

T 50/210/2008/216 B1S

N° d'ordre 2008-2008
Année 2008

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

**L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE**

ET

**L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
D'ORAN MOHAMED BOUDIAF USTO MB (ORAN - ALGERIE)**

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 24 juin 2008

par

M. BENABBOU Abdelhamid Khalil

TITRE :

*Dégradation Photocatalytique de Microorganismes (inactivation) par une
montmorillonite pontée au titane et des photosensibilisateurs-comparaison avec
TiO₂*



Directeur de thèse :

Mme. GUILLARD Chantal (U. LYON1)
M. DERRICHE Zoubir (USTO MB)

JURY: M. BETTAHAR Nourredine
Mme CHERIF Leila
M. BOUDJEMAA Abdellah

N° d'ordre ~~088~~-2008
Année 2008

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

**L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE**

ET

**L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
D'ORAN MOHAMED BOUDIAF USTO MB (ORAN - ALGERIE)**

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 24 juin 2008

par

M. BENABBOU Abdelhamid Khalil

TITRE :

*Dégradation Photocatalytique de Microorganismes (inactivation) par une
montmorillonite pontée au titane et des photosensibilisateurs-comparaison avec
TiO₂*

Directeur de thèse :
Mme. GUILLARD Chantal (U. LYON1)
M. DERRICHE Zoubir (USTO MB)

JURY: M. BETTAHAR Nourredine
Mme CHERIF Leila
M. BOUDJEMAA Abdellah

EXCLU DU PRET



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université

Vice-président du Conseil Scientifique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Secrétaire Général

M. le Professeur L. COLLET

M. le Professeur J.F. MORNEX

M. le Professeur J. LIETO

M. le Professeur D. SIMON

M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec

UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche

UFR de Médecine Lyon-Nord

UFR de Médecine Lyon-Sud

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : M. le Professeur P. COCHAT

Directeur : M. le Professeur X. MARTIN

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY

Directeur : M. O. ROBIN

Directeur : M. le Professeur F. LOCHER

Institut Techniques de Réadaptation

Directeur : M. le Professeur MATILLON

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique

UFR de Biologie

UFR de Mécanique

UFR de Génie Electrique et des Procédés

UFR Sciences de la Terre

UFR de Mathématiques

UFR d'Informatique

UFR de Chimie Biochimie

UFR STAPS

Observatoire de Lyon

Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon

IUT A

IUT B

Institut de Science Financière et d'Assurance

Directeur : Mme. le Professeur S. FLECK

Directeur : M. le Professeur H. PINON

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur G. CLERC

Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE

Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT

Directeur : M. C. COLLIGNON

Directeur : M. le Professeur R. BACON

Directeur : M. le Professeur J. LIETO

Directeur : M. le Professeur M. C. COULET

Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE

Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

A la mémoire du Dr Sebane Habib

Je pense que de là où tu es tu nous

Observes bien.

Après tout tu es ophtalmologiste...

A la mémoire de mes grand-parents.

C'étaient des personnes qui appréciaient

La science et les scientifiques...

Cette thèse est dédiée à mes parents, à mes sœurs,
à mon beau frère et au petit Sidi-Mohamed.
Je dédie également ce travail à toute ma famille,
Tantes et oncles, cousins et cousines.

Avant propos

Mes plus sincères remerciements vont à tous ceux qui m'ont encouragé et soutenus tout au long de l'élaboration de ce travail.

Cette thèse s'est déroulée dans deux laboratoires : Le laboratoire Physico-Chimie des Matériaux-Catalyse et Environnement (LPCM-CE, USTO-MB, Oran – Algérie) et l'Institut de Recherche sur la Catalyse et Environnement de Lyon (IRCELYON, Univ. Lyon1-France). Je remercie donc, particulièrement, mes encadreurs, Mme Chantal Guillard et M. Zoubir Derriche, pour leur disponibilité, leur patience, la confiance qu'ils m'ont accordée, les précieux conseils qu'ils m'ont prodigués et tous les moyens qu'ils ont mis à ma disposition pour me permettre de travailler dans les meilleures conditions.

Je remercie également M. Jean-Marie Herrmann ex président du LACE (Laboratoire d'Application de la Chimie à l'Environnement) et actuel vice-président d'IRCELYON de m'avoir ouvert les portes du LACE puis celles d'IRCELYON, d'avoir eu confiance en moi et de m'avoir donné la chance de travailler au sein de l'une des équipes formant ce laboratoire.

Je remercie également Mme Christine Delbecq pour toute l'assistance administrative qu'elle m'a donnée et ce depuis le début de ma relation avec les laboratoires LACE et IRCELYON.

A travers le Professeur Philippe Lejeune, le docteur Corine Dorel et tout son personnel scientifique et technique, je remercie le laboratoire de Microbiologie, Adaptation et Pathogénie, CNRS-INSA, qui m'a accueilli au sein de son équipe «biofilm» où ont été réalisés les tests d'inactivation bactériennes par photocatalyse.

Je remercie M. Nourredine Bettahar, professeur à l'USTO-MB (département de chimie) pour avoir accepté de présider ce jury. Mes plus vifs remerciements pour Mme Leila Cherif, professeur à l'université de Tlemcen (département de chimie) et M. Adbellah Boudjema maître de conférence à l'université d'Oran (département de biologie) pour avoir accepté de faire partie de ce jury, de juger et d'évaluer ce travail.

Cette thèse en cotutelle ayant eu lieu grâce au Programme National Exceptionnel de formation à l'étranger, je remercie le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique pour son soutien.

Enfin, je remercie les chercheurs et les membres des différents laboratoires (ingénieurs et techniciens) où je suis passé, pour leur assistance technique mais aussi pour leur soutien moral. Je remercie entre autres : Z. Boubberka, F. Sekrane, A. Khenifi, Z. Sahraoui, N. Belkaid, et H. Hamani appartenant au laboratoire LPCM-CE, C. Perrin, S. Diasparra, G. Meric (les premiers que j'ai connus au MAP) H. Drici, G. Effantin, V. Utzinger, Y. Alfaro, Y. Ferrandez, F. Login, T. Lauthier, J-M Prost et C. Felix, M. Carrier, L. Elsellami F. Dappoze, E. Puzzenat, S. Benmaamar d'IRCELYON. Un clin d'œil particulier à S. Pigeot-Rémy que j'ai connue tardivement mais qui s'est révélée une amie sincère, et dont la gentillesse n'a d'égale que son amour pour le travail et la recherche scientifique.

Merci à tous

Sommaire	Page
Introduction générale	1
Chapitre I : photocatalyse et TiO₂	
Introduction	5
1. La catalyse	6
1.1 La photocatalyse	6
2. Principe de la photocatalyse hétérogène	7
3. Le photocatalyseur dioxyde de titane (TiO ₂)	8
3.1 L'anatase	8
3.2 Le rutil.	9
3.3 Activité photocatalytique	9
3.4 Quelques modes de préparation de TiO ₂	10
3.5 Photocatalyseur supporté	10
4. Paramètres influençant la photocatalyse	11
4.1 Effet de la concentration de TiO ₂ en solution	11
4.2 Effet de l'influence de la longueur d'onde	11
4.3 Effet du flux de radiation	12
4.4 Effet de la concentration initiale en polluant	13
4.5 Effet de la température	13
4.6 Effet des caractéristiques ioniques de la solution aqueuse	14
6.6.1 Effet du pH	14
6.6.2 Effet des ions inorganiques	14
5. Couplage de différents procédés d'oxydation avancée	15
5.1 Couplage photocatalyse/Ozone (O ₃)	15
5.2 Couplage photocatalyse/H ₂ O ₂	16
5.3 Couplage photocatalyse/ultrasons	16
5.4 Couplage photocatalyse/photofenton	17
5.5 Couplage photocatalyse/électrocatalys	17
6. Domaine d'utilisation de la photocatalyse	17
7. Principaux défis de la photocatalyse	20
Références	21
Chapitre II : Les argiles et leur modification avec le titane	
Introduction	26
1. Structure des minéraux argileux	27

1.1 structure du feuillet	27
2. principaux types d'argile	27
2.1 Minéraux à 7 A°	27
2.2 Minéraux à 10 A°	27
2.3 Minéraux à 14A°	27
2.4 Les minéraux argileux interstratifiés	28
3. Structure de la montmorillonite	28
4. Propriétés des argiles.	29
4.1 La colloïdalité	29
4.2 Aptitude au gonflement	30
4.3 Capacité d'échange cationique	30
5. Argiles intercalées	31
6. Argile pontée	32
7. Pontage de l'argile avec le titane	32
7.1 Solution de pontage à base de titane	33
Références	34
Chapitre III : Les photosensibilisateurs	
Introduction	36
1. Définition d'un photosensibilisateur aromatique.	37
2. Mécanismes des oxydations photosensibilisées.	37
2.1 Le transfert d'énergie (réactions de type II)	37
2.2 Le transfert d'électron (réactions de type I)	39
3. Aspect thermodynamique du transfert d'électron	41
4. Principales familles de PSA	44
5. Synthèse des matériaux photocatalytique poreux	44
5.1 Définition du procédé Sol-Gel	44
5.2 Avantages du procédé sol-gel	46
Références	47
Chapitre IV : Bactéries et stress oxydant	
Introduction	49
1. Généralité	49
2. Structure et composants cellulaires	50
2.1 La paroi	50
2.1.1 Paroi chez les Grams négatifs	50
2.1.2 Paroi chez les Grams positifs	51

2.2 composants intracellulaires	52
2.2.1 L'ADN	52
2.2.2 Plasmides et autres composants intracellulaires	53
3. Description d' <i>Escherichia-coli</i>	53
3.1 cycle de vie d'E-coli	54
3.2 Pathogénicité d'E-coli	55
4. Stress oxydant	57
4.1 Principales espèces réactives de l'Oxygène (EROs)	58
4.1.1 Le radical hydroxyle	58
4.1.2 L'anion superoxyde	59
4.1.3 Le peroxyde d'hydrogène	59
5. Effets des espèces réactives de l'oxygène sur les matériaux biologiques	60
5.1 Effet des EROs sur les lipides membranaires	60
5.2 Effet des EROs sur les protéines	60
5.3 Effet des EROs sur l'ADN	61
6. Mécanismes de défense chez les organismes vivants	63
6.1 Mécanismes de défense enzymatiques	63
6.1.1 La superoxyde dismutase	63
6.1.2 Les catalases	63
6.1.3 Les glutathions peroxydase et réductase	63
6.2 Mécanismes de défenses non enzymatiques	64
7. Régulation de la défense chez <i>e-coli</i>	65
7.1 Mécanisme du régulon OxyR, senseur des peroxydes	65
7.2 Mécanisme du régulon SoxR, senseur de l'anion superoxyde	66
8. Mécanismes de réparation de dommages oxydatifs dans les organismes vivants	66
8.1 Mécanisme de réparation dans l'obscurité	66
8.2 Mécanisme de photoréactivation	68
Références	69

Chapitre V : procédés de désinfection de l'eau

Introduction	71
1. désinfection par chloration	71
2. Désinfection par ozonisation	73
3. Désinfection solaire par le procédé SODIS (SOlar DISinfection)	74
4. Désinfection par photocatalyse	75
4.1 cibles de la photocatalyse	77

Références	79
------------	----

Chapitre VI : procédures expérimentales

1. Introduction	83
2. Purification de l'argile	83
2.1 la sédimentation	83
2.2 Traitements chimiques	84
3. Caractérisation physico-chimique de notre argile	84
3.1 Analyse par diffraction X	84
3.2 Analyse Infra-rouge	85
3.3 Mesure de la capacité d'échange cationique (CEC)	85
3.3.1 Mode opératoire	86
3.4 Surface spécifique	86
3.5 Analyse ATD/ATG	86
4. Préparation de l'argile pontée avec le titane	86
4.1 Préparation de la solution d'intercalation	86
4.2 Intercalation et pontage de l'argile par le polymère de titane	87
5. Synthèse des matériaux photosensibilisateurs	89
6. Synthèse et caractérisation des matériaux « hôtes » : monolithes à base de xérogels de silice et poudres de silice.	89
6.1 Caractérisation des matériaux photosensibilisateurs	92
7 Photocatalyseur et microorganismes	93
8 Culture bactérienne	93
8.1 Détermination de la concentration bactérienne	93
8.2 Milieux de culture	94
9. Dispositif d'inactivation (lampe et réacteur)	94
9.1 Mesure des intensités lumineuses	96
10. Analyse protéomique	97
Références	99

Chapitre VII : Résultats et discussion

Introduction	100
1. Purification et modification de l'argile par pontage avec le titane	100
1. 1 Composition chimique	100

1.2 Analyse par diffraction X	100
1.2.1 Analyse des argiles brute et sodée	100
1.2.2 Analyse de l'argile modifiée par pontage avec le titane	102
1.3 Analyse Infra-rouge	104
1.3.1 Analyse de l'argile sodée	104
1.3.2 Analyse de l'argile pontée avec le titane	105
1.4 Mesure de la capacité d'échange cationique (CEC)	106
1.5 Surface spécifique	107
1.6 Tracé ATG	107
1.7 Tracé ATD	107
2. Caractérisation des photosensibilisateurs synthétisés	109
Conclusion de la 1 ^{ère} partie	112
3. Photolyse des bactéries	113
4. Effet du TiO ₂ sur <i>E-coli</i> à l'obscurité	115
4.1 Analyse protéomique	117
5. Inactivation photocatalytique d' <i>E-coli</i>	119
5.1 Effet de la concentration en TiO ₂	119
5.1.1 Inactivation bactérienne dans la gamme de l'UV-A	119
6. Calcul théorique de la quantité optimale de TiO ₂	123
7. Effet de la concentration de TiO ₂ dans les gammes UV-B et UV-C	125
7.1 Effet de la nature des UV à intensités équivalentes	126
8. Effet de l'intensité des rayonnements UV-A sur l'inactivation bactérienne	128
9. Effet de l'intensité des rayonnements UV-B et UV-C sur l'inactivation bactérienne	130
10. Durabilité du traitement photocatalytique	132
11. Désinfection de l'eau en utilisant les photosensibilisateurs et l'argile pontée avec le titane	133
11.1 Désinfection par photosensibilisateurs	133
11.1.1 Irradiation d' <i>E-coli</i> en présence de silice.	133
11.1.2 Irradiation d' <i>E-coli</i> en présence de matériaux photosensibilisateurs	134
11.1.3 Effet de la concentration en PS6 sur l'inactivation bactérienne	137
11.1.4 Effet de la concentration en anthraquinone dans le PS6	138

11.1.5 Effet de la longueur d'onde des radiations utilisées	139
11.1.6 Comparaison de l'efficacité de l'inactivation photocatalytique d' <i>E-coli</i> en présence du TiO ₂ ou des photosensibilisateurs	141
11.2 Désinfection en utilisant l'argile pontée avec le titane	142
Références	144
Conclusion générale	146



Introduction

Introduction générale

L'eau potable : une préoccupation mondiale.

Au plan international, la question de la disponibilité d'une eau potable suscite, de jour en jour, l'intérêt des responsables. L'accès à une eau potable deviendra, dans les années, à venir problématique pour une bonne partie de la population mondiale. Plusieurs facteurs contribuent à la raréfaction de cet élément vital et central (l'eau) : de la consommation domestique, sans cesse croissante, à l'intensification des activités industrielle et agricole, sans oublier l'action de la pollution, aussi bien chimique que biologique, qui rend inexploitable des sources d'eau potable.

Une demande toujours en hausse

La figure 1 montre l'évolution de la consommation en eau à travers le 20ème siècle. Une augmentation logique dans la consommation d'eau domestique est observée, elle est à relier avec l'explosion démographique que connaît la population mondiale. Une tendance identique est notée pour le besoin industriel. Cependant, l'évolution la plus drastique concerne l'eau utilisée dans l'activité agricole.

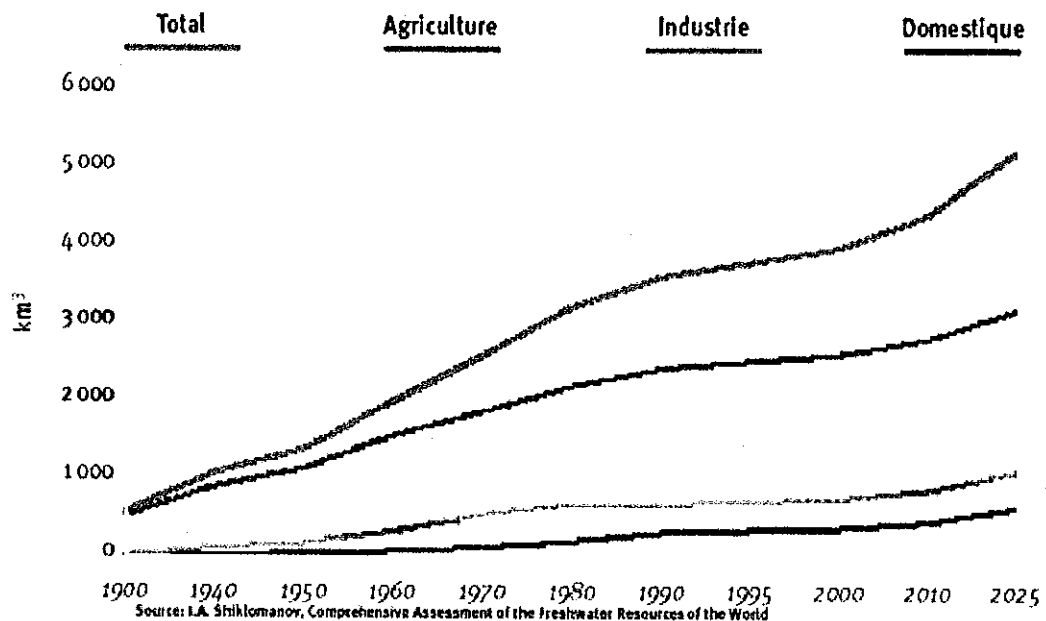


figure (1) évolution de la consommation en eau à travers le 20^{ème} siècle [1].

Actuellement, la consommation mondiale de l'eau se situe entre 4000 et 5000 km³/an, elle dépassera le cap des 5000 km³/an vers l'an 2025.

Des activités industrielles et agricoles polluantes

Les industries et l'agriculture ne se contentent pas de consommer l'eau pour leur fonctionnement, elles rejettent, en plus, vers la nature des substances polluantes qui dérivent de leurs activités intenses.

Ainsi, l'eau se retrouve-t-elle contaminée par des composés organiques tels les colorants ou les hydrocarbures. Des cas de contamination par les métaux lourds sont également rapportés. La présence de nitrates et de pesticides dans l'eau, révèle une pollution d'origine agricole, résultat d'une activité intense de ce secteur. La plupart de ces molécules organiques sont biorécalcitrantes, s'il arrive que ces

molécules se dégradent, elles forment des métabolites différentes des molécules de départ. Or les toxicités de chacune de ces substances (molécule de départ et métabolites) diffèrent et restent mal connues pour la plupart. Cependant un autre genre de pollution est à considérer : il s'agit de la biopollution ou la contamination par les microorganismes. Ces derniers sont de différents types : bactéries, champignons, levures ou encore virus et microbes. Lorsqu'ils sont pathogènes, ces microorganismes infectent l'eau et peuvent être à l'origine de grandes épidémies. La fourniture d'eau potable et la mise en place de dispositifs de traitement de l'eau efficaces auraient d'importantes retombées sur la santé. Les maladies hydriques, résultat de contamination de l'eau par les déchets humains, animaux et chimiques, pourraient être minimisées. Ces maladies sont responsables de la mort d'environ 12 millions de personnes par an, dont 5 millions suite à des maladies diarrhéiques concernant dans la plupart des cas des enfants vivant dans des pays en développement [2-4]

Nécessité de traiter l'eau

Il est donc impératif de fournir une eau potable de bonne qualité, débarrassée de tout type de polluants. L'obtention d'une telle eau passe non seulement par un traitement de décontamination destiné à éliminer les composés organiques ou métalliques qui la polluent mais aussi par un traitement de désinfection dont le but est de stériliser l'eau à travers l'inactivation des microorganismes qui peuvent y résider.

La chloration demeure, jusqu'à aujourd'hui, la technique de désinfection la plus utilisée. Toutefois, elle présente un certain nombre d'inconvénients, les plus gênants étant : (i) la formation de composés trihalométanes (THMs) par suite de la réaction entre le chlore et la matière organique contenue dans l'eau, ces composés possèdent un fort pouvoir cancérigène et génotoxique et (ii) le goût désagréable qui pourrait rester dans l'eau post-chlorée. De plus, certains microorganismes se sont révélés résistants à la chloration même à des doses élevées en chlore. De nouveaux procédés voient alors le jour, tels l'ozonisation des eaux ou le traitement par UV-C. Si ces deux dernières techniques apparaissent comme réalisables dans les pays développés, elles le sont beaucoup moins dans les pays en développement, le coût de réalisation étant l'un des principaux obstacles. La désinfection solaire pourrait être une sérieuse alternative à la chloration dans ces pays où, justement, l'énergie solaire est abondante (ex : les pays du Maghreb).

La photocatalyse associant un semi-conducteur (généralement TiO_2) aux rayonnements UVA pourrait être utilisée pour décontaminer et désinfecter l'eau. Le photocatalyseur pourrait être activé par les rayonnements solaires dont le spectre contient entre 3 et 5% de rayonnements UVA.

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'efficacité du traitement photocatalytique dans la désinfection de l'eau. *E-coli* est utilisée comme microorganisme modèle pour simuler une biopollution. L'effet de plusieurs paramètres physico-chimiques sur la désinfection photocatalytique seront examinés : la concentration en TiO_2 , la concentration en microorganismes, l'intensité et le type des rayonnements utilisés.

Au cours de cette thèse, la possibilité de substituer le TiO_2 (dans les réactions photocatalytiques) par de nouveaux matériaux photoactifs avec un fort pouvoir adsorbant et/ou activables dans le visible a été examinée. Bien que très efficace, le dioxyde de titane présente deux inconvénients majeurs : (i) son faible pouvoir adsorbant et (ii) son activation exclusive dans le domaine UV empêchant par ce fait une large utilisation des rayonnements solaires.

L'argile provenant de la localité de Maghnia (dans l'ouest algérien), modifiée par pontage avec le titane, pourrait avoir d'intéressantes propriétés photocatalytiques conjuguées à son fort pouvoir adsorbant. Sa préparation consiste à introduire dans l'espace interfoliaire de l'argile un polymère métallique à base de titane et ce, dans le but de conférer à ce matériau adsorbant un pouvoir photocatalytique. Ce matériau a été synthétisé au laboratoire physico-chimie des matériaux – catalyse et environnement à l'Université des sciences et de la technologie d'Oran, Algérie, et caractérisé, notamment, à l'aide de diffraction X au centre Lanchambon de diffractométrie à l'université Claude Bernard Lyon1, France.

D'autre part, des molécules de photosensibilisateurs sont introduites dans des matériaux hôtes à base de silice. Ces molécules présentent le grand avantage de s'activer dans le visible et génèrent comme espèce réactive l'oxygène : l'oxygène singulet. Ces matériaux ont été préparés par M. C. Cantau dans le cadre de sa thèse de doctorat sous la direction de Mme S. Lacombe (Equipe ECP de l'Institut Pluridisciplinaire de recherche sur l'Environnement et les Matériaux) à l'université de Pau et les pays de l'Adour.

Les matériaux synthétisés et le TiO_2 sont testés dans l'inactivation photocatalytique d'*E-coli*. L'efficacité des différents matériaux est comparée. Plusieurs paramètres sont pris en compte dans cette étude tels que la concentration en matériaux, la concentration initiale des microorganismes, le type des rayonnements utilisés (UV-A, UV-B, UV-C et Vis) et leurs intensités.

Nous nous sommes également intéressés au mode d'action du TiO_2 sur les microorganismes et leur mécanisme de mort par photocatalyse. Le TiO_2 a-t-il un effet sur les microorganismes en l'absence de rayonnement UV-Vis? La photocatalyse UVA est-elle mutagène? Dans ce but, des tests de microbiologie destinés à détecter les éventuelles protéines libérées par *E-coli* sous l'action du dioxyde de titane à l'obscurité sont effectués. À travers la réponse à ces questions, nous essayerons de contribuer à l'interprétation du mécanisme d'inactivation des microorganismes par photocatalyse TiO_2 -UVA.

Bibliographie

[1] I. A. Shiklomanov, 1993. World fresh water resources. In Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources (ed. by PH. Gleick). Oxford University Press, New York.

[2] United Nations Departement For Policy Coordination And Sustainable Development. Critical trends: Global change and sustainable development. New York, UN, 1997.

[3] United Nations Development Programme (UNDP). Human development report 1998. New York, UN, 1998.

[4] J. DAVIDSON, D. MYERS and M. CHAKRABORTY. No time to waste: Poverty and the global environment. Oxford, Oxfam, 1992. 217 p.

Chapitre I

TiO₂ et photocatalyse

Introduction

La photocatalyse, comme le traitement par plasma ou la chloration, font partie des techniques d'oxydation avancées (AOT). Ce sont des procédés émergents qui sont venus, ces dernières années, compléter les techniques classiques de traitement de polluants (adsorption, oxydation thermique ou catalytique, traitement biologique...). Ces techniques s'adressent prioritairement aux composés polluants biorécalcitrants.

Les techniques de dépollution sont classées dans deux grandes catégories :

- Les procédés récupératifs (absorption, adsorption, condensation),
- Les procédés destructifs (oxydation thermique ou catalytique, épuration biologique, plasma froid, photocatalyse oxydation par l'ozone, chloration...) [1].

Les procédés d'oxydation avancée reposent sur la réaction d'oxydation initiée, notamment, par l'action des radicaux OH° produits par ces systèmes. Ce radical est une espèce chimique très oxydante, se caractérisant par un potentiel d'oxydation très élevé (tableau 1). Il est instable et réactif donc peu sélectif sur la plus part des composés organiques ou minéraux. Il est capable de minéraliser partiellement ou totalement la plus part des composés organiques.

Oxydant	OH°	O_3	H_2O_2	HO_2°	MnO_4^-	ClO_2	Cl_2	O_2
Potentiel d'oxydation (V/ENH)	2,8	2,07	1,77	1,7	1,67	1,50	1,36	1,23

Tableau (1) potentiels d'oxydation de différents oxydants dans l'eau [CRC Handbook 1985].

Les radicaux hydroxyles peuvent être obtenus lors de l'irradiation de l'eau à traiter en présence de peroxyde d'hydrogène ou d'ozone ou des deux à la fois. Cependant, ce radical peut être également généré lors de l'irradiation d'un semi-conducteur, dans l'eau ou dans l'air, par des rayonnements UV ou solaire : c'est la photocatalyse.

Ce procédé est considéré comme l'une des techniques d'oxydation avancées des plus prometteuses. En effet, en plus de sa mise en œuvre facile, elle se révèle être de faible coût par comparaison avec les procédés concurrents tels que l'adsorption ou l'incinération.

La photocatalyse est impliquée dans différents domaines, allant de l'épuration de l'eau :

- décoloration des effluents aqueux colorés,
- détoxification des eaux de rinçage de matériel agricole ou industriel

À la purification de l'air :

- élimination des odeurs,
- traitement de l'air destiné aux pièces d'habitation, aux locaux d'entreprises, ou aux habitacles de voiture ou d'avion).

En plus de ces applications, plus ou moins traditionnelles, la photocatalyse trouve aujourd'hui des applications dans le revêtement auto-nettoyant de surfaces (verre, métaux, bétons, ciments, textile, surface PVC...) mais aussi dans le traitement de pollution par les microorganismes dans le but de désinfecter et de potabiliser l'eau.

Le laboratoire IRCELYON (ex LACE, Univ Lyon1 - CNRS) en collaboration avec la société Elcobrandt ont développé un système photocatalytique capable d'éliminer les odeurs et les bactéries dans les réfrigérateurs [2]

La récente augmentation du nombre de brevets (principalement japonais) relatifs à la photocatalyse (figure 1) montre l'intérêt croissant que porte les groupes de recherche à cette technique.

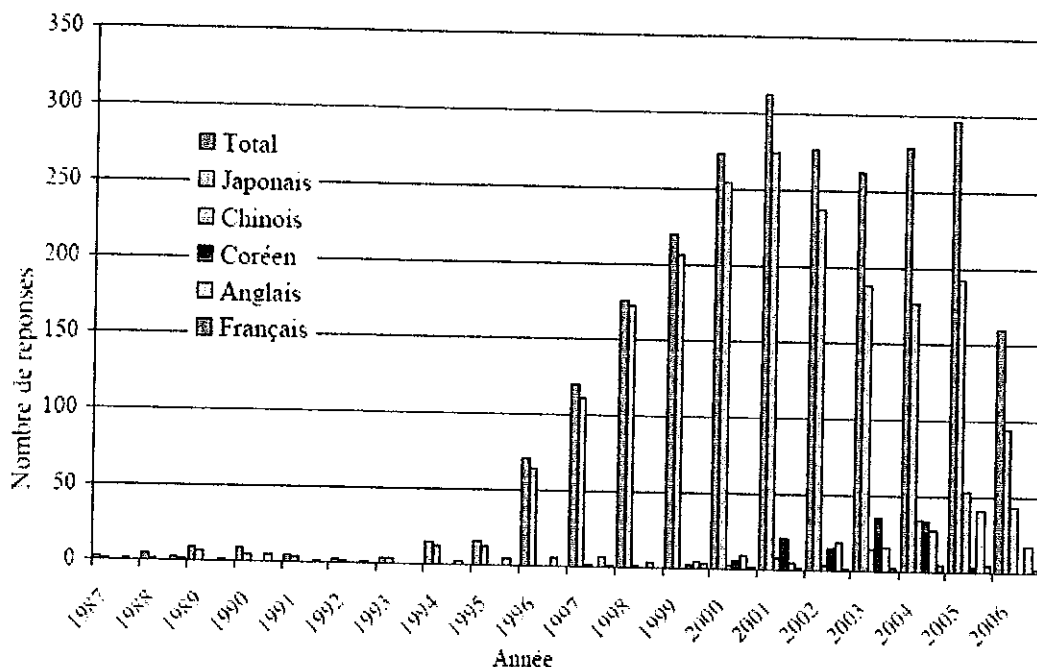


Figure1. Evolution du nombre de brevets déposés au cours des années. Recherche effectuée en Aout 2006 avec les mots clés : photocatalysis, purification, gaz phase, odor, deodorization [3]

1. La catalyse

Un catalyseur est un intermédiaire chimique ayant la propriété d'accélérer la vitesse d'une réaction chimique thermodynamiquement possible. Selon la nature du catalyseur, solide ou liquide, on distingue la catalyse hétérogène ou la catalyse homogène respectivement. En fin de processus, le catalyseur se retrouve, en principe, inaltéré.

Un cycle catalytique comporte cinq étapes [4]:

- 1- Transfert des réactifs vers la surface du solide,
- 2- Adsorption des réactifs à la surface du catalyseur,
- 3- Réaction entre réactifs adsorbés à la surface,
- 4- Désorption des polluants de la surface catalytique,
- 5- Transfert des produits finals dans la phase fluide.

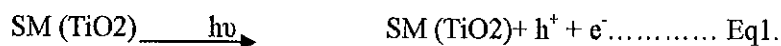
2. La photocatalyse

A la différence de la catalyse en photocatalyse, le catalyseur est activé par un rayonnement UV conduisant à des photoréactions (figure 2). Si le processus de photoexcitation initiale a lieu sur une molécule adsorbée, il est nommé photoréaction catalysée. Si la photoexcitation initiale se produit sur le

catayseur, qui par la suite réagit avec la molécule adsorbé, on est en présence d'une photoréaction sensibilisée. Dans tous les cas, la photocatalyse repose sur l'utilisation d'un semi-conducteur photocatalyseur ou un semi-conducteur photosensibilisateur.

2.1 Principe de la photocatalyse hétérogène

Un matériau semiconducteur absorbe des photons, d'énergie suffisante pour promouvoir les électrons de la bande de valence (VB) vers la bande de conduction (CB), en laissant un trou dans la bande de valence [5]. Les paires trou- électron (h^+/e^-) sont alors créés (Equation 1).



Bien que la majorité des espèces formées se recombinent, les deux entités peuvent également migrer vers la surface du catalyseur.

Les réactions photocatalytiques ont lieu par transfert des charges générées aux molécules électroacceptrices (A) ou électrodonneuses (D) [4, 6]. Les recombinaisons trou/ électron qui peuvent limiter l'efficacité du processus, sont des réactions très rapides, le temps de vie de ces espèces est de l'ordre de la picoseconde. Cette réaction peut être limitée grâce à l'oxygène moléculaire adsorbé sur le catalyseur. En captant les électrons, l'oxygène moléculaire forme l'anion super oxyde ($O_2^{\circ -}$) (Equation 2) [7], ou encore sa forme protonée, le radical hydroperoxyde (Equation 3) [8]

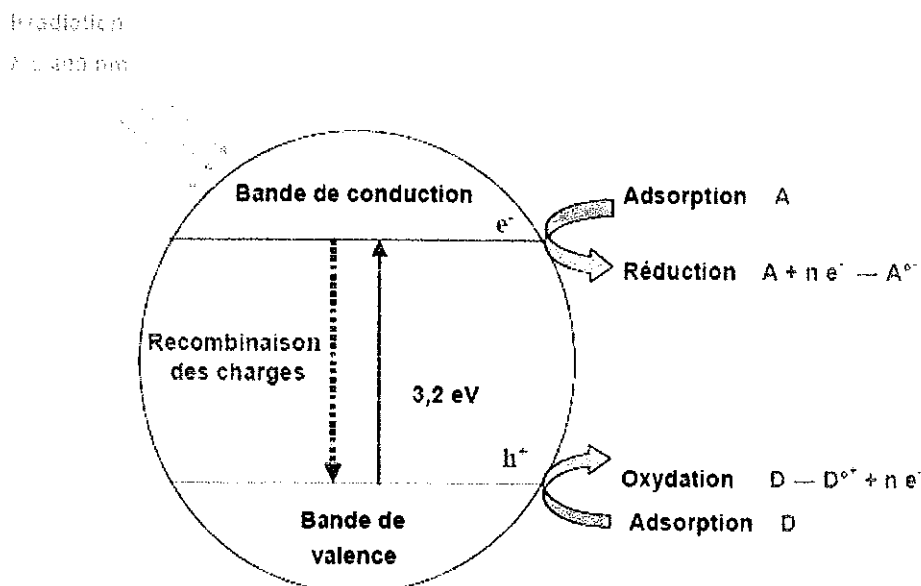
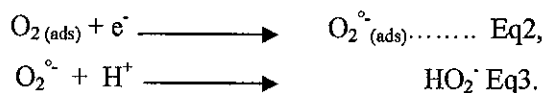
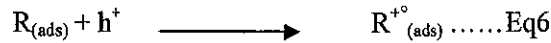
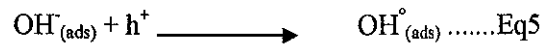
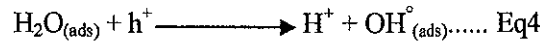
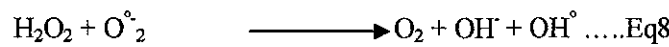
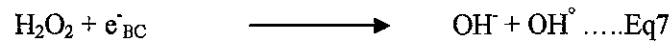


Figure 2. Principe de la photocatalyse hétérogène avec un semi-conducteur.

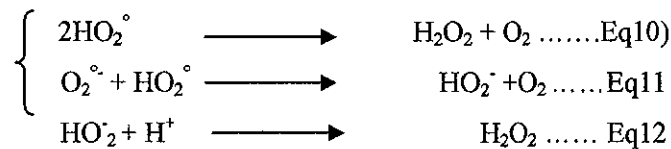
Les trous (h^+), réagissent avec les espèces donneuses d'électrons comme l'eau et les anions hydroxyles (OH^-) pour donner les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) [9], ou encore les composés organiques adsorbés à la surface du semi-conducteur pour former les radicaux (R^\bullet) (Equations 4, 5, 6).



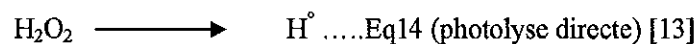
L'efficacité photocatalytique peut être augmentée de différentes manières: soit par dopage du matériau par d'autres cations [10] pour étendre le domaine d'absorption vers le visible, soit par l'addition de molécules accepteuses d'électrons dans le milieu réactionnel (peroxyde d'hydrogène, ozone, Fe^{3+} ...) pour limiter les recombinaisons de charges [11, 12] (Equations 7, 8, 9).



Il est également possible de générer le peroxyde d'hydrogène lors de réactions photocatalytiques, (Equations 10, 11, 12).



Cependant, le H_2O_2 formé se décompose rapidement à la surface du catalyseur pour donner lieu à des radicaux OH^\bullet selon les équations 13 et 14:



3. Le photocatalyseur dioxyde de titane (TiO_2)

Le dioxyde de titane est un matériau utilisé comme pigment blanc dans plusieurs industries comme la fabrication de la peinture, la papèterie ou la plasturgie. Il est considéré comme le pigment blanc le plus performant grâce à son indice de réfraction élevé (2,48 à 2,89).

Le TiO_2 existe sous plusieurs variétés allotropiques : l'anatase [14], le rutile [15], la brookite [16], le $TiO_2(B)$ [17], le TiO_2 II (type $\alpha-PbO_2$) [18], la hollandite ($TiO_2(H)$) [19] et le type Ramsdellite ($TiO_2(R)$) [21], les deux premières sont néanmoins les plus importantes.

3.1 L'anatase

L'anatase fut isolé pour la première fois en 1791 par le révérend William Gregor dans le sable noir du Devon (Angleterre). C'est un minéral tétragonal appartenant au groupe d'espace ($I4_1amd$), ayant pour paramètres de maille $a=3,7852 \text{ \AA}$ et $b=9,5139 \text{ \AA}$.

Sa structure (figure 3) résulte d'un arrangement tridimensionnel d'octaèdre TiO_6 reliés entre eux par des arêtes pour former une chaîne en zigzag selon l'axe (a). Ces chaînes reliées à leur tour entre elles par les sommets, selon l'axe (b), forment une couche dans le plan (001). Le réseau tridimensionnel est, lui, formé par l'association des couches adjacentes selon l'axe (c) par la mise en commun des arêtes.

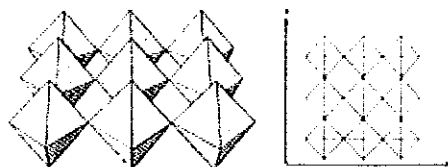


Figure 3. Structure de l'anatase.

3.2 Le rutile.

Il s'agit d'un minéral tétragonal, appartenant au groupe d'espace ($P4/mnm$), ayant pour paramètres de maille $a = 4,5933 \text{ \AA}$, $c = 2,9592 \text{ \AA}$. Sa densité mesurée égale 4,230. Sa structure peut être décrite comme résultant d'un empilement hexagonal compact d'atome d'oxygène. Chaque octaèdre partage deux arêtes opposées avec deux octaèdres adjacents pour former des chaînes infinies se développant selon l'axe c (figure 4).

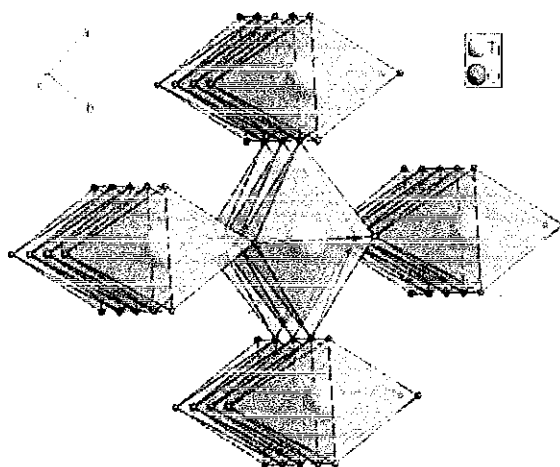


Figure 4. Structure du cristal du rutile

3.3 Activité photocatalytique

D'un point de vue photocatalytique, l'anatase est plus réactif que le rutile [21, 22]. Le matériau le plus utilisé en photocatalyse est un produit commercial répondant au nom de dégussa P25. Celui-ci est constitué de 25% rutile et 75% anatase.

L'anatase a une bande interdite de 3,23 eV, celle du rutile est de 3,02 eV. Cependant, le potentiel de la bande de conduction de l'anatase est plus négatif que celui du rutile, permettant ainsi à l'oxygène de s'adsorber et de se réduire plus facilement sur l'anatase. Les recombinaisons (e^-/h^+) sont donc réduites rendant par conséquent l'anatase plus performant [7].

3.4 Quelques modes de préparation de TiO_2

Différentes voies de synthèse ont été développées pour obtenir des échantillons TiO_2 d'aire spécifique plus importante. Parmi ces méthodes on cite le procédé sol-gel, le procédé hydrothermal ou encore la voie solvothermale [23-25]

Le procédé sol-gel consiste à calciner des gels obtenus par hydrolyse contrôlée d'alkoxydes [$Ti(OEt)_4$, $Ti(OPr)_4$, $Ti(OBu)_4$] solubilisés dans l'alcool. Ce procédé dépend de la température, du pH, du solvant et de la durée de réaction. Au final, cette méthode permet d'obtenir des poudres formées d'anatase pur ou de mélange anatase/rutile.

Le procédé hydrothermal a pour principe de traiter sous pression et à température modérée, un alkoxyde de titane dans un solvant hydro-organique. Kominamai et al ont synthétisé de l'anatase d'aire spécifique égale à $156 \text{ m}^2/\text{g}$ par hydrolyse du $Ti(OBu)_4$ dans le toluène à 300°C [26].

Enfin, la méthode solvothermale consiste à décomposer un alkoxyde de titane dans un solvant anhydre. Kang et al [25], ont obtenu de l'anatase de surface spécifique égale à $122 \text{ m}^2/\text{g}$ en autoclavant une solution de $Ti(OPr)_4$ dans le butane-1,4-diol (300°C , 40 bar, 1 h).

Des échantillons de TiO_2 avec une surface spécifique importante et une porosité homogène ont été également développés en incorporant du carbone dans la structure du dioxyde de titane [27], l'échantillon contenant 1% de carbone en poids semble être le plus performant.

3.5 Photocatalyseur supporté

L'utilisation du TiO_2 sous forme de poudre permet une illumination homogène du matériau sur toute la surface exposée aux rayonnements. Il présente cependant l'inconvénient de son extraction en fin de processus. Des TiO_2 déposés sur différents supports (fibre de verre, cellulose...) ont été développés. Leur extraction en fin de dégradation est simplifiée, mais de tels catalyseurs ne présentent qu'une partie de leur surface aux rayonnements, ce qui diminue leur efficacité.

En 1999 la société Ahlstrom a déposé un brevet relatif à un ensemble support/photocatalyseur facile à utiliser dans un photoréacteur. Des matériaux mixtes à base de charbon actif et de TiO_2 sont également développés pour les applications de dépollution (figure 5).

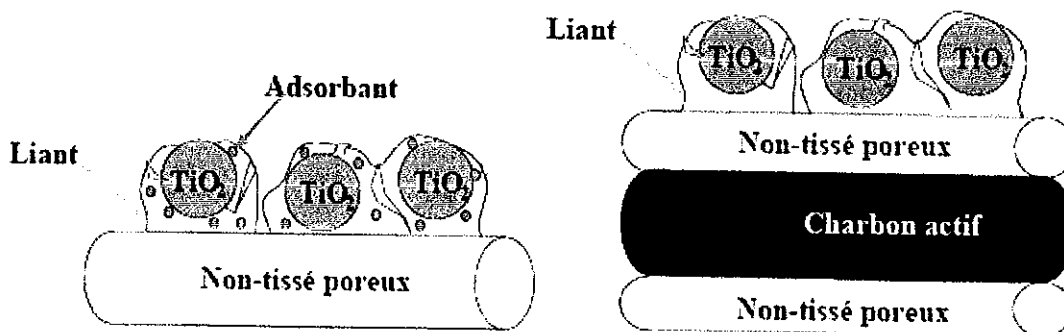


Figure 5. Illustration des catalyseurs développés par la société Ahlstrom

4. Paramètres influençant la photocatalyse

En plus de l'état de l'échantillon (anatase, rutile, brookite), l'activité photocatalytique du TiO_2 dépend de paramètres liés à sa concentration en solution, aux types de radiations utilisées et aux caractéristiques ionique de la solution.

4.1 Effet de la concentration de TiO_2 en solution

Quel que soit le type de photoréacteur utilisé (statique ou dynamique), la vitesse de dégradation initiale est proportionnelle à la masse du catalyseur (m). Mais, au-delà d'une certaine valeur de (m), la vitesse de dégradation devient indépendante de la masse du catalyseur (figure 6). Cette limite dépend de la géométrie et des conditions de travail du photoréacteur ($1,3 \text{ mg/cm}^2$ dans un lit fixe et $2,5 \text{ mg/cm}^3$ en suspension). Dans les suspensions sur-concentrées en catalyseur, les particules de TiO_2 en excès créent un effet écran, masquant une partie de la surface photosensible. La masse optimale du catalyseur doit être prise en compte pour éviter l'effet écran des particules et par conséquent assurer l'absorption totale des photons efficaces.

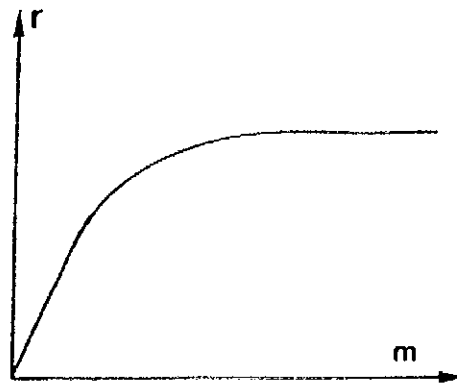


Figure 6. Variation de la vitesse de dégradation polluant en fonction de la masse du catalyseur.

4.2 Effet de l'influence de la longueur d'onde

Le TiO_2 est excité grâce à des photons possédant une énergie supérieure à celle de la bande interdite (E_g) du cristal concerné (anatase ou rutile). Cette énergie de $3,2 \text{ eV}$ pour l'anatase correspond à une longueur d'onde $\lambda \leq 388 \text{ nm}$.

Ce rayonnement est donc de type UV, il peut être obtenu par des sources de rayonnement artificielles telles que des lampes à vapeur de mercure (basse, moyenne ou haute pression) ou des lampes fluorescentes.

Le soleil possède dans son spectre environ $4 - 5\%$ de rayonnement UV qui peuvent être utilisés pour activer le photocatalyseur. Des recherches sont développées, notamment à Almeria en Espagne, pour tester l'efficacité de la photocatalyse en utilisant cette énergie naturelle. Plusieurs réacteurs solaires ont été développés à travers un projet européen (Aquacat) et testés en Tunisie, au Maroc et en Egypte.

La variation de la vitesse de réaction en fonction de la longueur d'onde utilisée dépend du spectre d'absorption du catalyseur comme présenté dans la figure 7.

Des études sont également en cours pour améliorer les performances du photocatalyseur activé par des rayonnements dans le domaine visible, comme le dopage à l'azote [28, 29].

Le spectre d'absorption de TiO_2 peut également être déplacé vers le visible grâce aux hétérojonctions qui peuvent avoir lieu entre le dioxyde de titane et d'autres semi-conducteurs (Cu_2O , Bi_2O_3 , ZnMn_2O_4) [30].

Il faut cependant signaler qu'une absorption dans le visible ne signifie pas automatiquement une activité photocatalytique.

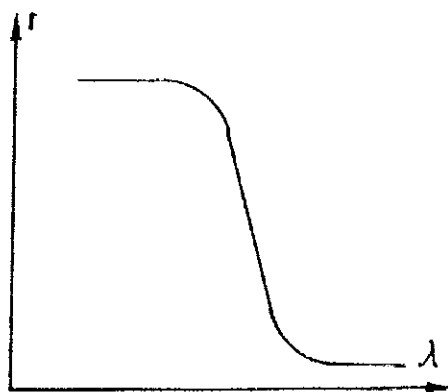


Figure 7. Evolution de la vitesse de dégradation de polluant en fonction de (λ).

4.3 Effet du flux de radiation

La vitesse de dégradation d'un polluant est proportionnelle au flux de radiation (Φ), ce qui confirme la nature photoinduite de l'activation du process catalytique.

Cette proportionnalité est perdue lors de régime intermédiaire, et pour des valeurs de (Φ) croissantes. En effet pour des valeurs de (Φ) supérieures à 25 mW/cm^2 , la vitesse de dégradation devient proportionnelle à la racine carrée du flux lumineux ($\Phi^{1/2}$) (figure 8) [4].

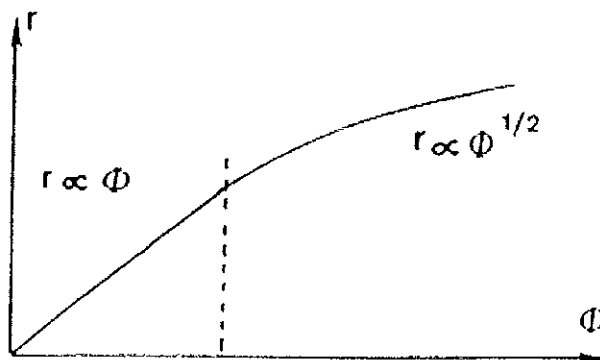


Figure 8. Variation de la vitesse de dégradation de polluants en fonction du flux lumineux.

Cette transition peut être attribuée à la compétition entre les réactions d'oxydation du polluant par les radicaux OH° et les réactions de recombinaison de ces radicaux à cause de leur concentration trop

élevée à la surface du photocatalyseur [31, 32]. Enfin, aux intensités lumineuses très élevées, (environ 100 fois celle du soleil), la vitesse de dégradation devient constante.

4.4 Effet de la concentration initiale en polluant

De manière générale, la cinétique suit le modèle Langmuir-Hinshelwood, confirmant le caractère hétérogène du système. La vitesse varie proportionnellement avec le taux de recouvrement (θ) selon l'équation 15

$$r = k\theta = k \left(\frac{KC}{1 + KC} \right) \dots\dots\dots \text{Eq15.}$$

Pour les solutions diluées où $C < 10^{-3}$ M, le produit (KC) devient très inférieur à 1, la réaction est alors de premier ordre. Aux concentrations élevées ($> 5 \times 10^{-3}$ M), le produit KC est très supérieur à 1. La vitesse de réaction est alors maximum et est d'ordre zéro.

4.5 Effet de la température

Les systèmes photocatalytiques ne requièrent pas d'activation thermique. Dans le domaine de température compris entre 20 et 80°C, l'énergie thermique d'activation apparente (E_a) est souvent très faible (quelques Kj/mol). Cependant, l'activité catalytique décroît aux très faibles températures ($-40 < T < 0^\circ\text{C}$), par conséquent l' E_a augmente, l'étape limitante devient la désorption du produit final tandis que E_a tend vers la chaleur de désorption du produit. Ceci a été observé dans les réactions mettant en jeu l'hydrogène (dehydrogénation d'alcool [33, 34]) sur un catalyseur bifonctionnel Pt/TiO₂.

Aux températures élevées ($> 80^\circ\text{C}$), l'adsorption exothermique du polluant est défavorisée et tend à devenir l'étape limitante, l'activité catalytique décroît. En résumé, la température optimale des réactions photocatalytiques est comprise entre 20 et 80°C, (figure 9)

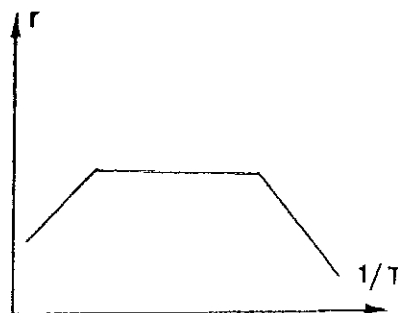
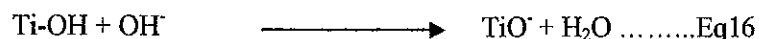


Figure 9. Variation de la vitesse de dégradation en fonction de la température.

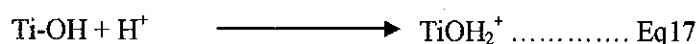
4.6 Effet des caractéristiques ioniques de la solution aqueuse

4.6.1 Effet du pH

L'état électrique de la surface du TiO_2 est défini par le pH de la solution. En effet le point zéro charge (PZC) est la valeur du pH pour laquelle la surface du TiO_2 est neutre, elle est de 6,3 [35]. A $\text{pH} > 6,3$, la surface du catalyseur est négativement chargée (Equation 16)



A $\text{pH} < 6,3$ la surface du TiO_2 est positivement chargée Eq17



Suivant la nature du composé et son pK, sa dégradation sera plus ou moins affectée par le pH de la solution. Par exemple un composé cationique sera plus rapidement dégradé à pH basique, alors qu'un pH acide favorisera la dégradation de composés anioniques.

4.6.2 Effet des ions inorganiques

Le PZC du TiO_2 occupe une place importante dans l'étude de l'influence des ions inorganiques sur les dégradations photocatalytiques.

En effet, les ions proches de la surface du TiO_2 peuvent gêner l'adsorption du polluant et limiter l'action des espèces actives. Or, l'état électrique de la surface est déterminant quant au rapprochement ou à l'éloignement des ions inorganique par rapport au TiO_2 . Ainsi, lorsque le pH est inférieur au PZC, certains anions (phosphate, sulfate et chlorure) diminuent fortement l'efficacité photocatalytique [36, 37]. Par contre, aucun effet négatif n'a été observé si le pH est supérieur au PZC [36, 38].

