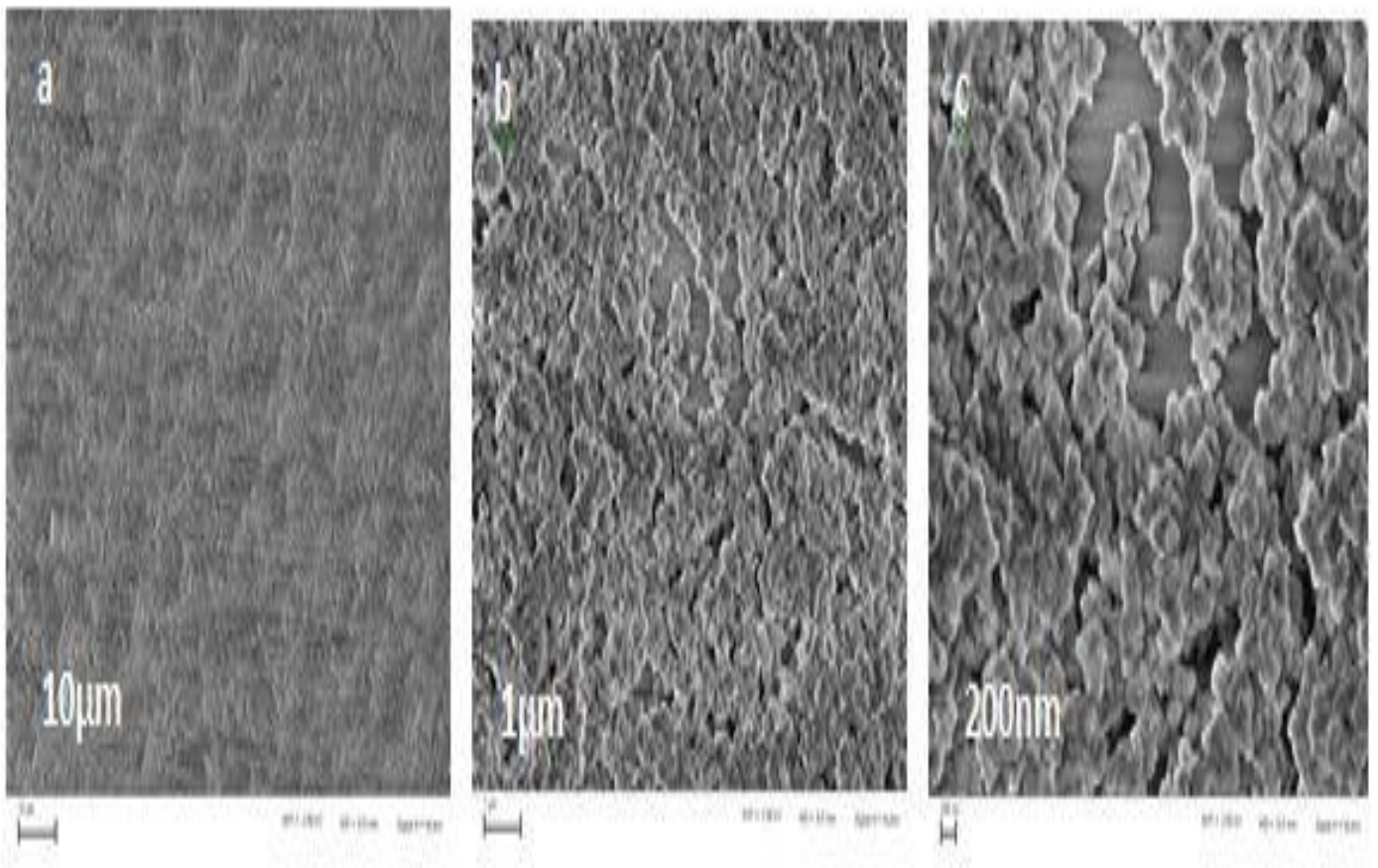


Figure III.2.12. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10 μ m), b(x1 μ m) et c(x200nm) de l'essai 6.

Tableau III.2.8. Conditions opératoires de préparation des films nanostructurés de l'essai 07 à l'essai 10.

Essai Paramètres	07	08	09	10
Concentration de ZnO .10⁻³(mol/L)	49	98	98	98
Solvant	Ethanol-2-méthoxy	Ethanol-2-méthoxy	Ethanol-2-méthoxy	Ethanol-2-méthoxy
Vitesse de rotation (rpm)	5000	1500	5000	2500
Accélération (rpm/s)	700	700	700	700
Durée (s)	20s	40s	40s	40s
Volume (µL)	50	200	300	300
Nombre de répétition	4	10	10	10
Durée entre les répétitions (s)	10	10	10	10
Observations MEB	Figures III.2.13.a III.2.13.b III.2.13.c III.2.13.d	Figures III.2.14.a III.2.14.b III.2.14.c III.2.14.d	Figures III.2.15.a III.2.15.b III.2.15.c	Figures III.2.16.a III.2.16.b III.2.16.c III.2.16.d