5. Couplage de différents procédés d'oxydation avancée

5.1 Couplage photocatalyse/Ozone (O₃)

La photocatalyse peut être combinée à d'autres techniques d'oxydation avancée de manière à améliorer l'efficacité du procédé [39].

Ainsi, la combinaison TiO₂/O₃ a montré un effet synergique pour dégrader des composés organiques [40]. La figure 10 montre la dégradation de différents composés organiques : effluents de l'industrie textile à 1 heure, aniline à 2 heures et l'acide 2,4-dichlorophenoxyacétique à 3 heures en utilisant la photocatalyse, l'ozonisation et les deux techniques combinées [41-43], le gain d'efficacité est incontestable en regroupant les deux méthodes.

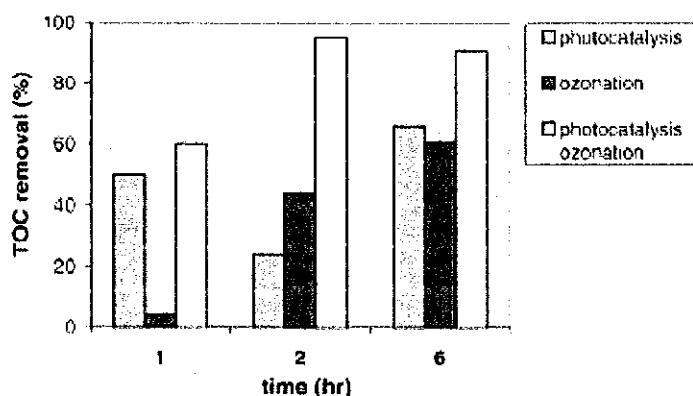
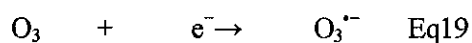
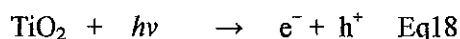
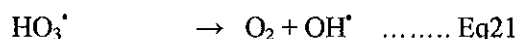


Figure 10. Effet de synergie entre la photocatalyse et l'ozonation [41-43].

En plus de l'ozonisation directe d'un composé intermédiaire en présence de TiO₂ irradié, l'ozone permet d'une part d'améliorer la séparation des charges par un piégeage plus efficace des électrons dû à son potentiel d'activation plus grand que celui de l'oxygène et d'autre part la génération de radicaux OH° à travers la formation du radical ozonide O₃^{•-} dans la couche d'adsorption selon la séquence suivante (Equations 18 et 19) [40]:



L'ozonide généré O₃^{•-} réagit avec le H⁺ en solution pour donner le radical HO₃[•] qui évolue pour donner l'oxygène et le radical hydroxyle (Equations 20 et 21):



5.2 Couplage photocatalyse/H₂O₂

Des résultats contradictoires ont été obtenus quant à l'association du peroxyde d'hydrogène au TiO₂ irradié. Alors que certains auteurs [44-47] signalent un effet positif lors de l'ajout de H₂O₂ dans les dégradations photocatalytiques, d'autres [48, 49] annoncent des effets négatifs de la combinaison TiO₂/UV/H₂O₂. Poullos et al. [50] ont étudié l'oxydation photocatalytique du colorant éosine Y en introduisant le peroxyde d'hydrogène, ils remarquèrent que la vitesse de dégradation augmente par un facteur de deux par rapport à la photocatalyse seule.

Kabir et al. [44] considèrent le phénol comme modèle dans leur étude sur la purification de l'eau. Ils observent une amélioration dans la vitesse de dégradation allant quasiment du simple au double en introduisant seulement 1% de H₂O₂ en volume dans une suspension contenant 1,07 g/L de TiO₂. Cependant, en augmentant la concentration du peroxyde d'hydrogène, la vitesse de dégradation diminue pour atteindre, à 20% d'H₂O₂, la même valeur que dans la photocatalyse pure. Cette diminution peut être attribuée à la recombinaison des espèces oxydantes, radicaux hydroxyles principalement, aux concentrations élevées de peroxyde d'hydrogène. Dominguez et al. [51] reportent également une amélioration du procédé photocatalytique par ajout de peroxyde d'hydrogène lors de la dégradation du colorant rouge acide 88 azo. Dans l'étude concernant la dégradation du 1,2-dimethoxybenzene menée par P. Pichat et al, il est reporté que l'ajout de H₂O₂ a un effet positif ou négatif sur l'efficacité de la dégradation par photocatalyse du 1,2 DMB selon le rapport initial [H₂O₂]/1,2 DMB, la présence de peroxyde d'hydrogène n'a en revanche aucun effet sur la constante de vitesse de dégradation du 1,2 DMB par en présence de ZnO [52].

5.3 Couplage photocatalyse/ultrasons

Différentes équipes de recherche [53-56] ont examiné la possibilité de combiner le procédé ultrasoniques à la photocatalyse. La vitesse de dégradation des polluants par le procédé combiné photocatalyse/ultrasons est égale à la somme des vitesses individuelles de chaque technique séparée [57, 58]. Guillard et al. [59] ont étudié la dégradation de l'octanol par les deux procédés dans le but de déterminer les mécanismes réactionnels dans chacune des méthodes. Ils conclurent que malgré la formation d'espèces oxydantes identiques dans les deux procédés, principalement les radicaux hydroxyles, les chemins et les sous-produits de dégradation sont différents d'une méthode à une autre. Alors que la photocatalyse se passe sur la surface du TiO₂ par réaction entre le polluant et les espèces photogénérées, par ultrason les réactions se déroulent d'une part par l'action des OH[°] généré dans les bulles de cavitation et d'autre part par pyrolyse dans ces bulles. Dans une récente étude [60], il a été observé que l'effet de la sonophotocatalyse pour dégrader le colorant « reactive black 5 » est supérieur à la somme des efficacités de chaque méthode individuellement.

5.4 Couplage photocatalyse/photofenton

Le procédé de Fenton, qui est un procédé d'oxydation avancée, est basé sur une réaction d'oxydo-réduction du peroxyde d'hydrogène pour générer le radical OH° . En présence de H_2O_2 et Fe^{2+} à un pH de 3, la première forme hydrolysée de l'ion ferrique, $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$, est en équilibre avec l'eau, contrôlant ainsi le taux de production du radical libre OH° à partir de la décomposition de H_2O_2 .

Le procédé de Fenton peut être amélioré en rajoutant des rayonnements UV ou visible, donnant alors lieu au procédé photo-Fenton. Ce dernier a pour objet de réactiver le fer (III) par réduction (par rayonnement UV/visible).

La combinaison de Fe^{+3} , TiO_2 et les rayonnements UV, (photocatalyse/photofenton) s'est révélée très efficace pour éliminer des polluants connus comme étant récalcitrants tels que l'EDTA, l'acide nitriloacétique ainsi que d'autres acides Oglio-carboxyliques [61-66]. Si la dégradation photocatalytique de l'EDTA, par exemple, est rapide, sa minéralisation reste néanmoins difficile. La présence d'agents oxydants tels que le fer et le peroxyde d'hydrogène permettent l'abattement rapide du carbone organique total [67].

5.5 Couplage photocatalyse/électrocatalyse

Le degré élevé des recombinaisons trous- électrons photogénérés, représente un inconvénient majeur pour la photocatalyse [68]. La déposition de métaux nobles sur des films de TiO_2 contribue à bloquer la recombinaison trou-électron en attirant les électrons photogénérés vers la partie métallique. Cette technique est appelée la photoélectroréaction [69] ou encore procédé d'oxydation hybride [70], elle a été développée par He et al. Pour la dégradation de l'acide formique sur des films Ag-TiO_2 , en appliquant un champs électrique externe. Selon cette étude, la déposition de l'argent sur TiO_2 et l'application d'une anode partielle sur ces films (Ag-TiO_2) à permis non seulement d'accélérer la vitesse de dégradation de l'acide formique mais aussi celle d'abattement de la demande chimique en oxygène (DCO).

6. Domaine d'utilisation de la photocatalyse

Comme énoncé précédemment, les domaines d'application de la photocatalyse sont nombreux et diversifiés. Depuis 1977, date à laquelle Brad et Franck [71], ont essayé de dégrader les cyanides dans l'eau, l'intérêt pour la photocatalyse n'a cessé d'être croissant [72, 73]. Au début des années 1980, la dépollution de l'eau a été l'une des applications phare de cette technique. A l'exception du cycle 2, 4, 6-trihydroxy-1, 2, 5-triazabenzène [32, 74] et l'acide trifluoroacétique [75], la photocatalyse s'est révélée très efficace pour éliminer plus de 360 composés organiques [76]. La pollution par les colorants a été à l'origine de plusieurs dizaines de publications scientifiques dans ce domaine. Il ressort de ces études que le groupe diazo est majoritairement dégradé en N_2 gazeux, ce qui est un atout

considérable de ce procédé. Un récent article compare la rapidité et le taux de minéralisation de deux colorants : un anionique et un cationique [77]. Comparé au colorant anionique, le colorant cationique a plus d'aptitude à s'adsorber sur les grains de TiO_2 facilitant ainsi sa dégradation par photocatalyse, ce résultat est à rapprocher des effets du pH notés dans le paragraphe précédent.

La pollution de l'air a également été traitée par photocatalyse. Des polluants gazeux de différents types alcanes [78], alcools [79], cétone [80, 81] ont été étudiés. Des composés aromatiques volatiles provenant des raffineries ont également été dégradés par photocatalyse [82]. La dégradation de molécules volatiles halogénées produit des radicaux Cl° . Ceux-ci peuvent donner lieu à des réactions en chaîne qui augmentent l'efficacité des traitements photocatalytiques [83-85]. Si la vapeur d'eau, peut générer des radicaux OH° améliorant le procédé photocatalytique, elle peut aussi rentrer en compétition avec les polluants pour les sites d'adsorption, limitant ainsi les transferts de la phase gazeuse vers la phase adsorbée.

La récupération des métaux précieux [86, 87] ou toxiques [88, 89] est une autre application de la photocatalyse. L. Murrini et al. ont réduit les ions de plomb contenu dans l'eau. L'élimination de ce métal toxique est améliorée en utilisant un TiO_2 platiné ($\text{TiO}_2\text{-Pt}$), en faisant barboter l'ozone ou encore en introduisant le 2-propanol dans le milieu réactionnel pour piéger les trous.

L. Wang et al ont montré l'efficacité du procédé photocatalytique pour éliminer le chrome (VI), qui existe dans les rejets industriels, et dont la toxicité est bien connue. Ces auteurs ont étudié l'élimination photocatalytique de ce métal sur un « TiO_2 » thermiquement traité. Selon ces auteurs [89], la présence de composés organiques (l'acide formique) améliore les taux de réduction du chrome par photocatalyse. Xu et al [90] ont également montré la capacité de la photocatalyse à éliminer simultanément des polluants organiques et minéraux. En effet, la réduction du Cr(VI) a été obtenue en même temps que l'oxydation du MTBE grâce au système TiO_2/UV .

Le recouvrement de surfaces de différentes matières (verre, béton, métal...) par TiO_2 permet l'obtention de surfaces auto-nettoyantes. Ces nouvelles surfaces sont capables d'éliminer les salissures déposées en surface. Les composés organiques issus de l'activité industrielle et humaine adsorbés sur les verres auto-nettoyants peuvent être dégradés en utilisant un rayonnement de faible intensité (1 mW/cm^2) (figure 11) [91]. De nouvelles applications apparaissent avec des bétons auto-nettoyants et la dépollution de l'air dans les villes.

Enfin, la photocatalyse peut être impliquée dans la dégradation de perturbateurs chimiques endocriniens (EDCs en anglais) dans l'eau [92-94]. La présence d'hormones féminines telles que l'estrogène naturel du 17 β -estradiol (E2) ou l'estron (E2) provoque de fortes activités ostrogéniques même à de très faibles concentrations (10^{-9}M). La découverte dans les rivières britanniques de carpe et de truite hermaphrodites est attribuée à la présence de ces EDCs en fortes concentrations [95]. Ces composés sont totalement éliminés par photocatalyse sous faible irradiation. Les composés intermédiaires produits lors du procédé photocatalytique ne présentent pas d'activité ostrogénique.

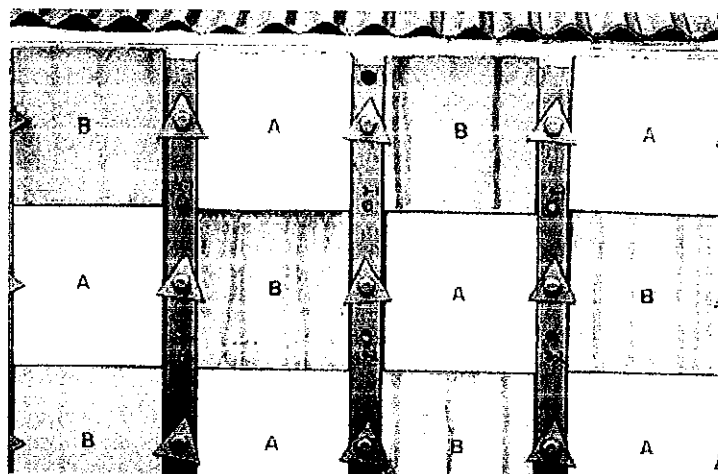


Figure 11. Photographie alternant des carreaux de verre ordinaire (B) et auto-nettoyant (A) installés sur un mur extérieur. [96, 97]

En France, le laboratoire IRCELYON (issu de la fusion de deux laboratoires ex LACE et ex IRC) est, l'un des plus importants laboratoires de catalyse français travaillant sur ce procédé depuis de longues années. Ce laboratoire a déjà produit des dizaines de publications depuis le début de son activité de recherche dans les années 80. Les domaines de recherche explorés par cette équipe sont très variés allant de la recherche fondamentale aux applications réelles de cette technique dans la dépollution de l'eau et de l'air : dégradation de composés organiques [98-101], élimination de pesticide et de colorant [102-106], élimination de composés malodorants [107]. Cette équipe a également développé un photoréacteur à base de fibres optiques recouvert d'un film mince de TiO_2 [108] en vue de s'affranchir des inconvénients liés à l'extraction du TiO_2 en fin de dégradation photocatalytique. L'évaluation de l'efficacité de TiO_2 déposé sur du papier non tissé fabriqué par Ahlstrom a été réalisée par cette équipe, lors de la dégradation photocatalytique de composés organique sous irradiation solaire [102]. A partir de 2006, Mme C. Guillard a débuté la désinfection photocatalytique qui a pour but d'éliminer les microorganismes en vue de potabiliser l'eau et de désinfecter l'air. Dans ce contexte, le virus «H5N2» a été pris comme modèle du virus pathogène de la grippe aviaire «H5N1». En association avec l'entreprise «BUXAIR», l'étude de l'inactivation du virus H5N2 par photocatalyse a montré l'efficacité de cette technique contre ce type de polluants dans l'air [109]. Le microorganisme *E-coli* a été pris comme modèle de pollution bactérienne de l'eau. Cette étude est l'objet de la présente thèse. La désinfection photocatalytique de l'eau contaminée par *E-coli* s'est révélée positive [110], ce microorganisme a été également dégradé en utilisant d'autres classes de matériaux photoactifs tels que les photosensibilisateurs ou encore une argile pontée avec le titane. Enfin la référence [111] (J. M. Herrmann et al.) rassemble les principaux axes d'application de la photocatalyse.

7. Principaux défis de la photocatalyse

Depuis les années 1960, la photocatalyse a montré ses capacités dans les différents domaines que nous venons de présenter. Cependant, des questions subsistent:

- Cette technique est-elle condamnée à travailler exclusivement avec le TiO_2 ?
- Pourra-t-on activer le TiO_2 dans le visible ?

Si d'autres photocatalyseurs tels que (Cu_2O , Fe_2O_3 , WO_3 , CdS , CdSe) peuvent être activés dans le visible, leur activité photocatalytique reste cependant inférieure à celle du TiO_2 . La recherche scientifique future dans ce domaine, s'attèlera donc à répondre à ces questions. D'autre part,

- Peut-on envisager l'application de la photocatalyse dans le domaine médical pour traiter le cancer par une thérapie photodynamique ?

A ces questions, s'ajoute l'urgence de la standardisation de la photocatalyse. La création d'un test photocatalytique standard s'avère aujourd'hui nécessaire pour pouvoir comparer les produits photocatalytiques de différents constructeurs sur une base commune. Des travaux de standardisation de produits photocatalytiques sont aujourd'hui menés au Japon par le comité japonais de standardisation, celui-ci est composé de quatre sous comités :

- Le sous comité d'évaluation et standardisation des méthodes auto-nettoyantes,
- Le sous comité de standardisation de produits pour la purification de l'air,
- Le sous comité de standardisation de produits pour la purification de l'eau,
- Le sous comité de standardisation de produits anti-bactérien.

Des efforts de standardisation sont également effectués en Europe, en Chine et en Corée du sud, une standardisation internationale est néanmoins souhaitée.

Enfin la généralisation de l'application de la photocatalyse passe par sa popularisation. Un travail important reste à faire pour les années à venir en vue d'introduire la photocatalyse et les produits photocatalytiques dans la vie quotidienne des populations.

Références

- [1] S. Latieule, *Info Chimie Magazine* 423 (2000) 138-140.
- [2] C. Guillard, J. M. Herrmann, J. P. Chevrier, C. Bertrand, E. Philibert, Brevet français n° 0403448 (01/04/04) ; Air flow treatment device, in particular for a refrigerator. C. Guillard, J.M. Herrmann, J.P. Chevrier, C Bertrand, E. Philibert. Brevet international n° WO2005/097302 A1 (20 oct.2005)
- [3] Christophe CANTAU, Thèse doctorale : Nouveaux matériaux pour la photocatalyse dans le visible : De l'élaboration à l'activité. Soutenu le 13 Décembre 2006. Université de Pau et des pays de l'Adour.
- [4] J.M Herrmann, *Catal. Today*, 53 (1999) 115.
- [5] S. C. Ameta, R. Ameta, J. Vardia, Z. Ali, *J ind. Chem. Soc.*, 76 (1999) 281.
- [6] J. M. Herrmann, *Entropie* 228 (2000) 12.
- [7] K. Tanaka, M. Capule, T. Hisanaga, *Chem. Phys. Lett.*, 187 (1,2) (1991) 73.
- [8] P. Pichat, M. A. Fox, *Photoinduced electron transfer*, part D, M. A. Fox, M. Chanon, Eds. Elsevier, Amsterdam, 1988, ch. 6, 241.
- [9] S. Yamazaki, S. Matsunaga, K. Hori, *Water res.*, 35 (4) (2001) 1022.
- [10] J. Rasaiah, J. Hubbard, R. Rubin, S. H. Lee, *J. Phys. Chem.*, 94 (1990) 652.
- [11] J. Cunningham, P. Sedlak, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 77 (1994) 255.
- [12] V. Brezova, A. Blazkova, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 109 (1997) 177.
- [13] M. Doré, *chimie des oxydants et traitement des eaux*, Technique et documentation, Lavoisier, 1989.
- [14] JCPDS, ref. 21-1272, *Nat. Bur. Stand. (US) Monogr.*, 25, (1969).
- [15] JCPDS, ref. 21-1276, *Nat. Bur. Stand. (US) Monogr.*, 25, (1969).
- [16] E. P. Maegher, G.A. Lager, *canadian mineralogist*, 17 (1979) 77.
- [17] T. P. Feist, O. K. Davis, *J. Solid State Chem.*, 101 (1992) 275.
- [18] Y. Simons, F. Dacheille, *Acta crystal.*, 23 (1967) 334.
- [19] M. Lacroche, L. Brohan, R. Marchand, M. Tournoux, *J. Solid State Chem.*, 81 (1989) 78.
- [20] J. Akimoto, Y. Gotoh, N. Nonose, T. Kumagai, K. Aoki, H. Akei, *J. Solid State chem.*, 113 (1994) 27.
- [21] A. Scalfani, L. Palmisano, M. Schiavello. *J. Phys. Chem.* 94, (1990), 829.
- [22] K. Tanaka, M. F. V. Capule, T. Hisanaga, *Chem. Phys. Letters* 187 (12) (1991) 73-76.
- [23] C. Su, B.-Y. Hong, C.-M. Tseng, *Catalysis Today* 96 (2004) 119-126.
- [24] P. Stefchev, V Blaskov, M Machva, P Vitanov, V. Kozhukharov, *International journal of inorganic materials*, 3 (2001) 531-536.
- [25] M. Kang, S. Y. Lee, C. H. Chung, S. M. Cho, B. W. Kim, K. J. Yoon, *j. photochem. Photobiol., A: chemistry*, 144 (2001), 185-191.

- [26] H. Kominamai, H. Kumato, Y. Kera, B. Ohtani, *applied catalysis B: environ.*, 30 (2001) 329-335.
- [27] S. H. Kang, J-Y. Kim, Y-K. Kim, Y-E. Sung, *J. of Photochem. and Photobiol., A: Chemistry* 186 (2007) 234–241.
- [28] R. Silveyra, L. De La Torre Saenz, W. A. Flores, V. C. Martinez, A. A. Elguezabal, *Catalysis Today* 107–108 (2005) 602–605.
- [29] I-C. Kang, Q. Zhang, J. Kano, S. Yin, T. Sato, F. Saito, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chemistry* 189 (2007) 232–238.
- [30] Y. Bessekhoud, D. Robert, J.-V. Weber, *Catalysis Today* 101 (2005) 315–321.
- [31] T. A. Egerton, C. J. King, *J. Oil Col. Assoc.*, 62 (1979) 386.
- [32] D. Bahnemann, J. Cunningham, M. A. Fox, E. Pellizzetti, P. Pichat, N. Serpone, *Aquatic and surface photochemistry*, Eds. Helz, G. R. Zepp, D. G. Crosby, Lewis publ., 21 (1994) 261.
- [33] P. Pichat, J.M. Herrmann, J. Disdier, H. Courbon, M.N.Mozzanega, *Nouv. J. Chim.* 5 (1981) 27.
- [34] P. Pichat, J.M. Herrmann, J. Disdier, H. Courbon, M.N.Mozzanega, *Nouv. J. Chim.* 6 (1982) 53.
- [35] J.-P Jolivet, *De la solution à l'oxyde*, Inter-Editions/ CNRS Editions, 1994.
- [36] J-C. D'oliveira, C. Minero, E. Pellizzetti, P. Pichat. *J. Photochem. Photobiol., A. Chem*, 72 (1993) 261.
- [37] M. Abdullah, G. K. C. Low, R. W. Matthews., *J. Phys. Chem.* 94 (1990) 6820.
- [38] V. Augugliaro, L. Palmisano, A. Sclafani, C. Minero, E. Pellizzetti., *Toxicol. Environ. Chem.* 16 (1988) 89.
- [39] P. Pichat, L Cerminati, A. Albini, D. Mas, H. Delprat and C. Guillard. *Res. Chem. Intermed.* 26-2(2000)391-399.
- [40] T.E. Agustina, H.M. Ang, V.K. Vareek, *J. of Photochem. and Photobiol. C: Photochem Rev.*6 (2005) 264–273
- [41] D.C. Schmelling, K.A. Gray, P.V. Kamat, *Water Res.* 31 (1997) 1439–1447.
- [42] L. Sanchez, J. Peral, X. Domenech, *Appl. Catal. B: Environ.* 19 (1998) 59–65.
- [43] D. Duonghong, J. Ramsden, M. Gratzel, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 2977–2985.
- [44] M. F. Kabir, E. Vaisman, C. H. Langford, A. Kantzas *Chemical Engineering Journal* 118 (2006) 207–212
- [45] H.-D. Chun, J.K. Park, *Hazard. Waste Hazard. Mater.* 11 (1994) 501–510.
- [46] Z. Mengyue, C. Shifu, T. Yaowu, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 64 (1995) 339–344.
- [47] A. Haarstrick, O.M. Kut, E. Heinzle, *Environ. Sci. Technol.* 30 (1996) 817–824.
- [48] R. Dillert, I. Fornefett, U. Siebers, D. Bahnemann, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 94 (1996) 231–236.
- [49] S. Kumar, A.P. Davis, *Water Environ. Res.* 69 (1997) 1238–1245.

- [50] I. Poullos, E. Micropoulou, R. Panou, E. Kostopoulou, *Appl. Catal. B: Environ.* 41 (2003) 345–355.
- [51] J. R. Dominguez, J. Beltran, O. Rodriguez *Catalysis Today* 101 (2005) 389–395
- [52] P. Pichat, C. Guillard, L. Amalric, A. -C. Renard, O. Plaidy. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 38 (1995)391-399.
- [53] N. Serpone, P. Colarusso, *Res. Chem. Intermed.* 20 (1994) 635–679.
- [54] P. Theron, P. Pichat, C. Pétrier, C. Guillard, *Water Sci. Technol.* 44 (2001) 263–270.
- [55] J. Peller, O. Wiest, P.V. Kamat, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 1926–1932.
- [56] M. Mrowetz, C. Pirola, E. Selli, *Ultrason. Sonochem.* 10 (2003) 247–254.
- [57] N.L. Stock, J. Peller, K. Vinodgopal, P.V. Kamat, *Environ. Sci. Technol.*34 (2000) 1747–1750.
- [58] P. Theron, P. Pichat, C. Guillard, C. P'étrier, T. Chopin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1 (1999) 4663–4668.
- [59] C. Guillard, P. Théron, P. Pichat, C. Pétrier, *Water Res.* 36 (2002) 4263–4272.
- [60] D. E. Kritikos, N. P. Xekoukoulotakis, E. Psillakis, D. Mantzavinos *Water Research* 41 (2007) 2236 – 2246.
- [61] P.A. Babay, C.A. Emilio, R.E. Ferreyra, E.A. Gautier, R.T. Gettar, M.I. Litter, *Water Sci. Technol.* 44 (2001) 179–185.
- [62] C.A. Emilio, R.T. Gettar, M.I. Litter, *J. Appl. Electrochem.* 35 (2005) 733–740.
- [63] N. Quici, M.E. Morgada, G. Piperata, P. Babay, R.T. Gettar, M.I. Litter, *Catal. Today* 101 (2005) 253–260.
- [64] C.A. Emilio, W.F. Jardim, M.I. Litter, H.D. Mansilla, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 151 (2002) 121–127.
- [65] D. Hufschmidt, D. Bahnemann, J.J. Testa, C.A. Emilio, M.I. Litter, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 148 (2002) 223–231.
- [66] C. Baeza, A. Rossner, W.F. Jardim, M.I. Litter, H.D. Mansilla, *Environ. Technol.* 24 (2003) 1277–1281.
- [67] V. Augugliaro, M. Litter, L. Palmisano, J.Soria, *Journal of Photochem. and Photobiol. C: Photochem. Rev.* 7 (2006) 127–144.
- [68] M.A. Fox, *ChemTech* 22 (1992) 680–685.
- [69] X.Z. Li, B.X. Zhao, P. Wang, *J. of Hazardous Materials* 147 (2007) 281–287
- [70] C. He, Y. Xiong, X. Zhu, *Thin Solid Films* 422 (2002) 235–238.
- [71] S.N. Frank, A.J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 303.
- [72] M.R. Hoffmann, S.T. Martin, W. Choi, D.W. Bahnemann, *Chem. Rev.* 95 (1995) 69.
- [73] A. Fujishima, T.N. Rao, D.A. Tryk, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 1 (2000) 1
- [74] E; Pellizzetti, V; Maurino, C. Minero, V. Carlin, E. Pramauro, O. Zerbiniati, M. Tosato, *Environ. Sci. Technol.* 24 (1990) 1559.

- [75] D. Mas, H. Delprat, P. Pichat, *Photoelectrochem., Proc.-electrochem. Soc.* 97-20 photoelectrochem. (1997) 289.
- [76] D. M. Blake, *Bibliography of work on the Heterogenous Photocatalytic Removal of Hazardous Compounds from Water and Air, Update Number 4 to October; 2001, 272 pp., NICH Report N° TP-510-31319; <http://www.nrel.gov/dd.html>.*
- [77] W. Baran, A. Makowski, W. Wardas, *Dyes and Pigments* 76 (2008) 226-230.
- [78] M. Sturini, F. Soana, A. Albini, *Tetrahedron*, 58 (2002), 2943-2950.
- [79] A. Patsoura, D. I. Kondarides, X. E. Verykios, *Catalysis Today* 124 (2007) 94–102
- [80] G. Vincent, A. Queffeuilou, P.M. Marquaire, O. Zahraa, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chemistry* 191 (2007) 42–50
- [81] C. Raillard, V. Héquet, P. Le Cloirec, J. Legrand, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chemistry* 163 (2004) 425–431
- [82] J. Saien, H. Nejati, *Journal of Hazardous Materials* 148 (2007) 491–495.
- [83] W. A. Jacobi, D. M. Blake, R. D. Noble, C. A. Koval, *J. Catal.*, 157 (1995) 87.
- [84] Y. Luo, D. F. Ollis, *J. Catal.* 163 (1996) 1.
- [85] O. D’Hennezel, D. F. Ollis, *Surf. Sci. Catal.*, 101 (1996) 435.
- [86] M. I. Litter, *Appl. Catal. B : Environ.*, 23 (1999) 89.
- [87] J. M. Herrmann, J. Disdier, P. Pichat, *J. Catal.*, 113 (1988) 72
- [88] L. Murrini, G. Leyva, M. I. Litter, *Catal. Today* (2007), doi:10.1016/j.cattod.2007.06.058
- [89] L. Wang et al., N. Wang, L. Zhu, H. Yu, H. Tang, *J. Hazard. Mater.* (2007), doi:10.1016/j.jhazmat.2007.06.063
- [90] X-R. Xu, H-B. Li, J-D. Gu, *Chemosphere* 63 (2006) 254–260.
- [91] T. Minabe, D.A. Tryk, P. Sawunyama, Y. Kikuchi, K. Hashimoto, A. Fujishima, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 137 (2000) 53.
- [92] Y. Ohko, K. Iuchi, C. Niwa, T. Tatsuma, T. Nakashima, T. Iguchi, Y. Kubota, A. Fujishima, *Environ. Sci. Tech.* 36 (2002) 4175.
- [93] T. Nakashima, Y. Ohko, Y. Kubota, A. Fujishima, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 160 (2003) 115.
- [94] Y. Zhang J.L. Zhou, B. Ning, *Water Research* 41 (2007) 19 – 26.
- [95] L.J. Guillet, S.F. Arnold, J.A. MacLachlan, *Anim. Reprod.Sci.* 42 (1996) 13.
- [96] R. Wang, K. Hashimoto, A. Fujishima, M. Chikuni, E. Kojima, A. Kitamura, M. Shimohigoshi, T. Watanabe, *Adv. Mater.* 10 (1998) 135.
- [97] A. Fujishima, X. Zhang C. R. *Chimie* 9 (2006) 750–760
- [98] A. Danion, J. Disdier, C. Guillard, N. Jaffrezic-Renault, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chem.* 190 (2007) 135–140.
- [99] J-M. Herrmann, C. Guillard, J. Disdier, C. Lehaut, S. Malato, J. Blanco, *Appl. Catal. B: Environ.* 35 (2002) 281–294

- [100] F. Thevenet, O. Guaitella, J.M. Herrmann, A. Rousseau, C. Guillard, *Appl. Catal. B: Environ.* 61 (2005) 58–68.
- [101] C. Guillard, N. Charton, P. Pichat *Chemosphere* 53 (2003) 469–477
- [102] C. Guillard, J. Disdier, C. Monnet, J. Dussaud, S. Malato, J. Blanco, M. I. Maldonado, J-M. Herrmann, *Appl. Catal. B: Environ.* 46 (2003) 319–332
- [103] A. Marinas, C. Guillard, J. M. Marinas, A. Fernández-Alba, A. Agüera, J-M. Herrmann, *Appl. Catal. B: Environ.* 34 (2001) 241–252.
- [104] M. Carrier, N. Perol, J-M. Herrmann, C. Bordes, S. Horikoshi, J. O. Paise, R. Baudot, C. Guillard, *Appl. Catal. B: Environ.* 65 (2006) 11–20.
- [105] G. Goutailler, J-C. Valette, C. Guillard, O. Païssé, R. Faure, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chem.* 141 (2001) 79–84
- [106] K. Sahel, N. Perol, H. Chermette, C. Bordes, Z. Derriche, C. Guillard, *Appl. Catal. B: Environ.* 77 (2007) 100–109
- [107] C. Guillard, D. Baldassare, C. Duchamp, M.N. Ghazzal, S. Daniele *Catalysis Today* 122 (2007) 160–167
- [108] A. Danion, J. Disdier, C. Guillard, F. Abdelmalek, N. Jaffrezic-Renault, *Appl. Catal. B: Environ.* 52 (2004) 213–223.
- [109] C. Guillard, T-H. Bui, C. Felix, V. Moules, B. Lina, P. Lejeune, *C. R. Chim.* (2007), doi:10.1016/j.crci.2007.06.007
- [110] A.K. Benabbou, Z. Derriche, C. Felix, P. Lejeune, C. Guillard, *Appl. Catal. B: Environ.* 76 (2007) 257–263
- [111] J.-M. Herrmann, C. Duchamp, M. Karkmaz, B-T. Hoai, H. Lachheb, E. Puzenat, C. Guillard, *J. of HazMat.* 146 (2007) 624–629.

Chapitre II

**Matériaux argileux et
modification par
pontage**

Introduction

L'utilisation de matériaux combinant à la fois un fort pouvoir adsorbant et une activité photocatalytique devient de plus en plus répandue. C'est dans cette optique que se développe, au sein de différentes équipes de recherche de part le monde, la synthèse d'argile modifiée, en vue de conférer à celle-ci un pouvoir photoactif. Le pontage de l'argile avec l'oxyde de titane constitue l'une des principales voies pour arriver à ce but. L'optimisation de la synthèse de tels matériaux a fait l'objet d'études précédentes, différents résultats sont obtenus en fonction du type de l'argile de base ainsi que le mode d'obtention du polymère de titane. Ce dernier point constitue une étape cruciale dans la synthèse de ces matériaux. En effet, si certains chercheurs préparent le polymère de titane à partir de $TiCl_4$ en l'hydrolysant par l'acide chlorhydrique, d'autres préfèrent l'utilisation du tétra-isopropoxyde de titane hydrolysé par l'acide acétique. Ce dernier protocole permet l'obtention d'un polymère de titane moins acide, donc non agressif par rapport à la structure argileuse. L'obtention d'une argile convenablement pontée avec le titane permettrait non seulement d'adsorber les polluants à sa surface mais aussi de les oxyder et de les dégrader, en la combinant aux irradiations appropriées, pour les éliminer définitivement du cycle environnemental. Nous essayerons dans ce qui suit de présenter une synthèse sur les argiles, leur constitution et leurs propriétés. Nous passerons par la suite à la préparation d'une argile pontée avec le titane en vue de l'associer à un traitement photocatalytique de désinfection.

1. Structure des minéraux argileux

Les minéraux argileux se présentent généralement sous forme de feuillets, d'où leur nom de phyllithes. Ils appartiennent au groupe des phyllosilicates. Chaque cristal ou phyllithe (dont l'épaisseur se mesure en micromètres) est formé de quelques centaines de feuillets empilés qui se mesurent en unités mille fois plus petites, les nanomètres. C'est la structure du feuillet élémentaire qui caractérise l'espèce minérale. Chaque feuillet est composé de deux, trois ou quatre couches planes associées.

1.1 Structure du feuillet

Le feuillet est constitué de deux éléments essentiels : le silicium et l'aluminium entourés d'atomes d'oxygène ou de groupements hydroxyles.

Le silicium occupe le centre d'un tétraèdre, l'aluminium celui d'un octaèdre. La juxtaposition de plusieurs tétraèdres ou de plusieurs octaèdres donne la couche correspondante (figure 1). Le feuillet argileux est obtenu par superposition de couches tétraédrique et octaédrique. Chaque feuillet est séparé du suivant par un espace interfoliaire pouvant renfermer des cations.

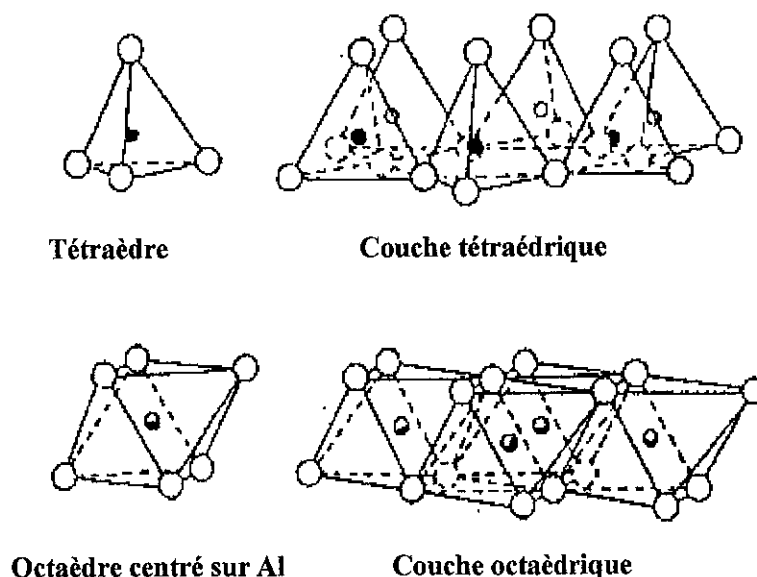


Figure 1 Constituants élémentaire du feuillet argileux

2. principaux types d'argile

Les différents groupes de minéraux sont définis par l'épaisseur de leurs feuillets, chacun correspondant à l'empilement d'un nombre variable de couches tétraédriques et octaédriques.

2.1 Minéraux à 7 Å°

Ils sont aussi appelés minéraux de type (1 : 1). Ils associent dans leurs feuillets une couche de tétraèdres centrés par le silicium et une couche d'octaèdres centrés par l'aluminium (Figure 2). Le principal minéral de ce groupe est la *kaolinite*, son feuillet est neutre, la distance séparant deux feuillets est de 7 Å°. La formule chimique structurale est $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$.

2.2 Minéraux à 10 Å°

Appelés également minéraux de type (2 : 1). Leur feuillet est formé d'une couche octaédrique prise en sandwich entre deux couches tétraédriques. Les principaux minéraux de ce groupe sont la *montmorillonite* et l'*illite*, la formule générale de cette dernière étant $(\text{Si}_{4-x}\text{Al}_x)(\text{A}_1.\text{M}_1.\text{M}_2)_2\text{O}_{10}(\text{OH})_2\text{K}$. L'équidistance réticulaire est de 10 Å°. Divers cations, des molécules d'eau et des molécules organiques d'encombrement variable peuvent se loger dans l'espace interfoliaire. L'équidistance réticulaire peut alors varier de 10 à 18 Å°.

2.3 Minéraux à 14 Å°

Ce sont les minéraux de type (2 : 1 : 1) Leur feuillet est construit sur un modèle analogue à celui des illites et des smectites, l'espace interfoliaire est cependant garni d'une couche continue d'hydroxyde appelée feuillet brucitique (figure 3). Cette couche octaédrique supplémentaire est stable et l'équidistance réticulaire est fixe à 14 Å°.

2.4 Les minéraux argileux interstratifiés

Ces minéraux sont caractérisés par l'alternance de feuillets ou (le plus souvent) d'espace interfoliaire différents. Cette alternance est déterminable uniquement lorsqu'elle est régulière. Les interstratifiés sont les étapes de transformation d'un minéral argileux vers un autre.

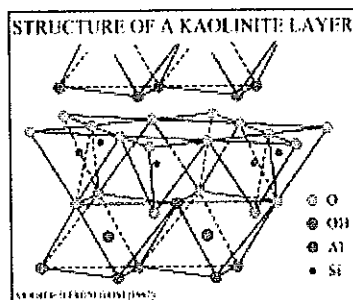


Figure 2 Structure de la kaolinite.

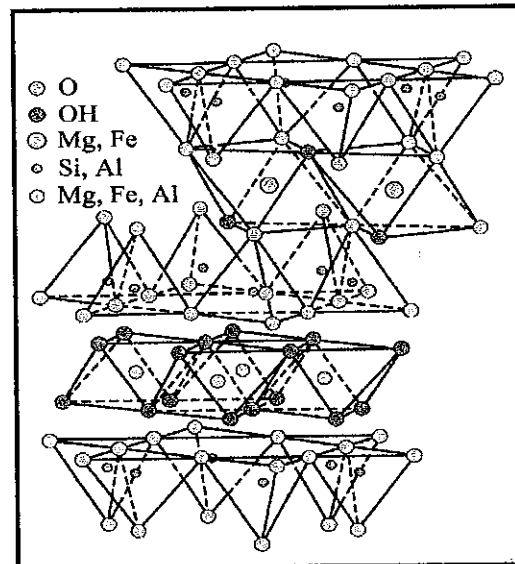


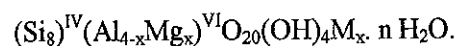
Figure 3 Structure de la chlorite.

3. Structure de la montmorillonite

La montmorillonite (figures 4) est une argile gonflante faisant partie des smectites ayant un feuillet de type (1 :2). Dans son réseau cristallin les substitutions ont lieu au niveau de la couche octaédrique où les cations Al^{3+} sont remplacés par les cations Mg^{2+} , Les cations échangeables viennent s'insérer dans l'espace interfoliaire pour compenser le déficit de charge positive.

L'étude de sa structure a fait l'objet de plusieurs hypothèses, la plus citée étant celle de Hoffman [1], Marshall [2] et Hendricks [3]. Selon ces auteurs, la structure de la montmorillonite découle de celle de la pyrophyllite où un plan de cation Al^{3+} est compris entre deux plans de cations Si^{4+} . Le cation Al^{3+} se situe dans un octaèdre formé de quatre atomes d'oxygène et de deux groupements hydroxyles. Le cation Si^{4+} quant à lui se situe dans un tétraèdre formé de quatre atomes oxygène.

La formule chimique générale de la montmorillonite est la suivante :



Où :

M : est le cation compensateur,

X : nombre de cations compensateurs,

IV et VI représentent les positions tétraédrique et octaédrique respectivement,

La maille élémentaire est monoclinique, ses paramètres sont : $a = 5,2\text{Å}$, $8,8 < b < 9,2\text{Å}$. Le paramètre c varie en fonction du cation compensateur et du degré d'hydratation.

Trois types de surfaces sont définis dans la structure de la montmorillonite :

- Surface basale externe correspondant aux régions extérieures du feuillet,
- Surface interne se trouvant dans l'espace interfoliaire,
- Surface latérale qui comprend les épaisseurs du feuillet.

Cette dernière est d'étendue négligeable devant la somme des étendues des surfaces externe et interne.

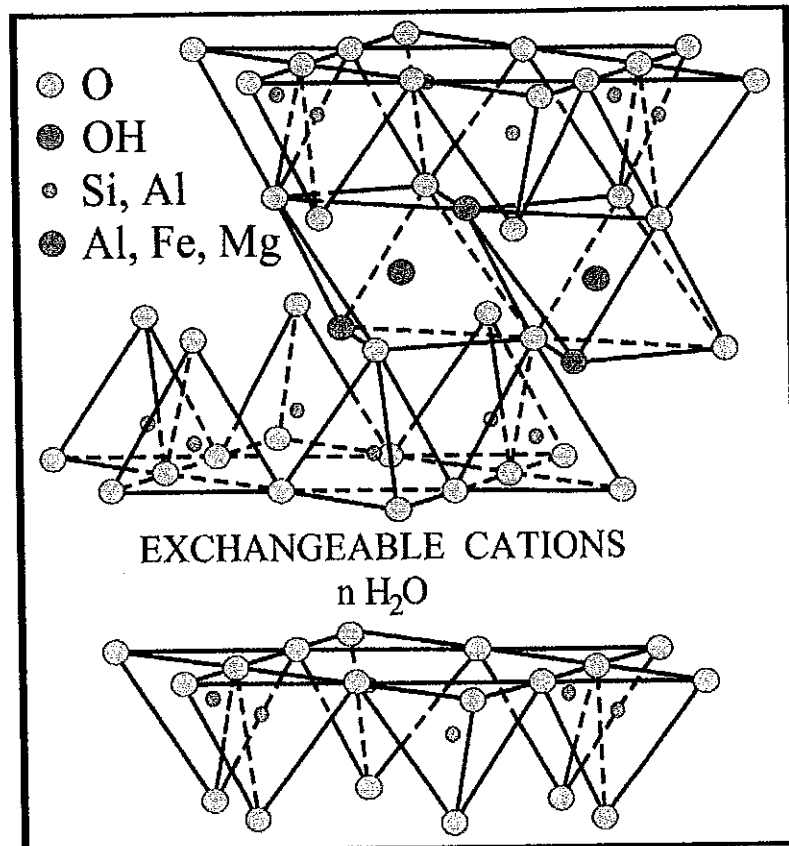


Figure 4 Cristal de la montmorillonite selon Hoffman [1].

4. Propriétés des argiles.

4.1 La colloïdalité

Les minéraux argileux se présentent sous forme de particules de très petites dimensions, portant une charge négative. De ce fait, ils donnent avec les phases liquides des systèmes dispersés (colloïdes) formant une suspension stable [4].

La colloïdalité des minéraux permet leur purification en éliminant les particules non argileuses (de densité plus élevée) lors de la sédimentation.

4.2 Aptitude au gonflement

Le gonflement est la capacité du matériau à augmenter de volume lorsqu'il s'hydrate. Les faibles forces de type Van Der Waals liant les feuillets permettent l'introduction de molécule minérale ou organique dans l'espace interfoliaire. Grim, Bradley et Clark [5] ont montré que l'on peut introduire des couches de molécules d'eau dans l'espace interfoliaire, ce qui fait gonfler ces argiles et forme des hydrates distincts à 1, 2, 3 et 4 couches moléculaires. Le gonflement de l'argile est d'autant plus important que les cations compensateurs sont petits et faiblement chargés. Grâce à leur complexation avec les molécules d'eau, ces ions hydratés permettent la diminution des forces attractives entre feuillets [6]. Selon le type de cation compensateur, le gonflement est décroissant suivant la séquence suivante : $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{K}^+$. Le potassium présente un cas particulier, ce cation possède exactement la taille des cavités en surface du feuillet et s'y retrouve piégé, devenant ainsi moins hydratable et moins facilement échangeable.

Le gonflement d'une montmorillonite peut être décomposé en deux parties :

1- Le gonflement cristallin

Appelé également gonflement en présence de vapeur d'eau. Il permet d'augmenter la distance interréticulaire de 9,6 à 20 Å. Il est directement lié au nombre de couches d'eau introduites entre les feuillets. L'amplitude du gonflement cristallin est directement liée à l'énergie d'hydratation des cations compensateurs [6, 7].

2- Le gonflement osmotique

Appelé également gonflement macroscopique ou gonflement libre. Ce type de gonflement se produit lorsque l'énergie d'hydratation est suffisante pour franchir la barrière de potentiel due aux forces électrostatiques attractives entre feuillets. Au-delà de la deuxième couche d'eau adsorbée à la surface d'un feuillet, l'eau perd ses propriétés d'eau liée et devient une eau libre.

Pour des teneurs plus importantes en eau, on parle plus de dispersion ou de suspension de montmorillonite dans l'eau que de gonflement aqueux de la montmorillonite. La mise en pratique de la propriété du gonflement permet l'obtention d'argile intercalées et pontées.

4.3 Capacité d'échange cationique

Elle est due aux substitutions pouvant se produire à l'intérieur du feuillet. Ces substitutions se produisent en position octaédrique en remplaçant une partie des ions Al^{3+} par des ions tels que Mg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} dans les minéraux dioctaédriques [8]. Elle peut aussi avoir lieu dans la couche tétraédrique en remplaçant une partie des ions Si^{4+} par les ions Al^{3+} .

Les substitutions isomorphiques donnent lieu à un déficit de charges positives qui sera compensé en surface des feuillets par des cations échangeables.

La capacité d'échange cationique est influencée par : La tailles des particules, le pH et la nature des cations échangeables.

Plusieurs méthodes ont été proposées pour estimer la CEC d'une argile. Les différents procédés consistent à remplacer les cations compensateurs contenus dans l'espace interfoliaire par d'autres éléments, puis de doser les concentrations résiduelles de ces éléments. Les procédés les plus utilisés pour mesurer la CEC sont : la méthode des chlorures d'ammonium, dosé par la méthode de Kjeldhal [9], la méthode du Co(II) [10], ou encore la méthode potentiométrique [11]. D'autres méthodes basées sur le remplacement des cations compensateurs de l'argile par du thio-urée d'argent [12] ont été développées, ces méthodes présenteraient des résultats erronés par suite de la précipitation du sulfite d'argent sur les surfaces argileuses faussant ainsi la valeur de la CEC. De tels résultats ont motivé des chercheurs à établir des modèles [13] qui permettent de détecter et de corriger des valeurs erronées de CEC. Cette dernière méthode permet néanmoins la détermination de la CEC d'une argile calcique [14].

Dans ce travail, la CEC de l'argile utilisée est estimée par la méthode du bleu de méthylène [15], qui consiste à échanger le sodium de l'argile par le cation du bleu de méthylène, puis à doser le bleu de méthylène restant par spectrophotométrie visible.

Cette méthode dépend du pH de la suspension et du cation compensateur. En effet, une CEC de très faible valeur est obtenue lorsqu'elle est déterminée en milieu acide. A l'inverse, cette valeur devient très importante dans un milieu basique. Ces variations sont dues aux charges (positive dans le premier cas et négative dans le deuxième) qui apparaissent sur la surface du minéral par variation du pH. L'influence du cation compensateur, quant à elle, est expliquée par Brindley et Thomson (1970), comme étant un problème stérique observé pour les cations échangeables de valence élevée. La détermination de la CEC par cette méthode n'est donc appropriée que pour un échantillon sodé à pH neutre.

5. Argiles intercalées

L'intercalation est la première étape du pontage, elle consiste à prendre comme réseau hôte un silicate lamellaire gonflant et d'y intercaler, par échange cationique entre les feuillets des argiles, des espèces chimiques variées minérales ou organiques, neutres ou chargées. Cette intercalation est quasi réversible [16], à son issue, la distance interréticulaire peut atteindre plusieurs fois l'épaisseur initiale du feuillet. Dès les années cinquante, Barrer et McLeod [17, 18] introduisirent des tétraalkylammoniums pour obtenir des argiles intercalées. Ces argiles n'étant pas stables thermiquement, d'autres chercheurs ont proposé de les intercalées par des espèces minérales telles que les polyhydroxydes de métaux. Depuis, les investigations dans les domaines de l'intercalation et le pontage des argiles se sont multipliées. Des matériaux argileux pontés avec l'aluminium [19, 20], le nickel [21], le chrome [22], le titane [23].

6. Argile pontée

L'argile intercalée subit un traitement thermique destiné à transformer les polycations interfoliaires en oxydes non échangeables.

Les ponts dans l'espace interfoliaire sont constitués par l'établissement de liaisons chimiques entre les oxydes et la matrice argileuse, rendant la structure rigide et poreuse. Les différentes étapes du pontage sont représentées dans la (figure 5).

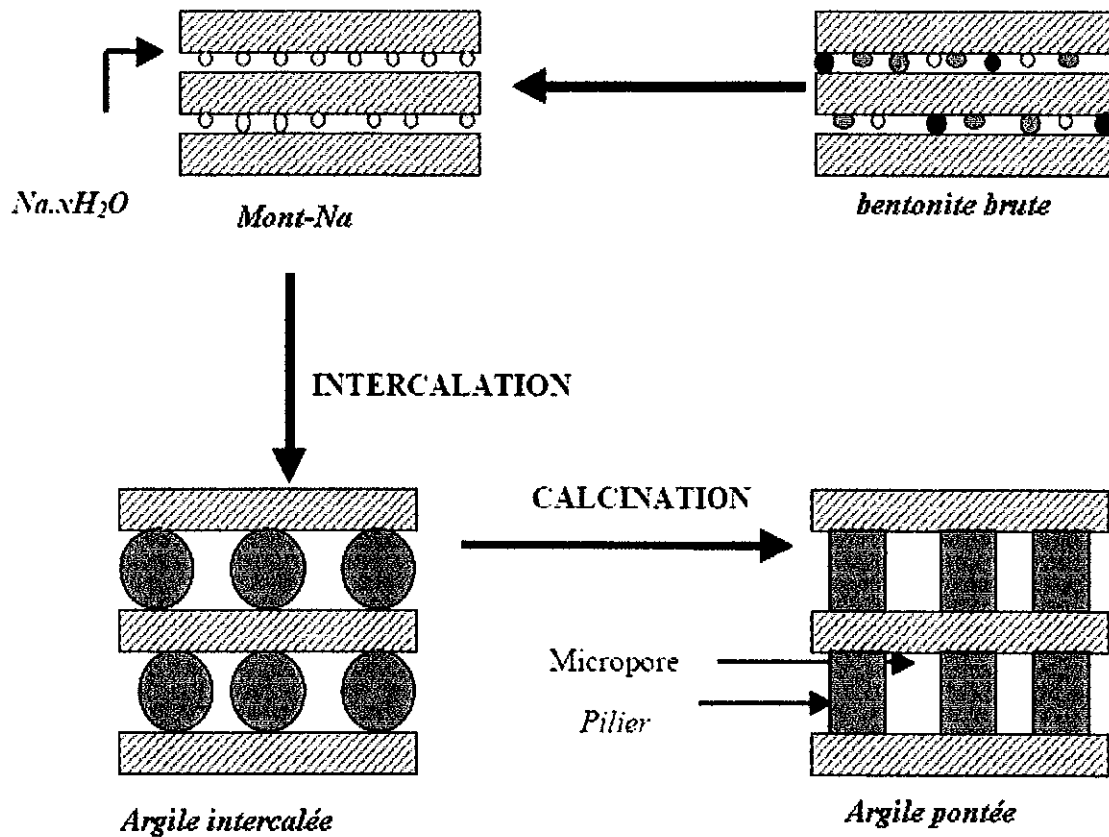


Figure .5 Les différentes étapes du pontage d'une argile

7. Pontage de l'argile avec le titane

Le titane [24, 25], le chrome [26] et le silicium [27,28], sont parmi les cations qui donnent les écartements de feuillets, les plus importants par pontage. Les études sur le pontage des argiles par le titane (TiPILCS), ont montré que cette transformation confère au matériau des propriétés intéressantes en termes de stabilité thermique et d'acidité [25]. De plus, l'activité photocatalytique des TiPILCS est de plus en plus discutée [29].