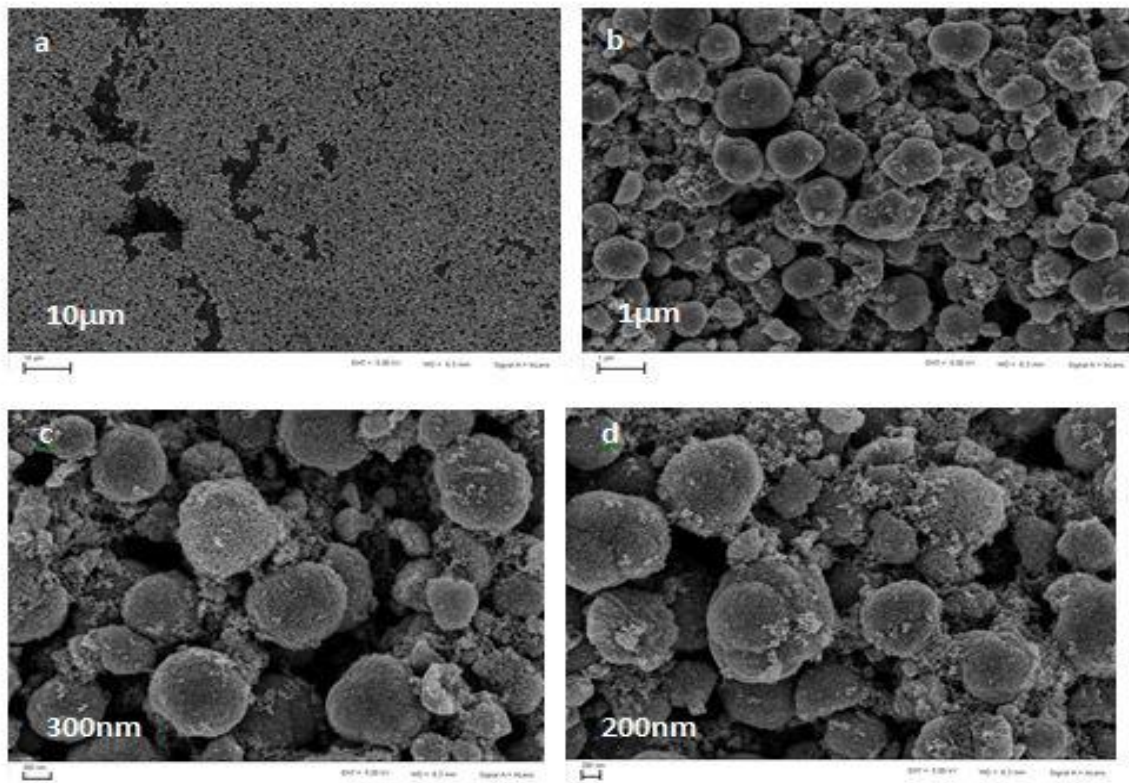


Figure III.2.13. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10 μ m), b(x1 μ m) c(x300nm) et d(x200 nm) de l'essai 7.