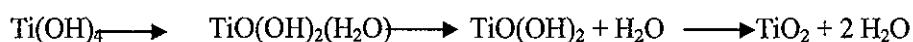
La synthèse de TiPILCS, ayant une structure zéolithique bidimensionnelle bien définie (pille et al) [30] et une bonne stabilité thermique, est difficile à réaliser puisque l'obtention de la solution de pontage dépend de plusieurs paramètres.

7.1 Solution de pontage à base de titane

D'après des travaux antérieurs, la nature du sel précurseur est de première importance. Les meilleurs résultats sont obtenus en hydrolysant TiCl_4 [24, 25] ou $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$ [31] avec HCl . Des tentatives à directement échanger l'argile avec $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ sont restées sans succès [32]. Dans ces argiles, certains feuillets ne sont pas pontés à cause d'une limitation de diffusion des espèces cationiques à base de titane entre les feuillets. Celle-ci apparaît lors de la synthèse. Des spectres de diffraction X de quelques TiPILCS [33, 34] montrent qu'une quantité relativement importante de feuillets n'est pas pontée. Ce résultat est probablement dû à un échange de l'argile avec des espèces monomériques de titane. Valverde et al [35] notent la présence de deux valeurs de 2θ correspondant aux réflexions du plan (100), ils attribuent ce fait à la présence de différentes espèces pontantes.

Les composés obtenus en solution lors de l'hydrolyse de TiCl_4 par HCl sont encore l'objet de discussion. Le degré de polymérisation dépend de la concentration en ions Ti^{4+} et Cl^- . L'existence de liaisons $\text{Ti}-\text{Cl}$ a été établie par Nabrivanets et Kudritskaya [36]. D'autres auteurs ont décrit un schéma de polymérisation avec des espèces anioniques de titane et des ponts oxo [37]. Quelle que soit la nature de l'unité élémentaire, la concentration en ions chlorures est essentielle. Des expériences ont montré que les complexes de titane ont un rayon moins important en utilisant l'acide HF à la place de HCl comme agent hydrolysant [36]. Binitha et al. [38] ont préparé une solution d'intercalation à base de titane à faible coût de revient en utilisant comme précurseur le sulfate de titanyl TiOSO_4 .

D'autre part, et à cause de sa charge élevée, le cation tétravalent du titane subit une hydrolyse spontanée même en milieu fortement acide [39]. A $\text{pH} = 0$, l'ion $\text{Ti}(\text{IV})$ existe sous la forme $[\text{Ti}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^{3+}$ en équilibre avec le complexe $[\text{Ti}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$. Peu de données existent dans la littérature concernant la condensation en solution du $\text{Ti}(\text{IV})$ exceptées celles concernant l'octamère $[\text{Ti}_8(\text{OH})_{12}(\text{H}_2\text{O})_x]^{4+}$ dont la structure est mal connue [39]. Le cation $\text{Ti}(\text{IV})$ est très polarisant pour former l'hydroxyde $\text{Ti}(\text{OH})_4$. La déshydratation spontanée par oxolation conduit à l'oxyde TiO_2 qui cristallise soit dans la phase la plus stable (rutile), soit dans la phase métastable (l'anatase) selon la série de réaction suivante :



Références

- [1] U. Hoffman, K. Endell et D. Wilm Z. Krist 86, (1933), 340-348.
- [2] C. E. Marshall, Z. Krist, 91, (1935), 433-449.
- [3] S. B. Hendricks, J. Geol. 50, (1942), 276-290.
- [4] S Caillère, S. Henin et M. Rautureau, Minéralogie des argiles (structure et propriétés physico-chimiques), Tome I, Masson Cie, (1982).
- [5] Bradley, Grim et Clarck, Z. Krist, 216 (1937).
- [6] G. Sposito, D. Grasso, Surfactant science series, 85 (1999) 207-249.
- [7] K. Norrish, Discuss. Faraday Soc. 18 (1954) 120-134.
- [8] A. Ruellan et J. Deletang, « Les phénomènes d'échange de cation et d'anion dans les sols » Ostrom, Paris (1967).
- [9] M. Tanaka et S. Odasawara, J. Catal. 25, (1972), 111
- [10] C. N. Rhodes, D. R. Brown, J. Clay Minerals, 29, (1994), 799-801
- [11] Y. C. Chiu, L. N. Huang, C. M. Uang, J. F. Huang, J. Coll. And Surf. 46, (1990), 327-337.
- [12] R. Dohrmann, Applied Clay Science 34 (2006) 38-46
- [13] R. Dohrmann, Applied Clay Science 34 (2006) 31-37
- [14] R. Dohrmann, Applied Clay Science 34 (2006) 47-57
- [15] G. Kahr et FT Madsen, J. Appl. Clay Sci. 9, (1995), 327-336.
- [16] A. Decarreaux, Matériaux argileux, structure, propriétés et applications, Société Française de minéralogie et de cristallographie, (1990)
- [17] R.M. Barrer et D.M. McLeod Trans. Faraday. Soc. 51, 1920, (1955).
- [18] R. M. Barrer et G. S. Perry, J. Chem. Soc. (A), 842, (1961).
- [19] Z. Bouberka, thèse de magister, Univ. de Mostaganem (1998).
- [20] N. Lahav, U ; Shani et J. Shabtai, Clays and clays minerals, 26, (1978), 107-115.
- [21] J. Graaf, R. Van Santen, A. Knoester et B. Van Wingerden, J. Chem Soc. Chem. Comm. (1983), 655-657
- [22] T. J. Pinnavaia, M. S. Tzou, S. D. Landau, J. Am. Soc. 107, (1985), 4783-4785
- [23] A. Gil et P. Grange, Microporous materials (1995).
- [24] Sterte, clays clay miner., 34 (1986) 658.
- [25] A. Bernier, L. F. Admaiai and P. Grange, Appl. Catal., 77 (1991) 269.
- [26] J. Pinnavaia, T. Ming-Shin and S. D. Landau, J. Am Chem. Soc. 107 (1985) 4783.
- [27] R.M. Lewis, K.C. Ott and R.A. Van Santen, US. Pat., 4510257 (1985).
- [28] G. Fetter, D. Tichit, P. Massiani, R. Dutartre and F. Figueras, Trabalhos Tecnicos do 12' Simposio Ibero Americano de Catalise, Rio de Janeiro, July 3 & August 3, 1990, Vol. 2, Instituto Brasileiro de Petroleo, Rio de Janeiro, 1992, p. 448.
- [29] H. Yoneyama, S. Haga and S. Yamanaka, J. Phys. Chem., 93 (1989) 4833.

- [30] D. Plee, F. Borg, L. Gatinéau and J.J. Fripiat, *J. Am. Chem. Soc.*, 107 (1985) 2362.
- [31] S. Yamanaka, T. Nishihara and M. Hattori, *Mater. Chem. Phys.*, 17 (1987) 87.
- [32] S. Guida, Y. Fushan and L. Zhonghui, in B. Delmon, P. Grange and G. Poncelet (Eds.), *Preparation of Catalysts, Vol. IV*, Elsevier, Amsterdam, 1987 p. 649.
- [33] H. L. Del Castillo, P. Grange, *Appl. Catal.* 103 (1993) 25.
- [34] A. Bernier, L. F. Admaiai and P. Grange, *Appl. Catal.*, 103 (1993) 23.
- [35] J. L. Valverde, P. Sanchez, F. Dorado, I. Ascencio, A. Romero, *Clays Clay Miner.* 51 (2003) 41.
- [36] B.I. Nabrivanets and L.N. Kudritskaya, *Russian J. Inorg. Chem.*, 12 (1967) 616.
- [37] L.M. Sharygin, S.M. Vovk and V.F. Gonchar, *Russian J. Inorg. Chem.*, 33 (1988) 970.
- [38] N.N. Binitha, S. Sugunan, *Microporous and Mesoporous Materials* 93 (2006) 82–89.
- [39] J. P. Jolivet. *De la solution à l'oxyde-Condensation des cations en solution aqueuse-Chimie des surfaces des solides*, InterEditions/CNRS Editions, Paris, (1994) 387 p

Chapitre III

Les photosensibilisateurs

Introduction

Aujourd'hui, l'essentiel des travaux et applications de la photocatalyse reposent sur l'utilisation de semi-conducteurs pouvant initier des réactions d'oxydoréduction à travers la production de couples trou/ électron. Actuellement, le semi-conducteur le plus utilisé est le dioxyde de titane (TiO_2). Si ce matériau présente de nombreux avantages : faible coût, fort pouvoir oxydant à l'état excité, absence de toxicité liée à son utilisation..., il présente néanmoins deux inconvénients majeurs :

- Son activation exclusive dans le domaine des rayonnements UVA, rend hypothétique son utilisation sous irradiation visible (rayonnement solaire par exemple). De nombreuses recherches sont entreprises dans le but de déplacer le spectre d'absorption du TiO_2 dans le visible en vue d'introduire la photocatalyse solaire dans les opérations de dépollution des gaz et des eaux contaminées par différentes classes de polluants (chimiques et biologiques).
- Le TiO_2 ne possède qu'une faible surface spécifique allant de 20 à 100 m^2/g au maximum, limitant par ce fait son pouvoir adsorbant. L'adsorption de polluant à la surface du photocatalyseur est un facteur crucial de l'efficacité photocatalytique d'où le fort intérêt à développer un photocatalyseur possédant une surface spécifique importante.

Dans ce contexte, le développement de nouveaux photocatalyseurs permettant de contourner les aspects négatifs du TiO_2 devient indispensable. Dans ce sens, les photosensibilisateurs aromatiques (PSA) semblent être une piste prometteuse. En effet, ces composés peuvent être greffés sur des minéraux donnant lieu à une nouvelle classe de photocatalyseurs.

Ces nouveaux matériaux présenteraient des avantages certains par rapport aux photocatalyseurs «traditionnels» dont :

- La modulation des propriétés oxydo-réductrices des PSA excités,
- La modulation du domaine d'absorption de la lumière en fonction de la structure du PSA, cette caractéristique pouvant ouvrir la voie à l'utilisation de la lumière visible pour l'activation des nouveaux matériaux,
- La possibilité de les déposer ou de les greffer sur des matériaux transparents de surface spécifique variable.

Il est clair que les deux derniers points sont les plus intéressants puisqu'ils traitent de la possibilité d'exciter les photosensibilisateurs dans le visible ainsi que de développer des matériaux photoactifs possédant de grandes surfaces spécifiques.

Dans ce travail, les photosensibilisateurs silice/PSA seront utilisés pour traiter une pollution d'origine bactériologique représentée par un microorganisme modèle: *Escherichia coli*. Ce sera alors l'occasion d'évaluer les limites des photosensibilisateurs quant au traitement d'une pollution de ce genre. L'efficacité du matériau photoactif en fonction du mode de greffage sera également discutée. Les résultats obtenus seront comparés à ceux du TiO_2 .

Ces matériaux ont été synthétisés, dans le cadre d'une thèse de doctorat défendue par M. C. Cantau sous la direction de Mme S. Lacombe (Equipe ECP de l'Institut Pluridisciplinaire de recherche

sur l'Environnement et les Matériaux) à l'université de Pau et les pays de l'Adour. Cette thèse s'intitule : Nouveaux matériaux pour la photocatalyse dans le visible: De l'élaboration à l'activité. Les synthèses, structures et caractérisations des matériaux impliqués dans cette thématique sont donc décrites en détail dans le document de C. Cantau [1]. Nous ne reprendrons ici que les éléments importants pour la compréhension des expériences de désinfection.

1. Définition d'un photosensibilisateur aromatique.

Dans ce qui suit, les photosensibilisateurs aromatiques ou PSA sont définis comme des molécules organiques qui, sous l'effet d'un rayonnement lumineux et en présence d'oxygène (O₂), génèrent des espèces réactives de l'oxygène.

Plus généralement, les réactions sensibilisées par la lumière peuvent être des réactions de photoxydation dont le mécanisme est très complexe. En absorbant la lumière, le PSA passe de son état fondamental vers son état excité. Cette transformation est à l'origine de mécanismes par transfert d'électron (type I) ou par transfert d'énergie (type II) initiant l'oxydation de substrats présents dans le milieu réactionnel. La désactivation du PSA entraîne en théorie le retour du PSA à son état fondamental [2, 3].

2. Mécanismes des oxydations photosensibilisées.

En 1986, G. J. Kavarno et N. J. Turro [4] ont défini le terme de transfert d'électron et d'énergie comme le passage d'électrons des orbitales occupées vers des orbitales vacantes du P.S.A. et du réactif, le P.S.A. pouvant être soit donneur soit accepteur d'électrons. Deux mécanismes principaux sont suggérés : le transfert d'électron et le transfert d'énergie (ce dernier pouvant se faire soit par échange d'électrons soit par interaction dipôle-dipôle).

2.1 Le transfert d'énergie (réactions de type II)

Le transfert d'énergie peut se faire selon deux mécanismes différents. Dans le mécanisme *par échange d'électrons*, il y a deux transferts d'électron indépendants l'un de l'autre. Il en résulte le retour du P.S.A. dans son état fondamental et le passage à l'état excité pour le réactif. Le second type de mécanisme est le *transfert d'énergie par interaction dipôle-dipôle*. Il fait intervenir une interaction coulombienne entre les systèmes électroniques du P.S.A. et du réactif (mécanisme de type II). Du point de vue énergétique, pour que le transfert soit efficace, il faut que l'énergie de l'état excité du photosensibilisateur soit supérieure à celle de l'état excité du réactif.

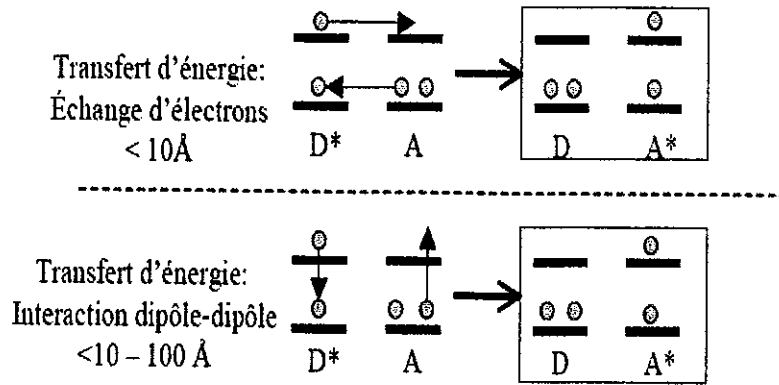


Figure (1): Description schématique du mouvement des électrons dans les mécanismes par transfert d'énergie D : donneur ; A : accepteur [4].

L'espèce réactive de l'oxygène dans les réactions de photooxydation de type II est l'oxygène moléculaire singulet ou oxygène singulet ($O_2 [^1\Delta_g], ^1O_2$). C'est le premier état excité de l'oxygène moléculaire. Les PSA pouvant produire l'oxygène singulet sont généralement des colorants organiques aromatiques absorbant la lumière visible comme les thiazines (bleu de méthylène, thionine), les xanthènes (éosine, rose de Bengale) ou encore les porphyrines (tétraphénylporphyrine).

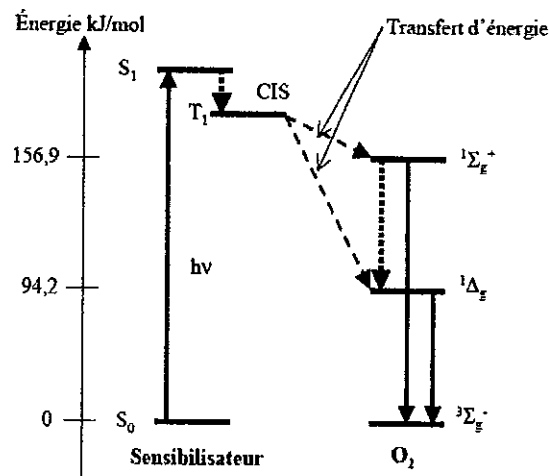
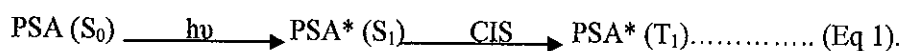
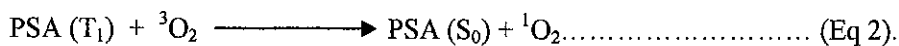


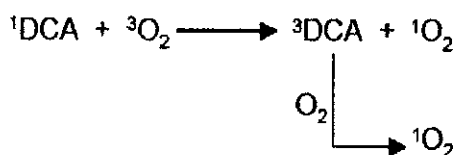
Figure (2) : Production d'oxygène singulet par transfert d'énergie photosensibilisée. CIS : conversion intersystème.

Le processus de photosensibilisation a généralement lieu à partir des états excités de plus longue durée de vie. L'oxygène singulet est donc produit à partir des états triplets du PSA obtenus par une conversion inter-système (CIS), la désactivation du PSA ayant lieu sans modification chimique (Equations 1 et 2).





La production d'oxygène singulet peut avoir lieu de façon directe à partir du premier état singulet du PSA si le rendement de la conversion inter-système est faible. Dans ce cas, le PSA passe de son premier état excité singulet au premier état excité triplet avec l'assistance d'une molécule d'oxygène. Si l'énergie de l'état triplet est suffisante, la sensibilisation d'une deuxième molécule d'oxygène est possible, comme dans le cas du 9,10-dicyanoanthracène (DCA) [5, 6] (Eq 3).



(Équation 3) [5]

2.2 Le transfert d'électron (réactions de type I)

Les réactions de type I impliquent le transfert d'un seul électron. Elles sont souvent appelées PET de l'anglais (Photoinduced Electron Transfer). Le transfert monoélectronique photoinduit est le résultat d'une réaction bimoléculaire où un électron passe de l'orbitale occupée du PSA excité vers une orbitale vacante ou partiellement occupée du réactif ou inversement. Ce transfert conduit à la formation d'espèces radicalaires chargées.

Le PSA excité, peut jouer aussi bien le rôle du donneur (D*) que celui de l'accepteur (A*). De ce fait, le type du processus de photosensibilisation (oxydation ou réduction figure (3)) dépend de la position relative des niveaux énergétiques de D* et de A ou de A* et de D [7].

Dans un mécanisme de type I, le PSA après son excitation par absorption d'un photon passe vers son état singulet ou triplet et réagit directement avec le composé considéré par transfert monoélectronique (Eq 4 et 5).

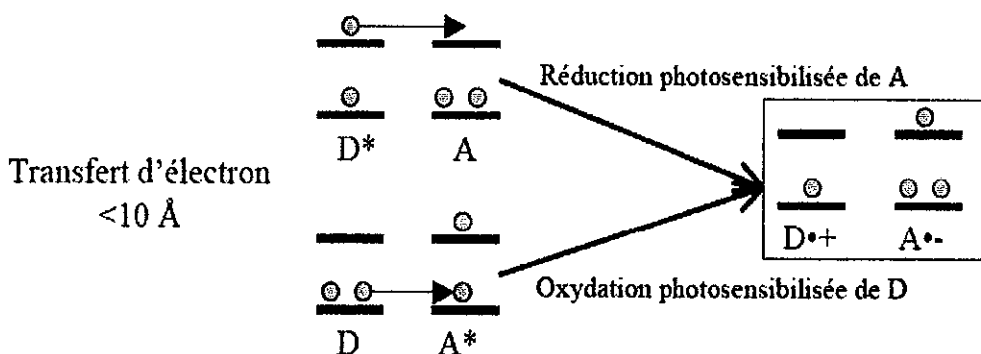
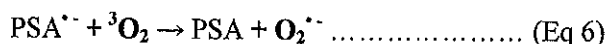


Figure (3) Description schématique du mouvement des électrons (cercles) dans les mécanismes de transfert d'électron. D : donneur ; A : accepteur [4].

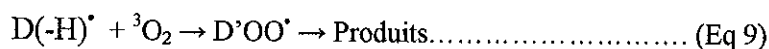
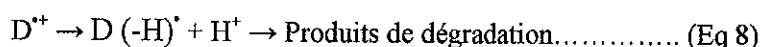
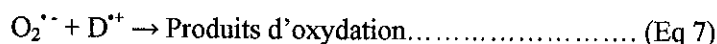
La photooxydation par transfert d'électron peut conduire à une forme semi-réduite d'un PSA accepteur d'électron (PSA°) et à un réactif semi-oxydé d'un réactif donneur ($\text{D}^{\circ+}$).



Le P.S.A. semi-réduit (PSA°) peut, dans certaines conditions, réagir avec l'oxygène moléculaire à l'état fondamental pour former l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\circ-}$) (Eq 6).



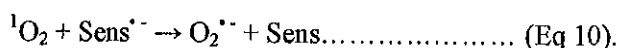
Les radicaux cations $\text{D}^{\circ+}$ formés peuvent, soit réagir avec l'anion superoxyde pour conduire à des produits d'oxydation (Eq 7), soit se dégrader par la perte d'atomes d'hydrogène (Eq 8). Les radicaux $\text{D}(-\text{H})^{\circ}$ formés peuvent ensuite additionner l'oxygène à l'état fondamental (Eq 9).



Ce type de mécanisme permet de photooxyder des composés difficilement oxydables, comme les oléfines, les diènes et de nombreux composés aromatiques [3].

Les produits d'oxydation issus de la réaction avec l'oxygène singulet ${}^1\text{O}_2$ sont généralement différents de ceux obtenus par réaction avec l'anion superoxyde. L'importance relative des deux mécanismes d'oxydation peut être déterminée par la nature des réactifs d'une part et par leur concentration d'autre part. En effet il semble que plus la concentration en substrat est élevée, plus le processus par transfert d'électron est important. Par ailleurs, les composés qui réagissent lentement avec l'oxygène singulet, auront tendance à favoriser le transfert d'électron [5, 8].

Lorsque les deux mécanismes par transfert d'énergie et par transfert d'électron sont possibles, un transfert d'électron peut être envisagé à partir de l'oxygène singulet. (Eq 10).



Les composés qui favorisent ces mécanismes de type I sont ceux qui absorbent dans le proche UV et dans le visible (400 - 800 nm) comme : les sels de triphénylpyrylium, les composés

cyanoaromatiques (1,4-dicyanonaphtalène, 1,2,4,5-tétracyanobenzène), les porphyrines et les phthalocyanines.

En résumé, le chemin réactionnel prédominant d'une réaction photosensibilisée dépend de la nature du sensibilisateur et du réactif utilisés, et des conditions de la réaction (concentration du réactif et de l'oxygène ainsi que la nature du solvant). Certains PSA sont capables de produire à la fois de l'oxygène singulet et le superoxyde c'est le cas du DCA, des porphyrines et des phthalocyanines.

Une interpénétration des nuages électroniques du PSA et du réactif est nécessaire pour avoir un transfert d'électron et le transfert d'énergie par échange d'électron. De ce fait, la distance qui sépare le photosensibilisateur du réactif doit être très faible et n'exécède pas les 10 Å. Le transfert d'énergie par interaction dipôle-dipôle nécessite, lui, un recouvrement entre les spectres d'émission de D* et d'absorption de A car il procède par un couplage vibrationnel [2]. Ce mode de couplage peut avoir lieu même quand les molécules se trouvent à grande distance les unes des autres (10 Å - 100Å), car il ne nécessite pas de collision entre les molécules.

3. Aspect thermodynamique du transfert d'électron

La faisabilité d'une réaction dépend de l'enthalpie libre mise en jeu. Dans le cas d'un transfert d'électron, l'expression de cette enthalpie est appelée l'équation de Rehm-Weller (Eq 11).

Cette équation utilise les potentiels standards d'oxydo-réduction (E°), ils sont exprimés en volts et déterminés pour une température de 298,15 °K, une pression de 1 bar et un pH nul. L'expression de l'enthalpie libre dans le système international (en J/mol) est donc la suivante :

$$\Delta G^\circ(\text{J/mol}) = F \left[E^\circ \left(\frac{\text{D}^{\bullet+}}{\text{D}} \right) - E^\circ \left(\frac{\text{A}}{\text{A}^{\bullet-}} \right) \right] - N_A \Delta E_{00} - \frac{N_A e^2}{4\pi \epsilon_0 \epsilon d}$$

Eq 11: Equation de Rehm-Weller.

Où

F : constante de faraday = 96484 C/mol,

N_A : constante d'Avogadro = 6,022.10²³/ mol,

$E^\circ(\text{D}^{\bullet+}/\text{D})$: potentiel standard d'oxydoréduction du donneur D exprimée en volts (V)

$E^\circ(\text{A}/\text{A}^{\bullet-})$: potentiel standard d'oxydoréduction de l'accepteur A exprimée en volts (V)

ΔE_{00} : énergie d'excitation du sensibilisateur en Joule (J)

e : charge élémentaire de l'électron = 1,602.10⁻¹⁹ C

ϵ_0 : permittivité du vide = 8,85.10⁻¹² J⁻¹.C².m⁻¹

ϵ : Constante diélectrique du solvant considéré

d : Distance entre les centres des deux ions-radicaux A et D (m).

En pratique, cette équation prend la forme suivante (Eq 12):

$$\Delta G^\circ(\text{kJ/mol}) = 96,48 \left[E^\circ \left(\frac{D^{*+}}{D} \right) - E^\circ \left(\frac{A}{A^{*-}} \right) \right] - \Delta E_{00} - \frac{1380}{\epsilon d}$$

Equation 12 : Equation de Rehm-Weller simplifiée.

Où ΔG° et ΔE_{00} sont exprimés en kJ/mol.

La réaction de transfert est dite exergonique lorsque les valeurs de ΔG° sont négatives et endergonique quand celles-ci sont positives. Le transfert monoélectronique photoinduit entre un donneur et un accepteur d'électron peut avoir lieu pour une valeur de $\Delta G^\circ \leq 40 \text{ kJ/mol}$. Naturellement, le transfert électronique est d'autant plus favorisé que ΔG° est faible ou négatif (sauf pour les réactions très exergonique où le transfert d'électron en retour est plus rapide : région inversée de Marcus [4]). Le transfert d'électron reste, toute fois, limité par la diffusion des espèces [9]

Comme pour les semiconducteurs métalliques, les réactions de transfert d'électron sont gouvernées par les potentiels d'oxydo-réduction des photosensibilisateurs (à l'état fondamental et à l'état excité) et des réactifs; ceci est représenté dans la figure 4 et le tableau 1.

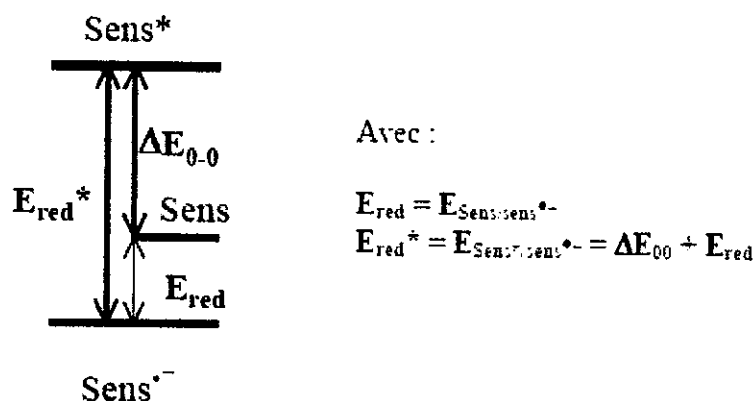


Figure 4: Représentation schématique des niveaux énergétiques du photosensibilisateur à l'état fondamental (PSA=Sens), à l'état excité (PSA*=Sens*) et sous forme de radical anion (PSA*- = Sens*-).

Photosensibilisateur	ΔE_{00} (eV)	ΔE_{00} (nm)	E_{red} (V)	E_{red}^* (V)	ΔG (Equation III-6) [§] (kJ/mol)
$EO_2/O_2^{\circ} = -0,94 \text{ V}$ [10]					
9,10-dicyanoanthracène	2,90	427	-0,98	1,92	-3,9
Triphénylpyrylium Tétrafluoroborate	2,82	440	-0,29	2,53	62,7
1,2,4,5-tétracyanobenzène	3,8	326	-0,73	3,44	20,2
2,3,5,6-tétrachloro1,4- benzoquinone ou Chloranil	2,14	579	0,02	2,12	92,5
9,10-anthraquinone	2,73	454	-0,86	1,87	7,7
Acide 4-benzoyl benzoïque§§	2,98	416	-1,83	1,17	-85,8

Tableau 1 : potentiels d'oxydo-réduction des photosensibilisateurs (à l'état fondamental et à l'état excité)

§ : Enthalpie libre calculée pour la réaction de réduction de l'oxygène (Equation III-6).

§§ : La valeur de l'énergie de l'état triplet de la 4-benzoyl benzoïque n'est pas connue, nous avons donc reporté la valeur de l'énergie de la benzophénone.

D'après le tableau, les P.S.A. à l'état excité sont des oxydants puissants (E_{red}^* de l'ordre de 2 volts et plus, sauf pour l'acide 4-benzoyl benzoïque). Par ailleurs, certains P.S.A. vont permettre la formation d'anion superoxyde : le 9,10-dicyanoanthracène (DCA), la 9,10-anthraquinone (ANT) et surtout l'acide 4-benzoyl benzoïque (4BB), alors que d'autres tels le triphénylpyrylium tétrafluoroborate (TPT⁺), le tétracyanobenzène (TCNB) et le chloranil (CHLO) seront inefficaces dans ce cas. Le DCA et ANT ont des propriétés oxydantes équivalentes à celles du dioxyde de titane dans l'acétonitrile [1] avec un spectre d'absorption nettement déplacé vers le visible. Ces deux P.S.A. paraissent donc particulièrement intéressants.

Toutefois, la photooxydation sensibilisée en phase homogène présente 4 défauts ou inconvénients majeurs :

- le P.S.A doit être soluble dans le solvant utilisé, ce qui limite les combinaisons P.S.A./solvant possibles (les molécules aromatiques sont peu solubles dans les solvants polaires),
- en fin de réaction, l'extraction du P.S.A. du milieu réactionnel est nécessaire et ce dernier doit être séparé du (des) produit(s) de la réaction,
- l'oxygène singulet 1O_2 présente les durées de vie les plus élevées dans des solvants nocifs pour l'environnement, comme les solvants halogénés (CCl₄, Fréons, etc...),

- la dégradation (photoblanchiment) du P.S.A. est souvent observée dans les solvants halogénés (formation d'acides, par réaction avec $^1\text{O}_2$ ou autres intermédiaires réactifs de l'oxygène), spécialement lorsque des temps de réaction longs sont nécessaires.

4. Principales familles de PSA

Plusieurs composés organiques peuvent posséder les caractéristiques de photosensibilisateurs. Ces composés peuvent être des colorants tel le rose Bengale, très connu pour produire $^1\text{O}_2$ ou des sels organiques comme les sels de triphenylpyrylium (TPT^+) décrits comme d'excellents agents oxydants à l'état excité. Cependant, en présence d'oxygène, ces sels de triphenylpyrylium ne produisent ni d'oxygène singulet, ni d'anion superoxyde. D'autres sels sont connus comme photosensibilisateurs, comme les sels de ruthénium et d'iridium. Ces derniers ont été utilisés pour mesurer la concentration de l'oxygène moléculaire en solution, particulièrement dans les solvants organiques.

Certains composés organiques peuvent également jouer le rôle de photosensibilisateurs. C'est le cas des dérivés cyanoaromatiques, des porphyrines, des phthalocyanines, des fluorènes, des polyoxométalates (POM's), ainsi que différents dérivés aromatiques comme la benzophénone.

Ces photosensibilisateurs ont été utilisés, fixés sur divers matériaux (résines, silice, zéolithe...) et impliqués dans le traitement de plusieurs sources de pollution : pollution de l'eau et de l'air par les composés organiques (pesticides et colorants notamment), pollution de l'air par des espèces biologiques (bactéries, microorganismes). Certains de ces matériaux ont été aussi employés dans le traitement photodynamique des tumeurs cancéreuses.

5. Synthèse des matériaux photocatalytique poreux

Ces matériaux sont à base de silice et de photosensibilisateurs aromatiques (PSA). Ils sont synthétisés selon le procédé sol-gel. Les PSA sont fixés de différentes manières sur les xérogel de silice. Nous avons également utilisé des matériaux à base de silice commerciale sur lequel des dérivés de PSA sont greffés.

5.1 Définition du procédé Sol-Gel

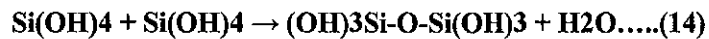
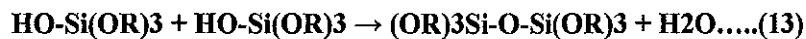
Le procédé sol-gel permet l'élaboration d'un solide inorganique vitreux par des réactions chimiques en solution et à une température proche de l'ambiante (20 à 150 °C). La synthèse est effectuée à partir d'alkoxydes de formule $\text{M}(\text{OR})_n$ où M est un métal (métal de transition comme le titane, le chrome ou le zinc ou un semi métal comme le silicium) et R un groupement organique alkyle ($\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$). Le procédé sol-gel consiste en plusieurs étapes : hydrolyse, polymérisation, gélification, vieillissement et séchage [11].

Les matériaux utilisés dans notre étude, sont préparés à partir de l'alkoxyde tétraméthoxysilane (TMOS, $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$). Les étapes de synthèse sont les suivantes :

1- **L'hydrolyse** de l'alcoxyde : qui suivant les proportions en eau, en alcoxyde et les conditions de pH peut être totale. Dans ce cas, tous les groupements (OR) sont substitués par les groupements (OH). (Eq 12)



2- **La polymérisation** des molécules partiellement (Eq 13) ou totalement hydrolysées (Eq 14). Cette étape conduit à l'établissement de ponts oxygène et à l'élimination d'une molécule d'eau ou d'alcool (Eq 15).



A la fin du procédé, tous les oxygènes devraient être pontants, ce qui conduit à la formation d'un réseau de silice tridimensionnel selon l'équation globale (Eq 16)



§ Paramètres influençant les étapes d'hydrolyse et de polymérisation

Ces deux premières étapes sont influencées par :

- La nature chimique et la concentration du précurseur alcoxyde,
- Le rapport molaire eau/précurseur,
- La nature du solvant commun à l'alcoxyde et à l'eau,
- la température,
- Le pH qui dépend de la nature chimique (acide ou basique) et de la concentration en catalyseur.

En pH acide, l'hydrolyse est plus rapide que la condensation, la réaction tend vers la formation de molécules linéaires, le gel obtenu est dense avec une grande densité de pores de petits volumes. Au contraire, dans un milieu basique, l'hydrolyse est ralentie par rapport à la condensation, il y a alors formation d'amas branchés [12, 13].

3- **La gélification** : c'est le passage du sol au gel, celle-ci a lieu lorsque la formation du réseau est telle qu'aucun écoulement n'est observé. Le gel obtenu étant formé d'une phase solide

tridimensionnelle de silice dans une phase liquide (eau ou méthanol), il est alors désigné par gel humide ou alcogel.

4- **Le vieillissement** : cette étape intervient juste après la formation du gel mais avant le séchage proprement dit. Elle permet la stabilisation du gel dans le temps. L'évaporation lente du solvant à l'air ambiant est la méthode la plus utilisée pour le vieillissement.

5- **Le séchage** : Il se fait à température modérée et a pour résultat la densification du réseau de silice. Dans cette étape, l'eau ou le solvant est expulsé des pores du solide sans modifier sa structure [14]. On obtient ainsi un **xérogel**.

Un dernier traitement thermique à température relativement élevée (80 à 160°C) peut être envisagé à la suite des opérations précédentes, pour éliminer toute trace d'eau et de résidus organiques, obtenir une structure bien déterminée en densifiant le réseau et éventuellement modifier les propriétés structurales de manière à obtenir des phases actives [15].

5.2 Avantages du procédé sol-gel

Ce procédé présente plusieurs avantages tels que :

- Synthèse de matériaux d'une grande pureté à basse température [16],
- Possibilité de contrôler la composition et les caractéristiques des gels en modifiant les paramètres de synthèse (quantité d'eau, nature du solvant, utilisation d'un catalyseur,...),
- Mise en forme facile du produit final grâce à la viscosité du gel [17],
- Possibilité d'encapsuler dans la matrice des catalyseurs [18-20], des molécules organiques [21], ou encore des protéines enzymatiques [22-23]. Les molécules incorporées dans les matrices sont protégées, leur temps de vie est souvent prolongé [24],
- Obtention de matériaux présentant des surfaces spécifiques et des volumes poreux élevés [12].

Ce procédé présente néanmoins des inconvénients liés en premier lieu à la nature et à la pureté des réactifs utilisés. D'autres problèmes de nature mécanique peuvent apparaître lors de la synthèse de monolithes. Des fissures et des fractures peuvent se former durant les étapes de séchage et de traitement thermique. Ces inconvénients peuvent être évités en modifiant les paramètres de synthèse, particulièrement la durée de chaque étape.

Références

- [1] Christophe CANTAU, Thèse doctorale : Nouveaux matériaux pour la photocatalyse dans le visible : De l'élaboration à l'activité. Soutenu le 13 Décembre 2006. Université de Pau et des pays de l'Adour
- [2] M. Mousseron-Canet, J. C. Mani, dans *Photochimie et Réactions Moléculaires*, Dunod, Paris (1969) 27-46.
- [3] A. M. Braun, M. T. Maurette, E. Oliveros, dans *Technologie Photochimique*, Presses Polytechniques Romandes, Lausanne (1986) 1-42 ; *b. idem* 143-189.
- [4] G. J. Kavarno, N. J. Turro, *Chem. Rev.* 86 (1986) 401-449.
- [5] A. M. Braun, M. T. Maurette, E. Oliveros, dans *Technologie Photochimique*, Presses Polytechniques Romandes, Lausanne (1986) 68-72 et 429-481.
- [6] C. S. Foote, *Tetrahedron Letters* 41 (1985) 2221-2227.
- [7] S. L. Murov, I. Carmichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*, Second Edition, Marcel Dekker, INC. (1993) 145-228 ; *b. J. K. Kochi*, dans *Free Radicals*, volume 2, ed. J. K. Kochi, John Wiley, New York (1973) 665-710 ; *c. J. Brocks, H. D. Beckhaus, A. Beckwith, C. Rüchardt*, *J. Org. Chem.* 63 (1998) 1935-1943.
- [8] S. L. Murov, I. Carmichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*, Second Edition, Marcel Dekker, INC. (1993).
- [9] N. Soggiu, *Oxydation des sulfures par transfert monoélectronique photoinduit en milieu homogène et hétérogène*, Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour (1999) 27-52.
- [10] J. Eriksen, C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 6083-6088.
- [11] C. J. Brinker, G. W. Scherer, *Sol-Gel Science. The physics and chemistry of sol-gel processing*, Eds Academic Press, San Diego (1990)
- [12] A. M. Buckley, M. Greenblatt, *J. Chem. Educ.* 1, 71 (1994) 599.
- [13] Y. A. Attia, M. S. Ahmed, M. Zhu, dans *Sol-gel Processing and Applications*, Eds Y. A. Attia, Plenum Press, New York (1994) 311-321.
- [14] D. Cornet, *Catalyse hétérogène, Technique de l'ingénieur, Traité génie des procédés J I 250* (1992) 1-27.
- [15] L. Smart, E. Moore, *Introduction à la chimie du solide*, Eds Masson, Paris (1997).
- [16] B. E. Yoldas, *J. Mater. Sci.* 12 (1977) 1203-1208.
- [17] H. Matsuda, N. Kobayashi, T. Kobayashi, K. Miyazawa, M. Kuwabara, *J. Non-cryst. Solids* 271 (2000) 162-166.
- [18] C. Anderson, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* 99 (1995) 9882-9885.
- [19] P. Cheng, M. Zheng, Y. Jin, Q. Huang, M. Gu, *Mat. Lett.* 57, 20 (2003) 2989-2994.
- [20] C. Baleizao, B. Gigante, D. Das, M. Alvaro, H. Garcia, A. Corma, *J. Catal.* 223 (2004) 106-113.
- [21] M. Bonnet, L. Schmid, A. Baiker, F. Diederich, *Adv. Funct. Mater.* 12, 1 (2002) 39-42.

- [22] D. Avnir, S. Braun, O. Lev, M. Ottolenghi, *Chem. Mater.* 6 (1994) 1605-1614.
- [23] S. Braun, S. Shtelzer, S. Rappoport, D. Avnir, M. Ottolenghi, *J. Non-cryst. Solids* 147 & 148 (1992) 739-743.
- [24] B. C. Dave, B. Dunn, J. S. Valentine, J. I. Zink, *Analytical Chemistry* 66, 22 (1994) 1120A-1127A.

Chapitre IV
Bactéries et stress
oxydant

Introduction

Dans ce chapitre, une description des microorganismes en général et de *E-coli* en particulier est faite. La structure bactérienne et les constituants bactériens (matériaux biologiques : ADN, protéines...) seront présentés. Par ailleurs, les bactéries qui peuvent se retrouver dans des conditions extrêmes liées aux propriétés du milieu dans lequel elles se trouvent (pH, température, salinité...) sont confrontées à des stress de différents types. Ainsi, les microorganismes peuvent avoir à résister contre un stress oxydant qui a lieu en présence d'espèces réactives de l'oxygène en concentration élevée, et que les microorganismes ne peuvent gérer. La photocatalyse, qui consiste à générer des espèces réactives de l'oxygène grâce à la combinaison TiO_2/UV , est donc un cas de stress oxydant externe induit aux microorganismes. Une description du stress oxydant, de ces effets sur les différents compartiments bactériens et les modes de défense (enzymatiques et non enzymatiques) utilisés par les bactéries seront présentés dans ce qui suit.

1. Généralités

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires procaryotes dont l'organisation rudimentaire est à distinguer de celle rencontrée chez les cellules eucaryotes. A la différence de ces derniers, le chromosome bactérien n'est pas délimité par une membrane nucléaire, et se trouve donc en contact direct avec le cytoplasme. Les bactéries mesurent quelques micromètres de long et peuvent présenter différentes formes : sphériques (coques), allongées en bâtonnets (bacilles), ou encore de forme plus ou moins spiralées. Le chromosome bactérien portant l'information génétique est constitué d'une seule molécule circulaire d'ADN. Ce chromosome bactérien est en contact avec la membrane plasmique au niveau de replis membranaires appelés mésosomes. Les bactéries possèdent, de plus, une enveloppe externe rigide, appelée paroi. Cette paroi joue deux rôles majeurs : elle confère sa forme à la bactérie et résiste à la forte pression osmotique intracellulaire (due à une très forte concentration en métabolites dans le cytoplasme). Ainsi, la paroi est impliquée dans le maintien de l'intégrité des bactéries, organismes souvent présents dans des environnements extrêmes (pH très bas ou très élevés, fortes concentrations en sels...). Les bactéries peuvent être isolées du sol, des eaux douces, marines ou saumâtres, de l'air, des profondeurs océaniques, de la croûte terrestre, sur la peau et dans l'intestin des êtres vivants supérieurs.

La plupart de ces bactéries sont inoffensives elles sont parfois même bénéfiques pour l'organisme. Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la peste, l'anthrax ou la tuberculose. Certaines peuvent entraîner des troubles respiratoires ou intestinaux alors que d'autres peuvent être responsables de l'infection de blessures. Les infections bactériennes peuvent être traitées grâce aux antibiotiques qui le plus souvent inhibent une de leur fonction vitale (par exemple la pénicilline bloque la synthèse de la paroi cellulaire).

2. Structure et composants cellulaires

Les bactéries, classées dans la catégorie des procaryotes à cause de l'absence du noyau, sont de structure relativement simple, figure 1. Elles sont constituées d'éléments toujours présents chez toutes les espèces bactériennes, appelés éléments obligatoires et d'autres qui ne sont présents que dans quelques espèces appelés éléments facultatifs. Nous trouvons dans les éléments obligatoires d'une bactérie : la paroi, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme, le mesosome et le chromosome. Les éléments facultatifs, eux, comprennent : une capsule, les pilis, un appareil locomoteur, un endospore et des plasmides.

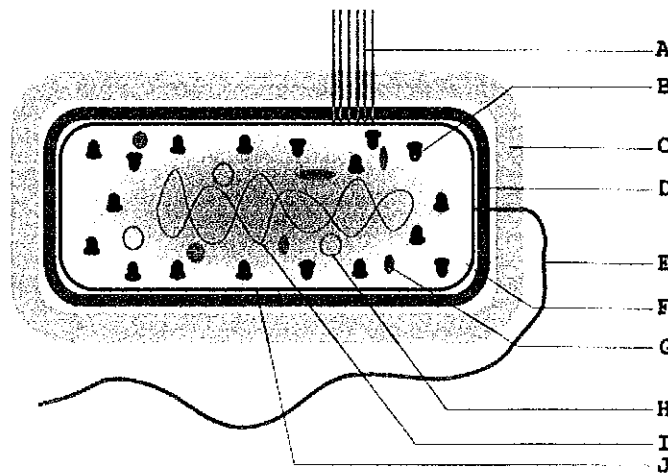


Figure 1. Structure d'une bactérie. A : pili (pilus commun, pilus sexuel), B : Ribosomes, C : capsule, D : paroi, E : Flagelle, F : cytoplasme, G : vacuoles (substances de réserve), H : plasmide, I : chromosome (ADN), J : Membrane plasmique.

2.1 La paroi

La paroi bactérienne recouvre entièrement le corps bactérien et peut avoir une épaisseur variant entre 2 et 80 nm selon les espèces. En fonction de la paroi, les bactéries sont réparties en deux grandes classes : les Gram-positives (Gram+) et les Gram-négatives (Gram-). L'élément commun aux parois de toutes les bactéries est le peptidoglycane (ou muréine), celui-ci est composé de sucres aminés et de différents acides aminés, il assure la rigidité de la paroi.

2.1.1 Paroi chez les Gram-négatifs

Les cellules à Gram-négatif présentent un peptidoglycane fin localisé dans le périplasma : région entre la membrane cytoplasmique et la membrane cellulaire externe, figure 2. Cette dernière est composée de protéines, de lipides et de lipopolysaccharides qui jouent un rôle important dans la pathogénicité des Gram-négatifs (en-dotoxine).

La membrane externe est traversée par des porines qui sont des trimères protéiques constituant des pores rendant cette structure perméable aux substances solubilisées de faible poids moléculaire; les substances de plus haut poids moléculaire pénètrent plus difficilement et plus lentement.

Certaines porines permettent un transport plus spécifique (acides aminés, sucres, nucléosides, etc.). La membrane externe est ancrée au peptidoglycane par l'intermédiaire de lipoprotéines et de la protéine OmpA.

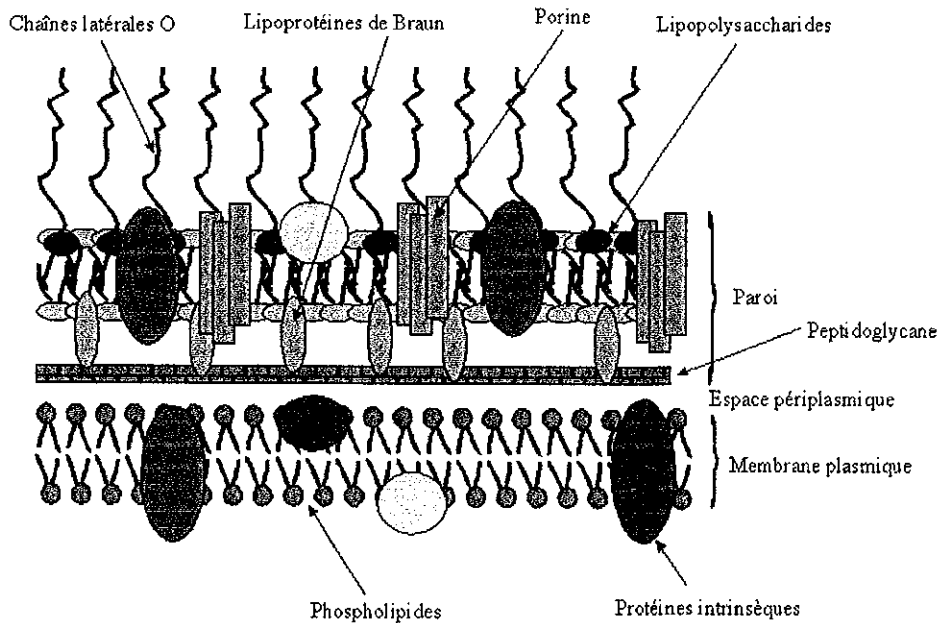


Figure. 2 Structure de la paroi chez les Gram-négatif

2.1.2 Paroi chez les Gram-positifs

La paroi des Gram-positifs est plus simple, elle ne comporte pas de membrane externe, figure 3. Cette composition est cependant compensée par la présence d'une épaisse couche peptidoglycane et d'acide techoiques qui sont en général des polymères de molécules de glycérol ou de ribitol jointes par des groupes phosphates. Ils sont chargés négativement et jouent un rôle dans la fixation des ions Mg^{2+} .

Enfin, il existe des bactéries sans paroi : ce sont les mycoplasmes.

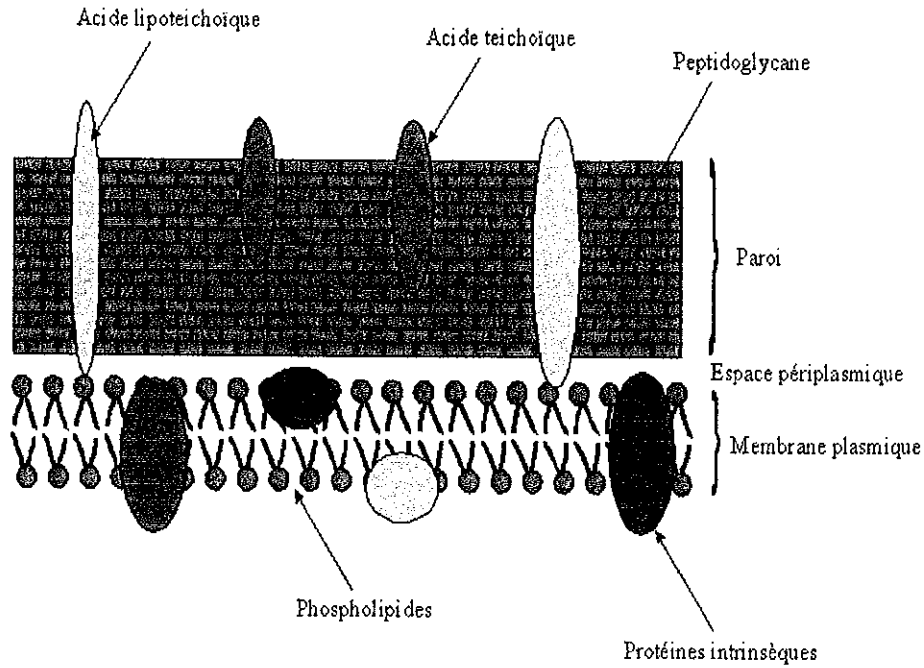


Figure 3. Structure de la paroi chez les Gram-positifs.

2.2 Composants intracellulaires

En plus du chromosome, principal élément des composants intracellulaires, les bactéries comportent des plasmides, des ribosomes, ainsi que différents cations nécessaires à la vie bactérienne.

2.2.1 l'ADN

Les bactéries possèdent un chromosome sous forme de filament d'ADN. Ce dernier, l'acide désoxyribonucléique est le support de l'information génétique et de l'hérédité. C'est une macromolécule en double hélice, composée de quatre bases azotées: Adénine, Thymines, Guanine et Cytosine, figure 4. La molécule de l'ADN est de charge négative et est neutralisée par des polyamines et des ions Mg^{+2} .

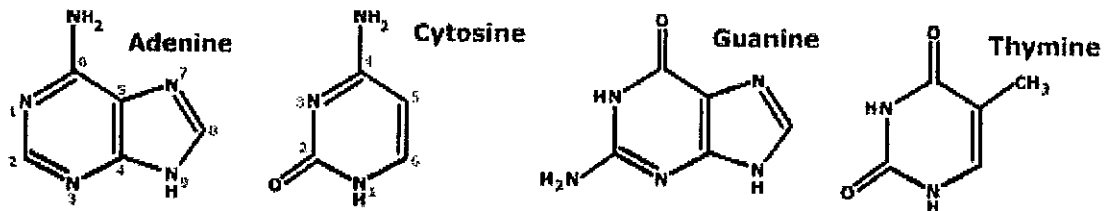


Figure 4. Bases azotées constituant l'ADN

L'ADN contient tout le programme (code génétique) nécessaire au déroulement de la vie cellulaire. De ce fait il gouverne la synthèse de toutes les protéines (de fonctionnement et de régulation) impliquées dans le cycle de toute vie.

Le chromosome bactérien est presque toujours circulaire, il est unique et se localise dans une région du corps bactérien aux limites irrégulières: le nucléoïde ou région nucléaire.