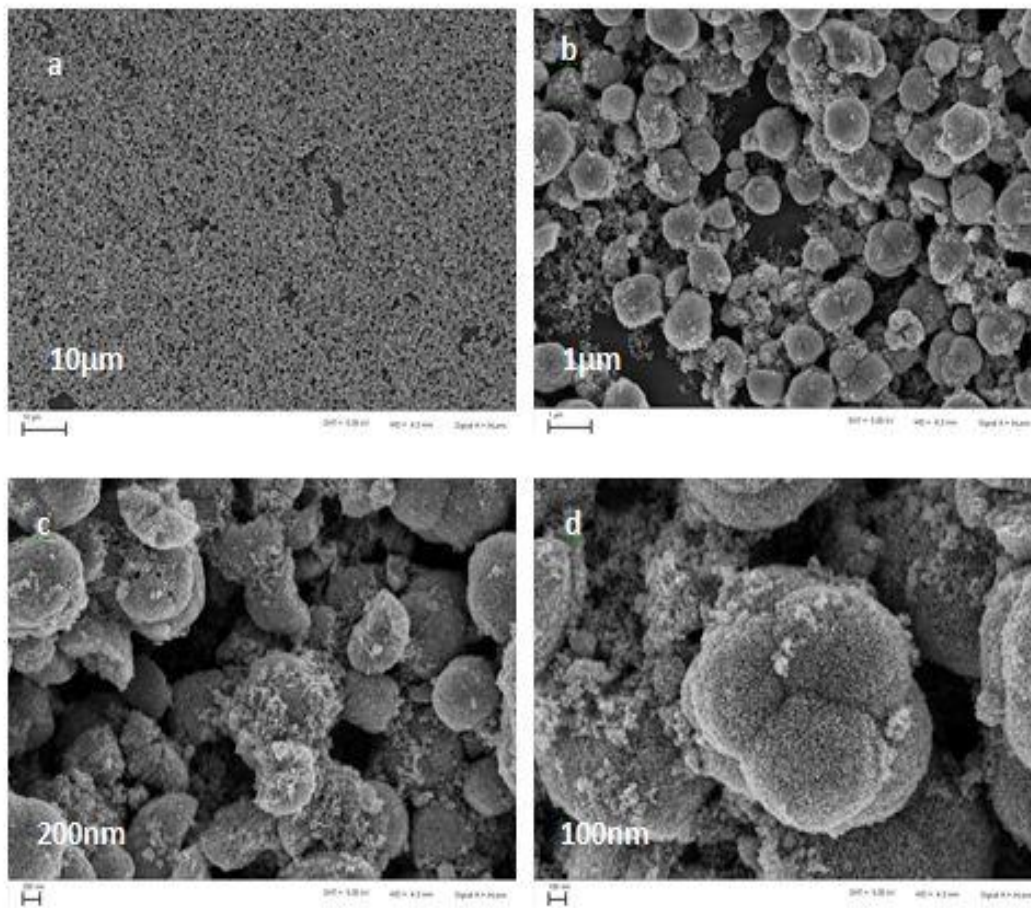


Figure III.2.14. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm), c(x200nm) et d(x100 nm) de l'essai 8.

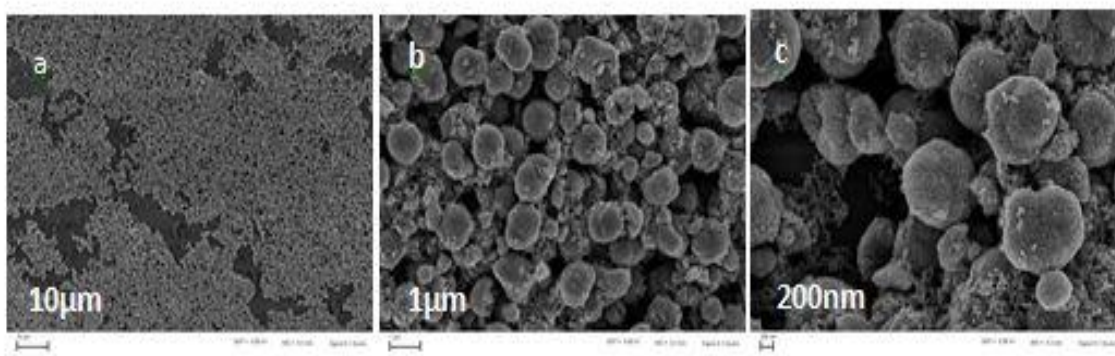


Figure III.2.15. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a(x10µm), b(x1µm) et c(x200nm) de l'essai 9.

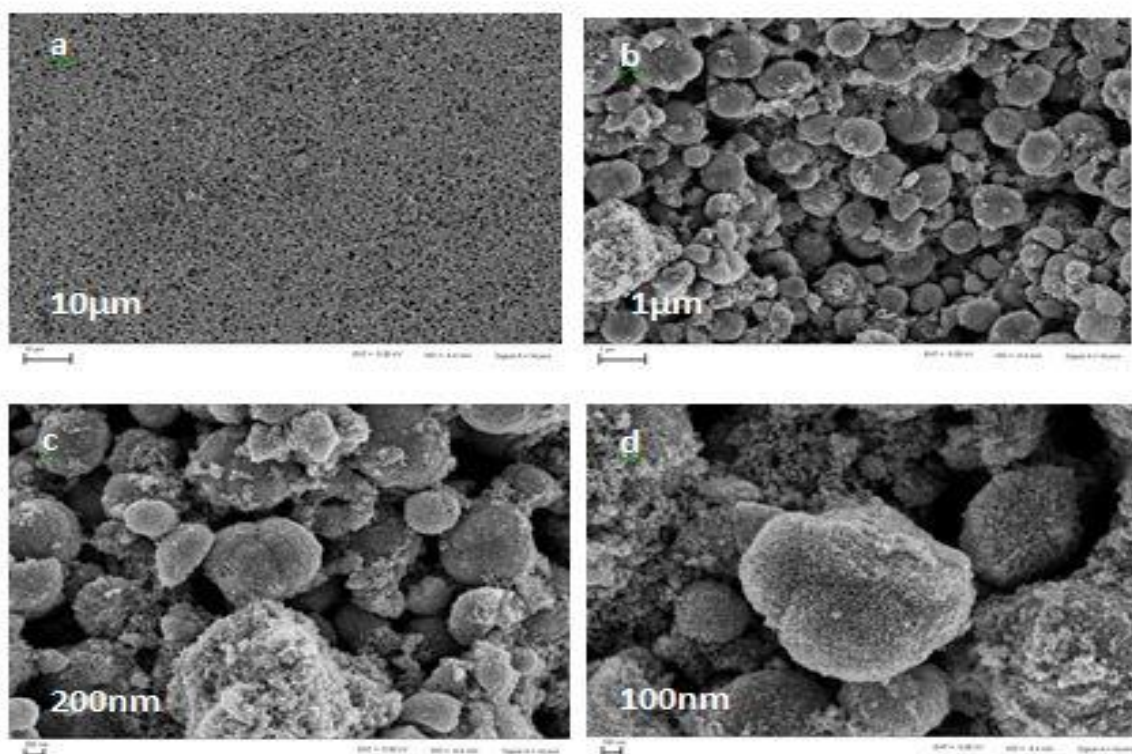


Figure III.2.16. Micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO a ($\times 10\mu\text{m}$) ; b($\times 1\mu\text{m}$) c($\times 200\text{ nm}$) et d ($\times 100\text{ nm}$) de l'essai 10.