2.2.2. Plasmides et autres composants intracellulaires

- **Les plasmides** sont des molécules d'ADN habituellement circulaire. Leur taille est de l'ordre de 1/1000 à 1/100 de celle du chromosome. Ils codent pour des gènes qui ne sont généralement pas indispensables à la survie de la bactérie dans les conditions normales, mais qui peuvent conférer des avantages sélectifs décisifs (résistance aux antibiotiques, déterminants de pathogénicité, nouvelles capacités métaboliques, etc.).
- **Les ribosomes**, molécules ribonucléoprotéiques, sont présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Leur fonction est de synthétiser les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messenger qu'il a lui-même reçue de l'ADN.
- **Le cytoplasme** qui englobe la totalité du matériel cellulaire contenu dans la membrane interne (ou cytoplasmique). C'est un colloïde, constitué d'un milieu plus ou moins homogène, le cytosol. Il contient les ribosomes, les plasmides et le chromosome circulaire, ainsi que des substances de réserves qui sont des stocks de nutriments sous forme de glycogène, amidon ou poly-b-hydroxybutyrate (PBH).

3. Description d'*Escherichia coli*

Escherichia coli appelée également colibacille, figure 5 est une bactérie intestinale qui fait partie de la famille des entérobactéries à gram négatif. C'est un coliforme fécal généralement commensal, découvert en 1885 par Théodore Escherich, dans des selles de nourrissons. *E-coli* est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'accouchement. *E. coli* constitue alors tout au long de la vie de l'hôte l'espèce bactérienne dominante de la microflore anaérobie facultative de l'intestin.

E. coli est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour : en effet, l'ancienneté de sa découverte et sa culture aisée (division cellulaire toutes les 20 min à 37 °C dans un milieu riche) en font un outil d'étude de choix.

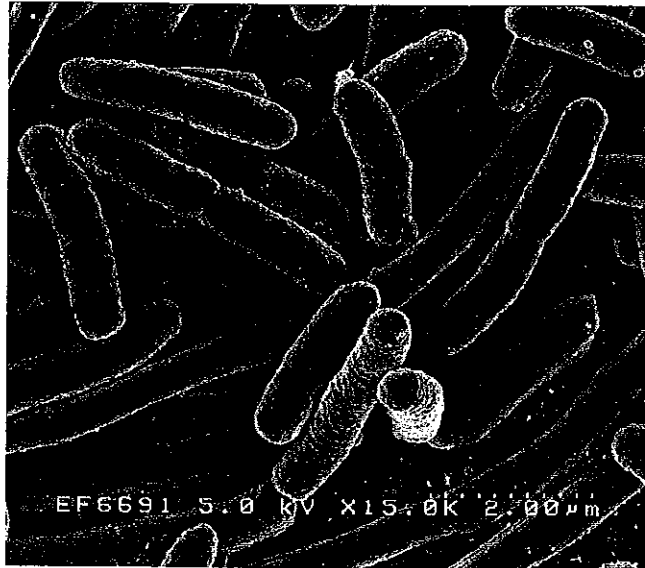


Figure 5. Image de la bactérie E-coli par microscopie électronique [1]

3.1 Cycle de vie et génome d'*E-coli*

Quand elle se trouve dans un milieu propice, *E-coli* peut se multiplier à une allure vertigineuse. Une population de bactérie peut doubler toutes les 20 min en fonction de : la disponibilité en nutriments, la présence de bactéries concurrentes, la présence de prédateurs (par exemple des paramécies), la présence de bactériophages, la présence d'antibiotiques produits par exemple par des champignons.

Deux cellules filles identiques sont produites à partir d'une cellule mère. La croissance cellulaire se manifeste par un accroissement du volume cellulaire, suivi de la synthèse d'un septum transversal au milieu de la cellule, aboutissant à la séparation des deux cellules filles. La division bactérienne est précédée par la duplication du chromosome bactérien grâce à la réplication de l'ADN. La figure 6 montre le cycle de divisions bactériennes chez *E-coli*.

Au cours de son évolution, les souches *E-coli* pathogènes ont acquis un répertoire de gène de virulence leur permettant de contourner les défenses de l'organisme hôte. Cette situation a permis l'apparition d'une très large gamme de souche *E-coli* où le nombre de gènes communs entre elle ne dépasse guère les 40%.

A titre d'exemple, le génome d'une souche *E-coli* non pathogène de laboratoire séquencé en 1997 a permis de mettre à jour 4,6 millions de paires de bases codant pour quelques 4200 protéines. Le génome d'une autre souche, pathogène, qui provoque des entérohémorragies, séquencé en 2001 a permis, lui de mettre à jour 5,5 millions de paires de bases codant pour

environ 5400 protéines. Enfin, le séquençage du génome d'une souche *E-coli* responsable d'infections urinaires (cystite, pylonéphrite) et de méningites néonatales révèle 5,2 millions de paires de bases codant pour 5300 protéines.

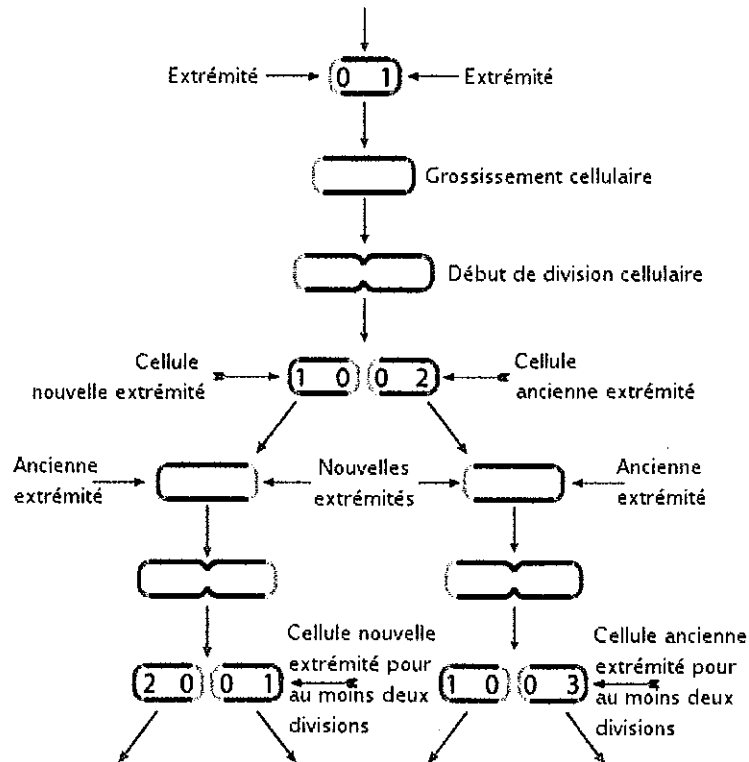


Figure 6. Cycle de vie d'E-Coli [2]

3.2 Pathogénicité d'E-Coli :

Représentant 80 % de la flore intestinale aérobie, le germe *E-coli* se retrouve dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sol et eaux. Sa présence dans le milieu environnant signe toujours une contamination fécale indice d'une bio pollution. Sa mise en évidence dans l'eau constitue le test primordial de la colimétrie.

Certaines souches d'*E-coli* sont capables de causer des infections humaines. Les espèces pathogènes sont classées en quatre groupes :

- *E-coli* entéropathogène (EPEC),
- *E-coli* entéroenvahisseur (ou entéroinvasifs -EIEC),
- *E-coli* entérohémorragiques (EHEC),
- *E-coli* entérotoxigène (ETEC).

Ces souches se caractérisent par la capacité de produire une entérotoxine dont l'action sur les entérocytes perturbe les fonctions d'absorption normalement assurées par la muqueuse intestinale. Ces microorganismes peuvent être présents dans certains aliments, comme le boeuf haché, et dans l'eau où ils trahissent une contamination fécale.

Ils peuvent, s'ils arrivent à franchir les muqueuses intestinales (lésions de la paroi intestinale), devenir pathogène et peuvent conduire à des infections urinaires, biliaires, génitales appelées colibacilloses, et très exceptionnellement une septicémie. Ils se comportent en pathogène opportuniste.

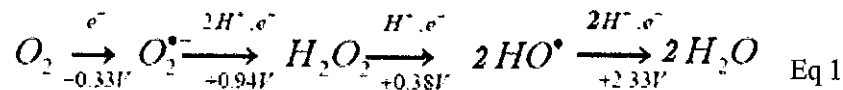
4. Stress oxydant

Dans un système physiologique normal, les radicaux libres, espèces essentielles dans le fonctionnement des organismes vivants, sont produits en permanence, mais à dose raisonnable.

Un système de défense (tel que les antioxydants), est cependant présent pour parer à un éventuel déséquilibre entre production et élimination de radicaux libres en excès.

Le stress oxydant résulte alors de la rupture de cet équilibre en faveur des radicaux libres. Ce déséquilibre peut être le résultat d'un déficit en antioxydant, d'une surproduction de radicaux libres ou des deux à la fois. Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) font partie des radicaux libres pouvant avoir des effets très néfastes sur l'organisme vivant.

Les EROs sont produits dans la cellule soit de manière endogène par une succession de réductions monovalentes de la molécule oxygène, les potentiels standard d'oxydoréduction et de transfert de proton et d'électron ayant été déterminés par Farr et Kogoma (1991) [3] selon l'équation 1.



Soit de manière exogène à l'image des espèces réactives de l'oxygène produites par photocatalyse lors de l'irradiation de TiO₂. Il est donc raisonnable de considérer que les effets de la photocatalyse sur les organismes vivant soient analogues à ceux provoqués par le stress oxydant.

Les espèces réactives de l'oxygène sont divisées en trois catégories :

- les espèces réactives de l'oxygène primaires : elles dérivent de l'oxygène par les réductions à un électron comme l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le radical hydroxyle (OH[•]) [4],
- Les espèces secondaires : qui résultent de la réaction entre les espèces primaires et les molécules biochimique de la cellule,
- Enfin, les espèces dérivées de l'oxygène ne portant pas de charges qui sont appelées espèces actives de l'oxygène tels l'oxygène singulet (¹O₂), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou encore le nitroperoxyde (ONOOH). Ces dernières peuvent être des précurseurs de radicaux libres. La figure 7 présente le diagramme montrant les différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans le stress oxydant.

Dans ce qui suit, sera présentée une description des effets des EROs sur les différents constituants de la cellule : paroi, protéine et ADN.

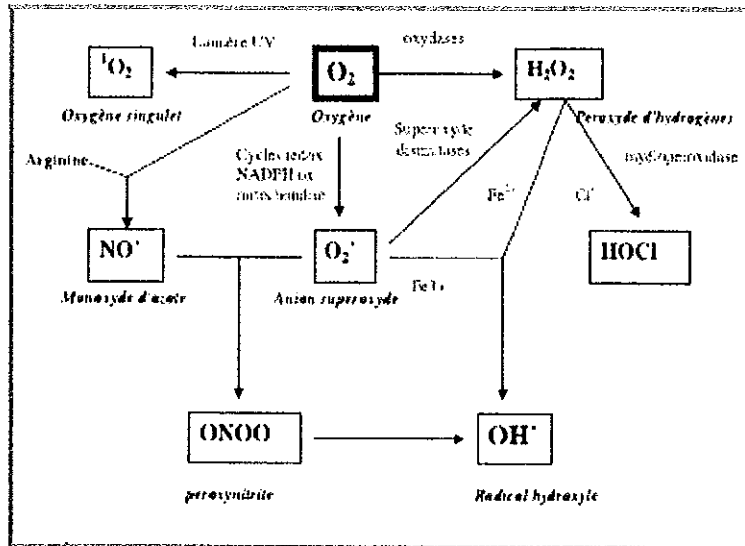


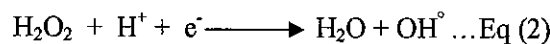
Figure 7. Diagramme des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans le stress oxydant.

4.1 Principales espèces réactives de l'oxygène

4.1.1 Radical hydroxyle :

Du fait de sa haute réactivité, sa durée de vie est très courte (de l'ordre de la nanoseconde) [47]. Sa vitesse de réaction ne sera limitée que par sa très faible diffusion, le radical OH° ne pourra parcourir que de très faibles distances (quelques nanomètres) et réagira quasiment à l'endroit de sa production. Il peut être généré in vivo selon trois modes :

- a- Le clivage réducteur du peroxyde d'hydrogène Equation 2:



- b- La coupure homolytique du peroxyde d'hydrogène, sous l'influence de radiations ionisantes Equation 3:



- c- La décomposition du peroxyde d'hydrogène, catalysée par la présence d'ions ferriques, réaction plus connue sous le nom de Fenton Equation 4 :

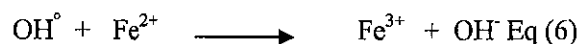


Cette dernière réaction est susceptible de s'interrompre par épuisement des ions Fe^{2+} . Cependant, la présence de l'anion superoxyde permet la régénération de ions Fe^{2+} en réduisant les ions Fe^{3+} selon l'équation 5 [5] :



Les radicaux hydroxyles attaquent tous les matériaux biologiques : lipides, protéines et ADN. Ils peuvent réagir selon trois modes :

- a- En arrachant un électron Equation 6 :



b- En arrachant un atome d'hydrogène d'un substrat organique RH Equation 7:

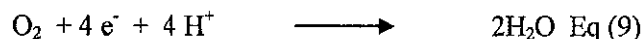


c- Ou encore, en s'additionnant sur les doubles liaisons Equation 8 :

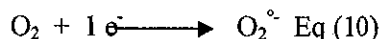


4.1.2 L'anion superoxide

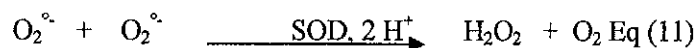
La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente par addition de quatre électrons selon l'équation 9



Cependant il peut y avoir une fuite d'une petite proportion d'électrons qui vont réduire en partie seulement l'oxygène. C'est ainsi qu'environ 2% de l'oxygène subit une réduction mono-électronique conduisant à la formation du radical superoxyde (O_2°) suivant l'équation 10 [6]:



L'anion superoxyde est peu réactif vis-à-vis de la majorité des substrats bioorganiques (acide nucléique, protéine, lipide et leurs constituants), sa durée de vie est relativement longue (peut atteindre quelques dizaines de secondes) ce qui lui laisse la possibilité de diffuser bien au-delà de son endroit de production [6] en terme de cinétique; cela se traduit par des constantes de vitesse relativement faibles, généralement inférieures à $10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$. Sa charge électrique le rend incapable de diffuser à travers les membranes biologiques. Malgré cette faible réactivité relative, l'anion superoxyde peut être délétère pour les structures biologiques, puisqu'il peut réduire le fer contenu dans les centres [4Fe-4S] de certaines protéines permettant ainsi la génération de radicaux plus réactifs [7]. L'anion superoxyde est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration bas, grâce à l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse sa disparition par dismutation équation 11.



4.1.3 Le peroxyde d'hydrogène

L'eau oxygénée ayant tous ses électrons périphériques appariés, n'est pas considérée comme un radical, son absence de charge lui permet de traverser les membranes biologiques. La toxicité à l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle en présence de cations métalliques (Fe^{2+}) comme cela est décrit par la réaction de Fenton en équation 6. Dans la cellule, sa concentration est régulée grâce aux enzymes catalase et glutathion peroxydases. La catalase est responsable de la dismutation de l' H_2O_2 en eau et en oxygène, selon l'équation 12, tandis que la glutathion peroxydase permet d'accélérer la réaction d'oxydation du glutathion (thiol peptidique symbolisé par GSH) par l'eau oxygénée selon l'équation 13 [6].



5. Effets des espèces réactives de l'oxygène sur les matériaux biologiques

Les espèces réactives de l'oxygène, endogènes ou exogènes aux organismes vivants, sont capables d'occasionner des effets très néfastes aux cellules, entraînant parfois leur mort. Les effets délétères de ces espèces réactives de l'oxygène peuvent avoir lieu sur différents matériaux biologiques : les lipides et les protéines membranaires, les protéines intracellulaires ainsi que le cytoplasme et l'ADN.

5.1 Effet des EROs sur les lipides membranaires

Les phospholipides polyinsaturés membranaires seraient les premières cibles de l'attaque par les radicaux hydroxyles. Les OH° seraient responsables de la peroxydation lipidique, cette réaction a lieu par arrachement d'un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction est susceptible de se poursuivre en chaîne, puisque le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué [8]. Les hydroperoxydes peuvent évoluer selon différentes formes : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en acide, alcane et aldéhydes. Ces dernières peuvent être particulièrement toxiques tels le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonanal et peuvent être des facteurs supplémentaires contribuant à l'inactivation du microorganisme.

5.2 Effet des EROs sur les protéines

Garrison et al [9] ont été les premiers à évoquer l'attaque des protéines par les EROs. Ils proposèrent l'action du radical OH° sur l'hydrogène α d'un acide aminé. Le carbone radicalaire (C°), produit de cette réaction, pourra réagir de manière covalente avec un autre carbone radicalaire. L'ensemble de ces réactions conduira à l'oxydation du squelette carboné.

Les protéines comportant un groupement sulfhydryle (SH) (Cystéine et Méthionine) seront les plus fragiles aux attaques radicalaires [10, 11]. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui seront oxydées, inactivées et perdront leurs propriétés biologiques (enzyme, antienzymes, récepteurs...). Comme lésions, les protéines peuvent subir des réticulations particulièrement par la formation de ponts bi-tyrosine détectable par leur fluorescence. L'oxydation de certains acides aminés (Lysine, Arginine, Proline et Thréonine) conduit à une carbonylation des protéines par l'ajout d'un groupement aldéhyde ou cétone sur la chaîne latérale. Lorsqu'une protéine possède une fonction enzymatique, les radicaux hydroxyles sont capables d'inactiver, tout au moins en partie, le site actif [12]. Les protéines oxydées deviennent très sensibles aux protéases et développent une grande hydrophobicité soit par la suppression de groupements amines ionisables soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales.

5.3 Effet des EROs sur l'ADN

Le support de l'information génétique, l'ADN, est une molécule très fragile aux attaques des EROs, (OH^\bullet) particulièrement. Au minimum, cinq classes de dommages oxydatifs provoqués par l'action des EROs sur l'ADN sont déterminées dans la littérature [13] :

- Oxydation de bases,
- Formation de sites abasiques,
- Formation d'adduits intra-caténares,
- Cassures simple ou double brins,
- Formation de ponts ADN-protéines.

Un grand nombre de bases modifiées peut apparaître lors de l'attaque radicalaire par l'espèce OH^\bullet . Parmi les bases composant l'ADN, la guanine est la plus sensible à l'oxydation, celle-ci donne lieu, par attaque du radical hydroxyle sur ses doubles liaisons, à la 8 oxo guanine qui est l'un des principaux marqueurs du stress oxydant [6], figure 8.

D'autres bases modifiées indiquant un stress oxydant peuvent apparaître tels que les: 8 nitro guanine, la formamidopyrimidine, la 8 oxo adénine, la formimido uracile, la 5 hydroxy cytosine, le 5 hydroxy méthyl uracile, la thymine diol, l'oxazolone. Quelques unes de ces molécules sont présentées dans le tableau 1.

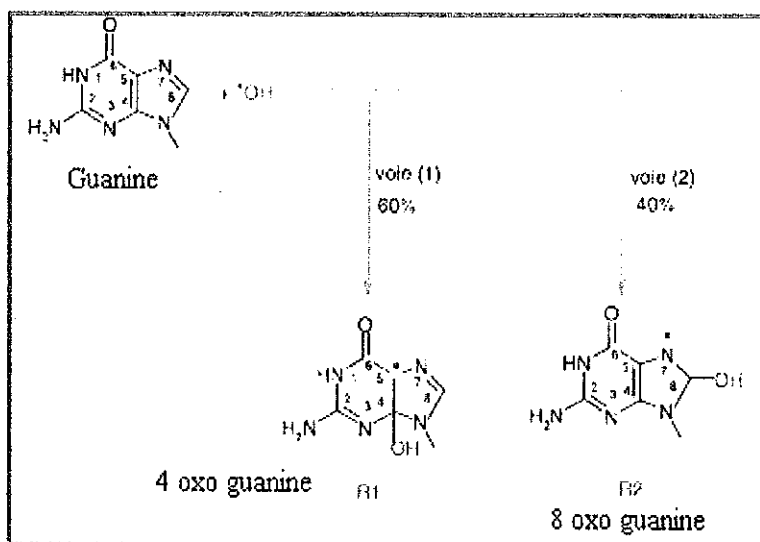


Figure 8. Oxydation de la guanine (base ADN) par le radical OH^\bullet : apparition de deux radicaux R1 (4 oxo guanine) centré sur le carbone 5 et R2 (8 oxo guanine) centré sur l'azote 7 [6].

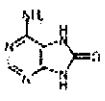
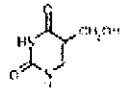
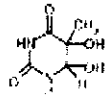
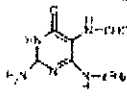
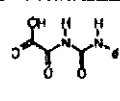
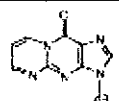
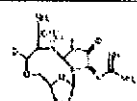
8 oxo adénine	5, OH méthyl uracyle	Thymine glycol	Fapy guanine	Acide oxalorique	Malonaldé hyde-dG	Lysino d guanosine
						

Tableau I. Principales molécules issues de l'oxydation radicalaires des bases constituant l'ADN.

Les liaisons entre les bases et le désoxyribose peuvent également être attaquées par les EROs, la rupture de ces liaisons créera un site abasique. L'attaque du sucre, elle, est à l'origine d'une coupure de chaîne simple brin. Des lésions indirectes peuvent être provoquées par la formation d'aldéhydes mutagènes produits de la peroxydation lipidique. Ces lésions peuvent être sous forme d'adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine. Des pontages des protéines ainsi que des adduits sur des bases de type lysoguanine peuvent se former lors d'attaque radicalaire des nombreuses protéines qui rentrent en contact avec l'ADN pour le protéger (histone) ou pour le lire (enzyme et facteur de la réplication ou de la transcription).

L'orientation et l'intensité de ces attaques peuvent être très influencée par la présence de métaux (Fe, Mg, Zn, Cu, Ni, Cd...) fixés à la molécule ADN. La figure 9 représente les lésions pouvant avoir lieu sur l'ADN.

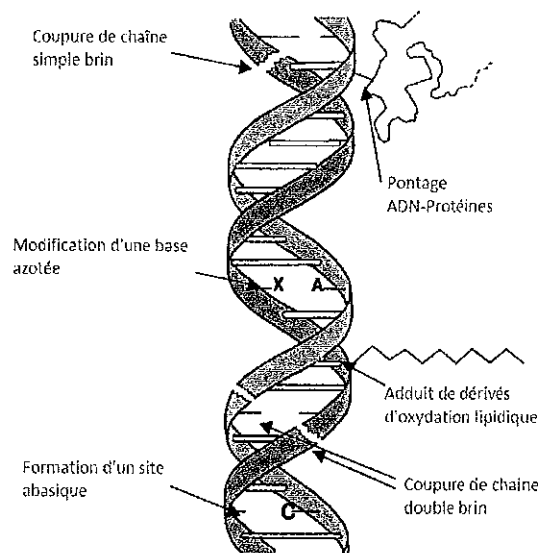


Figure 9. Différentes lésions pouvant avoir lieu sur l'ADN lors d'un stress oxydant

6. Mécanismes de défense chez les organismes vivants

Les organismes vivants sont dotés de moyens de défense contre les différentes attaques qu'ils peuvent subir, notamment les attaques par les espèces réactives de l'oxygène, induisant un stress oxydant. Ces mécanismes de défense se divisent en deux catégories :

- Les mécanismes enzymatiques,
- Les mécanismes non enzymatiques.

6.1 Mécanismes de défense enzymatiques

6.1.1 La superoxyde dismutase

Puissante enzyme antioxydante naturelle, la Superoxyde dismutase SOD agit à la source même de la réaction en chaîne induite par les espèces réactives de l'oxygène et constitue donc le premier et l'un des principaux maillons du processus de défense contre les radicaux libres. Décrite en 1969 par McCord et Fridovich [14], cette enzyme est présente dans tous les organismes vivants. Bannister et al [15] ont classé les différentes SOD existantes chez *E-Coli* en fonction de leur cofacteur :

- La SOD-Cu/Zn, qui se localise dans le périplasme et est codée par le gène *sodC*,
- La SOD-Mn, qui est majoritaire en phase de croissance en aérobiose, elle est codée par le gène *sodA*,
- Enfin, la SOD-Fe, qui est régulée en fonction du fer présent dans la cellule, et est codée par le gène *sodB* [16],

Cette enzyme gère la présence de l'anion superoxyde dans les organismes vivants et permet de l'éliminer par dismutation selon l'équation (11).

6.1.2 Les catalases

Les catalases, ou plus correctement les hydroperoxydases, sont parmi les classes d'enzymes les plus étudiées. Leur nombre dépasse les trois cents et sont rangées dans trois catégories : les catalases monofonctionnelles (plus de 225), catalases-peroxydases bifonctionnelle (plus de 50) et les catalases contenant du manganèse (plus de 25) [17]. La plupart des bactéries produisent une ou plusieurs catalases pour répondre à un stress oxydatif induit par des niveaux élevés en H_2O_2 . Deux catalases sont présentes chez *E-Coli* : la catalase-péroxydase (HP1) [18], codée par le gène *katG* et induite par différentes EROs; elle est synthétisée en phase exponentielle de croissance en aérobiose et la catalase monofonctionnelle (HP2), codée par le gène *katE* [19], qui n'est pas induite par le peroxyde d'hydrogène mais produite en phase stationnaire. La HP2 est particulièrement résistante à l'effet thermique et au pH du milieu [20, 21].

6.1.3 les glutathions peroxydase et réductase

Le glutathion (GSH) est un thiol peptidique (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine) à cofacteur sélénium ayant des propriétés antioxydantes. Il est impliqué dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène mais

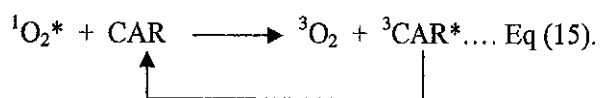
aussi dans celle de peroxydes organiques. La réaction d'oxydation du glutathion par H₂O₂ ou par les peroxydes organiques est catalysée par la glutathion peroxydase selon les équations 13 et 14.



L'oxydation du soufre dans la cystéine permet de relier deux molécules de glutathion à travers un pont di-sulfure (GSSG) et de réduire l'H₂O₂ ou les peroxydes organiques en eau. Par ailleurs, la nouvelle molécule GSSG est réduite par la glutathion réductase en vue de régénérer le glutathion. Ce composé étant présent à des taux relativement élevés dans les cellules (5- 10 mM), il assure une protection efficace en y maintenant un environnement réducteur.

6.2 Mécanismes de défense non enzymatiques

Si les organismes vivant possèdent des mécanismes de défense contre O₂[°] et H₂O₂, ils restent malheureusement sans défense enzymatique contre le radical hydroperoxyde (ROO[°]), l'oxygène singulet (¹O₂), et surtout le radical hydroxyle (OH[°]). Ce dernier serait, vraisemblablement, l'espèce réactive de l'oxygène la plus dommageable pour les organismes vivants [6]. Néanmoins, la présence de composés tels les vitamines ou les caroténoïdes permet de parer à cette situation. Les caroténoïdes, par exemple, sont d'excellents protecteurs des organismes contre l'oxydation causée par l'oxygène singulet ou le radical peroxyde [22]. Plus de 600 types de ces molécules ont été mis à jour jusqu'à aujourd'hui, mais le caroténoïde le plus répandu reste de loin le β-carotène [23]. Ces composés sont synthétisés par les plantes et algues mais aussi par les bactéries et les champignons. L'efficacité des caroténoïdes contre l'¹O₂ dépend de leur structure et du nombre de liaisons doubles conjuguées contenues dans la structure. Selon des études, seuls les caroténoïdes contenant 9 liaisons doubles conjuguées et plus, sont capables de protéger contre l'¹O₂ exogène [24, 25]. La réaction entre les caroténoïdes et l'¹O₂ est de nature physique, les réactions chimiques ne dépassant pas un taux de 0.05% [140]. L'¹O₂ est désactivé par transfert d'énergie selon l'équation (15) [26].



L'énergie de l'oxygène singulet est transférée au caroténoïde permettant à l'oxygène de revenir à son état fondamental triplet avec un caroténoïde excité dans un état triplet également. Le caroténoïde excité revient, lui, à son état fondamental par dissipation de son énergie dans le solvant environnant [22]. Dans les microorganismes, les caroténoïdes se trouvent dans les couches lipidiques et phospholipidiques membranaires [27], ce qui leur donne un emplacement idéal pour défendre la structure des attaques radicalaires, mais diminue leur mobilité et restent confinés dans cette zone attendant que les EROs arrivent jusqu'à eux.

7. Régulation de la défense chez *e-coli*

Les mécanismes de défenses sus-décrits seraient obsolètes sans un système de régulation leur permettant de rentrer en action lors d'un stress oxydant. La manifestation de ces mécanismes de défense n'est autre que l'expression des gènes spécifiques dont la fonction est de préserver l'intégrité de la cellule et de garantir, aussi longtemps que possible, son fonctionnement normal. Les gènes impliqués dans la défense cellulaire sont assemblés en régulon. Ce dernier est un ensemble contigu de gènes codant pour des protéines et de gènes codant pour des protéines régulatrices [11]. Chez *e-coli*, la régulation de la lutte contre le stress oxydant est assurée par deux régulons : le régulon OxyR qui contrôle la plupart des antioxydants en réponse aux peroxydes [28] et le régulon SoxR répondant spécifiquement au stress induit par le superoxyde [29].

7.1 Mécanisme du régulon OxyR senseur des peroxydes

Le gène *oxyR*, qui code pour un régulateur de la réponse aux peroxydes chez *E. coli*, a été identifié parmi des mutants hyper-résistants au peroxyde d'hydrogène [30]. Une analyse récente [31] a permis d'identifier une vingtaine de gènes dont l'expression est régulée par le peroxyde d'hydrogène de manière OxyR dépendante.

La protéine OxyR est active dans sa forme oxydée. En solution, elle forme un tétramère dont le centre redox est constitué de deux cystéines (C199 et C208). Plusieurs gènes impliqués dans la résistance à l' H_2O_2 sont stimulés et régulés par OxyR tel que :

- *katG* qui code pour une catalase (la protéine HP1),
- *dps* (DNA binding protein) qui code pour une protéine protectrice de l'ADN,
- *ahpCF* qui code pour une peroxydase dont le rôle est de piéger l' H_2O_2 ,
- *gorA* codant pour la glutathion réductase.

L'activation d'OxyR (lors d'un excès de peroxydes intracellulaire) se fait à travers l'oxydation de ces cystéines conduisant à la formation d'un pont disulfure intramoléculaire. Cependant, en retrouvant des concentrations normales en peroxyde intracellulaire, d'autres gènes appartenant également au régulon OxyR peuvent stopper l'action de cette protéine en réduisant le pont dissulfure. L'inactivation d'OxyR est donc provoquée par les protéines :

- La glutarédoxine, codée par *grxA*,
- La glutathion réductase, codée par *gor*,

L'appartenance de ces deux derniers gènes au régulon OxyR, explique un mécanisme d'autorégulation.

Chez *E. coli*, la transcription du gène *oxyR* est élevée en phase exponentielle de croissance puis diminue en phase stationnaire [32].

7.2 Mécanisme du régulon SoxR, senseur de l'anion superoxyde

Le radical superoxyde (O_2°) active la protéine SoxR qui à son tour stimule l'expression du gène *soxS* [33, 34]. Ce dernier a sous son contrôle une quarantaine de gènes parmi lesquels :

- *sodA*, qui code pour la Mn-SOD qui dismute le O_2° ,
- *nfo*, qui code pour l'endonucléase IV, une enzyme réparatrice de l'ADN,
- *fur*, qui code pour un régulateur impliqué dans l'homéostasie du fer [35].

En solution, SoxR est une metalloprotéine possédant un centre $[2Fe-2S]^{+2}$ par monomère qui s'oxyde en $[2Fe-2S]^{+3}$ en présence du radical (O_2°), augmentant ainsi sa capacité à activer la transcription de *soxS* d'un facteur cent [36]. A noter que le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, les hautes températures, les UV ou les rayons gamma n'induisent pas le régulon SoxR/S.

8. Mécanismes de réparation de dommages oxydatifs dans les organismes vivants

Les mécanismes de réparations de dommages induits dans les organismes vivants lors d'attaques par les espèces réactives de l'oxygène concernent, dans la majorité des cas, l'ADN. En effet cette macromolécule subit quelque 10^4 lésions par jour [11]. Des systèmes de réparation dans l'obscurité ou en utilisant la lumière sont, néanmoins, disponibles pour réparer les erreurs qui apparaissent sur l'ADN. La réparation des lésions peut être difficile, voire impossible, lorsque les erreurs sont considérables; dans ce cas, les mécanismes de répllication de l'ADN seront perturbés entraînant soit des erreurs de lecture et de synthèse par des protéines spécifiques provoquant l'apparition de mutations ponctuelles dans le génome, soit une impossibilité de copier l'ADN ayant pour conséquence le déclenchement du processus de mort cellulaire programmé, appelé apoptose. Deux mécanismes de réparation de l'ADN sont connus : la réparation dans l'obscurité et la photoréactivation.

8.1 Mécanisme de réparation dans l'obscurité

C'est un système enzymatique complexe, mis en évidence d'abord chez *E. coli*, où il a été bien étudié, mais il est également présent chez les autres êtres vivants tels l'homme. Cette forme de réparation se distingue de la photoréactivation qui nécessite de l'énergie (la lumière) pour sa mise en œuvre.

En faisant intervenir plusieurs enzymes, la réparation dans l'obscurité procède, entre autres, par excision des nucléotides. Les dommages concernés par ce type de réparation sont :

- Les lésions induites par les UV telles que les dimères de pyrimidine,
- Les pontages intra-brin,
- Les gros adduits de l'ADN comme, par exemple, ceux des hydrocarbures aromatiques polycycliques [37].

L'excision d'un ou plusieurs nucléotides implique la création d'une brèche dans le simple brin comme les sites abasiques, ceux-ci devant être réparés par polymérisation puis ligation. Trois gènes impliqués chez E-Coli dans la réparation dans l'obscurité ont été identifiés il s'agit de: *uvrA*, *uvrB* et *uvrC* en plus de deux autres *uvrD* et *polA*, mis à jour plus tard.

Les mutants défectifs dans un des 3 premiers gènes sont, non seulement sensibles aux UV, mais aussi à de nombreux autres agents chimiques comme la mitomycine, la nitrosoguanidine, le psoralène activé etc.

Les protéines UvrA, B et C sont produites par les gènes sus-cités à un niveau très faible en situation normale (25 molécules vraies d'UvrA par cellule de *coli*) mais à forte dose en cas d'agression et de lésion (250 molécules d'UvrA par cellule dans ce cas).

La réparation de l'ADN dans l'obscurité se fait en cinq étapes comme montré sur la figure (10):

- Reconnaissance de la lésion,
- Coupure du brin d'ADN endommagé de part et d'autre de la lésion à quelque distance de celle-ci,
- Excision du fragment erroné,
- Synthèse d'ADN correct en utilisant le brin complémentaire comme matrice par l'intermédiaire de l'ADN polymérase,
- Ligation.

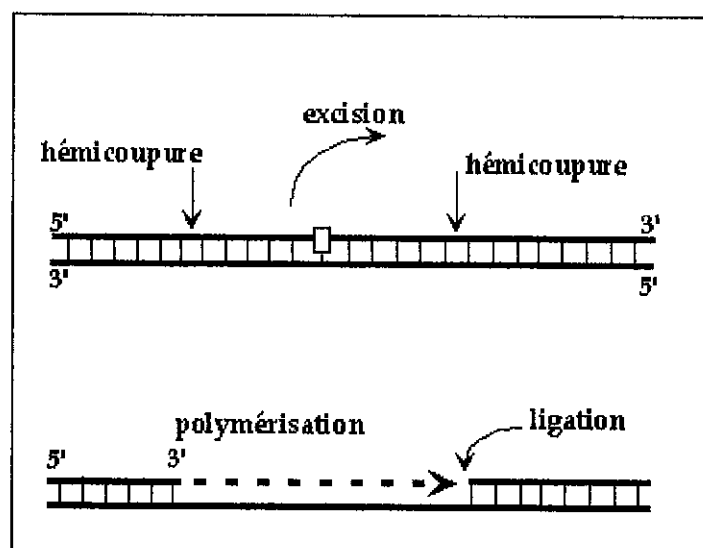


Figure (10) principe de réparation par excision de nucléotides.

8.2 Mécanisme de photo-réactivation

Des cellules irradiées par des rayonnements UVC ont retrouvé leur activité après un traitement par des rayonnements UVA/ Vis. Ce phénomène, découvert par Jagger [38] et Rupert [39], est appelé photoréactivation. Ce mode de réparation consiste à réparer les dimers de pyrimidine, formés dans l'ADN sous l'action de l'UVC, en utilisant des rayonnements ayant des longueurs d'ondes dans l'UVA et le Vis (310 – 480 nm) combinés à l'enzyme photolyase qui s'active dans ce domaine de radiations. Ce processus a lieu sans excision de la région endommagée [40-43]. La réaction de réparation de lésions se déroulerait en deux étapes [44]:

- 1- La formation d'un complexe entre l'enzyme responsable de la photoréactivation (PRE) et les dimers à réparer. Cette étape ne nécessite pas de lumière mais est dépendante de la température, du pH et de la force ionique [45].
- 2- Relargage de la PRE et de l'ADN restauré. Le retour du dimer à sa forme monomère est fortement dépendant de l'intensité et de l'énergie de la lumière.

La réaction se déroule en moins d'une milliseconde, par conséquent l'étape limitante de tout le processus de photoréactivation est la formation du complexe PRE-dimer. L'exposition du complexe au rayonnement nécessaire à la photoréactivation permet le relargage de la PRE qui devient disponible pour former de nouveaux complexes (étape 1). Chez le vivant, le processus de photoréactivation est plus prépondérant par rapport au processus de réparation dans l'obscurité [46].

Bibliographie

- [1] http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg
- [2] E.J. Stewart, R. Madden, G. Paul, F. Taddei, *PLoS Biology*. Vol. 3, No. 2, e45
doi:10.1371/journal.pbio.0030045
- [3] S. B. Farr, and T. Kogoma. *Microbiological Reviews* 55 (1991) 561.
- [4] T. Yoshikawa, Y. Yamamoto, Y.Naito, *Free radicals in chemistry, Biology and Medicine*, Ed. Oica International, Londres, 2000.
- [5] S. I. Liochev, and I. Fridovich. *Free Radical Biology and Medicine* 16 (1994) 29.
- [6] M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh et D. Jore, *l'actualité chimique* nov-déc 2003, 91.
- [7] D. H. Flint, J. F. Tuminello, et al.. *J. of Biological Chemistry* 268 (1993) 22369.
- [8] H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jurgens, *Free Rad. Biol. Med.*, 13 (1992) 341.
- [9] W. M.Garrison, W. Bennett, et al. *Radiation & Research* 16 (1962) 483.
- [10] R. L. Levine, B. S. Berlett, et al. *Mechanisms of Ageing and Development* 107 (1999) 323.
- [11] A. Favier, *l'actualité chimique*, nov.-déc. 2003, 108.
- [12] C. von Sonntag, *Enzymes (chap. 14), The Chemical Basis of Radiation Biology*, Taylor & Francis, Londres, 1987, p. 429.
- [13] J. Cadet, S. Bellon, M. Berger, A.G. Bourdat, T. Douki, V. Duarte, S. Frelon, D.Gasparutto, E. Muller, J.L. Ravanat., S. Sauvaigo, *Biol. Chem.*, 383 (2002) 93.
- [14] J. M. Mccord, and I. Fridovich. *J. of Biological Chemistry* 244 (1969) 6049.
- [15] J. V.Bannister, W. H. Bannister, et al. *CRC critical reviews in biochemistry* 22(1987) 111.
- [16] S. Dubrac, and D. Touati. *Microbiology-Sgm* 148 (2002) 147.
- [17] P. Chelikania, I. Fitab and P. C. Loewena, *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 61 (2004) 192–208.
- [18] M. F. Christman, G. Storz and B. N. Ames. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 3484.
- [19] P. C. Loewen, J. Switala and B. L. Triggs-Raine. *Arch. Biochem. Biophys.* 243 (1985) 144
- [20] E. Meir and E. Yagil *Curr. Microbiol.* 11 (1984) 13.
- [21] I. Goldberg and A. Hochman. *Arch. Biochem. Biophys.* 268 (1989) 124.
- [22] W. Stahl, H. Sies *Molecular Aspects of Medicine* 24 (2003) 345.
- [23] J.A. Olson, N.I. Krinsky, *FASEB J.* 9(1995)1547.
- [24] M. M. Mathews-Roth, and N. I. Krinsky. *Photochem. Photobiol.* 11(1970) 555.
- [25] M. M. Mathews-Roth, T. Wilson, E. Fujimori, and N. I. Krinsky. *Photochem. Photobiol.* 19 (1974) 217.
- [26] R. Edge, D.J. McGarvey, T.G. Truscott. *J. of Photochem. and Photobiol. B: Biology* 41 (1997) 189.
- [27] H. Tatsuzawa, T. Maruyama, N. Misawa, K. Fujimori, M. Nakano. *FEBS Letters* 484 (2000) 280.

- [28] M. F. Christman, G. Storz, B. N. Ames. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 86 (1989) 3484.
- [29] I.R. Tsaneva, B. Weiss. *J. Bacteriol.* 172 (1990) 4197.
- [30] M. F. Christman, R. W. Morgan, F. S. Jacobson, B. N. Ames. *Cell.* 41 (1985) 753.
- [31] M. Zheng, X. Wang, B. Doan, K. A. Lewis, T. D. Schneider, G. Storz. *J. Bacteriol.* 183 (2001) 4571.
- [32] B. Gonzalezflecha, and B. Demple *J. of Biological Chemistry* 270 (1995) 13681.
- [33] T. Nunoshiba, E. Hidalgo, C. F. Amabile Cuevas, B. Demple. *J. Bacteriol.* 174 (1992) 6054.
- [34] J. Wu, B. Weiss. *J. Bacteriol.* 174 (1992) 3915.
- [35] G. Storz, and J. A. Imlay. *Current Opinion in Microbiology* 2 (1999) 188.
- [36] E. Hidalgo, and B. Demple. *J. of Cellular Biochemistry:* (1995)245-245.
- [37] R. Dip, U. Camenisch, & H. Naegeli, *DNA Repair (Amst)* 3, (2004) 1409.
- [38] J. JAGGER, *Bacteriol. Rev.*, 22 (1958) 99.
- [39] C. Wei, W.Y. Lin, Z. Zainal, N.E. Williams, K. Zhu, A.P. Kruzic, R.L. Smith and K. Rajeshwar. *Environ Sci Technol* 28 (1994), 934.
- [40] E. Nebot Sanza, I. Salcedo Davila, J.A. Andrade Balao, J.M. Quiroga Alonso. *Wat. Res.* 41 (2007) 3141 – 3151
- [41] G. C. Walker, *Microbiol. Res.* 48 (1984) 60.
- [42] K. Oguma, H. Katayama, H. Mitani, S. Morita, T. Hirata, S. Ohgaki, 2001. *App. Environ. Microbio.* 67 (2001) 4630.
- [43] H. Liltved, B. Landfald. *Water Res.* 30 (1996) 1109.
- [44] W. Harm, *Biologica Effects of Ultraviolet Radiation.* Cambridge University Press, New York Chapter 8. 1980.
- [45] K. G. Lindenauer, J. L. Darby, *Water Res.* 28 (1994) 805.
- [46] A. Sancar, *Biochemistry* 33 (1994) 2.
- [47] G. GOGNIAT, thèse N° 3578. Mécanismes d'action du TiO₂ illuminé sur Escherichia Coli, Fac. de l'environnement naturel, architectural et construit. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. juillet 2006

Chapitre V
Procédés de
désinfection de l'eau

Introduction

L'obtention d'une eau potable apte à être consommée ne passe pas seulement par l'élimination des espèces polluantes d'origine chimiques (colorants, pesticides, hydrocarbures...). Elle nécessite aussi l'élimination des polluants d'origine biologique (virus, bactéries, champignon, levure...) résidant dans l'eau. Cette dernière opération est appelée désinfection ou stérilisation. Plusieurs méthodes sont utilisées pour ce faire, des plus conventionnelles (chloration et ozonation), aux plus innovantes : désinfection par microonde, par microfiltration, par exposition solaire (SODIS) ou encore par photocatalyse du TiO_2 utilisant l'énergie solaire ou les rayonnements UV. Nous présenterons dans ce qui suit les méthodes les plus utilisées dans la désinfection. Nous passerons par la suite aux résultats obtenus dans l'inactivation d'*E-coli* en utilisant les différents matériaux : TiO_2 , argile pontée avec le titane et photosensibilisateurs.

1. Désinfection par chloration

La chloration compte parmi les plus anciens modes de désinfection de l'eau. Introduit sous forme de chlore, de dioxyde de chlore ou de chloro-amine, ce composé chimique permet d'inactiver, plus ou moins efficacement, les différents microorganismes présents sur tout le réseau de distribution d'eau potable. Malheureusement, cette technique qui stérilise l'eau d'un côté est également responsable de l'apparition de nombreux dangereux sous-produits de désinfection. En effet, la chloration est la principale source de production de composés cancérigène et génotoxique dans l'eau potable [1]. En réagissant avec la matière organique naturelle présente dans l'eau, le chlore forme, entre autres, les trihalomethanes (THMs) et les acides haloacétiques (HAAs) [2] dont le pouvoir cancérigène est clairement établi [3-5].

Le chloroforme CF, le bromodichloromethane BDCM, le dibromochloromethane DBCM et le bromoforme BF sont les composés THMs les plus présents dans l'eau post-chlorée[6], alors que les composés HAAs sont représentés par l'acide monochloroacétique (MCAA), l'acide dichloroacétique (DCAA), l'acide trichloroacétique (TCAA) l'acide monbromoacétique (MBAA), l'acide dibromoacétique (DBAA), l'acide tribromoacétique(TBAA), l'acide bromochloroacétique (BCAA), l'acide bromodichloroacétique(BDCAA) et l'acide dibromochloroacétique (DBCAA) [7].

Pour assurer une durabilité du traitement, les eaux potables sont post-désinfectées, généralement par ajout du chlore, ce qui nécessite de fortes concentrations de chlore en sortie d'usine, entraînant une incompatibilité avec les normes aussi bien en chlore résiduel qu'en dérivés chlorés (sous-produits de désinfection) [8].

Maintenir le résiduel du chlore dans un réseau de distribution est crucial [9, 10] puisque celui-ci est consommé dans différents processus :

- Réaction avec les composés organiques naturels [10-13],
- Réaction avec le biofilm [14]

- Réaction avec la paroi interne de la canalisation [15, 16],

Par ailleurs, des études ont montré que des bactéries et surtout les protozoaires peuvent résister au processus de chloration particulièrement lorsqu'ils sont organisés en biofilm (fixées sur de fines particules de charbon actif [17-20], ou agrégées entre elles [21, 22]). A titre d'exemple, un résiduel de chlore total entre 2,3 et 3,4 mg/L appliqué en continu pendant 14 jours sur un biofilm âgé de deux mois (10^6 cellules/cm²) ne permet d'éliminer qu'un log (90 %) des cellules fixées et la proportion des cellules cultivables fixées n'est pas modifiée [23]. Cette résistance peut s'expliquer par différents facteurs :

- La pénétration limitée du chlore dans le biofilm [14],
- La consommation de l'oxydant par le biofilm lui-même [15],
- La densité cellulaire du biofilm [24, 25],
- La nature du matériau supportant le biofilm [26].

Le chlore peut également perdre de son efficacité en fonction de sa disparition dans le réseau. Celle-ci est influencée par :

- La température et le pH qui détermine la forme du chlore présent dans l'eau [27],
- La concentration initiale du chlore dans l'eau [28],
- Le diamètre de la canalisation [16, 28],
- Le temps de séjours de l'eau dans la canalisation [29].

Les parois des canalisations peuvent elle aussi consommer le chlore, elle varie en fonction de paramètres propres au réseau tels que l'âge de la canalisation et la nature de son matériau [26, 30].

D'un point de vue qualitatif, la chloration peut laisser un goût plus ou moins désagréable dans l'eau désinfectée.

Malgré tout les inconvénients sus-cités, la chloration demeure l'une des techniques de désinfection les plus répandues compte tenu de son faible coût de revient et sa mise en œuvre facile.

Côté mécanisme, le chlore agit sur les microorganismes par diffusion à travers la paroi cellulaire et produit un dysfonctionnement de groupes d'enzymes internes causant l'inactivation de la cellule [31]. D'autres études avancent la possibilité de réaction entre le chlore et les matériaux composant la paroi cellulaire. Ainsi, ces études suggèrent une oxydation par le chlore des groupes terminaux N amines des protéines dans la paroi cellulaire, altérant l'intégrité membranaire et par conséquent la mort cellulaire [32].

Une plus récente étude rapporte une efficacité de désinfection au chlore causant une mortalité cellulaire dépassant les 99,94%, avec un stock bactérien initial de 10^8 cfu/mL et une concentration en chlore égale à 5mg/L [33]. Pourtant, dans cette même étude une photo par microscopie électronique à balayage montre l'état de bactéries post-chlorées. Sur cette photo (Figure 1), les bactéries traitées (b) au chlore apparaissent avec une surface comme rugueuse, contrairement à celle n'ayant reçu aucun traitement (a). Globalement, la surface bactérienne (b) ne semble pas avoir subi de sévères attaques, de même qu'une lyse bactérienne ne semble pas avoir eu lieu. Il semble qu'à faibles doses, le chlore

n'affecte pas l'intégrité membranaire de la cellule, se contentant de l'inactiver mais pas de la détruire [32].

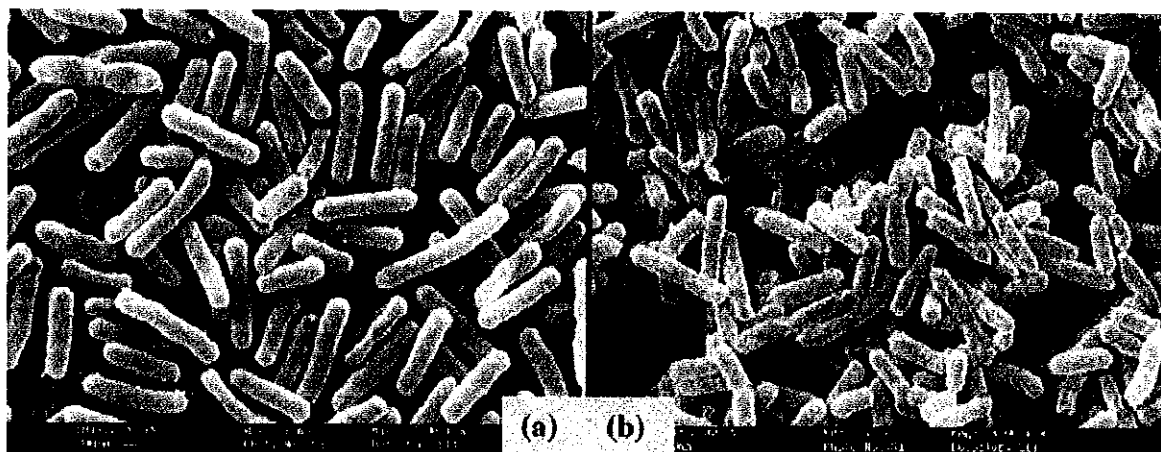
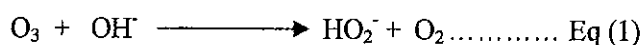


Figure 1. État des bactéries avant (a) et après (b) chloration.

2. Désinfection par ozonisation

L'instabilité de la molécule d'ozone dans l'eau conduit à sa décomposition en donnant l'oxygène, puis d'autres espèces réactives de l'oxygène selon les équations (1) et (2) [34-36], de ce fait, le pouvoir désinfectant de l'ozone est très élevé. Par rapport au processus de chloration, il présente l'avantage de ne pas donner à l'eau désinfectée ces goûts et odeurs caractéristiques du chlore. Néanmoins, des sous-produits apparaissent lors de l'ozonisation, gênant l'emploi de cette molécule dans les opérations de désinfection. Parallèlement à l'amélioration de la désinfection par l'augmentation des doses d'ozone [37], une augmentation de la formation de bromate, composés toxique [38] est notée. De même que la formation de plusieurs composés organiques (aldéhydes, acides carboxyliques et cétones) est rapportée dans les travaux de Richardson et al [39]. Des études ont même relié l'augmentation de la re-croissance bactérienne dans l'eau ozonisée à la formation de composés organiques dans l'eau traitée [40].



Contrairement à la chloration, l'ozonisation s'est révélée très efficace contre les protozoaires [41] ainsi que les autres microorganismes tels qu'*E-coli*. Bien qu'efficace, ce procédé reste moins conventionnel que la chloration à cause de :

- L'important investissement de départ,
- La consommation d'énergie pour la production d'ozone.

D'un point de vue mécanistique, l'ozone agit principalement par oxydation. La désinfection par l'ozone est le résultat direct de la désintégration de la paroi et donc la lyse cellulaire [31]. Les macromolécules relarguées par les cellules peuvent être à leur tour décomposées et oxydées en plus

petites molécules [42]. L'ozonisation d'*E-coli* a été suivie par microscopie électronique à balayage dans les travaux de H.F. Diao et al [33]. Sur les photos réalisées dans cette étude (figure 2), apparaissent des effets plus prononcés que dans le cas de la chloration. En plus de la rugosité de la surface, il y a aussi quelques taches qui apparaissent sur la surface cellulaire ainsi que des précipités d'impuretés sur le filtre. Ces derniers pourraient être des composants cellulaires relâchés par les bactéries pendant l'ozonisation. Compte tenu de la concentration relativement élevée en ozone utilisée dans cette étude (10 mg/L), les composants cellulaires relargués pourraient être oxydés et décomposés en molécules de plus petites tailles leur permettant de passer à travers le filtre, ce qui expliquerait l'absence d'une accumulation de composés cellulaires sur le filtre [33].