La **figure III.2.16** correspondant à l'essai 10, montre des micrographies MEB aux différents grossissements (a ($\times 10\mu\text{m}$) ; b($\times 1\mu\text{m}$) ; c($\times 200\text{ nm}$) et d ($\times 100\text{ nm}$)) d'un film nanostructuré de ZnO. Nous observons la formation d'agrégats avec diverses tailles micrométriques ($\approx 700\text{ nm}$) ayant une morphologie en forme de champignon et recouvrant toute la surface du substrat de verre. Le film de ZnO présente une porosité élevée et une rugosité importante. Cependant, un zoom d'un agrégat sélectionné indique qu'il est formé de particules très fines dans le régime nanométrique. Ce type de morphologie est très important pour la photocatalyse, car il possède de nombreux sites actifs. Notons que le poids massique du ZnO sur le substrat est de 13%.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que la formation du film nanostructuré de ZnO dépend du choix de plusieurs paramètres tels que :

- le choix du solvant
- la vitesse de rotation ;

- la concentration de la solution déposée ;
- le nombre de répétition ;
- la durée de rotation.

III.2.4 Mesure de l'angle de contact du film nanostructuré de ZnO

La **figure III.2.17** montre l'angle de contact de l'eau sur le film nanostructuré de ZnO. Cet angle est de l'ordre de 38.14° , ce qui indique que ce film a un caractère hydrophile.



Figure III.2.17: Angle de contact de l'eau sur le film nanostructuré de ZnO.

III.2.5 Effet bactéricide du film nanostructuré de ZnO sur la *E.coli*

L'effet bactéricide du film nanostructuré de ZnO a été testé sur la bactérie *E.coli*. Nous avons dénombré les bactéries vivantes en comptant le nombre d'unité formants de colonies (UFC).

La **figure III.2.18**, montre la variation du nombre de bactéries en fonction du temps de contact. Nous remarquons une diminution de 72% du nombre de bactéries en présence du film

nanostructuré de ZnO pour un temps de contact de 30min et une inactivation de 94% est atteinte après un temps de contact de 90min. Alors qu'en absence du film nanostructuré de ZnO, le nombre de bactéries est resté constant pendant les 90min. A cet effet, nous pouvons conclure que le film nanostructuré de ZnO a un effet bactéricide sur la *E.coli*.

Différents mécanismes d'action biocide des films de ZnO sur la *E.coli* ont été rapportés dans la littérature, parmi lesquels nous citons :

1- L'interaction des nanoparticules de ZnO avec la cellule bactérienne qui conduit à des modifications de la membrane cellulaire et, par conséquent, entraîne une expulsion des composants intracellulaires et finalement l'inactivation de la cellule [19,20].

2- La formation, des ions Zn^{2+} et des espèces réactives de l'oxygène (ROS), engendrées par les nanoparticules de ZnO, endommage la cellule bactérienne [19,20,21].

Dans notre cas, l'inactivation de *E.coli* peut être expliquée par la destruction de sa paroi cellulaire due aux espèces réactives ROS ($\cdot OH$ ou $\cdot O^{2-}$) générées par le film de ZnO. Ce qui a été confirmé par Applerot *et al.* [22], qui ont prouvé que les radicaux hydroxyles principalement et quelques espèces de radicaux oxy présents dans la solution sont les composants majeurs responsables de l'effet bactéricide des nanoparticules de ZnO. Ces ROS ont été détectées par la méthode Résonance Spin Electron (ESR).

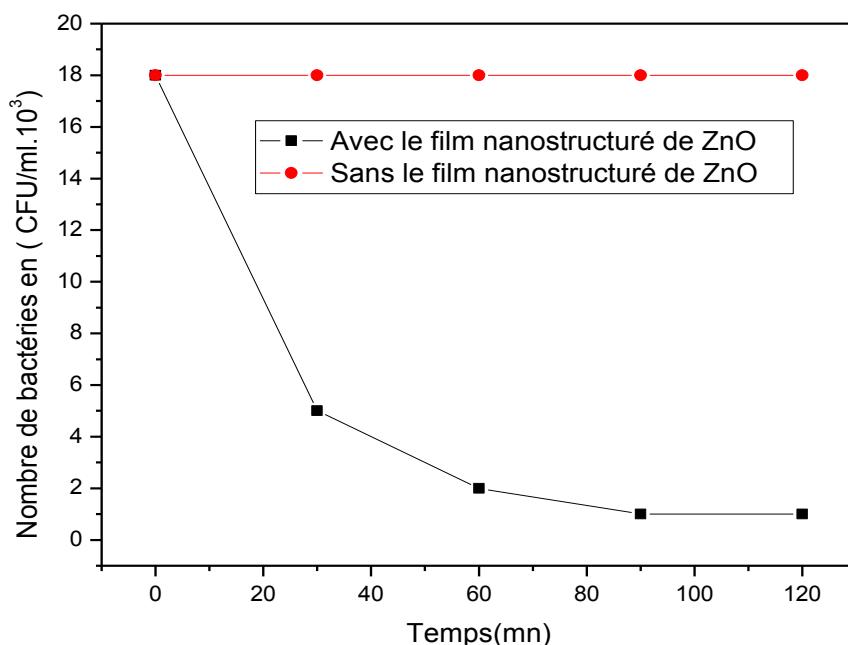


Figure III.2.18: Variation du nombre de bactéries en fonction du temps.