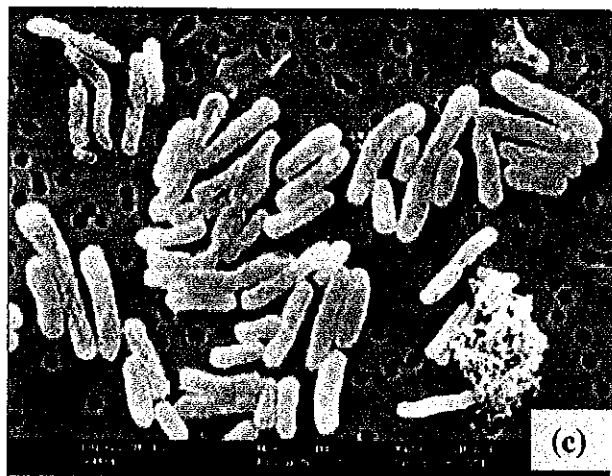


Figure (2) Etat des bactéries après ozonation

3. Désinfection solaire par le procédé SODIS (SOLar DISinfection)

Mis au point en 1991 par l'EAWAG (l'institut fédéral suisse pour l'aménagement, l'épuration et la protection des eaux) et SANDEC (la division Eau et assainissement dans les pays en développement de l'EAWAG) le procédé SODIS pour désinfecter et améliorer la qualité microbiologique de l'eau est l'un des plus simples systèmes de désinfection et est en plus gratuit. L'eau à désinfecter est introduite dans des bouteilles transparentes en plastique ou en verre de volume allant de 0,3 à 2 L, les bouteilles, remplies aux $\frac{3}{4}$ de leur capacité, sont agitées pour augmenter le taux de l'oxygène dissout qui favorise l'inactivation de microorganismes par ce procédé [43].

Une exposition solaire de 3 à 5 heures sous des radiations d'intensité supérieures à 500 W/m² assure une inactivation microbienne adéquate [44]. La désinfection peut néanmoins nécessiter, par temps nuageux (plus de 50% du ciel couvert), des temps d'exposition plus longs. Ainsi Mc Guigan et al rapportent que dans des conditions pareilles, l'inactivation bactérienne par SODIS n'est atteinte qu'au bout de deux jours, ou plus, d'exposition solaire [45].

L'inactivation de microorganismes par le mode SODIS est obtenue à travers la combinaison et la synergie entre plusieurs mécanismes :

- Mécanisme par les UVA solaires : Ces rayonnements, absorbés par l'ADN bactérien, forment des bases de thymine adjacentes donnant des dimères de thymine pouvant prématurément bloquer la réplication de l'ADN [45-48]. De plus, la non réparation de ces dimères est directement responsable de l'apparition de mutations dans le génome bactérien [49],
- Les UVA sont également absorbés par la matière organique dissoute, des réactions photochimiques sont alors induites [50], pour créer des espèces réactives de l'oxygène : le radical superoxyde (O_2°), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et surtout le puissant radical hydroxyle (OH°) [51, 52]. Ces espèces serviront à endommager les microorganismes en oxydant les composants cellulaires.
- L'absorption par l'eau des rayonnements rouges et infrarouges provoque l'augmentation de sa température. Une dénaturation de microorganismes est observée lorsque la température dépasse la valeur maximale permettant une croissance bactérienne. Les températures élevées peuvent gêner voire bloquer les fonctions des protéines [53].

La synergie entre les effets thermique et UV est observée dans une eau dont la température est de 45°C [45].

Le procédé SODIS est susceptible d'être limité par la température ambiante, la topographie et le microclimat ainsi que par la turbidité de l'eau. L'efficacité de SODIS est améliorée pour des températures ambiantes supérieures à 20°C [54]. Des effets topographiques peuvent également affecter négativement ce procédé par la création de microclimats locaux (régions montagneuses par exemple) où les rayonnements solaires et/ou la température seraient insuffisants [55]. Enfin, la pénétration de la lumière dans l'eau à désinfecter peut être gênée par la turbidité de l'eau. Pour un SODIS efficace, celle-ci ne doit pas dépasser les 30 NTU (de l'anglais : nephelometric turbidity units) [56]. A noter l'inefficacité de ce procédé à décontaminer l'eau polluée par des espèces chimiques [57].

4. Désinfection par photocatalyse

C'est en 1985 qu'a été montré pour la première fois l'effet bactéricide de la photocatalyse à base de TiO_2 . Matsunaga et al [58] ont été les premiers à ouvrir une nouvelle voie dans l'application de la photocatalyse réservée jusqu'alors aux seules synthèse et dégradation de composés organiques.

Depuis, plusieurs centaines de publications scientifiques ont été consacrées à l'étude de ce phénomène et aux potentialités de son application dans les opérations de désinfection de l'eau et de l'air.

La désinfection par photocatalyse, qui peut être complémentaire ou alternative aux méthodes conventionnelles a été testée dans différents milieux de l'eau ultra-pure à l'eau brute. L'efficacité de ce procédé est dépendante de plusieurs paramètres : l'intensité lumineuse, l'absorption de la lumière par le milieu, la température de l'eau, la turbidité [59, 60] ainsi que la concentration du

photocatalyseur, mais aussi de l'état physiologique des bactéries (état stationnaire ou exponentiel de la croissance bactérienne) et de leur concentration initiale [60].

Le TiO_2 peut être irradié par des rayonnements UV (250-400 nm) ou solaires, la vitesse d'inactivation des microorganismes est fonction de la composition de la phase cristalline et de la surface spécifique de l'échantillon TiO_2 utilisé.

Les vitesses d'inactivation bactérienne avec différents TiO_2 dépendent du point isoélectrique de chaque échantillon et donc du pH des suspensions irradiées [61]. Les vitesses d'inactivation des microorganismes diminuent aux valeurs de pH inférieurs à 5. Une corrélation entre le point isoélectrique du TiO_2 et la vitesse d'inactivation est établie, indiquant un ralentissement de la vitesse d'inactivation aux faibles valeurs des points isoélectriques.

Dans leur grande majorité, les inactivations bactériennes ont eu lieu en présence de TiO_2 en suspension dans des photoréacteurs en pyrex de petite, moyenne ou grande capacité (10 ml, 40 ml, 1,2 l) [62- 64]. Block et al ont pour leur part inactivé les bactéries directement dans des boîtes de Pétris de 40 ml de capacité [65]. Le TiO_2 a également été utilisé sous forme de film supporté par des tubes de silice de 2 ml de capacité [66], cette dernière méthode étant considérée comme plus pratique pour étudier les mécanismes d'inactivation bactérienne.

L'application de la photocatalyse dans les opérations de désinfection à échelle réelle a fait l'objet de plusieurs recherches [67, 68], ainsi que le traitement par photocatalyse d'une eau de rejet (et non pas une eau ultra pure inoculée par des microorganismes) [60, 69-72], contrairement à une eau ultra pure, l'eau de rejet traitée photocatalytiquement montre une augmentation drastique de la concentration en cellules cultivables, 24 heures après l'arrêt des irradiations [72]. Arana et al [71], quant à eux, ne signalent aucune réactivation bactérienne même après 48 heures de l'arrêt des irradiations solaires en présence de TiO_2 à 2g/L.

Le couplage de la photocatalyse à d'autres techniques telles que l'application d'un champ électrique (photoélectrocatalyse) a amélioré la vitesse d'inactivation des microorganismes [73]. Dans leur étude, Cho et al [74] ont établi une corrélation linéaire entre la vitesse d'inactivation des microorganismes et la concentration en OH° , démontrant ainsi que le radical, hydroxyle est l'espèce réactive de l'oxygène la plus oxydante.

L'abondance des études sur l'application de la photocatalyse dans la désinfection n'est pas retrouvée dans les investigations concernant les mécanismes d'inactivation. Au manque d'informations sur les interactions entre les composants cellulaires et les dérivés chimiques produits par photocatalyse, s'ajoute la complexité des métabolismes et des réactions qui ont lieu dans les organismes vivants. Néanmoins des tentatives pour expliquer le phénomène ont été entreprises par différents groupes de recherche en essayant de déterminer des cibles de la photocatalyse

4.1 Cibles de la photocatalyse

Deux cibles principales sont définies dans pratiquement tous les travaux sur l'inactivation bactérienne par photocatalyse :

- la paroi et les composants extracellulaires,
- les composants intracellulaires (ADN, cytoplasme, acides aminés...).

a- La paroi cellulaire

Il paraît logique que la paroi cellulaire soit l'une des premières cibles des espèces réactives de l'oxygène générées par photocatalyse. En effet, comme décrit dans plusieurs références [75-77], cette région des microorganismes joue le rôle d'une barrière et constitue par conséquent la première défense bactérienne par rapport au milieu extérieur.

Saito et al [75] sont parmi les premiers à évoquer la désorganisation de la membrane externe comme cause principale de la mort cellulaire. Les composants intracellulaires et particulièrement le cation K^+ passeraient à l'extérieur de la bactérie à travers la paroi endommagée. Plus lentement, des composants de plus grand poids moléculaire (ARN et protéines) sortiraient à leur tour à travers la paroi endommagée, résultant en la mort cellulaire.

En 1998, Sunada et al [76] établissent clairement la déstabilisation membranaire des microorganismes comme point de départ de l'inactivation photocatalytique des bactéries. La mesure de la quantité d'une endotoxine (macromolécule polysaccharide constituant la paroi bactérienne externe) relarguée par les microorganismes pendant leur irradiation photocatalytique est corrélée avec la perte de la viabilité des bactéries. Cette endotoxine n'est relarguée qu'au cas où l'intégrité membranaire serait compromise.

Maness et al [78] attribuent la mort cellulaire, également, à une désorganisation générale de la paroi extérieure. Celle-ci, étant le siège de la respiration bactérienne, son altération provoque la diminution de l'activité respiratoire chez les microorganismes entraînant leur mort par asphyxie. La désorganisation de la paroi extérieure passe par la peroxydation des phospholipides, composé principal parmi les constituants de la paroi externe.

L'apparition de l'acide malondialdéhyde (MDA) pendant la photocatalyse d'*E-Coli* est utilisée comme indicateur de la peroxydation des phospholipides. Ainsi, l'augmentation de la quantité de MDA en solution, est reliée à la perte de la cultivabilité bactérienne. Cette première tentative d'explication de l'inactivation bactérienne est controversée par le fait que la peroxydation ne peut avoir lieu que dans les phospholipides polyinsaturés, or ceux d'*E-Coli* sont des phospholipides monoinsaturés [79] et ne peuvent donc être peroxydés [80].

D'autres investigations [81] suggèrent une possible pénétration du TiO_2 à l'intérieur des bactéries suite à une désorganisation et perméabilisation des parois externe et cytoplasmique. L'activité de la β -D-galactosidase qui renseigne sur l'intégrité membranaire et indique des possibles dommages

cytoplasmique est mesurée dans les cellules entières et dans le surnageant en utilisant l'ONPG (*o*-nitrophenol β -Dgalactopyranosideside). Ces chercheurs trouvent une diminution de l'activité de la β -D-galactosidase dans les cellules, qu'ils attribuent à la diminution de sa quantité suite à une altération de la membrane. Par opposition, l'activité de cette enzyme augmente dans le surnageant suggérant que l'enzyme pourrait passer vers l'extérieur à travers une paroi perforée.

En comparant la cultivabilité d'*E-Coli* avec celle des sphéroplastes (*E-coli* sans membrane externe), Sunada et al montrent que la paroi externe est bien le siège des premières attaques des espèces réactives de l'oxygène [77]. L'irradiation des deux souches sur un TiO₂ supporté résulte en une diminution immédiate de la cultivabilité des sphéroplastes alors que la souche *E-Coli* possédant une paroi externe arrive à résister à ces attaques durant 30 min par rapport à la première. La paroi externe se comporte alors comme bouclier avant de céder face aux espèces réactives de l'oxygène. L'endommagement de la paroi externe est enfin confirmé par microscopie électronique où est observée l'altération de la membrane externe. Ces résultats sont obtenus grâce au suivi du relargage de deux composants de la paroi cellulaire lors de l'irradiation d'*E-coli* : les lipopolysacharides et le peptidoglycane.

En étudiant la lyse photocatalytique de *pseudomonas aeruginosa*, Amezaga –Madrid et al [82] signalent, en plus de la désorganisation physico-chimique de la membrane causée par photocatalyse, une division cellulaire anormale qui pourrait contribuer au mécanisme de mort cellulaire.

b- Cibles intracellulaires

Matsunaga et al [58], ont été les premiers à montrer la mort de cellules microbiennes en contact avec le catalyseur TiO₂/Pt illuminé par des rayonnements UVA. Selon ces mêmes auteurs [83] la mort des cellules microbiennes par photocatalyse serait due à l'oxydation du Coenzyme A intracellulaire engendrant sa dimérisation. Cette transformation entraîne une diminution de l'activité respiratoire et par conséquent la mort cellulaire.

La minéralisation de la bactérie a été évoquée par Jacoby et al [84]. La mesure du CO₂ formé en même temps que la disparition d'*E-coli* suggère que le carbone bactérien est oxydé en CO₂

D'une manière générale, très peu de travaux admettent la possibilité de pénétration du TiO₂ à l'intérieur de la bactérie.

Références

- [1] S. D. Richardson, M. J. Plewa, E. D. Wagner, R. Schoeny, D. M. DeMarini. *Rev. Mutat. Res.* (2007),doi:10.1016/j.mrrev.2007.09.001
- [2] P.C.Singer, *J. Environ. Eng. ASCE* 120 (1994), 727.
- [3] WHO. Trihalomethanes in drinking-water: background document for development of who guidelines for drinking-water quality; 2005. WHO/SDE/WSH/05.08/64.
- [4] G-S. Wang, Y-C. Deng, T-F. Lin, *Science of the Total Environment* 387 (2007) 86
- [5] C.E. Lawrance, P.R. Taylor, B.J. Trock, A.A. Reilly, *Nat. Cancer Inst.* 72 (1984) 563.
- [6] Bo Li, Jiuhui Qu, Huijuan Liu, Chengzhi Hu. *Chemosphere* 68 (2007) 2153.
- [7] Bo Li, Ruiping Liu, Huijuan Liu, Junnong Gu, Jiuhui Qu *J. Hazard. Mater.* (2007), doi:10.1016/j.jhazmat.2007.06.090
- [8] I. Sibille, *Année Biol.* 78 (1998) 117
- [9] C. Lu, P. Biswas, R.M. Clark, *Water Res.* 29 (1995) 88 1.
- [10] G.R. Zhang, L. Kiene, O. Wable, U. S. Chan, J. P. Duguet, *Environ. Technol.* 13 (1992) 937.
- [11] B. Legube, F. Xiong, J.P.Croue, M. Dore, *Sci. Eau.* 3 (1990) 399.
- [12] V.L. Heasley, M.E. Anderson, D.S. Conbe, D.S. Elias, J.T. Gardner, M.L. Hernandez, R.J. Moreland, D.F. Shellhamer, *Environ. Toxicol. Chem.* 12 (1993) 1653.
- [13] M.W. LeChevallier, T.M. Evans, R.J. Seidler, *Appl. Environ. Microbiol.* 42 (1981) 159.
- [14] D. De Beer, R. Srinivasan, P.S. Stewart, *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (1994) 4339.
- [15] A. Parent, S. Saby, J. C. Block, D. Gatel, *Proceedings of American Water Works Association WQTC meeting, Boston, 1996.*
- [16] L.A. Rossman, R.M. Clark, W.M. Grayman, *J. Environ. Eng.-ASCE* 120 (1994) 803.
- [17] A.K. Camper, S. C. Broadaway, M. W. LeChevallier, G.A. Mc Feters, *water, J. Amer Water Works Assoc.* (1987) 70.
- [18] A.K. Camper, M.W. LeChevallier, S.C. Broadaway, G.A. Mc Feters, *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (1986) 434.
- [19] D. Berman, E. W. Rice, J. C. Hoff, *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (1988) 507.
- [20] M.W. LeChevallier, T.S. Haussenauer, A.K. Camper, G. A. Mc Feters, *Appl. Environ. Microbiol.* 48 (1984) 918.
- [21] R.M. Clark, J.A. Goodrich, L.J. Wymer, *Aqua* 42 (1993) 30.
- [22] H.F. Ridgway, B.H. Olson, *Appl. Environ. Microbiol.* 44 (1982) 972.
- [23] J.L. Paquin, J.C. Block, K. Haudidier, P. Hartemann, F. Cohn, J. Miazga, Y. Levi, *Sci. Eau* 5 (1992) 399.
- [24] M. L. Brown, J. J. Gauthier, *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (1993) 2320.
- [25] R. Srinivasan, P. S. Stewart, T. Griebe, C. J. Chen, X. M. Xu, *Biotech. Bioeng.* 46 (1995) 553.

- [26] M. W. LeChevallier, C.D Lawry, R.G Lee, J. Amer. Water Works Assoc. 82 (1990) 87.
- [27] F. Nakache, A. Deguin, A. Kerneis, Sci. Eau 4 (1996) 499.
- [28] L. Kiene, W. Lu, Y. Levi, Proceedings of American Water Works Association WQTC meeting, San Antonio, 1993.
- [29] L. Mathieu, J.L. Paquin, J.C. Block, G. Randon, J. Maillard, D. Reasoner, Sci. Eau 5 (1992) 91.
- [30] K. Gotoh, Water Supply 7 (1988) S21-17-S21-18.
- [31] White GC. Handbook of chlorination and alternative disinfectants. 4th ed. New York: Wiley; 1999. p 57.
- [32] A.K. Sharma, C. Venkobachar. India J Environ Health, 21 (1979)16.
- [33] H.F. Diao, X.Y. Li, J.D. Gu, H.C. Shi, Z.M. Xie. Process Biochemistry 39 (2004) 1421.
- [34] J. Staehelin, J. Hoigné. Environ Sci Technol 16 (1982) 676.
- [35] K. Sehested, J. Holcman, E. Bjergbakke, E.J. Hart. J Phys Chem 88 (1984) 269.
- [36] A.J. Elliot, D.R. Mccracken. Radiat Phys Chem 33(1989) 69.
- [37] W.A.M. Hijnen, Th.G.j. Bosklopper, J.A.M.H. Hofman, A.D. Bosch, G.J. Medema, In: Proceedings of the International Ozone Association Congress, September 2001, London.
- [38] E. Orlandini, J.C. Kruithof, J.P. van der Hoek, M.A. Siebel, J.C. Schippers, J. Water Supply: Res. Technol.-Aqua 46 (1997) 20.
- [39] S.D. Richardson, A.D. Thruston Jr, T.V. Caughran, P.H. Chen, T.W. Collette, T.L. Floyd, K.M. Schenck, B.W. Lykins Jr, Environ. Sci. Technol. 33 (1999) 3368.
- [40] M.W. LeChevallier, W.C.Becker, P.Schorr, R.G.Lee, 1992. J. Am. Water Works Assoc. 84 (1992) 136.
- [41] Urs Von Gunten. Water Research 37 (2003) 1469.
- [42] N. Narkis, M. Rotel. Water Res 14 (1980) 929-35.
- [43] S. Gelover, L. A. Gomez, K. Reyes, Ma. T. Leal. WATER RE S. 40 (2006) 3274.
- [44] EAWAG/SANDEC. SODIS News no. 1, August 1997.
- [45] K.G. McGuigan, T.M. Joyce, R.M. Conroy, J.B. Gillespie, A. Elmore-Meegan, J. Appl. Microbiol. 84 (1998) 1138.
- [46] A. Acra, Z. Raffoul, Y. Karahagopian. Paris: UNICEF, 1984.
- [47] A. Acra, M. Jurdi, H. Mu'Allem, Y. Darahagopian, Z. Raffoul Ont., Canada: International Development Research Center, 1990
- [48] R. H. Reed. Waterlines. 15(1997) 295.
- [49] P.H. Raven, G.B. Johnson. Biology, 5th ed. New York: McGraw-Hill, 1999.
- [50] W.L. Miller, In: H. DO, L.J. Tranvik, editors. Aquatic humic substances - ecology and biogeochemistry, Heidelberg: Springer Verlag, 1998. p. 125.
- [51] R.H. Reed. 22nd WEDC Conference, discussion Paper, New Delhi, India. 1996. p. 295.

- [52] W. Stumm, J.J. Morgan. Aquatic chemistry. Chemical equilibria and rates in natural waters, 3rd ed. New York: Wiley, 1995.
- [53] T. Brock, T. Madigan, J. Martinko, J. Parker. Biology of microorganisms. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 2000.
- [54] EAWAG/SANDEC. SODIS Conference Synthesis. <<http://www.sodis.ch/synthesise.html>> (cited 5 November 2000), 1999.
- [55] P. M. Oates, P. Shanahan, M. F. Polz. Water Research 37 (2003) 47.
- [56] EAWAG/SANDEC. SODIS News no. 3. <<http://www.sodis.ch>> (cited 5 November 2000), 1998.
- [57] SANDEC, Department of Water and Sanitation in Developing Countries, EAWAG, The Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology. Solar Water Disinfection. <http://SODIS.ch/> (accessed July 9th, 2003).
- [58] T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima, and H. Wake . FEMS Microbiol. Lett. 29 (1985) 211.
- [59] A.G. Rincon, C. Pulgarin, Appl. Catal. B: Environ. 44 (2003) 263.
- [60] A.G. Rincon, C. Pulgarin, Appl. Catal. B: Environ. 49 (2004) 99.
- [61] D. Gumy, C. Morais, P. Bowen, C. Pulgarin, S. Giraldo, R. Hajdu, J. Kiwi. App. Cat. B: Environ 63 (2006) 76.
- [62] C. Wei, W.Y. Lin, Z. Zainal, N.E. Williams, K. Zhu, A.P. Kruzic, R.L. Smith and K. Rajeshwar. Environ Sci Technol 28 (1994), 934.
- [63] A.G. Rincón, P. Pulgarin, N. Adler and P. Peringer. J. Photochem. Photobiol. A. Chem. 139 (2001), 233.
- [64] R. Dillert, U. Siemon and D. Bahnemann. Chem. Eng. Technol. 21 (1998), 356.
- [65] S.S. Block, V.P. Seng and D.W. Goswami. J. Sol. Energy Eng. 119 (1997) 85.
- [66] P. Amezaga-Madrid, G.V. Nevarez-Moorillon, E. Orrantia-Borunda and M. Miki-Yoshida, FEMS Microbiology Letters 211 (2002), 183.
- [67] A. Vidal, A.I. Diaz, A. El Hraiki, M. Romero, I. Muguruza, F. Senhaji and J. Gonzalez. Catalysis Today 54 (1999) 283.
- [68] A. Vidal and A.I. Diaz. Water Environ. Res. 72 (2000) 271.
- [69] J.A. Herrera, J.M. Dona Rodriguez, A. Viera Suarez, E. Tello Rendon, C. Valdes do Campo, J. Arana and J. Perez Pena, J. Chemosphere 41 (2000) 323.
- [70] R. Dillert, U. Siemon and D. Bahnemann. J. Adv. Oxid. Technol. 4 (1999) 55.
- [71] J. Arana, J. A. Herrera Melian, J.M. Dona Rodriguez, O. Gonzalez Diaz, A. Viera, J. Perez Pena, P.M. Marrero Sosa and V. Espino Jimenez Catalysis Today 76 (2002), 279.
- [72] J. Wist, J. Sanabria, C. Dierolf, W. Torres and C. Pulgarin (2002). J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 147 (3), 241-246.

- [73] P.A. Christensen, T.P. Curtis, T.A. Egerton, S.A.M. Kosa and J.R. Tinlin. *Appl. Catal. B: Environ.* 41 (2003) 371.
- [74] M. Cho, H. Chung, W. Choi and J. Yoon. *Water Research* 38 (2004), 1069.
- [75] T. Saito, T. Iwase, et al. *Journal of Photochem. and Photobiol. B: Biology.* 14 (1992) 369
- [76] K. Sunada, Y. Kikuchi, et al. *Environ. Sci. and Tech.* 32 (1998) 726.
- [77] K. Sunada, T. Watanabe, et al.. *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chemistry* 156 (2003) 227.
- [78] P-C. Maness, S. Smolinski, et al. *Applied and Environmental Microbiology* 65 (1999) 4094.
- [79] F. Gunstone, J. Harwood, et al. *Bacterial lipids. The lipid Handbook:* (1994), 216-222.
- [80] B. H. Bielski, R. L. Arudi, et al. (1983) *J Biol. Chem.* 1985 (258) 4759.
- [81] Z. Huang, P-C Maness, D. M. Blake, E. J. Wolfrum, S. L. Smolinski, W. A. Jacoby, *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chemistry* 130 (2000) 163.
- [82] P. Amezaga-Madrid, R. Silveyra-Morales, L. Cordoba-Fierro, G. V. Nevarez-Moorillon, M. Miki-Yoshida, E. Orrantia-Borunda and F. J. Solis. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 70 (2003), 45-50.
- [83] T. Matsunaga, R. Tomada, Y. Nakajima, N. Nakamura and T. Komine. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (1988) 1330
- [84] W. A. Jacoby, P-C. Maness, E. J. Wolfrum, D. M. Blake and J.A. Fennell. *Environ Sci Technol* 32 (1998) 2650.

Chapitre VI
Procédures
expérimentales

1. Introduction

Dans ce chapitre, nous avons regroupé les différentes procédures expérimentales relatives à l'obtention de :

- l'argile pontée avec le titane,
- Les photosensibilisateurs,
- Ainsi que les inactivations bactériennes par photocatalyse.

2. Purification de l'argile

L'argile utilisée dans ce travail provient du gisement de Hammam Boughrara (Lalla Maghnia) dans l'ouest algérien. Elle se présente sous un aspect blanchâtre et contient plusieurs impuretés tels le quartz, la cristobalite, les carbonates et les matières organiques.

La purification de l'argile se fait en deux étapes :

2.1 La sédimentation

Théoriquement, cette méthode est basée sur la loi de Stokes qui relie la taille des particules à leur vitesse de sédimentation [40].

$$V = \frac{2}{9} \cdot g \cdot r^2 \cdot (\rho - \sigma) / \eta$$

Où :

r : rayon de la particule (cm),

ρ : Masse volumique de la particule (g/cm^3),

σ : Masse volumique de l'eau ($1\text{g}/\text{cm}^3$ à 20°C),

η : Coefficient de viscosité de l'eau (10^{-2} poise à 20°C),

La vitesse de sédimentation s'écrit alors en fonction du diamètre «d» des particules :

$$V = k \cdot d^2$$

Expérimentalement, ce procédé permet d'éliminer le quartz et la cristobalite et de séparer la fraction argileuse à $2\ \mu\text{m}$. Un délitage est effectué pour désagréger l'argile et pour avoir une bonne dispersion des feuillets. Cette suspension est agitée pendant deux heures, puis laissée sédimenter huit heures. Le quart de la suspension contenant la fraction argileuse à $20\ \mu\text{m}$ est récupéré par siphonage et re-sédimenté pour obtenir la fraction argileuse à $2\ \mu\text{m}$.

2.2 Traitements chimiques

a- Attaque à l'acide chlorhydrique

Dans le but de détruire les carbonates, la suspension contenant la fraction argileuse à 2 μm est attaquée pendant deux heures sous forte agitation mécanique par une solution d'acide chlorhydrique 0,05M. Des lavages à l'eau distillée sont effectués pour éliminer le maximum de chlorures.

b- Traitement à l'eau oxygénée

La matière organique contenue dans l'argile est éliminée par l'eau oxygénée. La suspension attaquée avec l'acide chlorhydrique est traitée par H_2O_2 à trente volumes pendant deux heures. La suspension est ensuite lavée avec l'eau distillée à chaud pour éliminer et décomposer l'eau oxygénée résiduelle.

c- Sodation

Une homogénéisation de l'argile est effectuée en la saturant avec le sodium. Ceci se fait par échange avec une solution de chlorure de sodium (NaCl 1M); la réaction dure quatre heures. Le traitement est répété trois fois pour permettre une introduction maximale du Na^+ dans l'argile. Finalement, les chlorures excédentaires sont éliminés en procédant à des lavages à l'eau distillée jusqu'au test négatif par AgNO_3 .

3. Caractérisation physico-chimique de notre argile

Notre argile a été caractérisée par différentes méthodes chimiques et physiques donnant accès à sa composition chimique ainsi qu'à ses propriétés cristallographiques et minéralogiques.

3.1 Analyse par diffraction X

Les spectres RX pour les argiles brute et sodée ont été réalisés par la méthode des poudres. Les diffractogrammes sont enregistrés dans l'intervalle deux θ compris entre 3 et 40° sur un appareil à RX Siemens D8, utilisant la radiation $k\alpha$ du cuivre ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$).

Les spectres de diffraction des rayons X de l'argile pontée avec le titane ont été enregistrés au centre Lonchambon de diffractométrie à l'université Claude Bernard Lyon 1, sur un diffractomètre siemens D8 équipé de l'accessoire «super speed » qui est un détecteur multicanaux haute résolution permettant l'acquisition rapide des diagrammes (parfois en moins d'une minute). Ce diffractomètre est également équipé d'un système permettant de pratiquer des mesures de diffraction aux petits angles entre 0,5° et 2°, appelée aussi diffraction en incidence rasante. Grâce à un «couteau» disposé sur l'échantillon, un faisceau extrêmement fin passe à travers la fente qui lui est offerte pour interagir avec

la matière et empêchant en même temps les interactions de diffusion des rayonnements avec l'air. La radiation monochromatique $K\alpha_1$ utilisée est celle du cuivre et est égale à $1,5406\text{\AA}$. La figure 1 montre le schéma du diffractomètre utilisé dans cette étude.

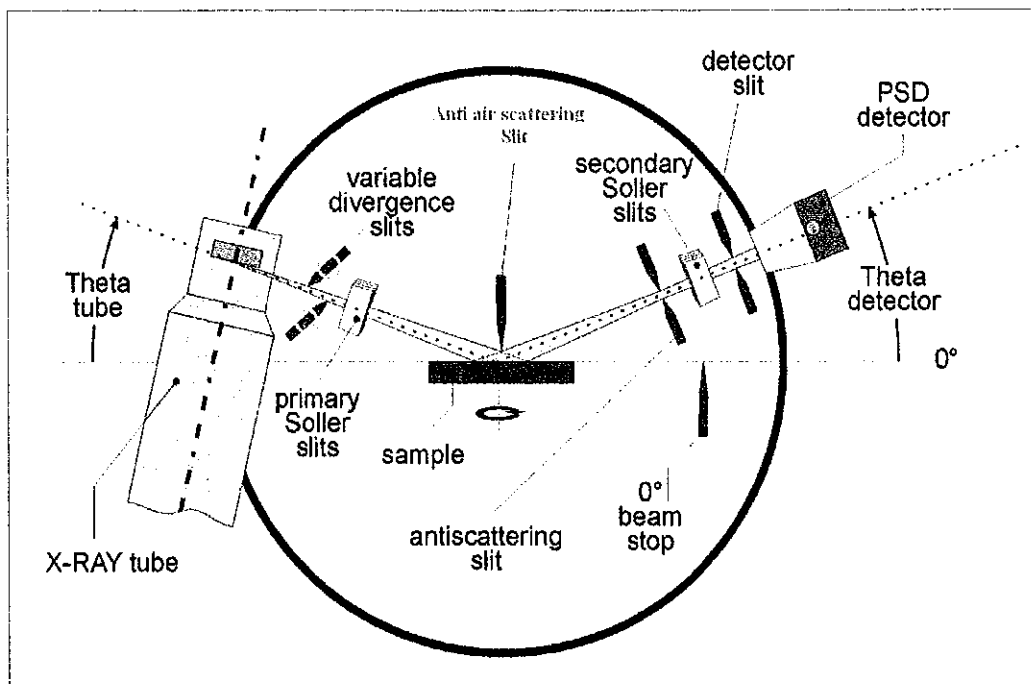


Figure 1. Schéma du diffractomètre utilisé dans cette étude.

Les échantillons sont utilisés sous forme de poudre sur un porte-échantillon en polymère. Les spectres de diffraction sont divisés en deux parties :

- 1- Diffraction entre les angles de $0,5^\circ$ et 4° en incidence rasante,
- 2- Diffraction entre les angles de $4,5^\circ$ et 70° en incidence normale.

3.2 Analyse Infra-rouge

Les spectres IR sont déterminés par la méthode des pastilles KBr sur un appareil à infra-rouge de marque thermo nicolet IR300. Les spectres de nos argiles (sodée et pontée avec le titane) sont enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} , ils sont indexés en s'appuyant sur les données bibliographiques.

3.3 Mesure de la capacité d'échange cationique (CEC)

La valeur de la CEC de notre argile est déterminée par la méthode du bleu de méthylène, elle est déduite à partir du plateau de l'isotherme [1] où l'on a l'adsorption maximum du bleu de méthylène. La surface totale de l'argile est calculée au point de floculation optimum qui correspond à une déviation de 45° par rapport à la droite. En ce point il y aurait un recouvrement de la surface par une couche monomoléculaire de bleu de méthylène.

3.3.1 Mode opératoire

A un volume constant d'une suspension argileuse (1 g/L) sont rajoutées des quantités variables de bleu de méthylène, les mélanges sont maintenus sous agitation normale pendant 1 heure et à température ambiante.

A l'équilibre, les suspensions sont centrifugées et les solutions de bleu de méthylène résiduelles sont dosées par spectrophotométrie dans le visible à 660 nm.

L'isotherme est obtenue en représentant la quantité de bleu de méthylène fixée par l'argile en fonction de celle qui a été rajoutée.

3.4 Surface spécifique

La surface spécifique de notre argile sodée est déterminée à l'aide d'un appareil BET de marque MICROMETRICS modèle 2100 E. Les mesures sont effectuées à 77 °K. L'échantillon (200 – 300 mg) est préalablement dégazé à 250°C pendant 1 nuit sous vide.

La surface spécifique de l'argile pontée avec le titane a été estimée sur un appareil BET Tristar 3000, la masse de l'échantillon introduite dans les cellules est de 0,2759 g, celui-ci est dégazé durant toute une nuit sous vide et à 250°C. Les mesures d'adsorption du N₂ sont effectuées à 77°K.

3.5 Analyse ATD/ATG

Ces analyses ont pour but de déterminer les pertes de poids subies par le matériau en fonction de la température, ainsi que les phénomènes thermodynamiques qui accompagnent ces transformations. Les analyses ont lieu à température croissante entre l'ambiante et 1000°C, avec une pente de 5°C/min.

4. Préparation de l'argile pontée avec le titane

4.1 Préparation de la solution d'intercalation

Les conditions optimales pour l'obtention de la solution d'intercalation : rapport Ti⁴⁺/Cl⁻, température et temps de vieillissement de la solution ont été déterminées dans un précédent travail [2].

La solution d'intercalation est obtenue par la réaction entre le tétra chlorure de titane (TiCl₄) avec une solution d'acide chlorhydrique concentré 5 – 6N, sous une forte agitation afin d'absorber les vapeurs dégagées. La solution obtenue est soumise à une dilution à l'eau bidistillée, jusqu'à l'obtention des paramètres cités dans le tableau 1. La solution de pontage à base de titane est notée (SPTi).

La solution d'intercalation est d'aspect transparent et limpide. Un précipité blanc, apparaît cependant, après trois jours de stockage à température ambiante. Ce précipité apparaît après une semaine à dix jours dans une température ne dépassant pas les 4°C. Cette constatation montre que la solution (SPTi) est instable, donc non conservable et doit être utilisée tout de suite après sa synthèse. Le pH de la solution obtenue est très bas et est de l'ordre de -0,50.

Le précipité blanc est filtré puis analysé par DRX, il s'avère être du TiO₂ cristallisé dans la phase anatase.

Formule du Polycation	Symbole	Rapport molaire	Conc _{finale} [Ti] _f (mol/L)	temps de vieillissement (h)
Non identifiée	HTi	H+/Ti = 0,24	0,82	1 - 3

Tableau 1. Conditions de préparation de la solution de pontage à base de titane.

4.2 Intercalation et pontage de l'argile par le polymère de titane

Afin de mieux écarter les feuillets argileux et faciliter la diffusion du polycation à base de titane, la montmorillonite est dispersée dans un solvant eau/acétone 50/50 en volume. La solution «SPTi» est rajoutée goutte à goutte à la suspension argileuse bien dispersée sous agitation permanente selon les conditions décrites dans le tableau 2. La suspension de couleur légèrement foncée initialement, devient au fur et à mesure de l'ajout de «SPTi» de couleur blanche probablement due à la formation et à la précipitation du dioxyde de titane (TiO₂). A la fin du titrage, la suspension argileuse est laissée en contact du polycation métallique sous agitation magnétique durant quatre heures pour assurer et maximiser l'introduction du polycation dans l'espace interfeuille.

Des lavages successifs à l'eau bidistillée sont effectués pour éliminer l'excès de la solution (SPTi). Le matériau ainsi intercalé est séché à l'air libre, en prenant soin de ne pas le contaminer par les composés volatils locaux.

Solvant	Conc de la susp (% en poids)	Rapp Ti/M-Na (mmol/g)	Temps de maturation (h)
Eau/acétone (50/50) v	3,5	20	3 - 4

Tableau 2. Conditions d'intercalation de l'argile par SPTi

L'argile intercalée est à calcinée à 500°C (1,5°C/min) pendant 18 heures pour déshydroxyler les espèces polymériques à base de titane et les transformer en piliers oxyde donnant à l'argile une

structure rigide. La figure 2 présente l'organigramme montrant les différentes étapes pour obtenir l'argile pontée avec le titane à partir d'un matériau brut.

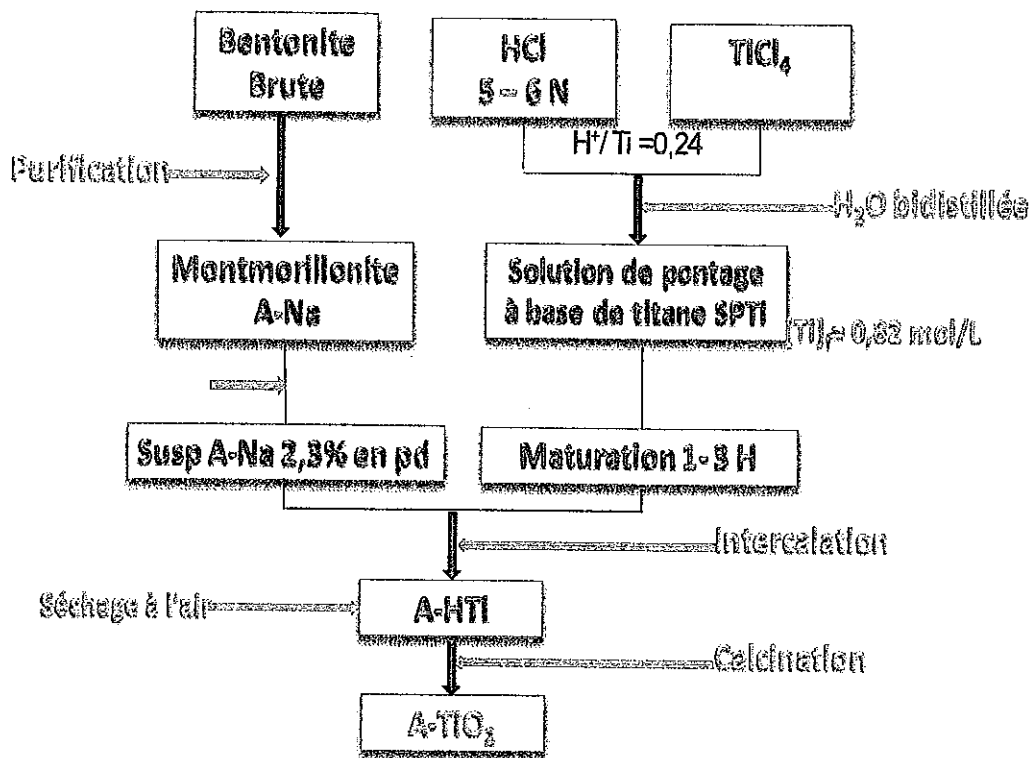


Figure 2. Organigramme des différentes étapes pour obtenir l'argile pontée avec le titane.

5. Synthèse des matériaux photosensibilisateurs

Ces matériaux sont à base de silice et de photosensibilisateurs aromatiques (PSA). Ils sont synthétisés selon le procédé sol-gel. Les PSA sont fixés de différentes manières sur les xérogel de silice. Nous avons également utilisé des matériaux à base de silice commerciale sur lequel des dérivés de PSA sont greffés.

6. Synthèse et caractérisation des matériaux « hôtes » : monolithes à base de xérogels de silice et poudres de silice.

Les matériaux à base de silice sont les supports des molécules organiques photoactives. Leur application potentielle concerne le traitement de l'eau contaminée par des espèces bactériennes. Ces matériaux doivent répondre à des conditions spécifiques :

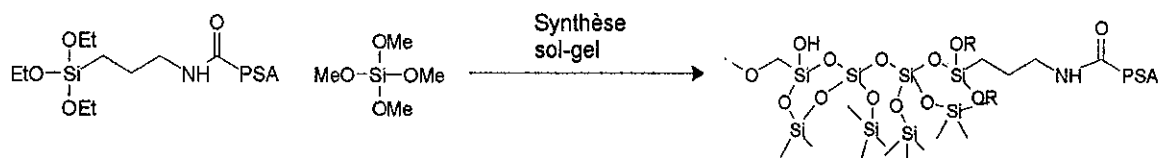
- **Transparence:** essentielle pour que le rayonnement lumineux parvienne jusqu'à la molécule organique ou photosensibilisateur (PSA.),
- **Inertes vis-à-vis des réactions d'oxydation,** en particulier par l'oxygène singulet
- **Enfin, le lien entre la matrice sol-gel et le P.S.A doit être modulable** (adsorption ou greffage de la molécule active).

Le choix d'utiliser des xérogels de silice est motivé par le fait que ceux-ci présentent d'excellentes propriétés adsorbantes. Le développement de sol-gel de silice avec des groupements fonctionnalisés est crucial pour pouvoir lier chimiquement le PSA à la matrice minérale. L'incorporation de groupements fonctionnalisables peut être réalisée soit par post-greffage sur un sol-gel de silice (méthode classique), soit par élaboration d'un sol-gel mixte incluant des fonctions chimiques au niveau de l'alcoxyde polymérisable permettant le greffage des molécules actives. On obtient dans ce cas des ORMOSIL (ORganically MOdified SILicates).

Plusieurs types de matériaux ont été élaborés. La nomenclature et la description des matériaux sont les suivantes :

➤ **SG0-PSA:** monolithe de silice pure **SG0**, élaboré par voie sol-gel, dans lequel est encapsulé le PSA. Dans ce cas, il n'existe aucune liaison covalente entre le PSA et la silice. Les monolithes **SG0** sont synthétisés en utilisant le tétraméthoxysilane (TMOS, Aldrich, $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$) comme précurseur ; en conséquence le solvant commun à l'alcoxyde et à l'eau est le méthanol. Ce protocole a été mis au point afin d'obtenir des matériaux monolithiques, transparents et sans fractures, notés **SG0**. Pour incorporer le PSA, il suffit que le méthanol contienne une quantité connue de photosensibilisateur. Dans ce cas, le PSA est encapsulé (ou inclus) dans le sol-gel de silice durant la formation du xérogel (on a alors un lien faible [adsorption] entre le P.S.A. et la matrice silice) et le matériau obtenu est noté **SG0-PSA**.

➤ **SG2-PSA** : il s'agit d'un matériau « mixte » élaboré en incorporant directement le dérivé du PSA, $\text{PSA-CONH-(CH}_2\text{)}_3\text{-Si(OEt)}_3$, lors de la synthèse sol-gel en mélange avec le tétraméthoxysilane Si(OMe)_4 . La synthèse sol-gel s'effectue dans les mêmes conditions que celle du sol-gel **SG0**. La différence consiste en ce qu'en plus du précurseur classique TMOS, le dérivé triéthoxysilylé du PSA ($\text{PSA-CONH-(CH}_2\text{)}_3\text{-Si(OEt)}_3$) dissout dans le méthanol, participe aussi au procédé sol-gel.



➤ **SiNH₂-PSA** : il s'agit de poudre de silice fonctionnalisée par des groupements (3-aminopropyl) commercialisée par Aldrich, sur laquelle est greffée, dans des conditions classiques, le chlorure d'acide du dérivé PSA-COOH.

➤ **SiO₂-PSA** : il s'agit de poudre de silice sur laquelle est greffée, dans des conditions classiques, le dérivé $\text{PSA-CONH-(CH}_2\text{)}_3\text{-Si(OEt)}_3$

Les différents PSA utilisés sont les suivants :

➤ **Le DCA (9,10-dicyanoanthracène)** : Les composés cyanoaromatiques sont d'excellents accepteurs d'électron dans les réactions de transfert d'électron photoinduites. Le DCA a été utilisé avec succès dans les réactions d'oxydation des éthers benzyliques, d'aryl-alcools para-substitués ou des sulfures en solution [3 (arylalcools), 4 (thiophène), 5 (PPVs), 6 (phénols, huile)] ainsi que pour l'oxydation de sulfures en phase gazeuse où le DCA était simplement adsorbé sur les grains de silice [7, 8]. Un travail antérieur [9] a développé la synthèse par voie sol-gel de matériaux adsorbants dans lesquels le DCA a été encapsulé. A l'interface gaz-solide, ces matériaux ont montré une efficacité supérieure, pour la dégradation de composés organiques à celle de matériaux à base de silice commerciale [10].

➤ **Le DBDCA** : Ce dernier PSA est une molécule originale synthétisée en laboratoire. Il a une structure et des propriétés proches de celles du DCA commercial. Le dépôt du brevet relatif à sa synthèse étant en cours, aucune information de nature confidentielle ne peut donc être divulguée à son sujet.

➤ **Le 4-BB (acide 4-benzoyl benzoïque)** : C'est un PSA commercial dérivé de la benzophénone. Son utilisation en solution dans l'acétonitrile (CH_3CN) pour l'oxydation photosensibilisée des sulfures a montré qu'il était d'une efficacité comparable à celle du DCA [11]. Malheureusement, contrairement au DCA, le 4-BB présente l'inconvénient de ne pas absorber dans le domaine visible. Comme le dioxyde de titane, il est actif sous irradiation à 350 nm.

➤ **Le 9,10-anthraquinone 2-carboxylique acide ou ANT** (Figure 3) a été fonctionnalisé avec du 3-aminopropyletriéthoxysilane, puis greffé sur les grains de silice commerciale. La silice est fournie par ACROS, sa surface spécifique est de $400 \text{ m}^2/\text{g}$ la taille moyenne de ses pores est de 9 nm. Ce matériau est noté: $\text{SiO}_2\text{-ANT}$.

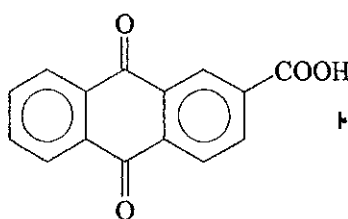


Figure 3. 9,10-anthraquinone 2-carboxylique acide

Dans cette étude, les différents matériaux présentés dans le Tableau 3 sont testés pour inactiver *E. coli*. Leur efficacité sera comparée à celle de TiO_2 . En plus des matériaux à base de xérogels de silice synthétisés en laboratoire, nous avons utilisé :

- une poudre de silice commerciale fonctionnalisée par des groupements 3-aminopropyle sur laquelle un dérivé du PSA comprenant une fonction acide est greffée
- une poudre de silice commerciale sur laquelle le dérivé PSA- $\text{CONH}-(\text{CH}_2)_3\text{-Si}(\text{OEt})_3$ est greffé

Des études comparatives antérieures [9, 11] ont montré l'avantage que possèdent les matériaux de type xérogel par rapport à la silice commerciale, notamment en terme de capacité d'adsorption. Néanmoins, la silice commerciale reste une matrice hôte intéressante du point de vue de son accessibilité et de sa facilité d'utilisation.

Nom	Matériau	Matrice	PSA	[PSA] ($\mu\text{mol/g}$)	Surface Spécifique (m^2/g)
P5	SG0-DCA	SiO ₂ sol/gel Inclusion	DCA	0.2	1170
P1	SG0-DBDCA	SiO ₂ sol/gel Inclusion	DBDCA	0.6	817
P2	SG2-DBDCA	SiO ₂ sol/gel mixte Greffage	DBDCA	10	600
P3	SiNH ₂ - DBDCA	SiNH ₂ commerciale post-greffage	DBDCA	27	450
P4	SG2-4BB	SiO ₂ sol/gel mixte Greffage	4-BB	30	575
P6	SiO ₂ -ANT	SiO ₂ commercial post-greffage	ANT	250	280

Tableau 3. Matériaux testés dans l'inactivation d'*E-coli*

6.1 Caractérisation des matériaux photosensibilisateurs

Les matériaux synthétisés ont été principalement caractérisés par porosimétrie et spectroscopie UV en réflexion diffuse (DRUV). Cette dernière technique permet de détecter le PSA à l'intérieur de la matrice de silice. Dans une première étape, les spectres d'absorption des matériaux hôtes à base de gel de silice sont enregistrés. Ils sont ensuite soustraits des spectres correspondants aux matériaux contenant les PSA.

7 Photocatalyseur et microorganismes

Le dioxyde de titane utilisé est le dégussa P25 (80% anatase et 20% rutile), ses densité et surface spécifique sont respectivement égales à $3,8 \text{ g/cm}^3$ et à $50 \text{ m}^2/\text{g}$. Le diamètre moyen des particules du TiO_2 est compris entre 20 et 30 nm. La largeur de sa bande interdite est égale à 3,2 eV correspondant à des rayonnements de 390 nm. Le TiO_2 est introduit dans les suspensions bactériennes sous forme de poudre à différentes concentrations allant de 0,1 à 2,5 g/L.

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail sont la *E-coli* K-12 MG1655 et la "PHL 1273" qui dérive de la première. PHL1273 a été construite à partir de la souche PHL818 [12] par transformation en y introduisant le plasmide pPHL127. PHL818 acquiert alors une mutation chromosomique omp R234, lui conférant la particularité de surproduire les curlis (type particulier de fimbriae permettant aux bactéries de s'accrocher aux surfaces abiotique). PHL1273 surproduit également la GFP (de l'anglais Green Fluorescent Protein) la rendant mieux visualisable par microscopie epi-fluorescente.

8 Culture bactérienne

PHL1273 ou MG1655 sont inoculées dans le milieu Luria-Bertani — eau [13] à volume égal 1:1, (LB ½) et sont cultivées durant 18 heures à 30°C sous agitation constante et dans des conditions aérobies. La croissance bactérienne est suivie en mesurant la densité optique de la suspension à 600 nm.

Les bactéries sont récupérées en phase stationnaire de la croissance par centrifugation dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml de capacité à 10^3 tours /min pendant 3 min. Le culot bactérien obtenu est suspendu dans 1,5 ml d'eau stérile après l'avoir lavé 2 fois à l'eau stérile pour éliminer les nutriments contenus dans le milieu de culture. Cette dernière suspension constitue le stock bactérien initial. Des dilutions appropriées du stock initial permettent d'obtenir des suspensions bactériennes aux concentrations de 10^5 - 10^6 et 10^7 - 10^8 cfu/mL (de l'anglais : Colony Forming Unit).

8.1 Détermination de la concentration bactérienne

La concentration bactérienne est évaluée par la méthode de l'étalement sur boîte. Les suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau stérile (eau ultra pure autoclavée à 185°C pendant deux heures). En fonction de leur concentration (forte ou faible), les suspensions bactériennes sont diluées au 1/1000, 1/100 ou au 1/10 de manière à obtenir sur la boîte pétri un nombre de colonies comptable compris entre 30 et 300. Les suspensions de faible concentration initiale sont étalées sans dilution.

100 µl de suspension bactérienne, ainsi préparée, sont déposés sur les boîtes pétris contenant un milieu nutritif à base d'agar -LB, la suspension est étalée sur le milieu au moyen de billes stériles, puis incubée pendant 18 heures à 37°C. Les colonies formées sont alors comptées puis ramenées au taux de dilution pratiqué.

Par exemple, pour une boîte contenant 120 colonies obtenus par l'étalement de 100µl d'une suspension bactérienne diluée à 1/1000, la concentration bactérienne est de :

$$C = (120 \times 10^3)/0,1 \text{ mL} \longrightarrow [\text{E-coli}] = 1,2 \cdot 10^6 \text{ cfu/mL.}$$

L'estimation des concentrations bactériennes lors des dégradations photocatalytiques se fait par la méthode su-décrite. A l'aide de pipettes automatiques, des prélèvements de 0,1 à 0,5 mL sont effectués à intervalles réguliers entre 0 et 300 min (selon la durée de l'expérience). L'échantillon prélevé est mis dans un tube Eppendorf qui sera conservé dans un bac rempli de glace afin d'empêcher l'évolution des concentrations bactériennes (*E-coli* étant inerte à 4°C, la concentration de chaque échantillon sera stabilisée grâce à cette technique). Chaque échantillon est homogénéisé par vortex avant d'effectuer les dilutions appropriées et de l'étaler sur le milieu. Chaque point de concentration est répliqué sur trois boîtes afin de calculer une moyenne du nombre de colonies. A noter que cette méthode est invalide pour les boîtes contenant moins de 30 colonies.