III.2.6 Caractérisations électrochimiques (EIS) du film nanostructuré de ZnO en absence et en présence de la bactérie *E. coli*

Une étude du comportement du film ZnO adhérent sur une plaque en verre, plongé dans le PBS en régime hydrostatique, a été réalisée par impédancétrie électrochimique afin de mettre en évidence l'effet biocide du film ZnO sur les bactéries *E.coli*. Les diagrammes d'impédance permettent de décomposer les mécanismes réactionnels en processus élémentaires. Nous pouvons mettre en évidence les phénomènes de transfert de charge, d'adsorption d'espèces et de diffusion ; il est également possible de déterminer les paramètres caractéristiques relatifs à chacun de ces processus. Un balayage de fréquences a été effectué des hautes fréquences (HF) (100kHz) aux basses fréquences (BF) (10 mHz) avec une perturbation sinusoïdale de 5 mV d'amplitude autour du potentiel libre. Sur cet intervalle de potentiel, le système est quasi stationnaire [23].

Les mesures d'impédance électrochimique ont été réalisées dans les mêmes conditions en absence et en présence de *E.coli* dans du PBS.

Notre électrolyte est riche en ions chlorures (8g/l), dont les cinétiques électrochimiques sont rapides. Ceci induit, alors, l'apparition et la croissance des produits de corrosion qui peuvent en effet jouer le rôle d'inhibiteur de corrosion, par limitation de la réduction

d'oxygène. La modélisation de ces systèmes n'est donc pas aisée et doit prendre en compte les réactions d'oxydo-réductions de la surface.

L'aspect du diagramme d'impédance électrochimique obtenu (**Figure III.2.19**), montre l'existence d'une droite aux HF, cela est peut être dû à un processus parasite ou extra de l'interface électrochimique, ce phénomène est probablement causé par l'utilisation d'une électrode de référence au calomel saturé, dont la paroi est composée de verre fritté [24]. Tandis qu'aux BF, nous observons l'apparition d'une boucle inductive qui est peut-être dû à une variation du taux de recouvrement de la surface induite par des réactions d'adsorption ou de désorption.

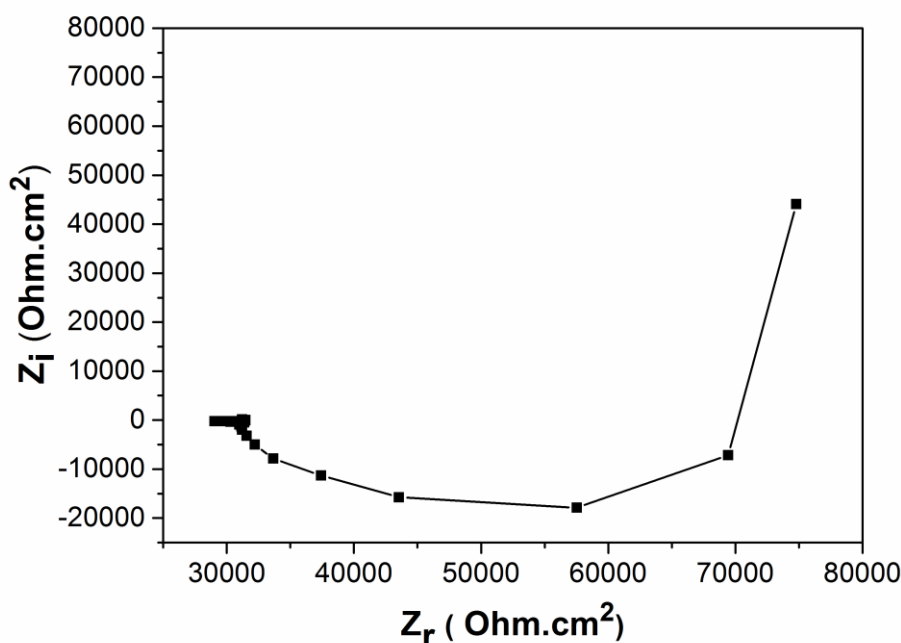


Figure III.2.19. Diagramme d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en absence de E.coli

En revanche, pour le diagramme d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en présence de *E.Coli*, obtenu après un temps d'immersion de 30 mn (**figure III.2.20**), nous observons une boucle capacitive dont le diamètre important traduit une résistance de transfert de charge, qui est due à la présence d'un biofilm passif résistant à la surface de l'électrode de travail, suivie d'une deuxième boucle inductive qui est peut être due au détachement du biofilm induit par des réactions de désorption, ce qui a été confirmé par la diminution du nombre de bactéries dans l'électrolyte.

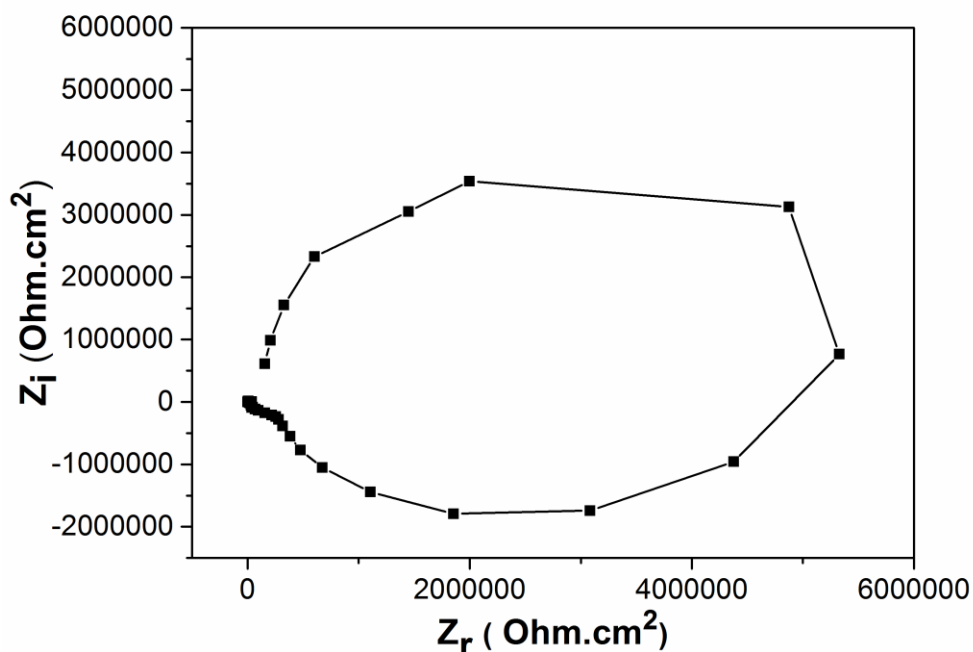


Figure III.2.20. Diagramme d'impédance électrochimique en représentation de Nyquist du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en présence de *E.coli*, après 30min d'immersion.

Une interface électrochimique peut être simulée par un circuit électrique avec des éléments passifs tels que des résistances, des capacités et des inductances. Nous pouvons donc essayer de trouver un circuit équivalent au système électrochimique étudié.

Les **figures III.2.21 et III.2.22** représentent respectivement les circuits équivalents correspondant au diagramme d'impédance du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en absence et en présence de *E.coli*. L'ajustement avec les circuits équivalents a donné les paramètres électrochimiques représentés dans le **tableau III.2.9**.

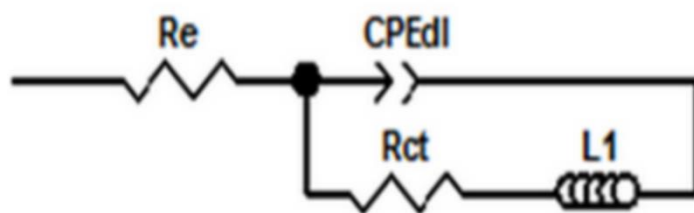


Figure III.2.21. Circuit équivalent relatif au film nanostructuré de ZnO immergé dans du PBS en absence de *E.coli*.

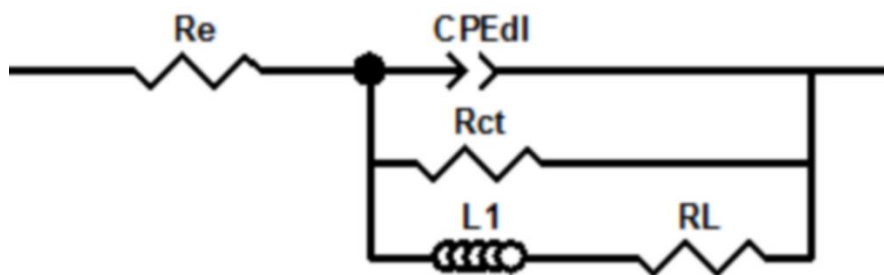


Figure III.2.22. Circuit équivalent relatif au film nanostructuré de ZnO immergé dans du PBS en présence de *E.coli*.

Tableau III.2.9. Paramètres électrochimiques déduits des circuits équivalents du film nanostructuré de ZnO dans du PBS en absence et en présence de *E.coli*.