8.2 Milieux de culture

En plus du milieu Luria-Bertani liquide (LB) utilisé pour la culture bactérienne, des milieux de culture solide en boîtes pétris sont utilisés pour visualiser les effets de la photolyse, de la photocatalyse et du TiO₂ dans l'obscurité sur les microorganismes. Il s'agit des milieux LB, Mc conkey et X-Gal.

La composition de ces milieux est donnée en détail en annexe 1.

9. Dispositif d'inactivation (lampe et réacteur)

Les expériences d'inactivation bactériennes se déroulent dans un réacteur à poudre en pyrex ayant un volume de 90 mL. Le volume des suspensions bactériennes introduites dans le réacteur est de 20 mL. L'homogénéisation des suspensions eau-bactéries-TiO₂ est obtenue grâce à un agitateur magnétique disposé verticalement et parallèlement par rapport au réacteur figure 6. Après chaque test d'inactivation bactérienne, le réacteur est lavé, stérilisé à l'eau de javel et rincé à l'eau stérile pour éliminer toute trace d'eau de javel. A la fin des manipulations quotidiennes, le réacteur est stérilisé à l'étuve (268°C, 2 heures).

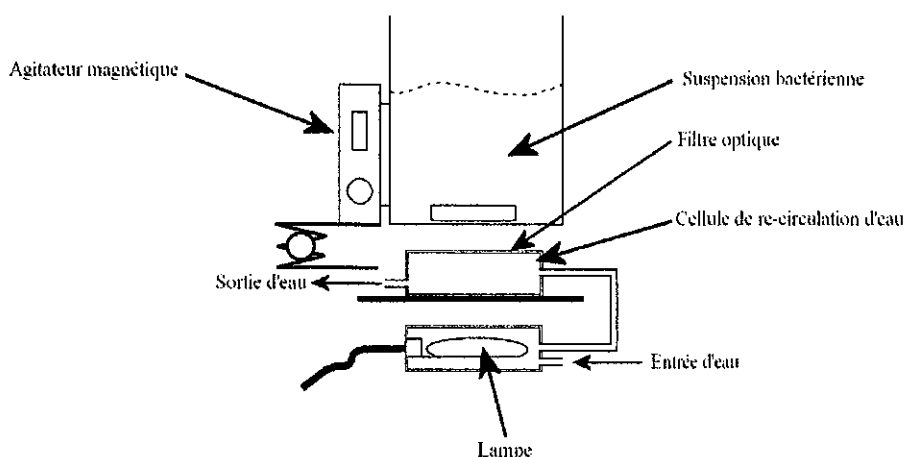


Figure 6. Dispositif d'irradiation

Le réacteur est disposé au-dessus de la lampe à vapeur de mercure HPK 125 W, dont le spectre d'émission est présenté sur la figure 7. Cette lampe a un domaine d'émission s'étendant entre 200 et 400 nm, elle présente une raie d'émission maximale à 365,5 nm.

Des filtres en verre ont été utilisés pour sélectionner les gammes UV souhaitées. Ainsi le filtre corning 0,52 coupe les rayonnements inférieurs à 340 nm, ne laissant passer que la gamme des UV-A.

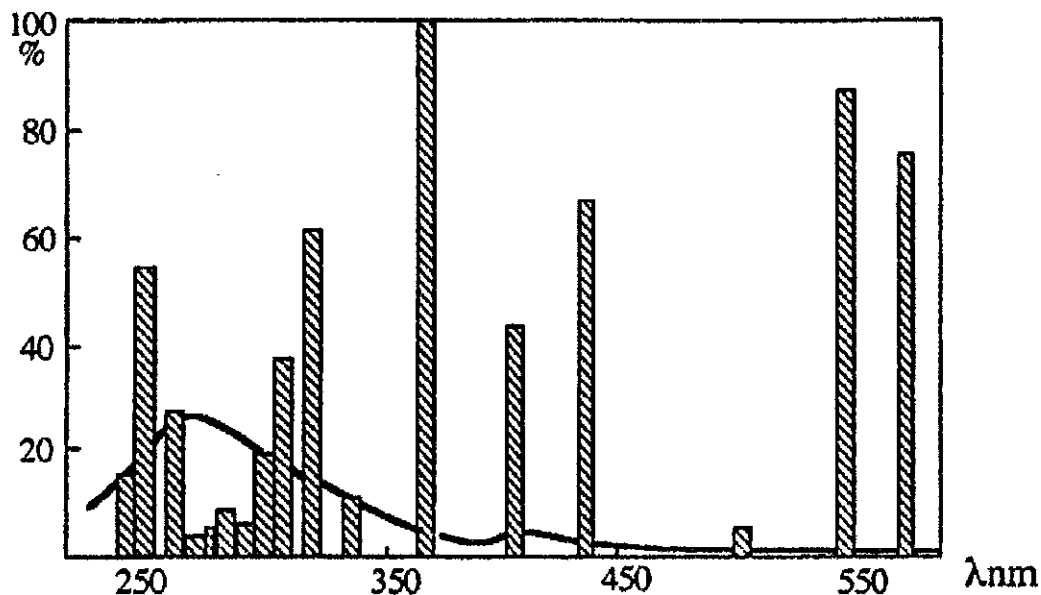


Figure 7. Raies d'émission de la lampe à vapeur de mercure HPK 125 W

Le filtre pyrex coupe les radiations aux longueurs d'ondes inférieures à 290 nm permettant aux radiations UV-A et UV-B de passer, tandis que le filtre quartz permet d'avoir les radiations sur toute la gamme 200 – 400 nm (UV-A, UV-B, UV-C). Les rayonnements visibles sont obtenus grâce au filtre «3387» qui coupe les radiations de longueur d'onde inférieur à 428 nm.

9.1 Mesure des intensités lumineuses

L'intensité lumineuse est mesurée à l'aide d'un radiomètre, le VLX-3W. Il est équipé de trois capteurs mesurant l'intensité de la lampe à : 254 nm, entre 280 et 320 nm et entre 355 et 375 nm. Les capteurs sont disposés, par rapport à la source lumineuse, à la même distance séparant celle-ci du bas du réacteur (surface d'entrée de la lumière dans le réacteur). Dans le cas des UV-A et UV-B le réacteur se trouve à une distance de 3 cm par rapport à la source d'irradiation (figure 3). Dans le cas de l'UV-C, la lampe est placée au dessus du réacteur pour éviter de couper les rayonnements inférieurs à 290 nm par le réacteur qui est en pyrex : figure 8. Dans ce cas, la distance lampe-suspension bactérienne est de 9 cm.

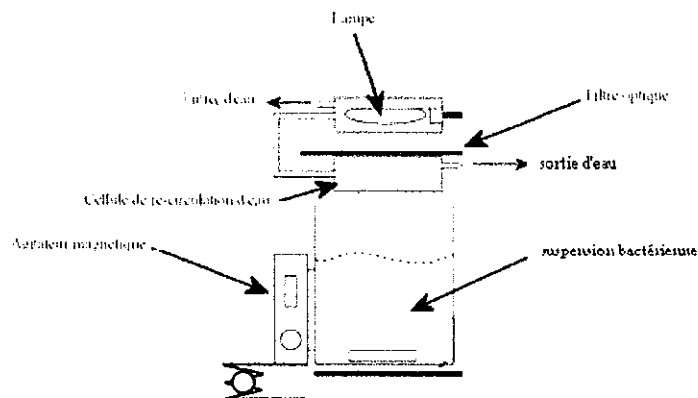


Figure 8. Dispositif d'irradiation dans le cas des UV-C

L'intensité lumineuse est modifiée à l'aide de grilles de différentes tailles de mailles, elles sont posées sur la lampe pour obtenir des intensités de différentes valeurs. Les tableaux suivants présentent les valeurs de l'intensité lumineuse dans les différentes gammes UV, aux différentes distances séparant la source lumineuse de la suspension bactérienne (4) et en utilisant les différentes grilles pour modifier les valeurs des intensités en conservant, pour toutes les grilles, la même distance entre la source lumineuse et la suspension bactérienne (3 cm pour l'UV-A et l'UV-B, 9 cm pour l'UV-C) (5).

UV-A			
Distance lampe-Suspension bactérienne (cm)	1	2	3
Intensité (mW/cm ²)	7	5,2	3,85
UV-B			
Distance lampe-Suspension bactérienne (cm)	1	2	3
Intensité (mW/cm ²)	13,3	10,9	8,5
UV-C			
Distance lampe-Suspension bactérienne (cm)	9		
Intensité (mW/cm ²)	13,2		

Tableau 4. Valeurs des intensités lumineuses dans les trois domaines de l'UV.

UV-A			
Type de grille	A	B	C
Intensité (mW/cm ²)	1,95	1	0,5
UV-B			
Type de grille	A	B	C
Intensité (mW/cm ²)	4,15	2	1
UV-C			
Type de grille	A	B	C
Intensité (mW/cm ²)	6,9	3,6	1,8

Tableau 5. Valeurs des intensités lumineuses avec les différentes grilles aux mêmes distances lampe-suspension bactérienne (3 cm pour l'UV-A et l'UV-B, 9 cm pour l'UV-C).

10. Analyse protéomique

Une analyse protéomique est envisagée pour visualiser l'effet de TiO₂ sur les microorganismes à l'obscurité.

Cette technique repose sur le principe consistant à extraire les protéines qui seraient présentes dans le surnageant et de les concentrer dans un volume de 300 µl. Ces protéines sont ensuite analysées par migration sur un gel de polyacrylamide à 12%.

➤ Mode opératoire

2,5 g/L de TiO₂ sont introduits dans 20 mL de suspension bactérienne de concentration égale à 10⁸-10⁹ cfu/mL le tout est maintenu sous agitation dans l'obscurité pendant 30 min. Un blanc est effectué, ne contenant pas de TiO₂ par rapport à l'échantillon test.

En fin de réaction, la totalité des deux suspensions, (test et blanc) est centrifugée à 8000 tr/min pendant 15 min pour séparer le TiO₂ et récupérer le surnageant. Les protéines sont extraites de ce dernier selon deux méthodes:

➤ La lyophilisation

Les surnageants sont introduits dans des béchers en verre de 100 ml, d'ouverture large préférentiellement (pour faciliter la lyophilisation). Les échantillons sont recouverts avec du tissu gaze. Les béchers sont introduits dans le lyophilisateur où sont réglées les conditions de température et de pression. L'opération dure toute la nuit.

Le liquide lyophilisé, la poudre (invisible à l'œil nu) est re-suspendue dans 300 µl d'eau distillée avant de le faire migrer dans le gel polyacrylamide.

➤ **Extraction protéines par l'acétone**

Les surnageants récupérés de la centrifugation (20mL) sont mélangés à 25 mL d'acétone. Le mélange est maintenu dans le congélateur à -20°C pendant 2h pour faire précipiter les protéines. Le mélange est centrifugé de nouveau à 8000 tr/min pendant 30 min à 4°C, la centrifugation terminée, le surnageant est éliminé, ne laissant qu'une petite quantité au fond du tube (pour ne pas risquer d'éliminer les protéines) qui est laissé ouvert toute la nuit pour faire évaporer l'acétone restant. Au final, il restera une fine pellicule au fond du tube que l'on re-suspend dans 300µl avant le dépôt sur gels de polyacrylamide.

➤ **Gels de polyacrylamide**

Les gels de polyacrylamide sont constitués de deux compartiments : un gel de concentration et un gel de migration. Les puits, dans le gel de concentration, peuvent contenir un maximum de 25µl de solution contenant les protéines à migrer. Une fois l'échantillon et le marqueur déposés, un courant électrique de 60mV au départ (phase de concentration) puis 100 à 120 mV par la suite (phase de migration) est appliqué.

Le gel obtenu est coloré au bleu de comassie (30 min), décoloré à l'aide de la solution de décoloration (15 min) puis traité avec de l'acide acétique (20%) pour fixer la coloration.

Références

- [1] P. T. Hang, and G. W. Brindley, *Clays & Clay Minerals* 18 (1970) 203-212.
- [2] L. Khalfallah Boudali, A. Ghorbel, D. Tichit, B. Chiche, R. Dutartre and F. Figueras *Microp. Mat.*, 6(1994)537-541
- [3] I. N. Lykakis, S. Lestakis, M. Orfanopoulos, *Tetrahedron Letters* 44 (2003) 6247-6251.
- [4] K. Song, M.-L. Peng, M. Xu, L.-Z. Wu, L.-P. Zhang, C.-H. Tung, *Tetrahedron Letters* 43 (2002) 6633-6636.219
- [5] L. Ma, X. Wang, B. Wang, J. Chen, J. Wang, K. Huang, B. Zhang, Y. Cao, Z. Han, S. qian, S. Yao, *Chemical Physics* 285 (2002) 85-94
- [6] F. Cermola, M. DellaGreca, M. R. Iesce, S. Montella, A. Pollio, F. Ternussi, *Chemosphere* 55 (2004) 1035-1041.
- [7] S. Lacombe, H. Cardy, M. Simon, O. Etchebers, *Info Chimie Magazine* 422 (2000) 110-113.
- [8] S. Lacombe, H. Cardy, J. Ph. Soumillion, N. Soggiu, M. Simon, *Entropie* 228 (2000) 31-35.
- [9] V. Latour-Caturla, *Elaboration, caractérisation et mise en oeuvre pour la décontamination d'effluents gazeux, de matériaux photocatalytiques originaux à base de photosensibilisateurs supportés*, Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour (2004).
- [10] V. Latour, T. Pigot, P. Mocho, S. Blanc, S. Lacombe, *Catal. Today* 101 (2005) 359-367.
- [11] V. Latour, T. Pigot, H. Cardy, M. Simon, S. Lacombe, *Photochem. Photobiol. Sci.* 4 (2005) 221.
- [12] C. Prigent-Combaret, E. Brombacher, O. Vidal, A. Ambert, P. Lejeune, P. Landini, C. Dorel, *J. Bacteriol.* 183 (2001) 7213.
- [13] J.H. Miller, *Spring Harbour Laboratory, Cold Spring Harbor N.Y.* (1972) 352.

Chapitre VII

Résultats et discussion



Introduction

Dans ce chapitre, nous discuterons l'ensemble des résultats obtenus. Ce chapitre est partagé en deux parties : la première, où nous présenterons les résultats relatifs aux matériaux synthétisés (argile pontée avec le titane et les photosensibilisateurs), la deuxième sera consacrée aux inactivations bactériennes par les différents catalyseurs.

1. Purification et modification de l'argile par pontage avec le titane

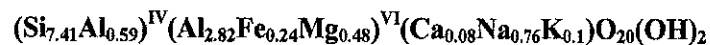
1.1 Composition chimique

La composition chimique de notre argile brute a été déterminée dans un précédent travail [1]. Les teneurs des éléments contenus dans notre argile sont présentées dans le tableau 1

élément	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	PF
% poids	59,4	23,13	2,49	0,59	2,6	3,17	0,64	8,02

Tableau 1. Composition chimique de l'argile utilisée.

La formule structurale moyenne de cette argile déduite de la composition chimique est donc :



1.2 Analyse par diffraction X

Les spectres RX des différentes argiles sont indexés en utilisant la loi de Bragg : $\lambda = 2d \sin \theta$. Les valeurs des distances réticulaires sont comparées avec celles du fichier ASTM ce qui permet d'identifier les différentes phases présentes dans nos différents échantillons.

1.2.1 Analyse des argiles brute et sodée

Les spectres de diffraction X relatifs aux argiles brute et sodée sont présentés dans les figures 1 et 2 respectivement, le tableau 2 rassemble les valeurs de (*d*) pour ces matériaux. Le minéral étudié se présente sous la forme d'un mélange de montmorillonite et d'illite. A l'état brut, des impuretés, essentiellement du quartz, de la calcite et de la cristobalite sont contenues dans l'échantillon. Celle-ci sont éliminées en grande partie lors de l'étape de la purification, ceci est confirmé par le spectre de l'argile purifiée et sodée où l'on a disparition de certaines raies et la diminution de l'intensité de certaines autres.

Argile brute			Argile sodée		
2θ (°)	d (Å)	Phase	2θ (°)	d (Å)	phase
6.00	14,71	M-morillonite (001)	6,00	14,71	M-morillonite (001)
12.55	7,04	M-morillonite(002)	12,30	7,18	M-morillonite (002)
19.88	4,46	M-morillonite(110)	19,92	4,45	M-morillonite (110)
21.00	4,22	Quartz	24,92	3,56	Illite (003)
24.77	3,59	Illite (003)	35,14	2,54	M-morillonite(200)
26.66	3,33	Quartz	45,1	2,00	Illite
29.55	3,01	Calcite	54,27	1,68	M-morillonite (009)
35.17	2,54	M-morillonite(200)			
42.44	2,12	Cristobalite			
55.00	1,66	M-morillonite (009)			

Tableau 2. Valeurs de d pour les argiles brute et sodée.

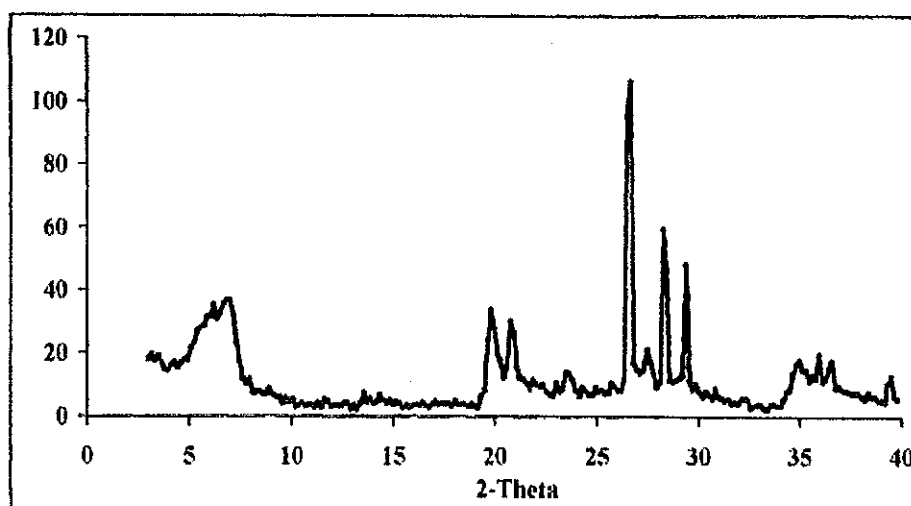


Figure 1. Spectre RX de l'argile brute

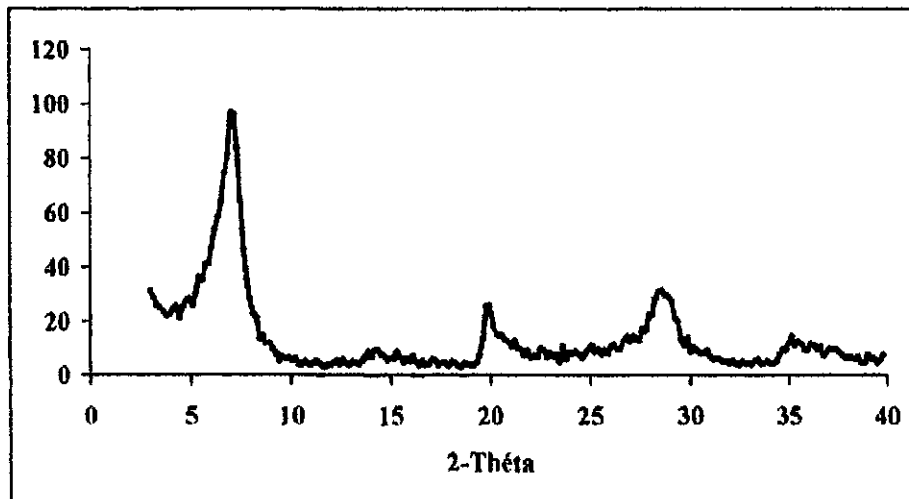


Figure 2. Spectre de l'argile sodée

1.2.2 Analyse de l'argile modifiée par pontage avec le titane

Les figures 3 et 4 représentent les spectres de diffraction du matériau ponté avec le titane en incidence normale et rasante respectivement.

Le spectre de diffraction en incidence normale montre une amorphisation importante du réseau argileux, seule la raie relative au plan (110), où d est égale à $4,3876 \text{ \AA}$ est attribuée à la montmorillonite. Le reste des raies est attribué à la phase anatase du TiO_2 , particulièrement la raie se situant à $2\theta = 25,30^\circ$. En incidence rasante, le spectre obtenu montre un déplacement très important de la raie (d_{001}) vers les angles de très faibles valeurs ($0,7618^\circ$), traduisant un écartement de feuillets qui dépasse les 115 \AA . Ce pic de diffraction est attribué à une pseudo argile-pontée, puisque ni l'anatase, ni la montmorillonite d'origine ne présente un tel phénomène à ces petits angles.

Ces résultats montrent que le pontage de l'argile avec le titane reste difficilement maîtrisable. La solution d'intercalation étant de nature très acide ($\text{pH} < 0$) on s'attend à une attaque massive de la structure argileuse. Au final, on obtiendrait un minéral argileux de structure sérieusement altérée sur lequel est dispersé du TiO_2 cristallisé dans la phase anatase. Il est à supposer que seulement une petite fraction de la masse totale de la montmorillonite résiste aux attaques acides de la solution d'intercalation et subit alors un pontage avec succès.

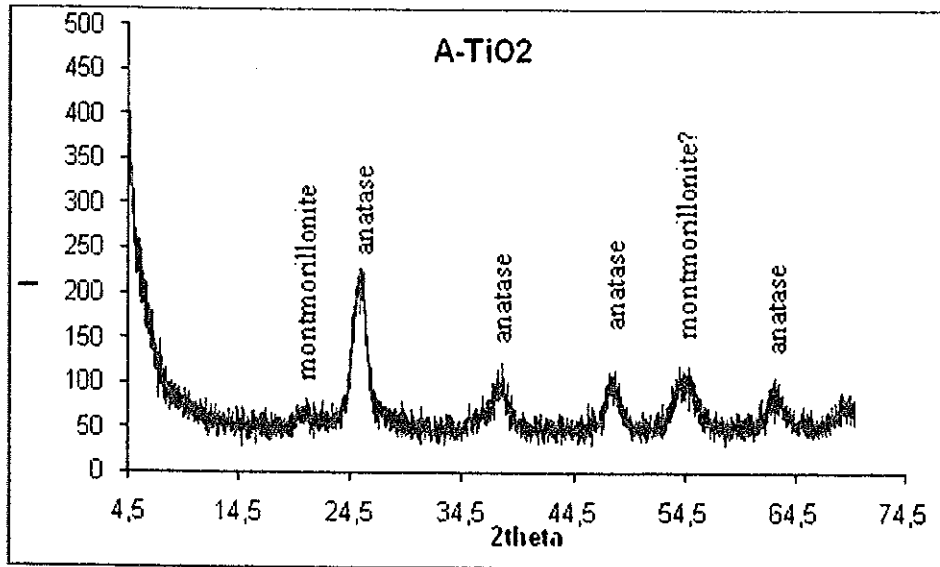


Figure 3. Spectre de l'argile pontée avec le titane dans le domaine $5^\circ - 70^\circ$.

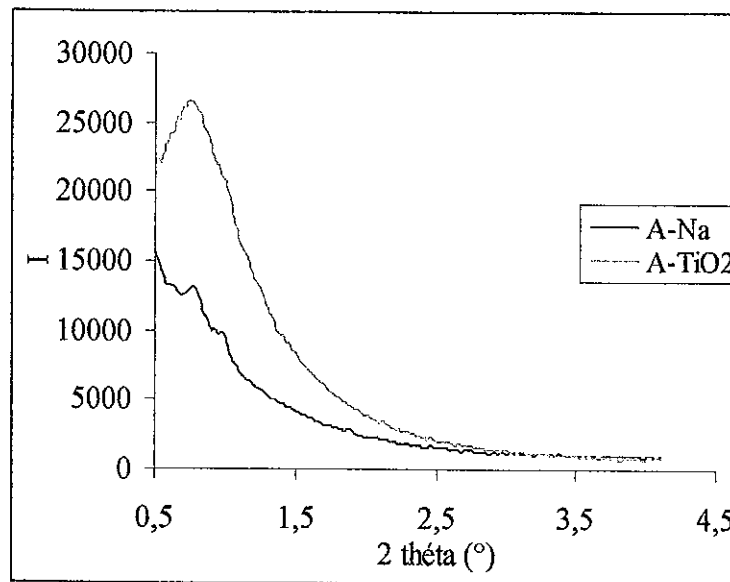


Figure 4. Spectre de l'argile pontée avec le titane dans le domaine $0,5^\circ - 10^\circ$.

Le tableau 3 compare les distances (001) d'argiles pontées avec le titane dans différents travaux.

d_{001} (Å)	16,2	16 - 17	23	25	37,8-39,8	48
Auteurs	Belkhadem et al [2]	Bouras et al. [3]	Binitha et al. [4]	L. Khalfallah-Boudali [5]	Kun et al [6]	Ooka et al [7]
d_{001} (Å)	56	65	115			
Auteurs	Ooka et al [8]	Ooka et al [9]	Présent travail			

Tableau 3. Comparaison entre les d_{001} obtenus dans différents travaux.

Par ailleurs, d'autres facteurs peuvent se révéler déterminant dans la synthèse d'argile pontée avec le titane comme par exemple la taille de ce polycation. En effet, la structure du polycation à base de titane n'étant pas encore bien établie, il est supposé la coexistence de plusieurs complexes de titane à différents degrés de polymérisation. Si les moins volumineux arrivent à diffuser suffisamment loin entre les feuillets argileux, les complexes volumineux s'arrêteraient, eux, aux bords des feuillets n'écartant que ces régions du matériau. La valeur de d_{001} trouvée pour notre argile dans ce travail est comparable à celle trouvée pour les matériaux mésoporeux

1.3 Analyse Infra-rouge

1.3.1 Analyse de l'argile sodée

Le spectre IR de notre argile est représenté dans la figure 5, il est indexé en s'appuyant sur les données bibliographiques.

La bande entre 3250 et 3700 cm^{-1} est attribuée aux vibrations des groupements hydroxyles de structure liés à deux aluminiums, selon certains auteurs, l'épaule à 3630 cm^{-1} est spécifique aux montmorillonites [1].

Une fine et intense bande apparaît au milieu du spectre à 1640 cm^{-1} , elle est attribuée aux vibrations de l'eau interfoliaire hydratant les cations compensateurs.

Pour les montmorillonites, la région de vibration des groupements SiO est aux alentours de 1100 cm^{-1} . Dans notre spectre, cette bande s'étale entre 1130 et 990 cm^{-1} et est centrée sur la fréquence 1040 cm^{-1} , cet effet est attribué à la présence de cations trivalents en site tétraédrique substituant le silicium d'une part et de cations ferriques en position octaédrique [10].

Les bandes relatives à la déformation des groupements $M^{VI}(\text{OH})$ se situent entre 950 et 600 cm^{-1} , la position de cette bande est influencée par la nature du métal en position octaédrique. Par conséquent, la bande de déformation des liaisons du groupement Al-Al-OH se manifeste entre 915 et 950 cm^{-1} , celle des liaisons du groupement Mg-Al-OH à 840 cm^{-1} et celle des liaisons du groupement Mg- Fe^{3+} -OH à 800 cm^{-1} . Sur le spectre relatif à notre matériau, une bande apparaît à 898 cm^{-1} , elle est attribuée à la déformation des liaisons du groupement Fe^{3+} -Al-OH.

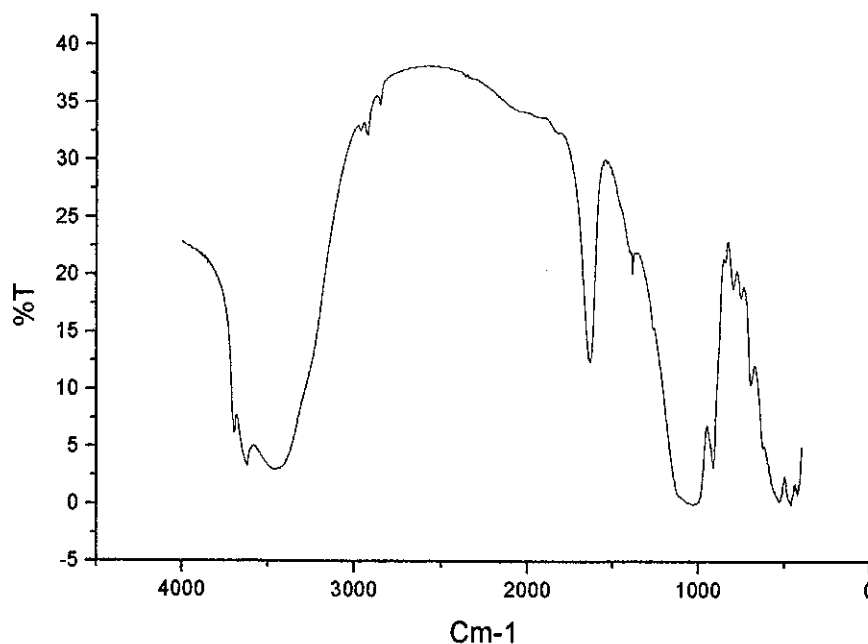


Figure 5. Spectre IR de l'argile brute.

1.3.2 Analyse de l'argile pontée avec le titane

Le spectre IR de la montmorillonite pontée avec le titane est présenté sur la figure 6. Il présente une 1^{ère} bande large s'étendant entre 3200 et 3800 cm^{-1} centrée à 3400 cm^{-1} . Cette bande est attribuée aux «stretchings» des groupements hydroxyles (OH) appartenant à la couche octaédrique et aux molécules d'eau adsorbées. Il est à noter l'absence de l'épaule caractéristique des montmorillonites, devant apparaître vers la fréquence 3635 cm^{-1} , cette absence est probablement due à la forte altération du matériau durant les étapes de pontage.

La bande se situant entre les fréquences 1580 et 1700 cm^{-1} centrée à 1636 cm^{-1} correspond aux vibrations de déformation des liaisons (OH) dans les molécules d'eau adsorbées dans l'espace interfeuillet.

La bande relative aux vibrations des groupements (SiO) devrait se situer vers 1100 cm^{-1} , celle-ci est déplacée vers la fréquence 1058 cm^{-1} probablement par la présence de cations trivalents substituant le silicium en site tétraédrique.

Les bandes situées dans les basses fréquences sont de très faibles intensités, voire nulle. Cet abaissement pourrait être dû à la destruction du réseau argileux et la rupture des liaisons lors du pontage, par conséquent les vibrations deviennent de faible intensité.

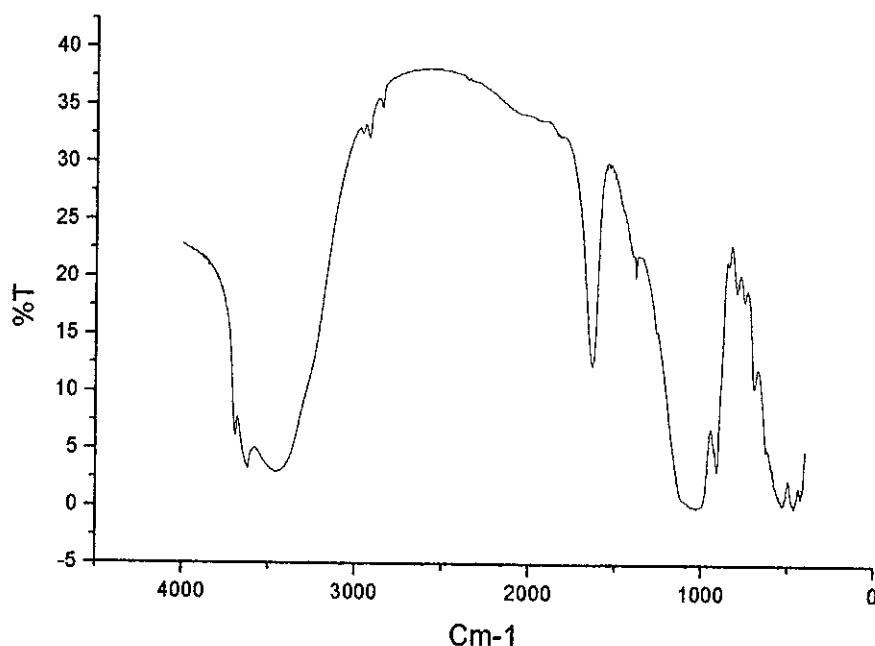


Figure 5. Spectre IR de l'argile brute.

1.3.2 Analyse de l'argile pontée avec le titane

Le spectre IR de la montmorillonite pontée avec le titane est présenté sur la figure 6. Il présente une 1^{ère} bande large s'étendant entre 3200 et 3800 cm^{-1} centrée à 3400 cm^{-1} . Cette bande est attribuée aux «stretchings» des groupements hydroxyyles (OH) appartenant à la couche octaédrique et aux molécules d'eau adsorbées. Il est à noter l'absence de l'épaule caractéristique des montmorillonites, devant apparaître vers la fréquence 3635 cm^{-1} , cette absence est probablement due à la forte altération du matériau durant les étapes de pontage.

La bande se situant entre les fréquences 1580 et 1700 cm^{-1} centrée à 1636 cm^{-1} correspond aux vibrations de déformation des liaisons (OH) dans les molécules d'eau adsorbées dans l'espace interfeuillet.

La bande relative aux vibrations des groupements (SiO) devrait se situer vers 1100 cm^{-1} , celle-ci est déplacée vers la fréquence 1058 cm^{-1} probablement par la présence de cations trivalents substituant le silicium en site tétraédrique.

Les bandes situées dans les basses fréquences sont de très faibles intensités, voire nulle. Cet abaissement pourrait être dû à la destruction du réseau argileux et la rupture des liaisons lors du pontage, par conséquent les vibrations deviennent de faible intensité.

L'absence de bandes caractéristiques des montmorillonites telles que les vibrations de déformation des groupements : Mg-OH-Mg ($795 - 802 \text{ cm}^{-1}$), Al-OH-Mg (840 cm^{-1}), Al-O-Al (633 cm^{-1}), (Fe^{3+} -Al-OH) laisse penser que la couche octaédrique a subi une importante destruction lors du pontage de l'argile

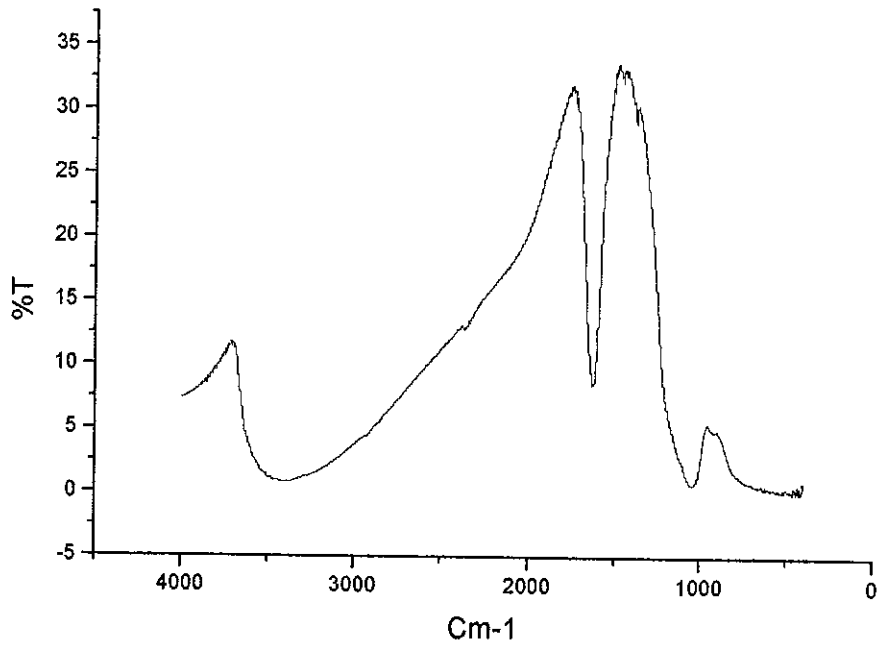


Figure 6. Spectre IR de l'argile A-TiO₂

1.4 Mesure de la capacité d'échange cationique (CEC)

L'isotherme d'adsorption du bleu de méthylène sur notre argile sodée est représentée sur la figure 7.

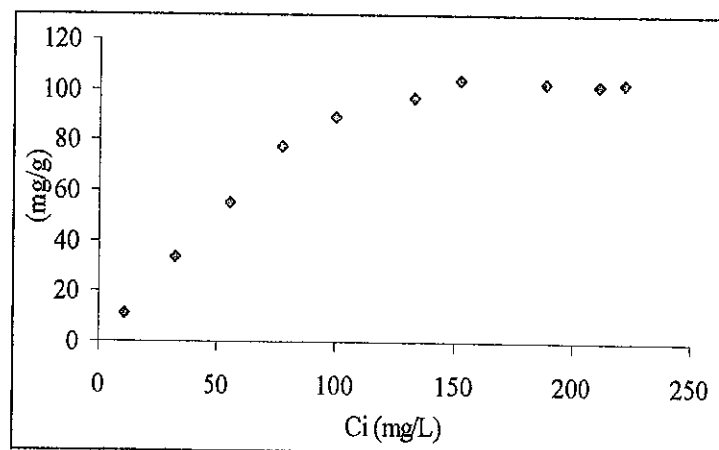


Figure 7. Isotherme d'adsorption du bleu de méthylène sur argile sodée.

La valeur de la CEC de notre minéral est déduite à partir du plateau de l'isotherme, elle est égale à 102 meq/100 g d'argile.

Connaissant le nombre de molécules de bleu de méthylène adsorbées et l'aire occupée par chacune de ces molécule (130 Å²/ molécule), nous accédons à la surface totale du matériau à partir du point de floculation optimum (point de changement de pente à 45°) représentant la quantité de bleu de méthylène nécessaire pour la formation d'une monocouche.

La surface totale est calculée par la formule : $S_{\text{totale}} = q \cdot \sigma \cdot N$

Où :

q : quantité de bleu de méthylène fixée par 100 g d'argile,

σ : Surface occupée par une molécule de bleu de méthylène en Å²,

N : Nombre d'avogadro.

Le point de floculation optimum se trouve à 84 meq/ 100 g d'argile. La surface totale de l'argile est donc :

$$S_{\text{totale}} = 657,38 \text{ m}^2/\text{g}$$

1.5 Surface spécifique

La surface spécifique de notre échantillon d'argile sodée est de 130,11 m²/g, celle de la montmorillonite pontée avec le titane est de 236,16±2,49 m²/g. Parallèlement à la destruction du réseau argileux, nous remarquons le pontage de la montmorillonite avec le titane a permis de doubler la surface spécifique initiale du matériau.

1.6 Tracé ATG

Les tracés ATD/ATG sont représentés dans la figure 8.

Dans le domaine de 20 – 200°C : une perte de poids de l'ordre de 21% par rapport au poids initial est observée, elle est attribuée au départ de l'eau interfoliaire,

Dans le domaine 200 - 500°C : une perte de poids de 27% par rapport au poids initial attribuée au départ des premiers hydroxyles,

Dans le domaine 500 - 680°C : une nouvelle perte de poids de 29% par rapport au poids initial est signalée, elle correspond à une déshydroxylation accentuée

1.7 Tracé ATD

Dans le domaine 20 - 200°C : le départ de l'eau interfoliaire est traduit par un pic endothermique,

Entre 200 et 500°C : un pic endothermique centré à 480°C confirme le phénomène observé par ATG à savoir, le départ des premiers hydroxydes,

Entre 500 et 680°C : La déshydroxylation accentuée est confirmée par un pic endothermique se manifestant à 650°C,

Enfin, à 900°C, un pic exothermique traduisant la transformation de toutes les espèces en oxydes est observé. Cette transformation étant exclusivement énergétique (n'implique pas de transfert de masse), elle n'est pas signalée par le tracé ATG.

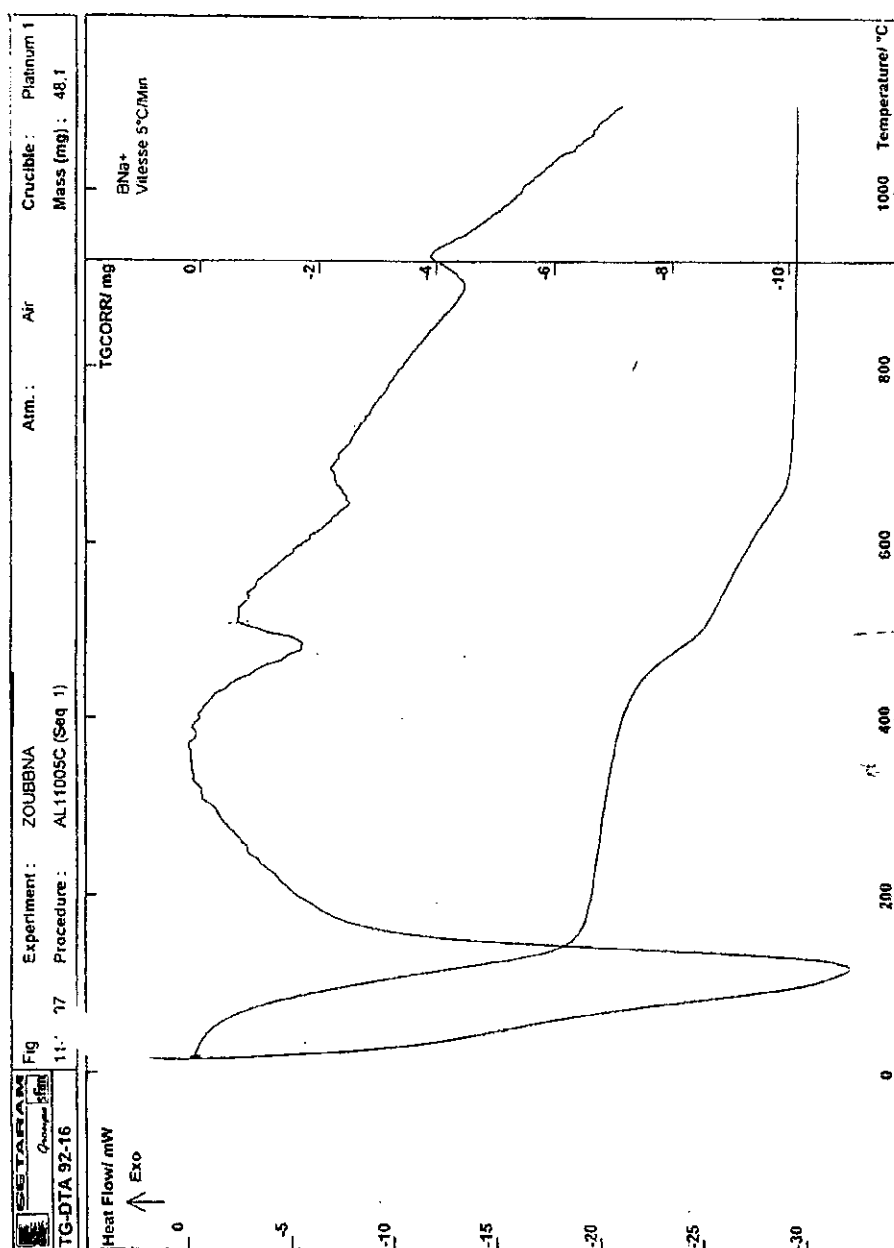


Figure 8. Courbes ATD/ATG de l'A-Na

2. Caractérisation des photosensibilisateurs synthétisés

Les différents matériaux synthétisés sont présentés dans le Tableau 4, ils seront testés pour inactiver *E-coli*. Leur efficacité sera comparée à celle de TiO₂. En plus des matériaux à base de xérogels de silice synthétisés en laboratoire, nous avons utilisé

- une poudre de silice commerciale fonctionnalisée par des groupements 3-aminopropyle sur laquelle un dérivé du PSA comprenant une fonction acide est greffée
- une poudre de silice commerciale sur laquelle le dérivé PSA-CONH-(CH₂)₃-Si(OEt)₃ est greffé

Des études comparatives antérieures [31, 33] ont montré l'avantage que possèdent les matériaux de type xérogel par rapport à la silice commerciale, notamment en terme de capacité d'adsorption. Néanmoins, la silice commerciale reste une matrice hôte intéressante du point de vue de son accessibilité et de sa facilité d'utilisation.

Nom	Matériau	Matrice	PSA	[PSA] ($\mu\text{mol/g}$)	Surface Spécifique (m^2/g)
P5	SG0-DCA	SiO ₂ sol/gel Inclusion	DCA	0,2	1170
P1	SG0-DBDCA	SiO ₂ sol/gel Inclusion	DBDCA	0,6	817
P2	SG2-DBDCA	SiO ₂ sol/gel mixte Greffage	DBDCA	10	600
P3	SiNH ₂ - DBDCA	SiNH ₂ commerciale post-greffage	DBDCA	27	450
P4	SG2-4BB	SiO ₂ sol/gel mixte Greffage	4-BB	30	575
P6	SiO ₂ -ANT	SiO ₂ commercial post-greffage	ANT	250	280

Tableau 4. Matériaux testés dans l'inactivation d'*E-coli*

D'après le tableau 2, pour le matériau SG0-DCA, la concentration en DCA dans le matériau est estimée par spectroscopie UV de l'ordre de $2,1 \cdot 10^{-7}$ mol/g. La surface spécifique est déterminée par le modèle de BET à partir de l'adsorption-désorption du N₂. Elle est de 1170 m²/g. Cette valeur très élevée, comparable à la surface spécifique d'un charbon actif, confirme le potentiel d'adsorption élevé de ce matériau. La surface du matériau SG0-DCA est microporeuse à 81%, le taux des mésopores

étant de 21% seulement, avec un diamètre centré sur la valeur de 9 nm.

Le spectre DRUV de SG0-DCA (Figure 9) est caractéristique du DCA, avec trois bandes d'absorption dans l'intervalle 376 - 422 nm. Le DCA absorbe bien dans les longueurs supérieures à 400 nm, il peut, par conséquent être activé par un rayonnement visible.

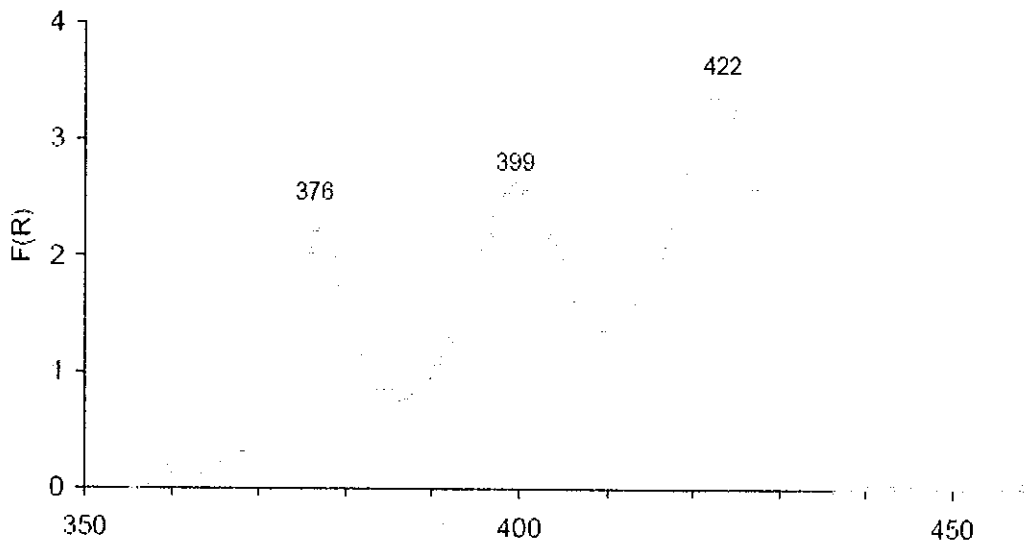


Figure 9: Spectre DRUV du matériau SG0-DCA.

En ce qui concerne les matériaux à base de DBDCA, le PSA a été incorporée dans le sol-gel de silice de trois façons différentes:

- Inclusion de la molécule dans le xérogel SG0 : SG0-DBDCA
- Préparation d'un xérogel mixte : SG2-DBDCA.
- Greffage du chlorure d'acide dérivé de DBDCA-COOH sur une silice commerciale fonctionnalisée par des groupements (3-aminopropyle) : SiNH₂-DBDCA

Les détails concernant les caractéristiques de la molécule et son mode d'incorporation dans les matrices minérales sont confidentiels et ne peuvent être présentés à l'heure actuelle, ces nouveaux matériaux devant faire l'objet d'un brevet. On peut simplement constater ici que la concentration en DBDCA varie de 0,6 à 27 $\mu\text{mol/g}$ et que la surface spécifique des matériaux est globalement plus faible pour SG2-DBDCA et SiNH₂-DBDCA que pour SG0-DBDCA.

La concentration en 4-BB dans le matériau SG2-4BB est estimée par spectroscopie UV de l'ordre de $2,6 \cdot 10^{-5}$ mol/g. Cette valeur est confirmée par la méthode DRUV qui donne une concentration en 4-BB dans le matériau égale à $1,7 \cdot 10^{-5}$ g/mol. La surface spécifique de SG2-4BB est de 575 m²/g. Ce matériau est essentiellement microporeux (86%), avec un faible pourcentage de mésopores. Le diamètre moyen de ces mésopores est de 10,9 nm. Le spectre DRUV présente bien les bandes caractéristiques de la benzophénone, avec une bande n- π^* de faible intensité vers 350 nm.

Pour le matériau SiO₂-ANT, la quantité du dérivé d'anthraquinone qui reste dans le filtrat de toluène après greffage conduit à la quantité greffée sur la silice commerciale. Cette valeur est confirmée par plusieurs techniques :

- Microanalyse basée sur la détermination de l'azote ($2,8 \cdot 10^{-4}$ mol/g de silice),
- Analyse thermogravimétrique (ATG) ($2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/g de silice),
- spectroscopie DRUV ($2,8 \cdot 10^{-4}$ mol/g de silice).

Les données de l'adsorption du N₂ montrent que le matériau SiO₂-ANT présente une isotherme de type IV, caractéristique des matériaux micro-mésoporeux. Sa surface spécifique est de 277 m²/g. La surface microporeuse représente 63% de la surface totale, le reste (37%) représente la surface mésoporeuse. Le diamètre moyen des mésopores est de 23,3 nm. A noter que le greffage du dérivé de l'anthraquinone sur la silice commerciale provoque la diminution de sa surface spécifique de 400 à 277 m²/g.

Le spectre DRUV de SiO₂-ANT est présenté sur la figure 10. Il comporte des bandes caractéristiques de l'anthraquinone avec une absorption faible mais évidente jusqu'à 440 nm (bande n- π^*). Ce matériau est, par conséquent, activable dans le domaine visible, mais avec une plus grande concentration en anthraquinone compte tenu de son faible coefficient d'extinction molaire à 420 nm

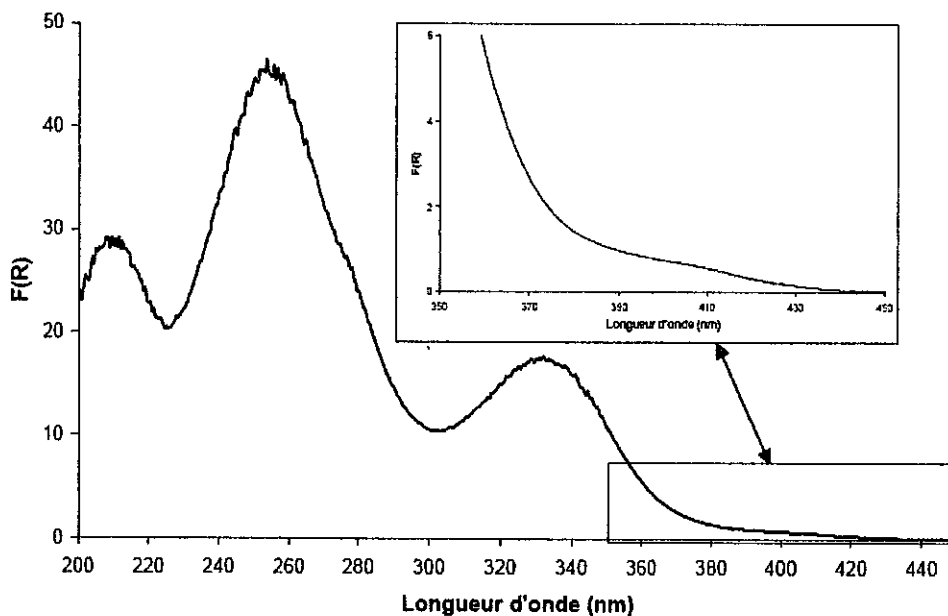
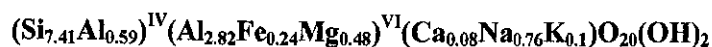


Figure 10: Spectre DRUV du matériau SiO₂-ANT (Cadre : zoom de la région 350-450 nm).

Conclusion de la 1^{ère} partie

La série de tests visant à caractériser notre argile, nous a permis de déterminer sa formule structurale :



La diffraction X montre l'existence d'impuretés dans l'échantillon brut qui sont essentiellement le quartz, la cristobalite et les carbonates, celles-ci sont éliminées en grande partie lors de la purification, leur élimination est confirmée par le spectre RX de l'échantillon purifié où l'on observe la diminution ou la disparition des raies relatives aux impuretés.

La surface spécifique de notre argile est de 130,11 m²/g. Sa CEC et sa surface spécifique totale déterminées par la méthode de bleu de méthylène sont respectivement de 102 meq/ 100g d'argile et 657,38 m²/g.