	Re (Ω)	CPE_{dl} ($F.s^{1/n}$)	a1	Rct (Ω)	R_L (Ω)	L (H)
Sans E.Coli	31079	/	/	0.031312	/	0.0188
Avec E.Coli	241650	$3.14.10^{-12}$	0.9	5.10^6	41732	543

Références bibliographiques

- [1] **B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge**, "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease", *Biochem. J.*, 219 (1984) 1–14.
- [2] **G. Brand, F. Cattabeni, A. Albane, O. Cantoni**, "Role of hydroxyl radicals in *Escherichia coli* killing induced by hydrogen peroxide", *Free Radical Res. Com.*, 6 (1989) 47–55.
- [3] **M.D. Labas, C.S. Zalazar, R.J. Brandi, A.E. Cassano**, "Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen peroxide", *Biochem. Eng. J.*, 38 (2008) 78–87.
- [4] **Y. Yang, M. Kitajima, T.P.T. Pham, L. Yu, R. Ling, K.Y.H. Gin, M. Reinhard**, "Using *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 to evaluate hydrogen peroxide as a biofouling control agent in membrane treatment systems", *Lett. Appl. Microbiol.*, 63 (2016) 488-494.
- [5] **T. Pottage, S. Macken, J.T. Walker, A.M. Bennett**, "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* is more resistant to vaporized hydrogen peroxide than commercial *Geobacillus stearothermophilus* biological indicators", *J.Hosp. Infect.*, 80 (2012) 41-45.
- [6] **N.A.K. Aznan, M.R. Johan**, "Quantum size effect in ZnO nanoparticles via mechanical milling", *J. Nanomater.*, 2012 (2012) 3.
- [7] **M.M. Hasan Farooqi, R.K. Srivastava**, "Enhanced UV–vis photoconductivity and photoluminescence by doping of samarium in ZnO nanostructures synthesized by solid state reaction method", *Optik*, 127 (2016) 3991–3998.
- [8] **B.D. Cullity**, "Elements of X-ray diffraction", Addison Wesley, USA, 1978.
- [9] **D. Theyvaraju, S. Muthukumaran, M. Ashokkumar**, "pH-induced modification on the structural, optical and morphological properties of $Zn_{0.94}Ni_{0.04}Mn_{0.02}O$ nanopowders", *J. Mater.Sci: Mater Electron.*, 24 (2013) 5189–5198.
- [10] **D. Verma, A.K. Kole, P. Kumbhakar**, "Red shift of the band-edge photoluminescence emission and effects of annealing and capping agent on structural and optical properties of ZnO nanoparticles", *J. Alloys Compd.*, 625 (2015) 122-130.
- [11] **V.D. Mote, Y. Purushotham, B.N. Dole**, "Williamson-Hall analysis in estimation of lattice strain in nanometer-sized ZnO particles", *J. Theor. Appl. Phys.*, 6 (2012) 2251-7235.
- [12] **S. Chakraborty, P. Kumbhakar**, "Observation of bandgap narrowing effect and photoluminescence emission characteristics of chemically synthesized Co doped ZnO nanosheets", *Indian J. Phys.*, 88 (2014) 251-257.
- [13] **G.K. Williamson, W.H. Hall**, "X-ray line broadening from filed aluminium and wolfram", *Acta. Metall.*, 1 (1953) 22-31.

- [14] **M.T. Man, H.S. Lee**, "Influence of substrate activation process on structural and optical properties of ZnS thin films", *Curr. Appl. Phys.*, 15 (2015) 761-764.
- [15] **J. Kennedy, P.P. Murmu, P.S. Gupta, D.A. Carder, S.V. Chong, J. Leveneur, S. Rubanov**, "Effects of annealing on the structural and optical properties of zinc sulfide thin films deposited by ion beam sputtering", *Mater. Sci. Semicond. Process.*, 26 (2014) 561-566.
- [16] **A.K. Kole, P. Kumbhakar**, "Cubic-to-hexagonal phase transition and optical properties of chemically synthesized ZnS nanocrystals", *Results in Physics*, 2 (2012) 150-155.
- [17] **F. Chen, Y. Cao, D. Jia**, "Facile synthesis of ZnS nanoparticles and their excellent photocatalytic performance", *Ceram. Int.*, 41 (2015) 6645-6652.
- [18] **A. Partridge, S.L.G. Toussaint, C.F.J. Flipse**, "An AFM investigation of the deposition of nanometer-sized rhodium and copper clusters by spin coating", *Applied Surface Science* 103 (1996) 127-140.
- [19] **A. J. Huh, Y. J. Kwon**, "Nanoantibiotics: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era", *J. Control. Release*, 156 (2011), 128-145.
- [20] **R. Y. Pelgrift, A. J. Friedman**, "Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65 (2013) 1803-1815.
- [21] **Y. Jiang, L. Zhang, D. Wen, Y. Ding**, "Role of physical and chemical interactions in the antibacterial behavior of ZnO nanoparticles against *E. coli*", *Mater. Sci. Eng. C*, 69 (2016) 1361-1366.
- [22] **G. Applerot, A. Lipovsky, R. Dror, N. Perkas, Y. Nitzan, R. Lubart, A. Gedanken**, "Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS-mediated cell injury", *Adv. Funct. Mater.*, 19 (2009) 842-852.
- [23] **P. Bommersbach, C. Alemany-Dumont, J.P. Millet, B. Normand**, "Formation and behaviour study of an environment-friendly corrosion inhibitor by electrochemical methods", *Electrochim. Acta*, 51 (2005) 1076-1084.
- [24] **S. Chechirlian, P. Eichner, M. Keddou, H. Takenouti, H. Mazille**, "A specific aspect of impedance measurements in low conductivity media", *Electrochim. Acta*, 35 (1990) 1125-1131.