Les spectres de rayons X montrent une amorphisation avancée de notre échantillon argileux après son pontage avec le titane, la plus part des raies caractérisant l'argile ayant disparues du spectre de diffraction. Cependant, la diffraction en incidence rasante (0,5° – 10°) a permis de mettre en évidence le déplacement de la raie d₀₀₁ vers les très faibles valeurs des angles 2θ, confirmant la possibilité de pontage de seulement une partie de la masse totale de la montmorillonite –celle qui aurait pu résister aux attaques super-acides de la solution de pontage avec le titane. La valeur d₀₀₁ de notre échantillon est néanmoins importante (105Å) est et comparable aux valeurs trouvées pour les matériaux mésoporeux.

L'analyse par IR permet elle aussi de mettre en évidence une grande altération du matériau, en effet la bande caractéristique des OH s'étendant entre 3800 et 3200 cm⁻¹ est de forme très affaissée ce qui peut être attribué à la destruction de la couche octaédrique.

Le pontage de l'argile avec le titane a permis d'augmenter sa surface spécifique, celle-ci passe de 130,11 m²/g à 236,16 m²/g.

Côté photosensibilisateur, les différentes caractérisations des matériaux synthétisés montrent que les matériaux préparés sont très poreux et que les PSA sont bien fixés sur le matrices. Dans les chapitres suivants, l'évaluation de l'efficacité de ces matériaux vis-à-vis des microorganismes sera comparée à celle du TiO₂.

3. Photolyse des bactéries

L'effet des rayonnements UV-A, UV-B et UV-C, en l'absence de TiO₂ sur les bactéries a été examiné. La souche irradiée est la PHL1273 avec une concentration initiale de 10⁶ cfu/mL.

Les courbes d'inactivation bactérienne dans les trois domaines UV sont présentées dans la figure 6. Aucune inactivation significative d'*E-coli* n'a lieu en utilisant les UV-A à l'intensité de **3,85 mW/cm²**. Après cinq heures d'irradiation, l'abattement bactérien est d'à peine un log (90%) laissant toutes les chances à la population bactérienne restante de se reproduire. En revanche, les rayonnements UV-B et UV-C ont eu des effets plus prononcés. Il est à noter que les intensités lumineuses dans ces conditions sont plus importantes

La courbe d'inactivation par les rayonnements UV-B, dont l'intensité est égale à **8,5 mW/cm²**, peut être divisée en deux parties distinctes :

- 1- Au début du processus d'irradiation (20 premières min), la vitesse d'inactivation bactérienne est faible, *E-coli* résiste aux UV-B grâce aux mécanismes de défense déclenchés par le stress induit par l'irradiation,
- 2- Après les 20 min, l'inactivation s'accélère, les mécanismes de défenses ne sont plus suffisants pour protéger les microorganismes. Les UV-B induisent des lésions dans l'ADN [87] qui consistent à former les dimères des bases pyrimidine ainsi que des mutations dans le génome bactérien. Ces derniers facteurs entraînent une accélération de la lyse bactérienne.

Les rayonnements UV-C à l'intensité de **13,4 mW/cm²** sont fortement létaux aux bactéries, 99,999% d'*E-coli* disparaissent en seulement deux minutes d'irradiation. Ces variations dans les taux d'inactivations bactériennes en utilisant les différents types de rayonnements UV peuvent être attribuées à :

- 1- La différence de l'intensité des rayonnements mise en jeu par chaque gamme UV,
- 2- La différence dans l'énergie globale de chaque type de radiation.

Dans un 2^{ème} temps, *E-coli* est irradiée dans les trois gammes UV, avec des intensités équivalentes comprises entre 3,52 et 3,82 mW/cm². Les courbes d'inactivation dans ces conditions sont présentées dans la figure 7.

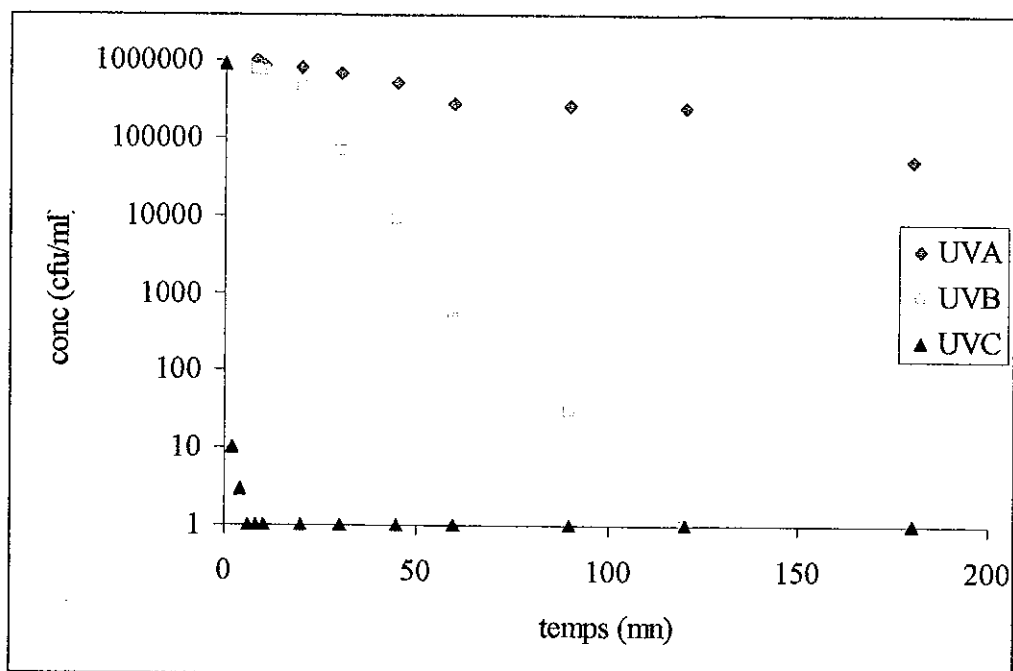


Figure 6. Photolyse d'*E-coli* dans les trois domaines UV

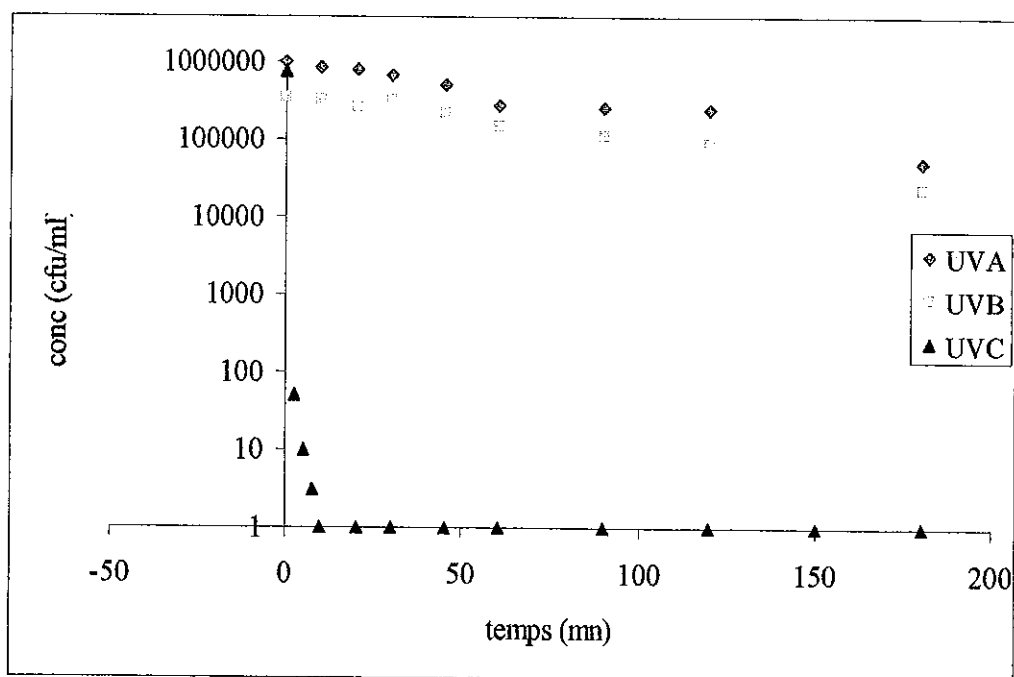


Figure 7. Photolyse d'*E-coli* dans les trois domaines UV avec des rayonnements d'intensité équivalente.

L'inactivation des bactéries par les rayonnements UV-B est dépendante de l'intensité. En effet, la diminution de l'intensité des rayonnements UV-B de 8,5 à 3,54 mW/cm² s'est accompagnée d'une diminution du taux de bactéries inactivées par ces rayonnements. A intensité équivalente, l'efficacité bactéricide des UV-B devient comparable à celle des UV-A.

En revanche, les rayonnements UV-C gardent leur pouvoir bactéricide quasi intact malgré l'importante diminution de l'intensité de 13,4 à 3,6 mW/cm². Le temps d'inactivation totale, dans ce cas passe de 6 min en utilisant une intensité de 13,4 mW/cm² à seulement 10 min avec une intensité de 3,4 mW/cm².

4. Effet du TiO₂ sur *E-coli* à l'obscurité

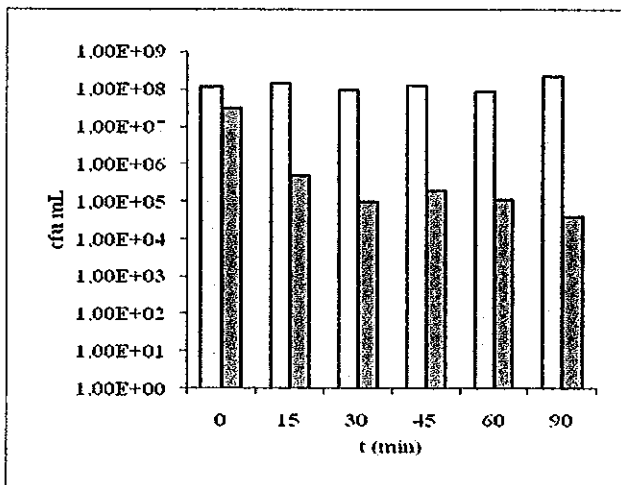
Les irradiations par les UV-A, sont précédées par «l'adsorption» entre le TiO₂ et les bactéries. Le TiO₂ est donc mélangé aux suspensions bactériennes à l'obscurité en vue d'établir un équilibre entre *E-coli* et le photocatalyseur.

L'effet du TiO₂ sur *E-coli* à l'obscurité est évalué par l'utilisation de deux milieux de culture différents : le LB et le MC conkey.

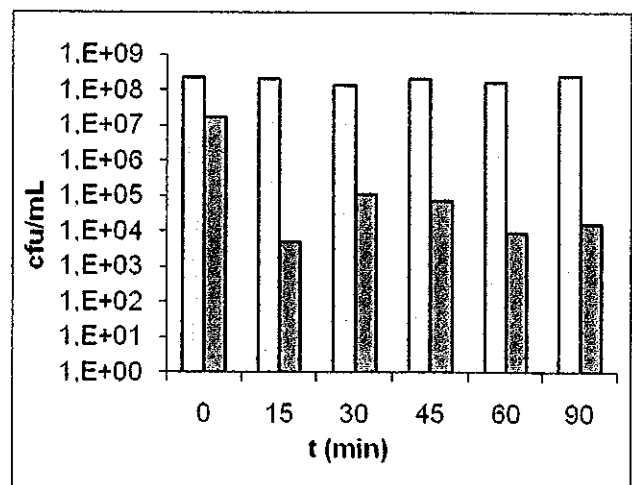
Des difficultés à pousser pour PHL1273 sur Mc conkey ont été observées, probablement à cause des manipulations génétiques que PHL1273 a subies et qui la rendraient fragile par rapport à ce milieu qui contient, entre autres, des colorants et des sels biliaires. Cet inconvénient est contourné par l'utilisation d'une souche analogue, non modifiée, la MG1655. Cette dernière étant l'ancêtre de PHL1273 est considérée comme plus « solide » puisque elle n'a subi aucune manipulation génétique.

Le TiO₂ est rajouté aux suspensions bactériennes, MG1655, à différentes concentrations de 0,25 à 10 g/L, la concentration initiale des suspensions bactériennes est égale à 10⁸ cfu/mL. Le réacteur est complètement recouvert de papier aluminium, le mélange *E-coli*-TiO₂ est maintenu sous agitation grâce à un agitateur magnétique. Le même échantillon (prélevé aux intervalles réguliers) est étalé sur LB et sur Mc conkey, puis mis à incuber à 37°C pendant 18 heures.

La figure 8(a, b, c, d, e, f) montre la comparaison des cultures bactériennes sur les deux milieux en fonction du temps et pour chaque concentration de TiO₂.



a



b

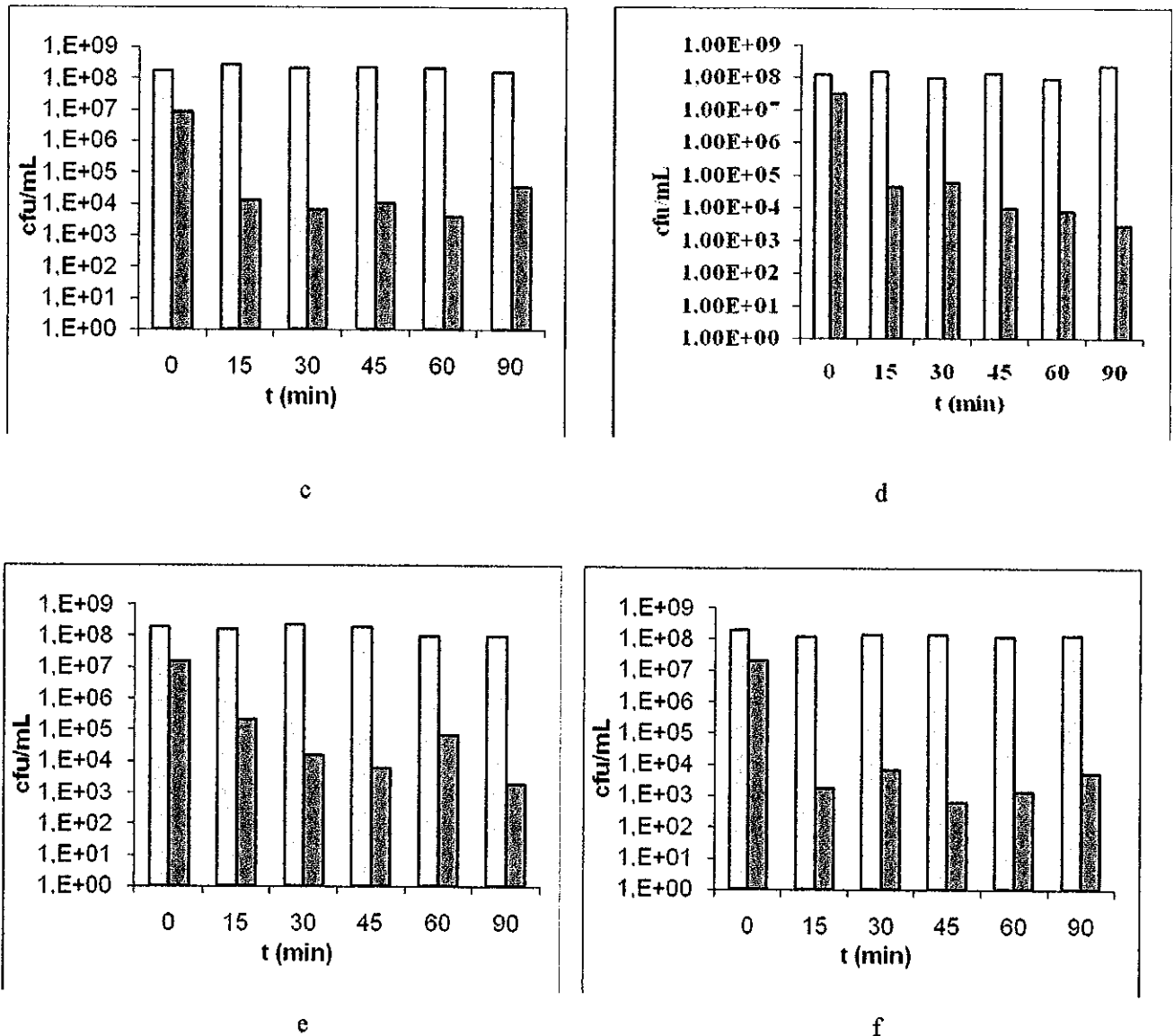


Figure 8. Effet du TiO₂, à différentes concentrations, sur les microorganismes à l'obscurité, visualisé sur deux milieux de cultures différents : le LB et le Mc Conkey

a) [TiO₂] = 0,25 g/L, b) [TiO₂] = 0,5 g/L, c) [TiO₂] = 1 g/L, d) [TiO₂] = 2,5, e) [TiO₂] = 5g/L, f) [TiO₂] = 10 g/L

Le TiO₂ ne semble avoir aucun effet sur *E-coli* à l'obscurité si l'on se réfère uniquement aux bactéries cultivées sur le milieu LB, la concentration bactérienne reste stable à 10⁸ cfu/mL jusqu'à 90 min d'interaction *E-coli*-TiO₂.

Le milieu Mc conkey, quant à lui, révèle un résultat différent. Les bactéries mélangées au TiO₂ à l'obscurité montrent une inhibition de la croissance bactérienne sur le milieu Mc conkey dès 15 min de réaction. Cette situation suggère que la membrane bactérienne est altérée par TiO₂ à l'obscurité, altération non visualisable sur milieu LB. Connus depuis très longtemps comme étant des éléments essentiels pour l'absorption des lipides [13], les sels biliaires contenus dans le milieu Mc conkey peuvent dégrader les phospholipides membranaires lorsque la membrane est altérée et déstabilisée

par TiO_2 à l'obscurité. L'intégrité de la paroi, siège de la respiration bactérienne, est alors compromise menant à l'inactivation cellulaire.

La déstabilisation de la paroi bactérienne peut également provenir de la fuite des cations divalents dans la membrane externe comme le Mg^{2+} .

Enfin des protéines périplasmiques pourraient sortir de leur compartiment à travers les régions endommagées de la paroi cellulaire causant l'inactivation d'*E-coli* sur Mc conkey.

La possibilité de déstabilisation de la membrane bactérienne par TiO_2 dans l'obscurité n'a pas été souvent mentionnée dans la littérature. En effet, la majorité des études sur l'inactivation bactérienne par photocatalyse, considère que la mort bactérienne commence au moment où le photocatalyseur se met à générer des EROs par suite de son illumination.

Le présent résultat suggère donc que l'inactivation bactérienne se fait en deux étapes :

- 1- Dans l'obscurité : déstabilisation de la membrane bactérienne par TiO_2 à travers des mécanismes encore inconnus,
- 2- Pendant l'irradiation : attaque de la membrane par les EROs générés sur les sites endommagés ou non de la membrane.

Dans des études antérieures [14, 15], il a été démontré la nécessité de contact entre les bactéries et TiO_2 en utilisant une membrane de dialyse. L'introduction des ions phosphate dans les suspensions $\text{TiO}_2 - E-coli$ empêchent la formation de gros agrégats de TiO_2 d'une part, et rentrent en compétition avec *E-coli* pour les sites d'adsorption sur TiO_2 d'autre part. Il en résulte que le taux de bactéries «adsorbées» sur le photocatalyseur ne dépasse pas les 5% entraînant une diminution drastique de l'efficacité d'inactivation photocatalytique. La rapidité de l'inactivation bactérienne par photocatalyse, en absence des ions phosphates, est attribuée à une plus forte interaction *E-coli* – TiO_2 dans l'obscurité permettant une altération de la membrane bactérienne. Fragilisées, les bactéries sont plus vulnérables face à la combinaison $\text{TiO}_2/\text{UV-A}$

Une analyse protéomique est envisagée pour voir si des protéines périplasmiques se retrouvent dans le surnageant après réaction des bactéries avec le TiO_2

4.1 Analyse protéomique

Les protéines, qui peuvent se retrouver dans le surnageant par suite de la blessure d'*E-coli* par TiO_2 à l'obscurité, sont extraites par deux méthodes (extraction à l'acétone et lyophilisation), puis analysées par migration sur gel polyacrylamide selon les conditions décrites dans le chapitre «procédures expérimentales». Les gels obtenus sont présentés sur la figure 9.

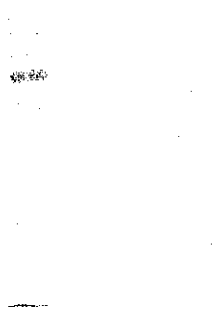


Figure 9. Extraction des protéines par l'acétone.

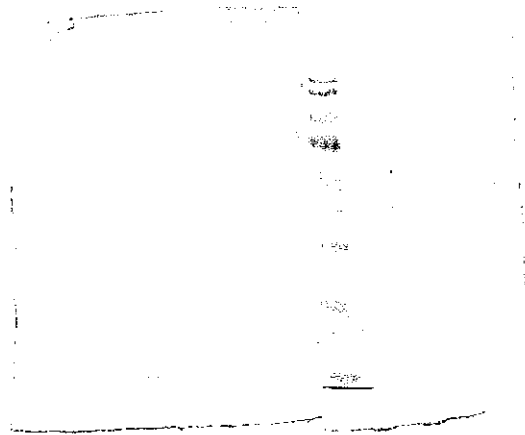


Figure 10. Extraction des protéines par lyophilisation

* Discussion

Les barres sur les gels sont relatives aux marqueurs qui sont des étalons utilisés pour déduire la masse des protéines qui migrent. La position de chaque barre correspond à un poids moléculaire de la protéine. L'absence de toute marque à la gauche des marqueurs dans les deux gels implique qu'aucune protéine périplasmique n'est présente dans le surnageant.

Ce résultat a suscité les interrogations suivantes

- Les protéines sont-elles libérées ?
- Les protéines sont bien libérées mais leur quantité est trop faible pour qu'elles soient visualisées par cette méthode ?
- Les protéines sont bien libérées mais s'adsorbent sur TiO_2 et par conséquent on ne les voit pas dans le surnageant ?

Cette dernière hypothèse semble être crédible même si très peu de travaux dans ce domaine y sont consacrés dans la littérature. Quelques travaux d'adsorption de biomolécules (protéines, ADN...) sur TiO_2 ont été publiés. Le TiO_2 était, soit supporté [16, 17], soit utilisé en très faible quantité de manière à ne pas gêner les mesures spectrophotométriques [18, 19]. L'adsorption de protéines bactériennes sur TiO_2 a également été reportée dans les travaux de G. Gogniat [20] où un protocole de désorption des protéines a été mis au point pour doser les quantités adsorbées par TiO_2 .

5. Inactivation photocatalytique d'*E-coli*

Après avoir examiné l'effet des irradiations seules et celui de TiO₂ à l'obscurité, sur la croissance d'*E-coli*, le travail est orienté vers l'étude de l'effet de la combinaison UV-TiO₂ sur les bactéries. L'influence de plusieurs paramètres physico-chimiques est considérée.

5.1 Effet de la concentration en TiO₂

Le TiO₂ est introduit dans les suspensions bactériennes à différentes concentrations allant de 0,1 à 2,5 g/L. les suspensions *E-coli* – TiO₂ sont homogénéisées à l'obscurité pendant 30 min. Puis irradiées dans les trois gammes UV.

5.1.1 Inactivation bactérienne dans la gamme de l'UV-A

Dans cette gamme d'UV, l'inactivation d'*E-coli* est discutée à deux concentrations bactériennes : une forte concentration 10⁷-10⁸ cfu/mL et une plus faible concentration correspondant à 10⁵-10⁶ cfu/mL.

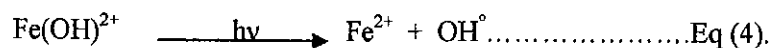
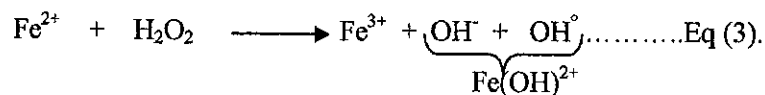
a - Cas de la suspension bactérienne à 10⁷-10⁸ cfu/mL

Les suspensions d'*E-coli* sont totalement inactivées après 3 heures d'irradiation en présence de 0,25 g/L de TiO₂. Pour des valeurs de concentration en TiO₂ dix fois plus grandes (2,5 g/L) et pour le même temps d'irradiation, l'inactivation bactérienne est moins efficace, il reste 10⁴ cfu/mL. Les courbes d'inactivation sont présentées sur la figure 11. Selon la concentration de TiO₂ utilisée, le processus d'inactivation peut être divisé en trois ou en quatre étapes :

- 1^{ère} étape : 5 à 10 min d'irradiation. Dans cette phase, l'inactivation est très lente. C'est une période d'induction où les EROs générées commencent à attaquer la membrane externe mais pas suffisamment pour causer de sérieux dommages à la bactérie. La paroi bactérienne est graduellement oxydée, mais *E-coli* résiste grâce aux mécanismes de défenses et de réparation de dommages. A la fin de cette 1^{ère} étape, les attaques répétées des EROs sur la membrane externe peuvent provoquer sa perforation, accélérant ainsi le processus d'inactivation bactérienne. Cette période d'induction diminue en réduisant la concentration en TiO₂, elle dure 10 min en utilisant 2,5 et 1,5 g/L de TiO₂, et 5 min en introduisant 0,5, 0,25 et 0,1 g/L de dioxyde de titane.
- 2^{ème} étape : s'étalant entre 5-10 min et 60 min. Dans cette phase, l'inactivation des microorganismes est accélérée, les enzymes anti-stress ne sont plus suffisantes pour protéger la membrane bactérienne de l'oxydation pouvant résulter en sa perforation. La formation de photo-produits tels que les acides ou les aldéhydes peut également être à l'origine de l'accélération de l'inactivation bactérienne. De plus, il est suggéré que l'inactivation de

microorganismes pourrait être due à d'autres phénomènes, tels que la réaction photo-Fenton qui s'ajouterait au processus photocatalytique.

Les bactéroferitine, protéines spécialisées dans la complexation du fer disponible dans l'environnement en vue d'être utilisé par les bactéries, pourraient, sous l'action de la photocatalyse, générer des ions ferreux et ferrique. Ces derniers peuvent former les radicaux OH° selon les équations 3 et 4 :



Des essais pour doser les espèces du fer présent en solution se sont révélés négatifs probablement à cause de la faible concentration des espèces de fer ou l'adsorption de ces espèces sur TiO_2 .

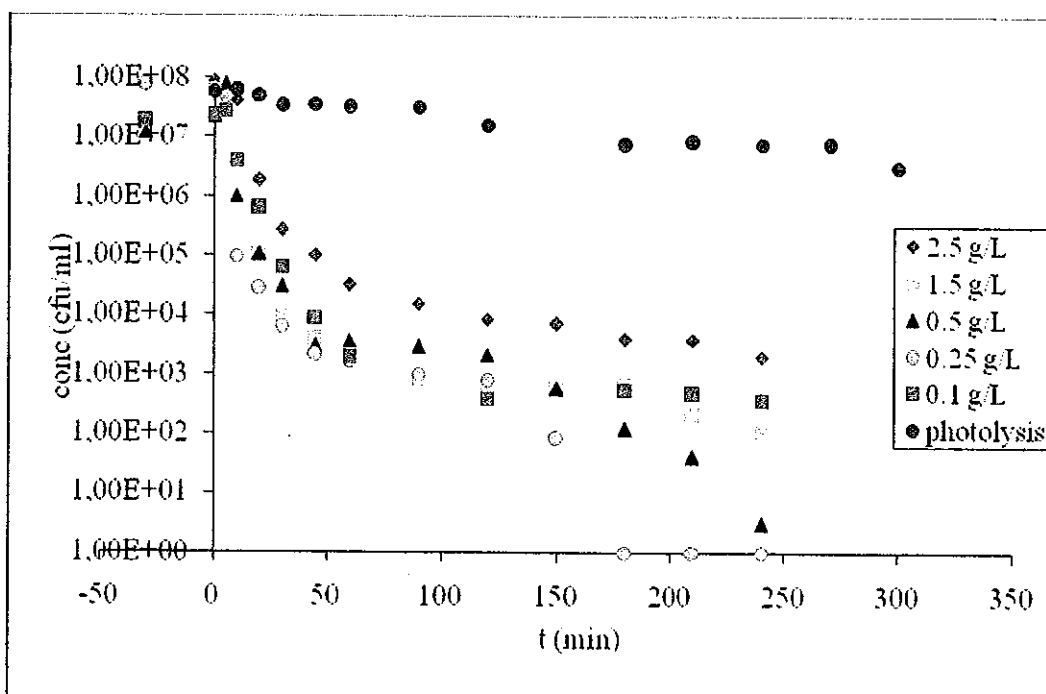
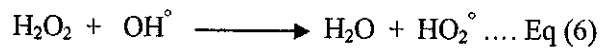
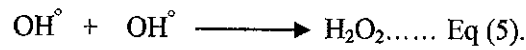


Figure 11. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* = 10^7 - 10^8 cfu/mL, en présence de $[\text{TiO}_2] = 0,1 - 2,5$ g/L.

- 3ème étape: entre 60 et 150 min d'irradiation. Une inactivation totale à lieu pour les concentrations en TiO_2 égale à 0,25 et 0,5 g/L. En revanche, un palier est noté pour les concentrations en TiO_2 égales à 2,5, 1,5 et 0,1g/L. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées :
- a) un effet écran peut avoir lieu à concentration élevée en TiO_2 .
- b) Prenant en compte la concentration initiale élevée en *E-coli*, une importante quantité de composés organiques sont formés et peuvent être en compétition avec *E-coli* pour les EROs.

- c) D'autre part, aux concentrations élevées en TiO_2 , des réactions terminales peuvent également affecter négativement l'inactivation d'*E-coli*. Les radicaux hydroxyles se recombinaient rapidement pour donner le peroxyde d'hydrogène (Equation 5), ce dernier pouvant produire le radical hydroperoxyde HO_2° par réaction avec un autre radical OH° (Equation 6). Le radical hydroperoxyde obtenu étant moins réactif que le radical hydroxyle [21] il contribue au ralentissement de l'inactivation bactérienne



- Le processus d'inactivation se poursuit pour les concentrations en TiO_2 égales à 0,25 et 0,5 g/L. Les concentrations bactériennes atteignent un niveau non détectable. Cependant, à mesure que la concentration en TiO_2 augmente, le temps nécessaire pour l'inactivation totale augmente aussi. Ce pourrait être la conséquence de la diffusion de la lumière par le dioxyde de titane. Les paires trous-électron formées se recombineraient dans la masse de TiO_2 lorsque celui-ci est utilisé en concentrations élevées. Des images par microscopie électronique, figure 12, réalisées lors d'un précédent travail [15] illustrent parfaitement l'effet écran-diffusion de la lumière que peut provoquer l'excès de TiO_2 .

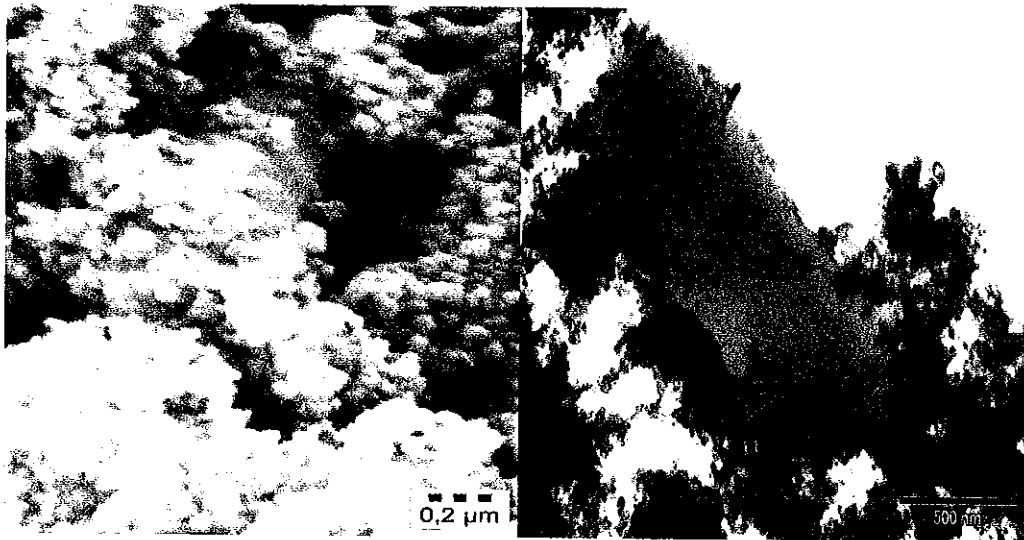


Figure 12. Image par microscopie électronique de bactéries enveloppées par le TiO_2

Le temps nécessaire pour abattre la concentration bactérienne de 10^8 à 10^5 cfu/mL en fonction de la concentration en TiO_2 est représenté sur la figure 13. A partir de cette courbe, la concentration optimale de TiO_2 est de 0,25 g/L, l'efficacité d'inactivation diminue à la concentration inférieure (0,1 g/L) : à cette valeur, la quantité de TiO_2 présente est insuffisante pour absorber tout les photons.

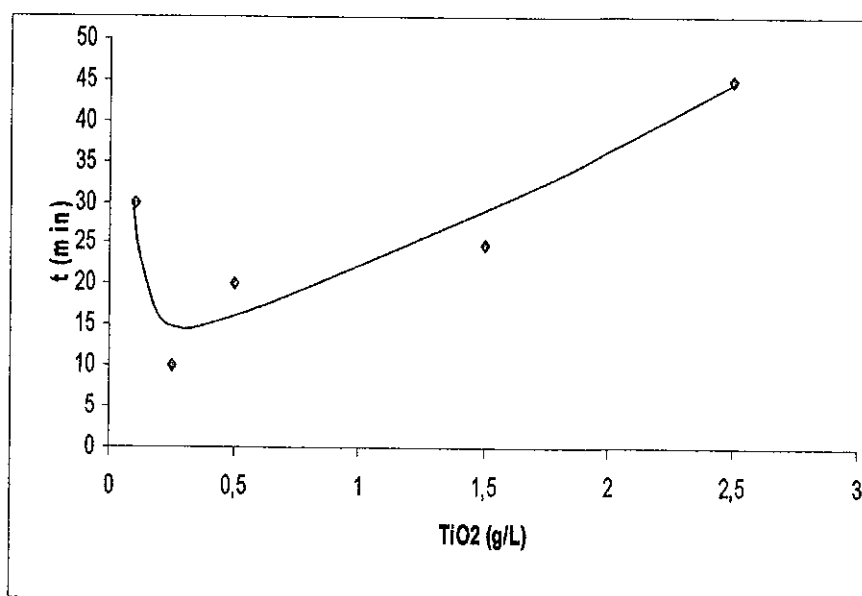


Figure 13. Temps nécessaire pour abattre la concentration d'E-coli de 10^8 à 10^5 cfu/mL en fonction de la concentration en TiO₂.

D'autres études [22-24], ont montré des résultats différents de ceux présentés dans ce présent travail. Des inactivations plus efficaces sont signalées pour des concentrations élevées en TiO₂. Min et al [25] indiquent que l'inactivation d'E-coli à 1 g/L de TiO₂ est approximativement deux fois plus efficace que celle à 0,1 g/L. un effet négatif a cependant été signalé en augmentant la concentration de TiO₂ de 1 à 2 g/L. Les travaux de Rincon et Pulgarin révèlent un résultat analogue [26]. Ces variations peuvent être attribuées aux différentes souches d'E-coli utilisées, mais également aux différents types de lampes produisant les rayonnements UV ainsi qu'à la géométrie du dispositif d'irradiation propre à chaque équipe de recherche. Dans notre cas, la souche E-coli utilisée est plus adhérente, ce qui peut conduire à une plus grande quantité de microorganismes présents à la surface du dioxyde de titane.

b- Cas de la suspension bactérienne à 10^5 - 10^6 cfu/mL

Les résultats d'inactivation aux concentrations de TiO₂ supérieures à 1g/L étant voisins, seulement trois concentrations en TiO₂ seront considérées pour la suite des expériences. Pour la suspension bactérienne moins concentrée [10^5 - 10^6] cfu/mL, le TiO₂ a été utilisé aux concentrations de 0,1, 0,25 et 1,5 g/L. Les temps nécessaires pour l'inactivation totale sont plus courts par rapport au précédent cas. Des périodes d'induction sont observées pour les concentrations en TiO₂ égales à 1,5 et 0,1 g/L résultant respectivement de la diffusion de la lumière et de la trop faible quantité de photocatalyseur présente provoquant une diminution de la production des EROs. Ces observations sont corrélées avec les mécanismes de défense et de réparation chez E-coli. Comme pour les suspensions bactériennes concentrées, l'inactivation est plus importante pour la concentration en TiO₂ égale à 0,25g/L. A la

lecture des courbes d'inactivation présentées dans la figure 14, il apparaît que l'inactivation photocatalytique totale d'*E-coli* à $[10^5-10^6]$ cfu/mL est obtenue après 90 min d'irradiation en présence de 0,25g/L de TiO_2 tandis que cette période est de 180 min en présence de 1,5 g/L.

A l'issue des deux premiers tests, il apparaît que quelle que soit la concentration initiale d'*E-coli*, la concentration optimale en TiO_2 utilisée pour inactiver *E-coli* est de 0,25 g/L. Cette valeur n'est pas suffisante pour une absorption totale des photons émis par la lampe et ne correspond pas à la concentration optimale trouvée par J.M. Herrmann pour les composés organiques [27]. Les microorganismes auraient besoin de moins de dioxyde de titane pour leur inactivation comparée aux composés organiques. C'est là une différence significative dans le comportement de TiO_2 envers les composés chimique ou biologiques. Grâce à leur petite taille, les composés organiques sont capables de diffuser entre les particules de TiO_2 et de s'adsorber dessus, tandis que le contraire se produit avec les microorganismes. Ces derniers sont 30 fois plus gros que les particules de TiO_2 .

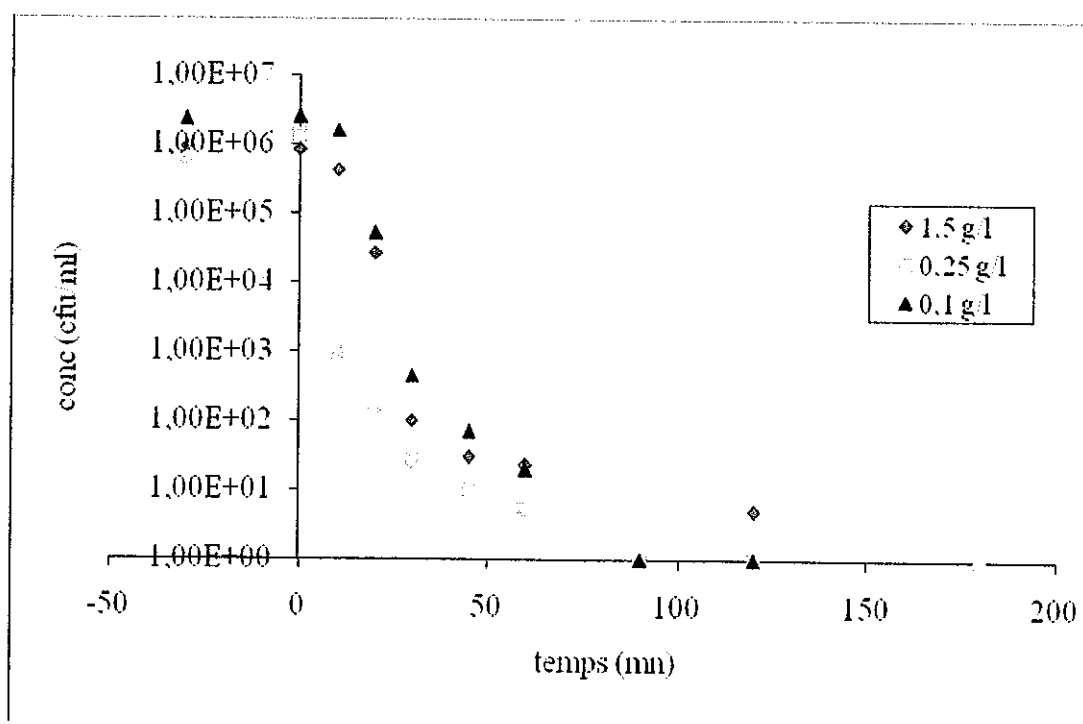


Figure 14. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* $[10^5-10^6]$ cfu/mL, en présence de $[TiO_2]= 0,1 - 1,5$ g/L.

6. Calcul théorique de la quantité optimale de TiO_2

0,25 g/L de TiO_2 dégussa P-25 constitue, dans nos conditions expérimentales, la quantité optimale pour inactiver les microorganismes. Pourtant, en référence à une étude antérieure [27], cette quantité n'est pas suffisante pour absorber tous les photons. Trois hypothèses sont avancées pour expliquer ce phénomène :

1- Les bactéries peuvent diffuser une partie des rayonnements UV, les rendant ainsi indisponibles pour l'activation de TiO_2 ,

- 2- La taille importante des bactéries comparée à celle des particules de TiO_2 conduit le dioxyde de titane à recouvrir la surface bactérienne et non le contraire. Il est donc possible que la quantité de $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 soit suffisante pour recouvrir totalement la surface bactérienne monocouche. Au-delà de cette concentration, des multicouches de TiO_2 pourraient se former sur la paroi d'*E-coli*. Une estimation de la quantité de TiO_2 requise pour totalement recouvrir la surface bactérienne est proposée à travers un calcul théorique. Cette valeur ne peut être qu'indicative car les particules de TiO_2 sont le plus souvent agglomérées et la bactérie est considérée comme ayant une forme cylindrique avec 2 extrémités semi-sphériques figure 15.

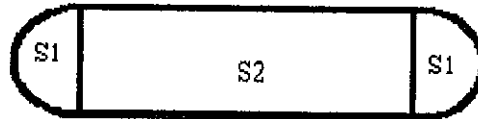


Figure 15. Schéma d'une bactérie considérée comme cylindrique avec des extrémités semi-sphériques.

Les dimensions bactériennes déterminées par microscopie à épi-fluorescence sont, en moyenne, de $1,7 \mu\text{m}$ de long et $0,9 \text{ nm}$ de large,

La surface bactérienne totale $S_T = 2S_1 + S_2$

$$S_1 = 4 \pi (0,45 \cdot 10^{-6})^2 = 2,54 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2$$

$$S_2 = (1,7 \cdot 10^{-6}) * (0,9 \cdot 10^{-6} \cdot \pi) = 4,8 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2$$

$$S_T = 2 \cdot (2,54 \cdot 10^{-12}) + 4,8 \cdot 10^{-12} = 9,88 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2.$$

Les particules de TiO_2 sont considérées comme des cubes de côté «a» compris entre 20 et 30 nm,

La surface d'une face du cube est :

$$(20 \cdot 10^{-9})^2 < S_{\text{TiO}_2} < (30 \cdot 10^{-9})^2$$

$$4 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 < S_{\text{TiO}_2} < 9 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2$$

En considérant que la surface bactérienne est totalement recouverte par une monocouche de TiO_2 :

Le nombre de particules de TiO_2 recouvrant la bactérie est: $N = S_T / S_{\text{TiO}_2}$,

$$= 9,88 \cdot 10^{-12} / 4 \cdot 10^{-16} \text{ ou } 9,88 \cdot 10^{-12} / 9 \cdot 10^{-16}$$

$$24700 \text{ part } \text{TiO}_2 < N < 10978 \text{ part } \text{TiO}_2$$

Le volume d'une particule de $\text{TiO}_2 = \pi r^3$

$$\pi (20 \cdot 10^{-9})^3 < V_{\text{TiO}_2} < \pi (30 \cdot 10^{-9})^3$$

$$2,51 \cdot 10^{-23} \text{ m}^3 < V_{\text{TiO}_2} < 8,48 \cdot 10^{-23} \text{ m}^3$$

Le volume de toutes les particules recouvrant la surface bactérienne V_T est : $V_{\text{TiO}_2} \cdot N$

$$6,2 \cdot 10^{-13} \text{ cm}^3 < V_T < 9,3 \cdot 10^{-13} \text{ cm}^3$$

Connaissant la densité du TiO_2 ($3,8 \text{ g/cm}^3$) et connaissant le volume total des particules de TiO_2 recouvrant la bactérie, nous accédons à la masse théorique du dioxyde de titane déposé sur la surface bactérienne :

$$2,35 \cdot 10^{-12} \text{ g} < m_{\text{TiO}_2} < 3,5 \cdot 10^{-12} \text{ g}$$

Expérimentalement cette valeur est de $2,5 \cdot 10^{-12}$ g TiO_2 /bactérie, pour une suspension bactérienne à 10^8 cfu/mL contenant 0,25 g/L de TiO_2 . La valeur théorique inférieure est proche de la valeur expérimentale et indique que la concentration de TiO_2 égale à 0,25 g/L est bien la concentration optimale.

7. Effet de la concentration de TiO_2 dans les gammes UV-B et UV-C

Les concentrations initiales des suspensions bactériennes étudiées dans cette partie varient entre 10^5 et 10^6 cfu/mL. Le dioxyde de titane est introduit à deux concentrations 0,25 et 1,5 g/L. Par rapport aux UV-A, l'inactivation dans le domaine des UV-B et UV-C est améliorée. Ce résultat est dû à l'intensité élevée des UV dans ces gammes et à l'attaque de l'ADN dans le cas des UV-C. En présence de 0,25 g/L de TiO_2 , la concentration bactérienne décroît jusqu'à un niveau non détectable, en seulement 45 min de phototraitement par les UV-B. L'inactivation bactérienne est ralentie en présence de 1,5 g/L. La figure 16 représente les courbes d'inactivation d'*E-coli* dans la gamme des UV-B. Le système UV-C/ TiO_2 est, quant à lui, plus efficace que les deux premiers. Dans cette gamme, l'inactivation bactérienne est obtenue au bout de 30 min d'irradiation en présence de 0,25 g/L de TiO_2 et 90 min en présence de 1,5 g/L de dioxyde de titane. Les courbes d'inactivation dans le système UVC/ TiO_2 sont présentées sur la figure 17. Il est à noter que l'inactivation photolytique par les UV-B est moins efficace que l'inactivation photocatalytique par ces mêmes rayonnements. Un palier de 20 min est observé au début des irradiations, il traduit les mécanismes de défense bactérienne contre l'action des irradiations. Ces défenses deviennent insuffisantes pour assurer l'intégrité des microorganismes au-delà des 20 min. La tendance est inversée avec les UV-C; avec ces derniers, c'est la photolyse qui se révèle plus bactéricide. La population bactérienne décroît à un niveau non détectable en 5 min de traitement photolytique alors que le même résultat est obtenu après 15 à 20 min de traitement photocatalytique en présence de 0,25 g/L de TiO_2 et après plus de 60 min en présence de 1,5 g/L de dioxyde de titane. Il semble que le photocatalyseur joue, dans ce dernier cas, le rôle de protecteur contre les UV-C pour les microorganismes en se déposant sur leur paroi.

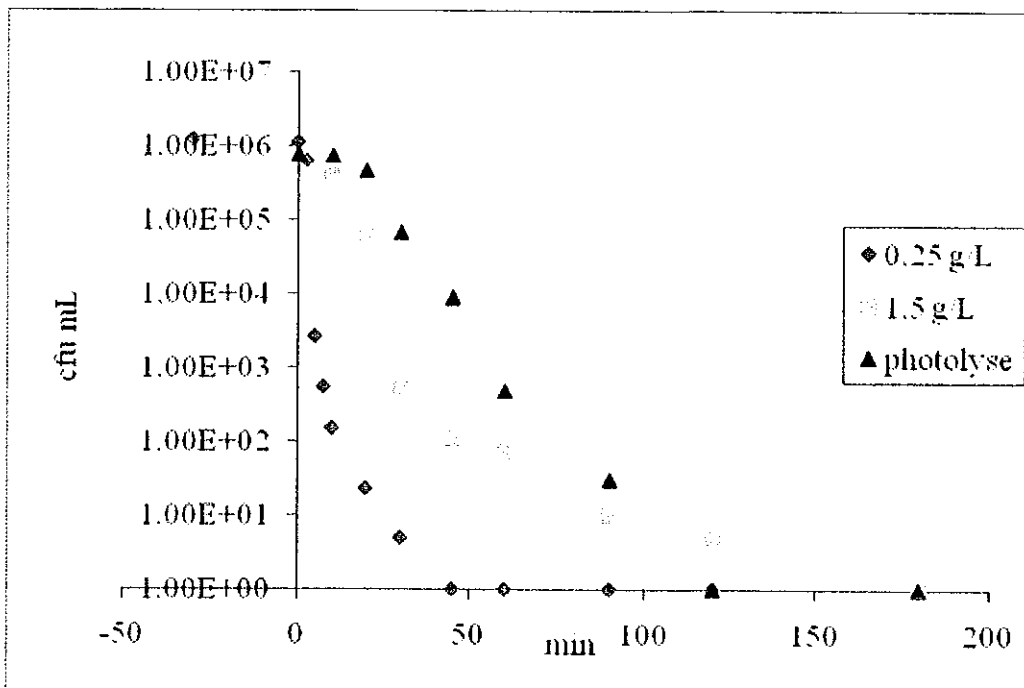


Figure 16. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* = 10^5 - 10^6 cfu/mL, $[\text{TiO}_2] = 0,25 - 1,5$ g/L, UV-B

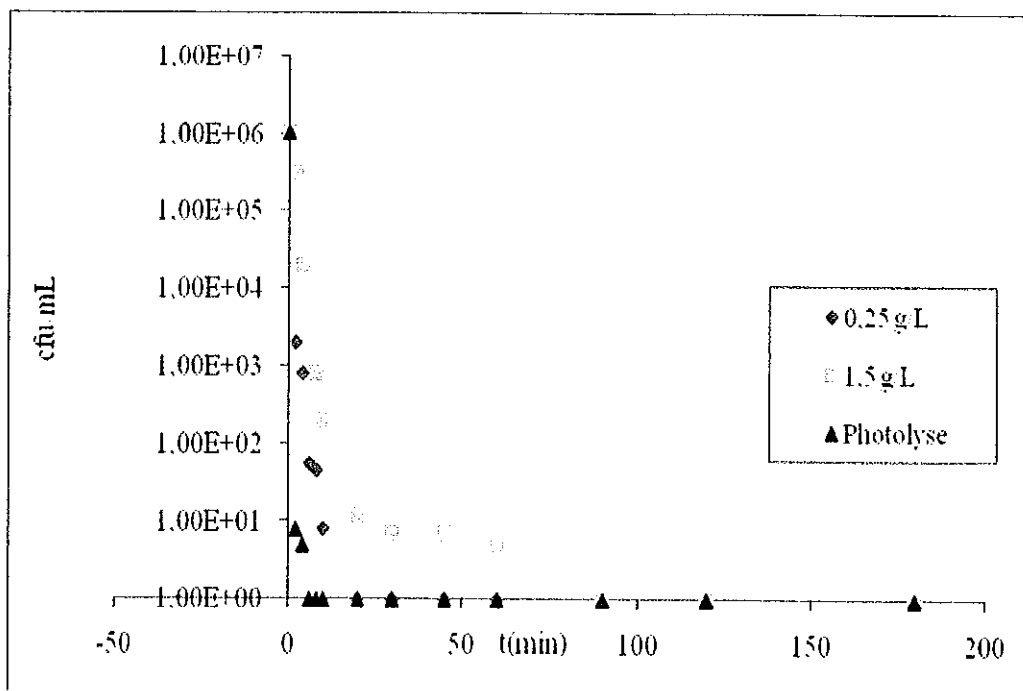


Figure 17. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* = 10^5 - 10^6 cfu/mL, $[\text{TiO}_2] = 0,25 - 1,5$ g/L, UV-C

7.1 Effet de la nature des UV à intensités équivalentes

L'inactivation d'*E-coli* est plus efficace dans la gamme des rayonnements UV-C suivie des UV-B puis les UV-A. Ce résultat semble plus au mois naturel puisque les énergies des rayonnements sont croissantes en partant des UVA ($3,85 \text{ mW/cm}^2$) suivis des UVB ($4,15 \text{ mW/cm}^2$) et enfin

les UVC ($3,6 \text{ mW/cm}^2$). L'inactivation bactérienne est donc réalisée dans les trois gammes de longueur d'onde avec des énergies ajustées, de manière à être à une énergie équivalente dans les trois gammes UV. La concentration en TiO_2 est de $0,25 \text{ g/L}$, celle-ci étant optimale dans les trois gammes.

Les courbes d'inactivation dans ces nouvelles conditions sont présentées dans la figure 18.