Conclusion

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet biocide du peroxyde d'hydrogène sur les bactéries *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Ainsi la synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS par la méthode polyol, la préparation des films nanostructurés de ZnO et l'étude de ses effets biocides sur *Escherichia coli* ATCC 43897, en utilisant la méthode bactériologique classique et la méthode électrochimique transitoire (spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)).

Les essais de traitement biocide de H₂O₂ sur les *E.coli*, aux faibles concentrations (0.847 ; 1.270 ; 1.690 et 2.540ppm) durant un temps de contact de 900s, ont montré l'inefficacité de ce biocide. L'augmentation de la concentration de H₂O₂ à 500ppm, ainsi que la prolongation du temps de contact jusqu'à 3h a permis de donner une efficacité d'inactivation de 49%. Une efficacité d'inactivation de 68% a été obtenue après un temps de contact de 6h et qui est restée constante après 7h. En augmentant la concentration de H₂O₂ (1000 ; 1500 et 2500ppm), nous avons constaté que l'efficacité d'inactivation est restée stable. Ce n'est qu'à la concentration de 3500ppm que l'efficacité d'inactivation a augmenté de 4% après un temps de contact de 6h.

Les essais de traitement biocide de H₂O₂ sur *P. aeruginosa*, aux concentrations 500 ; 1500 ; 2500 et 3500ppm, ont donné les efficacités d'inactivation respectives de 43 ; 57 ; 67 et 83%, après un temps de contact de 6h. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que cette bactérie présente une certaine résistance au peroxyde d'hydrogène, à cause de la formation d'un biofilm, ce qui rend difficile la pénétration du biocide à l'intérieur et nécessite des temps d'action plus élevés.

Les essais de traitement biocide de H₂O₂ sur *S. aureus*, aux concentrations 500 et 1500 ppm, ont donné les efficacités d'inactivation respectives de 67 et 75%, après un temps de contact de 6h. Mais pour les concentrations 2500ppm et 3500ppm, nous avons obtenu une inactivation totale de 100% au bout de 6h et 4h de temps de contact respectivement.

Pour la synthèse des nanoparticules de ZnO et ZnS, les spectres de diffraction des rayons X ont montré que la structure de ZnO est hexagonal wurtzite, avec une taille moyenne de cristallite de 21.96nm. Cette dernière se réduit à 16.28nm lorsqu'on ajoute de la trioctylphosphine comme agent dispersant. Les nanoparticules de ZnS cristallisent en phase cubique sans effet significatif du TOP; avec une taille moyenne de 3.63nm.

Les conditions optimales pour l'obtention du meilleur film nanostructuré de ZnO, sur un substrat de verre, sont : une vitesse de rotation de 2500rpm, une accélération de 700rpm/s,

un volume de la solution des nanoparticules de ZnO de 300 μ L, un nombre de répétition de 10 et une durée entre les répétitions de 10s.

Les micrographies MEB du film nanostructuré de ZnO, ont montré que lors du dépôt du film, les nanoparticules forment des agrégats micrométriques de type champignon à porosité élevée. Ce film révèle un caractère hydrophile et a montré un effet biocide marqué sur les bactéries *E. coli*, avec une efficacité d'inactivation de 94%. Ceci a été confirmé par la méthode bactériologique classique et par la méthode spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).

En perspective, il est à envisager d'étudier les points suivants :

- ✓ La recherche du volume nécessaire de la tioctylphosphine permettant de dispersion les nanoparticules de ZnS ;
- ✓ La préparation des films nanostructurés de ZnO-TOP et ZnS ;
- ✓ L'étude de l'effet biocide des films nanostructurés de ZnO-TOP et ZnS sur la *E.coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* ;
- ✓ L'étude de l'effet biocide du film nanostructuré de ZnO sur *P. aeruginosa* et *S. aureus* ;
- ✓ L'étude de l'effet synergique du peroxyde d'hydrogène et des différents films nanostructurés préparés (ZnO, ZnO-TOP, et ZnS) sur différentes bactéries (*E.coli*, *P. aeruginosa* , *S. aureus*....), en utilisant la méthode bactériologique classique et la méthode électrochimique transitoire (spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)).

ANNEXE : Milieux de Culture**• Composition du P.C.A par litre :**

Digestion pancréatique de caséine.....	5.0g.
Extrait de levure	2.5g.
Dextrose	1.0g.
Gélose	15.0g.
pH	7.0 ± 0.2.

• Composition du M.H.B par litre :

Poudre de bœuf	2.0g.
Acide de la caséine	17.5gs.
L'amidon soluble	1.5g

• Composition du milieu Chapman :

La formule de ce milieu (en gramme par litre d'eau distillée)

Est la suivante :

Peptone.....	10
Extrait de viande.....	6
Protéose-peptone.....	10
Chlorure de sodium.....	150
Lactose.....	15
Agar.....	1
pH.....	7.5