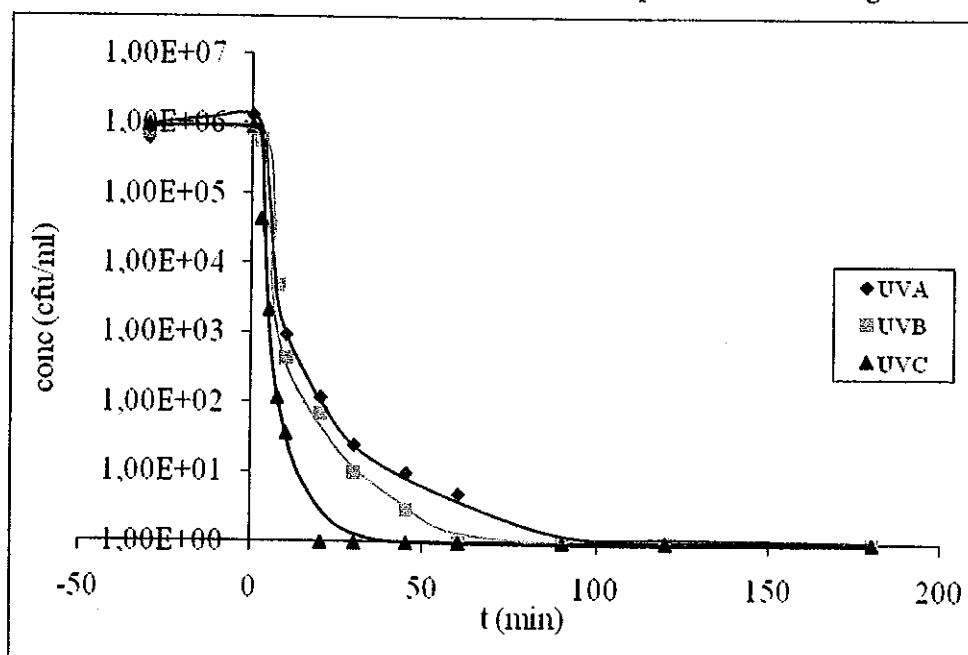


Figure 18. Inactivation d'E-coli dans les 3 gammes UV à intensité équivalente en présence de $0,25 \text{ g/L}$ de TiO_2 .

Malgré une intensité équivalente, les rayonnements UV-C restent plus létaux que les autres. La concentration bactérienne décroît à un niveau non détectable en seulement 20 min de traitement photocatalytique dans le système UV-C/ TiO_2 . A intensité équivalente, les rayonnements UV-B deviennent, quant à eux, comparables aux UV-A. Le temps d'inactivation photocatalytique utilisant les UV-B passe de 45 min à intensité maximale ($8,5 \text{ mW/cm}^2$) à 60 min lorsque l'intensité lumineuse est environ deux fois pour faible ($4,15 \text{ mW/cm}^2$), l'inactivation d'E-coli dans le système UV-A/ TiO_2 est achevée, elle, en 90 min. En plus de produire des EROs à la surface du dioxyde de titane, les UV-B sont impliqués dans la formation de lésion sur l'ADN inhibant sa réplication et favorisant la mutation bactérienne [28]. Cependant, il est important de remarquer qu'au début, l'inactivation bactérienne à l'aide des UV-A ou des UV-B est similaire; ce n'est qu'après 30 min d'irradiation que les UV-B deviennent plus efficaces. Ce phénomène peut être attribué aux mécanismes bactériens de défense et réparation.

Par ailleurs, une comparaison entre le processus photocatalytique d'inactivation bactérienne et le processus purement photolytique après 10 min de traitement dans chacune des méthodes est donnée en figure 19.

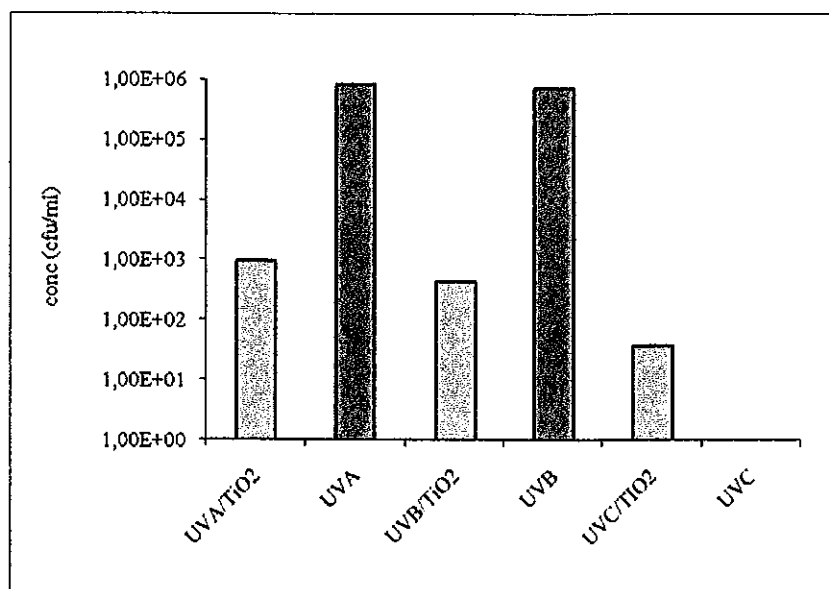


Figure 19. Comparaison entre les processus d'inactivation photocatalytique et photolytique. Concentration d'E-coli présente après 10 min de traitement avec chaque procédé.

La population initiale d'E-coli égale à 10^6 cfu/mL décroît à 10^3 et 4.10^2 cfu/mL après 10 min d'irradiation en utilisant les systèmes UV-A/TiO₂ et UV-B/TiO₂ respectivement, alors qu'aucune inactivation significative des microorganismes n'a lieu en présence de rayonnements UV-A ou UV-B seuls. Un effet négatif sur l'efficacité des rayonnements UV-C est cependant induit par l'introduction du dioxyde de titane. Il semble que la photolyse par UV-C soit plus létale que la photocatalyse UV-C/TiO₂. Alors que la population bactérienne décroît à un niveau non détectable par photolyse UV-C pure, il reste dans la suspension traitée par photocatalyse UV-C/TiO₂ 37 cfu/mL après 10 minutes d'irradiation. Les particules de TiO₂ joueraient le rôle d'écran. Si l'efficacité des rayonnements UV-A, UV-B est améliorée par la présence de TiO₂, celle des rayonnements UV-C est au contraire diminuée par l'introduction du photocatalyseur. Des études complémentaires sont nécessaires pour identifier les sous-produits générés par ces différents types de procédés

8. Effet de l'intensité des rayonnements UV-A sur l'inactivation bactérienne

L'effet de l'intensité des rayonnements UV-A est testé en travaillant à la concentration optimale en TiO₂ qui est de 0,25 g/L. Une efficacité bactéricide élevée est obtenue aux intensités élevées. Les courbes d'inactivation bactérienne aux différentes intensités des rayonnements UV-A sont présentées sur la figure 20. Une diminution de l'inactivation d'E-coli est observée lorsque l'intensité lumineuse diminue de 3,85 à 0,48 mW/cm². Une période d'induction apparaît durant les 10 premières minutes pour les intensités les plus faibles. Ce résultat peut être la conséquence de mécanismes de défense et de réparation plus performants aux basses intensités. De plus, les faibles puissances lumineuses permettent de limiter la dégradation photocatalytique des enzymes de défenses elles mêmes, les laissant accomplir leur tâche de protection, plus au moins convenablement, avant d'être éliminées par

photocatalyse. En diminuant l'intensité des UV-A de 3,85 à 0,48 mW/cm², le temps d'inactivation totale des bactéries s'allonge de 90 à 180 min.

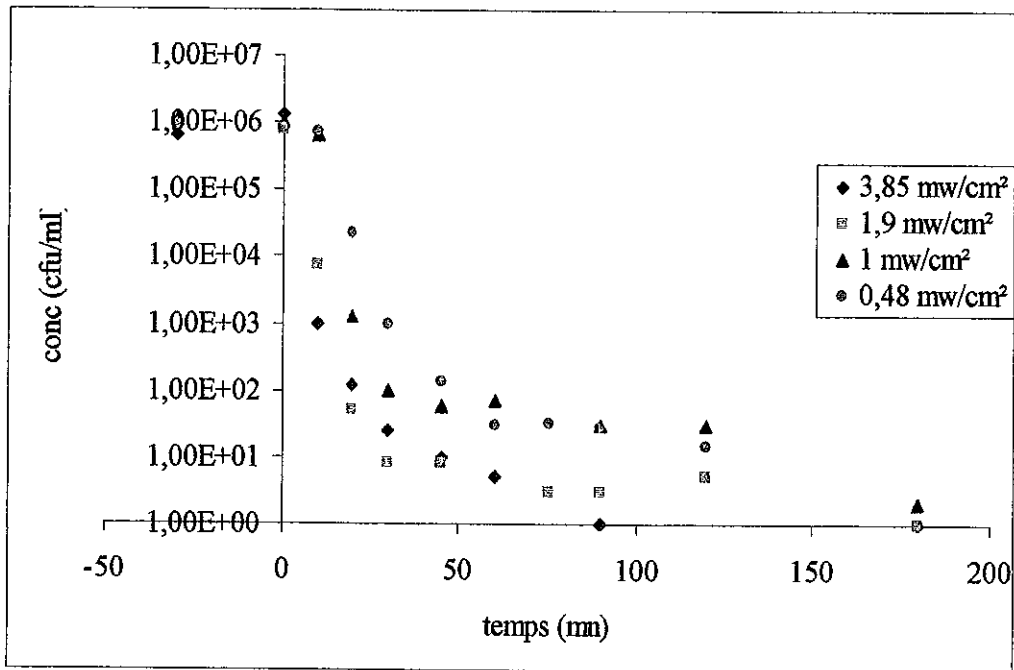


Figure 20. Inactivation photocatalytique d'E-coli à différentes intensités des rayonnements UV-A en présence de 0,25 g/L.

Le temps nécessaire pour un abattement bactérien de 10⁶ à 10³ cfu/mL en fonction de l'intensité lumineuse et en présence de TiO₂ à 0,25 g/L est représenté sur la figure 21.

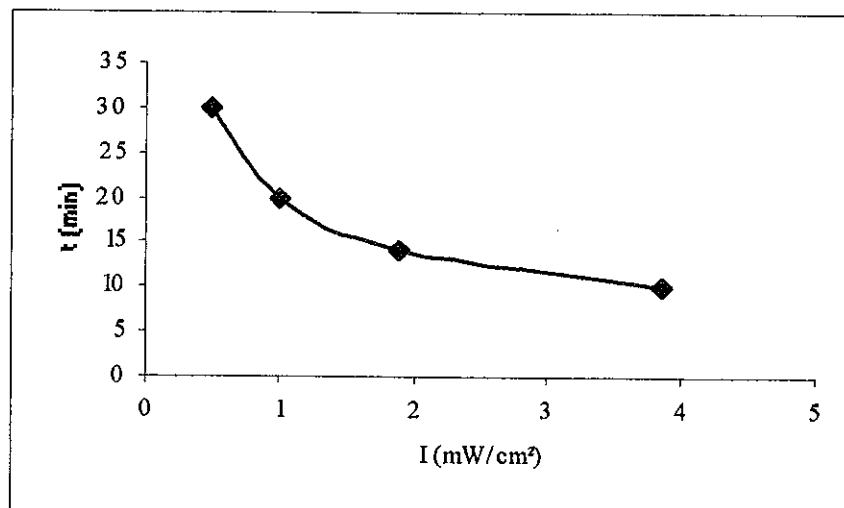


Figure 21. Temps nécessaire pour un abattement bactérien de 10⁶ à 10³ cfu/mL en fonction de l'intensité lumineuse.

Pour des valeurs de l'intensité lumineuse inférieures à 2 mW/cm², le temps nécessaire pour inactiver *E-coli* semble être proportionnel à l'intensité lumineuse. Un changement de pente est noté pour les valeurs de l'intensité supérieures à 2 mW/cm², où le temps d'inactivation devient

proportionnel à $I^{1/2}$. L'influence de l'intensité lumineuse a suivi la même tendance en présence de 1,5 g/L de TiO_2 .

9. Effet de l'intensité des rayonnements UV-B et UV-C sur l'inactivation bactérienne

Les courbes relatives à l'inactivation bactérienne aux différentes intensités dans les deux gammes UV-B et UV-C et en présence de 0,25 g/L de TiO_2 sont présentées dans les figures 22 et 23 respectivement. Comme pour les UV-A, l'inactivation bactérienne avec les UV-B est favorisée aux fortes intensités. Toutefois, l'augmentation de l'intensité lumineuse d'un facteur voisin de 2 (de 4,3 à 8,2 mW/cm^2) n'améliore pas l'efficacité de l'inactivation. La comparaison de l'efficacité photocatalytique aux différentes intensités des irradiations après 20 min de phototraitement d'une suspension bactérienne à 10^6 cfu/L est présentée sur la figure 24. Il apparaît clairement, à ce niveau de l'expérience, que l'augmentation de l'intensité de 4,3 à 8,2 mW/cm^2 n'améliore que faiblement le temps d'inactivation des microorganismes. L'abattement bactérien total est obtenu après un temps d'irradiation photocatalytique de 53 ± 7 min. Une période d'induction de 10 min est notée pour la plus faible intensité, 0,8 mW/cm^2 , ce qui s'explique par une plus grande efficacité des mécanismes de défense et de réparation. Enfin, les courbes d'inactivation photocatalytique sont comparées à la courbe d'inactivation photolytique, où apparaît clairement l'apport positif de TiO_2 pour le processus de désinfection.

Trois intensités ont été considérées dans le domaine des UV-C. L'influence de l'intensité des irradiations dans cette gamme est moins évidente que dans les précédentes. En effet, l'augmentation de l'intensité d'irradiation de 3,59 à 13,86 mW/cm^2 , n'a pratiquement aucun effet. Le temps nécessaire pour l'inactivation totale est de 20 min dans les deux cas. La plus faible intensité, 1,84 mW/cm^2 , permet d'éliminer totalement *E-coli* en 90 min alors qu'une intensité équivalente en UV-B (2,1 mW/cm^2) n'arrive à ce résultat qu'après 200 min de traitement photocatalytique. Il semble donc que les rayonnements UV-C gardent leur puissant potentiel bactéricide malgré leur faible intensité, étant donné leur nature très énergétique. Aucune période d'induction à l'inactivation n'a lieu. Des résultats similaires sont obtenus pour la concentration de TiO_2 égale à 1,5 g/L. Il faut cependant noter que la présence du photocatalyseur diminue l'inactivation de la bactérie, ce phénomène provient d'un effet écran.

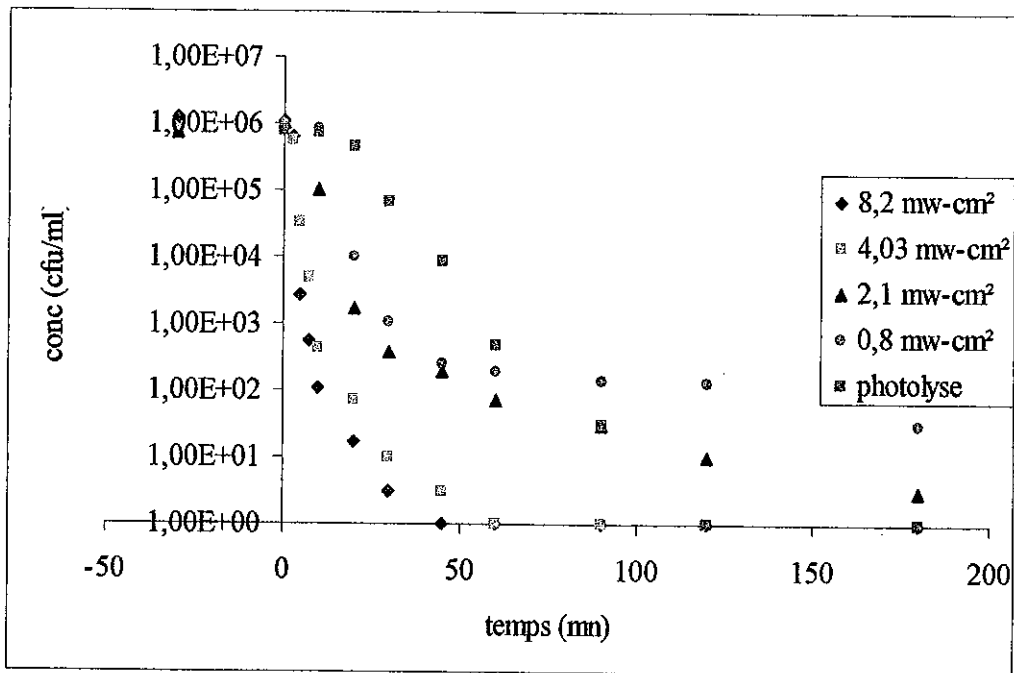


Figure 22. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* à différentes intensités des rayonnements UV-B en présence de 0,25 g/L.

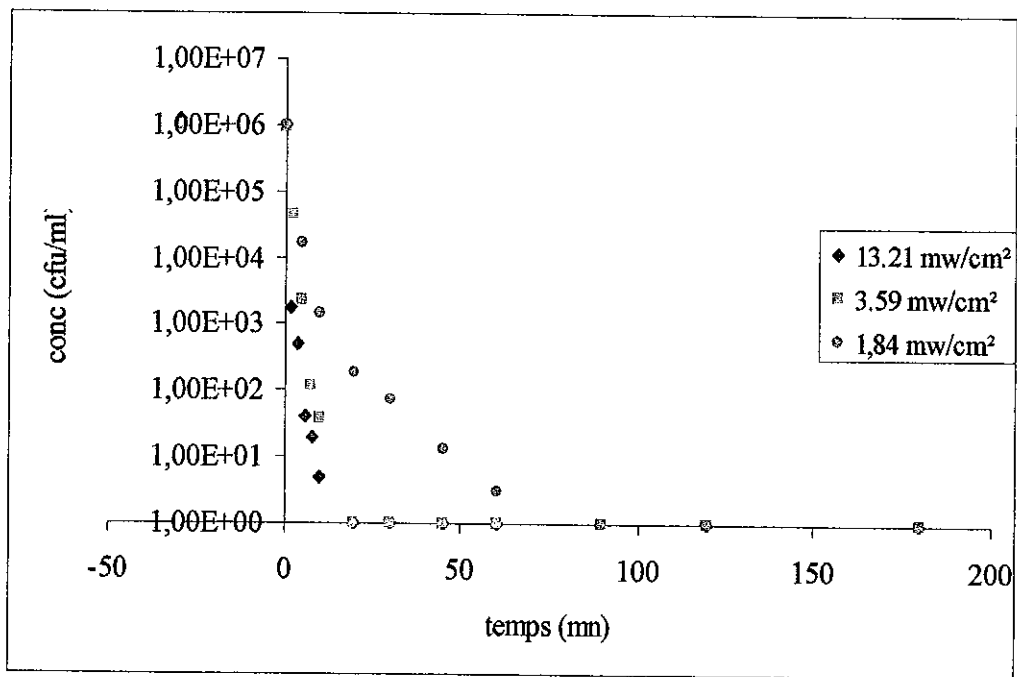


Figure 23. Inactivation photocatalytique d'*E-coli* à différentes intensités des rayonnements UV-C en présence de 0,25 g/L.

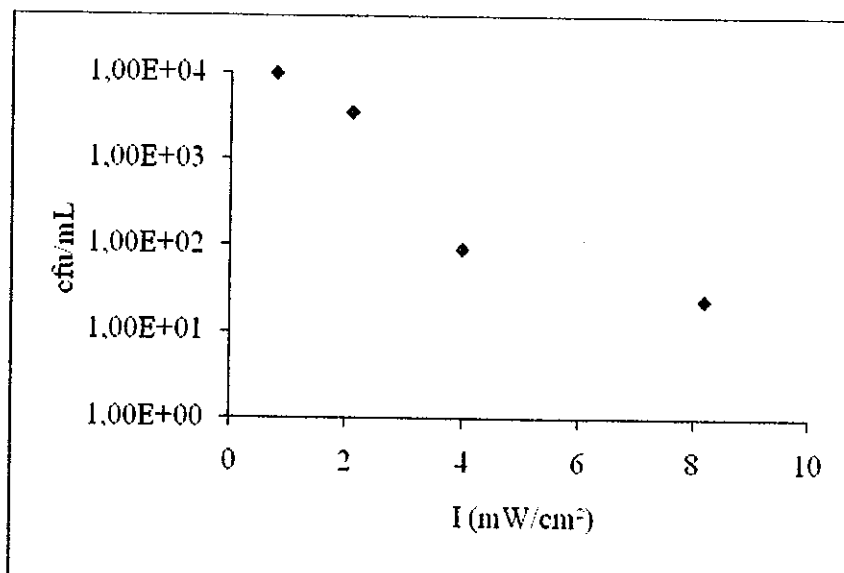


Figure 24. Concentration des bactéries restantes après 20 min de traitement en UV-B avec des intensités égales à 0,8, 2,1, 4,03 et 8,2 mW/cm²

10. Durabilité du traitement photocatalytique

L'élimination photolytique ou photocatalytique d'*E-coli*, avec succès, ne suffit pas pour considérer cette technique apte à être utilisée dans les opérations de désinfection. Contrairement à des composés organiques, les bactéries sont des êtres vivants et possèdent la capacité de réparer les dommages qui leur sont induits lors de traitement associant le TiO₂ aux irradiations. Ainsi, une fois replacés dans des conditions moins agressives, les microorganismes peuvent retrouver leur capacité de croissance, recontaminant l'eau traitée et rendant le procédé totalement inapproprié.

Des tests de durabilité du traitement photocatalytique sont effectués. Les suspensions irradiées photocatalytiquement jusqu'à absence de détection de colonies sont réintroduites dans des béciers stériles, et agitées magnétiquement pendant 48 heures à partir de l'inactivation totale.

Des prélèvements à intervalles réguliers sont effectués, étalés sur des boîtes pétris LB et incubés à 37°C durant 1 nuit. Les concentrations sont déterminées par la méthode de dénombrement.

Le test de durabilité du traitement n'a pas été réalisé pour l'inactivation photolytique par les UV-A puisque aucune inactivation n'a eu lieu par cette méthode. En revanche, aucune croissance bactérienne n'a été observée pour tous les autres systèmes étudiés (UVB, UVC, UVA/TiO₂, UVB/TiO₂ et UVC/TiO₂). Ce résultat indique que les EROs développés à la surface du dioxyde de titane causent des dommages sévères ne permettant aucune nouvelle croissance bactérienne.

Compte tenu des résultats obtenus en présence des différentes gammes de flux lumineux, l'utilisation du procédé photocatalytique dans un but de désinfection serait intéressante en utilisant l'énergie solaire.

11. Désinfection de l'eau en utilisant les photosensibilisateurs et l'argile pontée avec le titane

11.1 Désinfection par photosensibilisateurs

Les matériaux préparés par C. Cantau (Laboratoire de Chimie Théorique et Physico-Chimie Moléculaire. Pau – France) dont la synthèse est présentée dans le chapitre III sont testés dans la désinfection de l'eau. Ces matériaux ont déjà été utilisés avec succès dans la dépollution de l'eau chargée en composés chimiques. Ils peuvent représenter une alternative à TiO_2 puisqu'ils présentent le grand avantage de s'activer dans le visible. Pour éviter de détruire les photosensibilisateurs par les puissants rayonnements UV-B et UV-C, la gamme de rayonnements utilisés pour activer ces composés est réduite aux seuls UV-A et Vis. Le protocole opératoire est identique à celui utilisé avec le dioxyde de titane, seul le photocatalyseur change.

11.1.1 Irradiation d'*E-coli* en présence de silice.

Les photosensibilisateurs étant incorporés dans une matrice silice, il était nécessaire de tester le matériau hôte pour vérifier son inertie vis-à-vis des microorganismes. 2,5 g/L de silice sont introduit dans les suspensions d'*E-coli* de concentration comprise entre 10^5 et 10^6 cfu/mL. Les suspensions sont irradiées avec des rayonnements UV-A d'intensité égale à $3,85 \text{ mW/cm}^2$. Des prélèvements à intervalles réguliers sont effectués et dosés par la méthode de dénombrement. La courbe relative à l'irradiation d'*E-coli* en présence de silice est présentée sur la figure 25.

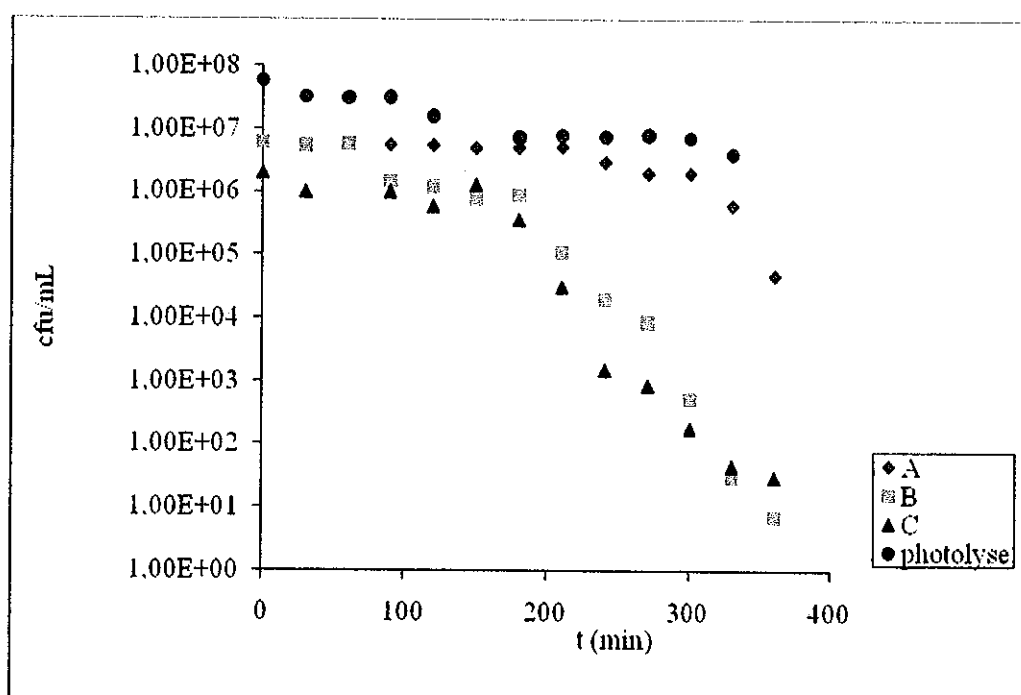


Figure 25. Irradiation d'*E-coli* en présence de 2,5 g/L de silice.

Un surprenant résultat est obtenu: il y a bien une inactivation bactérienne en présence de silice seule. Les trois courbes sur la figure 25 représentent des reproductibilités du test d'inactivation bactérienne en présence de silice, les deux derniers (B et C) sont très comparables, la population

bactérienne décroît de 10^6 - 10^7 cfu/mL à un niveau non détectable après 360 min d'irradiation avec les UV-A. Ce résultat serait dû à la capacité de concentration de la silice. Les microorganismes peuvent venir se concentrées autour des agrégats de silice, ce qui les rendraient plus vulnérables aux irradiations.

11.1.2 Irradiation d'*E-coli* en présence de matériaux photosensibilisateurs

Les molécules photosensibilisatrices utilisées sont introduites dans les matrices à base de silice, la synthèse des matériaux est détaillées dans le chapitre III (Les photosensibilisateurs).

Les molécules utilisées sont :

- Le DCA (9,10-dicyanoanthracène) : photosensibilisateur cyanoaromatique présentant l'avantage d'absorber dans le visible, son incorporation dans la silice donne le matériau PS5,
- Le 9,10-anthraquinone 2-carboxylique acide ou ANT : photosensibilisateur absorbant également dans le visible. Il est greffé sur des grains de silice commerciale, il est noté PS6,
- Le 4-BB (acide 4-benzoyl benzoïque) : photosensibilisateur commercial dérivé de la benzophénone. Il est actif sous irradiation à 350 nm. Le matériau à base de ce photosensibilisateur est le PS4,
- Le DBDCA : C'est un photosensibilisateur obtenu en laboratoire, il dérive du DCA. Le dépôt de brevet relatif à sa sythèse empêche de communiquer toute information concernant cette molécule. Ce photosensibilisateur étant introduit dans la silice de différentes manières, il donne différents matériaux : PS1 (inclusion dans la matrice), PS2 (greffage), PS3 (adsorption).

Les photosensibilisateurs sont introduits dans les suspensions d'*E-coli* à une concentration de 2,5 g/L, les concentrations initiales des bactéries sont comprises entre 10^5 et 10^6 cfu/mL, la durée d'irradiation des échantillons s'étend entre 0 et 360 min. les courbes d'inactivation d'*E-coli* par les photosensibilisateurs sont présentées sur la figure 26.

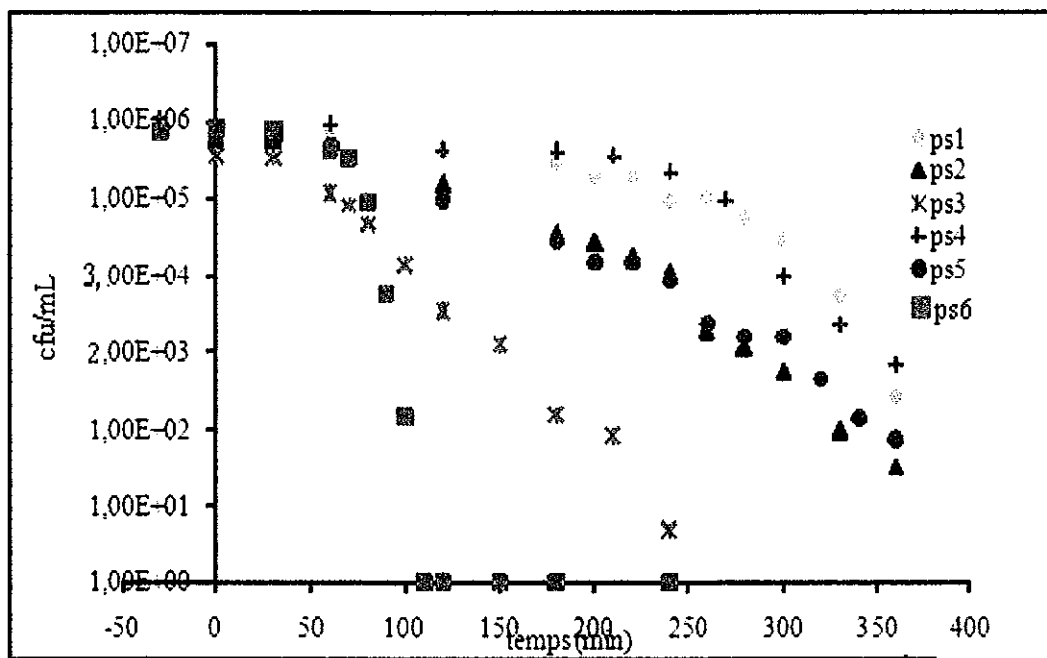


Figure 26. Inactivation d'E-coli par les photosensibilisateurs dans la gamme des UV-A, à une intensité de 3,85 mW/cm².

L'efficacité des photosensibilisateurs à inactiver *E-coli* est très variable et dépend de la nature de la molécule photosensibilisatrice introduite dans la matrice silice. Le retard à l'activation de ces matériaux constitue la principale différence par rapport à TiO₂. Si l'action de ce dernier est plus ou moins immédiate à partir de l'irradiation, les photosensibilisateurs ne commencent à inactiver les microorganismes qu'après une longue période d'induction. Dans le meilleur des cas, cette période est de 30 min pour le photosensibilisateur silice-DBDCA (PS3). Le matériau à base d'anthraquinone (PS6) a une période d'induction plus longue : 60 min, mais devient plus efficace une fois activé. La concentration bactérienne décroît au dessous d'un seuil non détectable après 110 min d'irradiation en présence du PS6 contre 240 min pour le PS3. Les autres photosensibilisateurs (PS1, PS2, PS4 et PS5) se caractérisent par des périodes d'induction encore plus longues sans arriver à totalement inactiver les microorganismes. Le tableau 3 résume les efficacités des différents photosensibilisateurs.

Mat.	Structure des photosensibilisateurs	Période d'induction (min)	Temps pour l'inactivation totale (min)	[E-coli] restante cfu/mL
PS1	SG0-DBDCA	120	Non atteint après 360 min de réaction	280
PS2	SG2-DBDCA	120	Non atteint après 360 min de réaction	33
PS3	SiNH ₂ -DBDCA	30	240	5
PS4	SG2-4BB	120	Non atteint après 360 min de réaction	700
PS5	SG0-DCA	120	Non atteint après 360 min de réaction	75
PS6	SiO ₂ -ANT	60	110	0

Tableau 3. Efficacités des photosensibilisateurs testés.

Les longues périodes d'induction peuvent être expliquées en combinant différentes raisons :

- La nature du photosensibilisateur : les capacités des photosensibilisateurs à générer l'oxygène singulet sont différentes. Il semble que les PS6 et PS3 sont ceux qui produisent le plus de cette ÉRO.
- Le mode de liaison photosensibilisateur- silice
 Les molécules sont introduites dans la matrice silice de différentes manières : adsorption (PS1 et PS5), liaison chimique photosensibilisateur-silice (PS2 et PS4) et enfin greffage du photosensibilisateur à la surface du matériau (PS3 et PS6). Il semble que le dernier mode d'introduction soit le plus efficace, puisque ce sont les matériaux qui donnent les meilleurs résultats. Contrairement aux autres matériaux, dans les PS3 et PS6, les molécules photosensibilisatrices sont à l'extérieure de la silice et par conséquent plus accessibles aux microorganismes. L'¹O₂ formé parvient plus facilement aux microorganismes pour les inactiver.
- Condition d'adsorption des microorganismes sur les matériaux :
 La courte durée de vie du radical ¹O₂ qui est de seulement 3 à 5 µs dans l'eau ne lui permet de parcourir que de très faibles distances ne dépassant pas les 0,1 µm [29]. Cela suggère donc que les microorganismes doivent prendre le temps de diffuser vers les particules de silice pour se trouver intimement liés au matériau et permettre à l'¹O₂ formé d'atteindre ces cibles. Etant contenus dans la matrice silice, les photosensibilisateurs PS1, PS2, PS4 et PS5 ne seraient

pas en contact direct avec *E-coli*. La silice peut, dans ce cas, jouer un rôle de barrière gênant l'acheminement du radical $^1\text{O}_2$ vers ces cibles, même en cas d'adsorption des microorganismes à la surface de la silice. Une comparaison de l'efficacité des photosensibilisateurs supportés ou non a montré que l'inactivation bactérienne est plus rapide en milieu homogène [30] qu'en milieu hétérogène [31].

- Les photosensibilisateurs utilisés génèrent, comme EROs, quasi exclusivement de $^1\text{O}_2$. Or il est rapporté dans la littérature que le radical OH° est l'espèce réactive de l'oxygène la plus puissante [32]. L'absence de cette dernière peut expliquer l'inactivation ralentie d'*E-coli* par les photosensibilisateurs. De plus, l'inactivation bactérienne par $^1\text{O}_2$ nécessite plusieurs attaques de ce radical avant de pouvoir sérieusement endommager la membrane externe de la bactérie [33, 34, 30] compromettant ainsi sa perméabilité et les fonctions vitales qui ont lieu dans ce compartiment bactérien.
- Un éventuel mécanisme de défense chez *E-coli* 1273 contre $^1\text{O}_2$:
Ceci est envisageable par la présence dans certains microorganismes de caroténoïdes qui contribuent à piéger et à annuler l'effet de l'oxygène singulet. Dans leur étude sur l'inactivation de bactéries à gram+ et gram- par $^1\text{O}_2$, T.A. Dahl et al [35] remarquent une meilleure résistance des souches synthétisant des caroténoïdes. Ces composés se localisent dans la membrane bactérienne (particulièrement dans les phospholipides bactériens) ce qui constitue un emplacement idéal pour défendre le microorganisme puisque la première cible des EROs est la membrane. Des souches *E-coli* produisant différents caroténoïdes ont été testées quant à la résistance à $^1\text{O}_2$ [35]. Il apparaît alors que les bactéries contenant des caroténoïdes cycliques sont mieux protégées que celles contenant des caroténoïdes acycliques. Le lycopène s'est révélé comme le plus efficace des caroténoïdes cycliques suivi par le zeaxanthin et enfin le β -carotène.

11.1.3 Effet de la concentration en PS6 sur l'inactivation bactérienne

Le photosensibilisateur PS6 qui a donné les meilleurs résultats est testé à deux concentrations : 0,25 et 2,5 g/L. la concentration des suspensions bactérienne est comprise entre 10^6 et 10^7 cfu/mL.

Les courbes d'inactivation d'*E-coli* aux deux concentrations de PS6 sont données dans la figure 27.

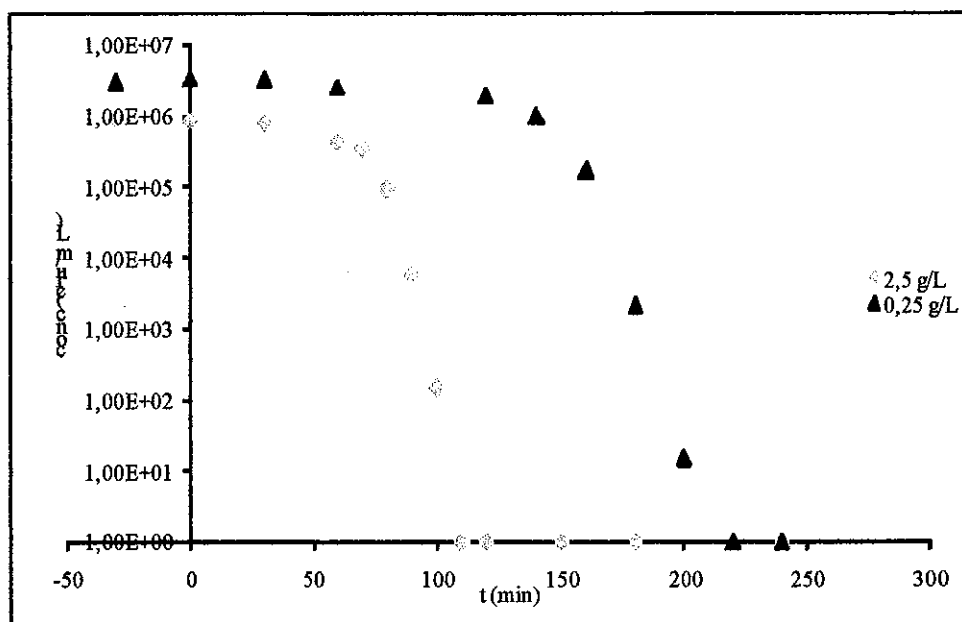


Figure 27. Inactivation d'*E-coli* [10^6 - 10^7 cfu/mL] en présence de PS6 à 0,25 et 2,5 g/L.

Contrairement à TiO_2 , la diminution de la quantité de photosensibilisateur influe négativement sur le processus d'inactivation. Il semble que la vitesse d'inactivation est proportionnelle à la quantité de photosensibilisateur engagée dans le processus. L'augmentation de la concentration du matériau bactéricide ne provoque donc pas d'effet écran. Le temps d'inactivation totale passe de 110 min en présence de PS6 à 2,5 g/L à 220 min pour une concentration 10 fois plus importante en matériau.

11.1.4 Effet de la concentration en anthraquinone dans le PS6

E-coli est inactivée en présence de matériaux photosensibilisateurs PS6 à différents taux d'anthraquinone. En plus du PS6 utilisé précédemment et contenant $2,8 \cdot 10^{-4}$ mol/g d'anthraquinone, deux autres matériaux notés PS6+ et PS6- sont utilisés qui contiennent respectivement $3,74 \cdot 10^{-4}$ et $1,3 \cdot 10^{-5}$ mol/g d'anthraquinone. Les courbes d'inactivation des microorganismes en présence de ces matériaux sont présentées sur la figure 28.

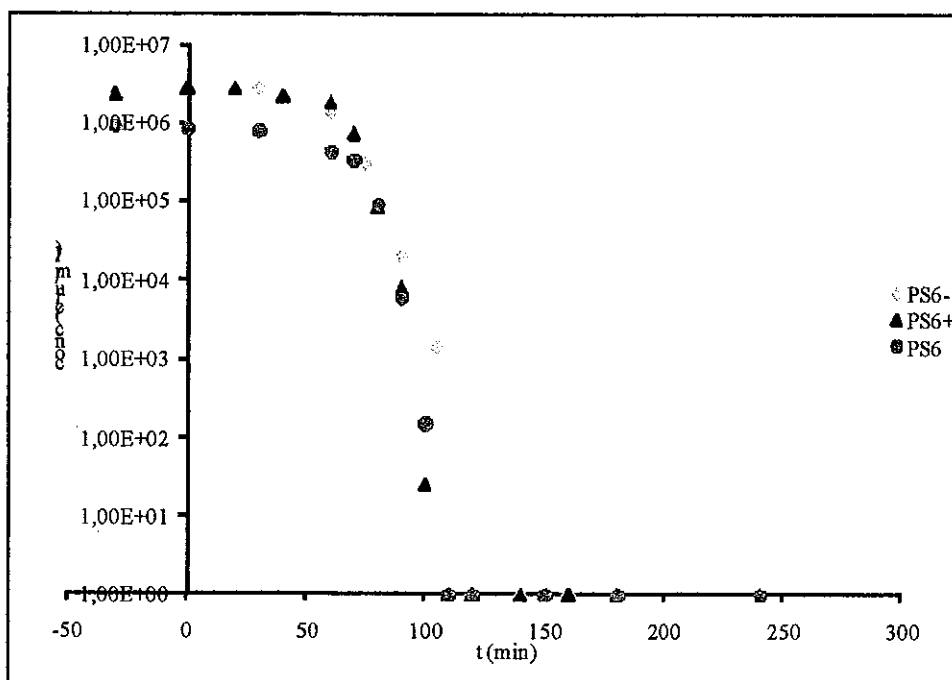


Figure 28. Inactivation d'E-coli en présence de matériaux à différents taux d'antraquinone.

Les temps d'inactivation totale restent du même ordre de grandeur, 110 min, quel que soit le matériau irradié. Le matériau PS6- contenant une quantité en anthraquinone plus de 20 fois inférieure à celle présente dans le PS6 a le même pouvoir bactéricide que les matériaux PS6 et PS6+. Il semble que la concentration $1,3 \cdot 10^{-5}$ mol /g en anthraquinone constitue déjà une concentration optimale pour inactiver les microorganismes.

11.1.5 Effet de la longueur d'onde des radiations utilisées

Les photosensibilisateurs PS3 et PS6 sont activés dans le domaine du visible avec des rayonnements de longueur égale > 400 nm. Les concentrations initiales des suspensions bactériennes sont de $3,3 \cdot 10^6$ cfu/mL avec le PS6 et $7,5 \cdot 10^5$ cfu/mL avec le PS3, les courbes d'inactivation d'E-coli dans ces conditions sont représentées dans la figure 29. L'activation des photosensibilisateurs dans le visible permet d'obtenir une inactivation bactérienne. Cependant l'efficacité des matériaux décroît en passant de la gamme UV-A à la gamme Vis. Les tableaux 4 et 5 donnent une comparaison entre l'efficacité bactéricide des matériaux PS3 et PS6 dans les domaines UV-A et Vis.

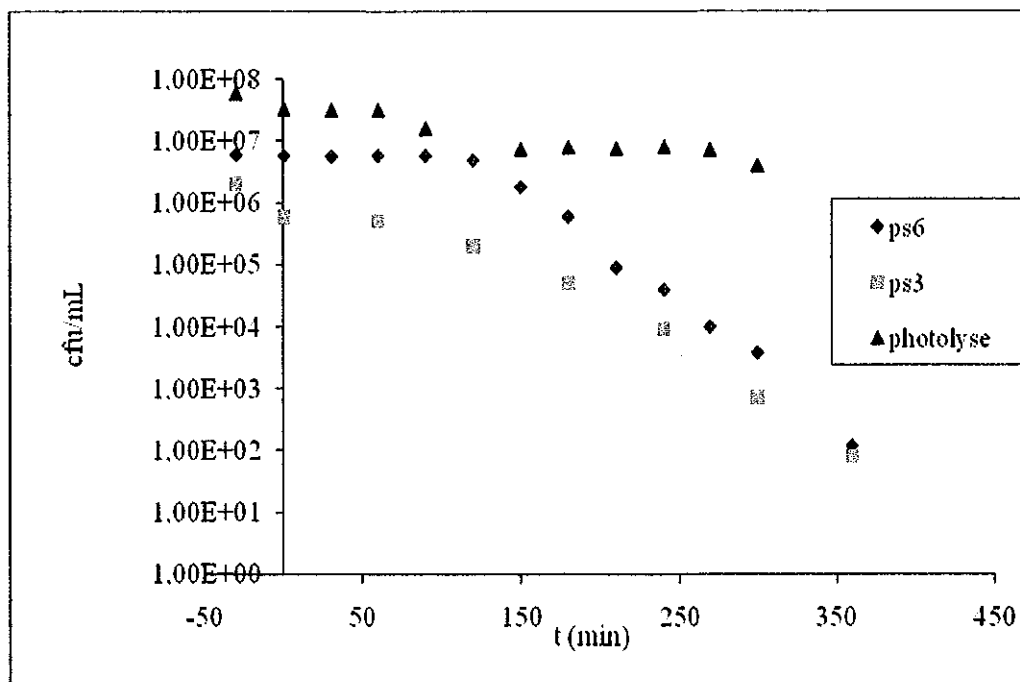


Figure 29. Inactivation d'E-coli avec les photosensibilisateurs PS3 et PS6 dans le visible $\lambda > 400$ nm.

	[E-coli] _i Cfu/mL	[E-coli] _f Cfu/mL	Période d'induction (min)	t de réaction min	Facteur d'abattement [E-coli] _i /[E-coli] _{6h}
UV-A	3,7 10 ⁵	5	30	240	74 10 ³
Vis	7,5 10 ⁵	70	120	360	6 10 ³

Tableau 4. Comparaison entre l'efficacité du PS3 dans les domaines UV-A et Vis.

	[E-coli] _i Cfu/mL	[E-coli] _f Cfu/mL	Période d'induction (min)	t de réaction min	Facteur d'abattement [E-coli] _i /[E-coli] _{6h}
UV-A	10 ⁶	0	60	110	-
Vis	3,3 10 ⁶	180	150	360	18,3 10 ³

Tableau 5. Comparaison entre l'efficacité du PS6 dans les domaines UV-A et Vis.

Dans le visible, les périodes d'induction sont plus longues et les inactivations totales ne sont pas encore atteintes après six heures. En utilisant le PS6, le temps d'inactivation totale passe de 110 min dans l'UV-A à 360 min dans le visible où il reste 180 cfu/mL après six heures. Avec le PS3, il reste 5 cfu/mL après 240 min d'irradiation dans l'UV-A contre 70 cfu/mL après 360 min d'irradiation dans le visible. Toute fois, même si les résultats dans le visible restent inférieurs à ceux dans l'UV-A, il est clair que ces matériaux ouvrent une voie à leur application dans la désinfection utilisant les rayonnements solaires.

11.1.6 Comparaison de l'efficacité de l'inactivation photocatalytique d'*E-coli* en présence du TiO_2 ou des photosensibilisateurs

L'efficacité de l'inactivation photocatalytique utilisant les photosensibilisateurs ou le dioxyde de titane, a été comparée. Les résultats de l'inactivation d'*E-coli* obtenus avec le photosensibilisateur PS6, seront comparés à ceux obtenus avec TiO_2 . La figure 30 représente les courbes d'inactivation bactérienne en présence du photosensibilisateur PS6 à 2,5 g/L et le TiO_2 à 0,25 g/L pour une population bactérienne initiale égale à environ 10^6 cfu/mL. La principale différence entre les deux photocatalyseurs réside dans le temps d'activation de chacun. Alors que le PS6 a une période de latence de 60 min comme décrit précédemment, l'action du TiO_2 , elle, est immédiate. L'inactivation totale est atteinte après 90 min d'irradiation en utilisant les deux catalyseurs. Une fois activé, le photosensibilisateur n'a besoin que de 30 min pour diminuer la population bactérienne à un niveau non détectable (de 60 à 90 min). Le dioxyde de titane quant à lui à une action sur l'ensemble des 90 min d'inactivation bactérienne.

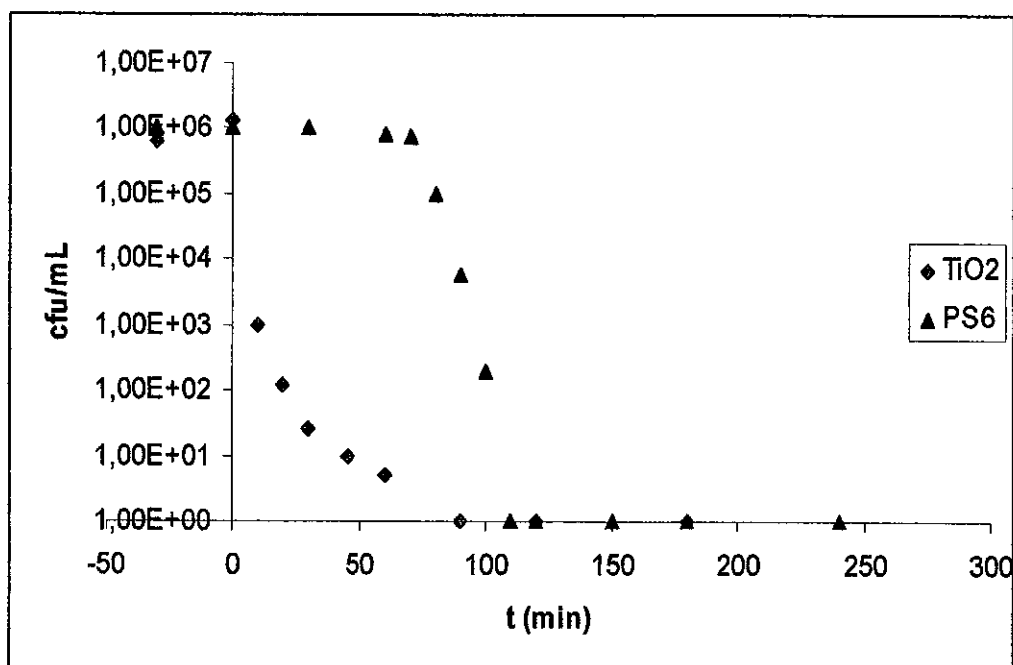


Figure 30. Comparaison de l'efficacité de l'inactivation photocatalytique d'*E-coli* en présence du TiO_2 ou des photosensibilisateurs.

11.2 Désinfection en utilisant l'argile pontée avec le titane

L'argile pontée avec le titane dont la préparation est présentée dans le chapitre II est utilisée dans les expériences pour tester son éventuel pouvoir bactéricide.

L'argile pontée avec le titane est introduite à trois concentrations 2,5, 1,5 et 0,25 g/L dans 20 mL de suspensions bactériennes de concentration comprise entre 10^5 et 10^6 cfu/mL. Les suspensions sont irradiées par des rayonnements UV-A d'intensité égale à $3,85 \text{ mW/cm}^2$. Comme nous pouvons le remarquer sur la figure 31, il n'y a pas d'inactivation bactérienne par photocatalyse à base d'argile pontée avec le titane.

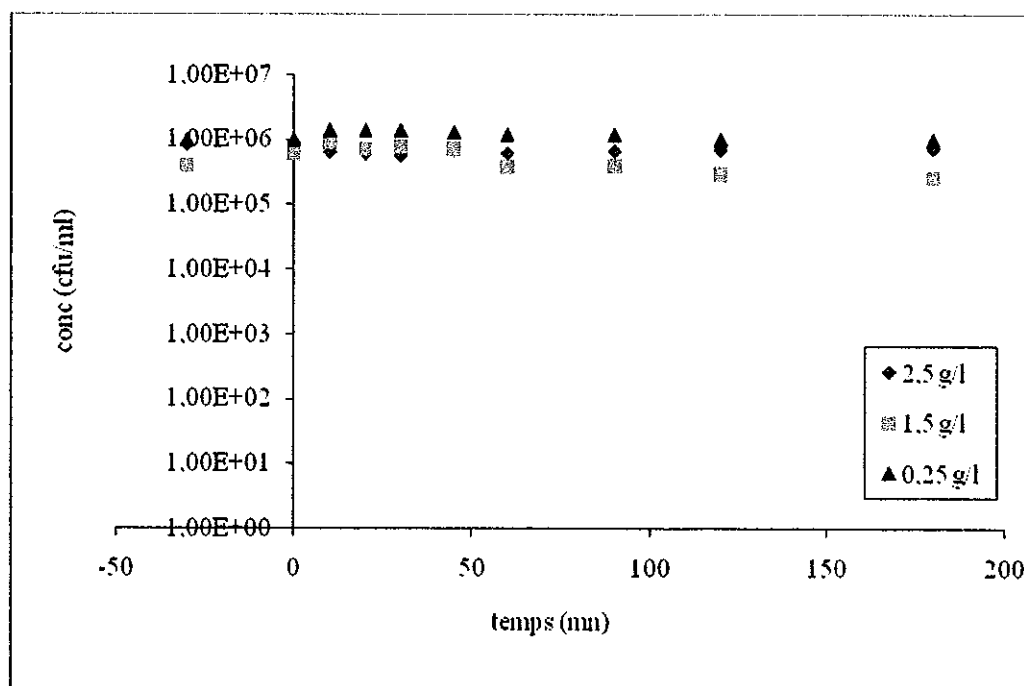


Figure 31. Inactivation d'*E-coli* par photocatalyse à base d'argile pontée avec le titane.

Différentes argiles : smectite, montmorillonite, saponite ont été pontées avec le titane et utilisées pour dégrader les composés organiques liquide ou gazeux avec succès. C. Ooka et al [36] ont dégradé le toluène, l'éthylène, le trichloréthylène et l'éthanol dans une atmosphère humide en utilisant une montmorillonite, une saponite et une fluorine-mica modifiées par pontage avec le titane. Grâce à leur capacité élevée d'adsorption, les matériaux à base d'argile améliorent la vitesse de dégradation par rapport à celle observée avec TiO_2 . Une smectite a également été modifiée par l'argent, le zinc, le titane, et par le mélange zinc/argent [37] et utilisée pour dégrader le 4-chlorophénol. L'argile contenant le titane à un pourcentage de 0,06% a été la plus efficace et a éliminé le polluant à 100%. Du benzène et du cyclohexane ont également été dégradés avec des argiles pontées avec le titane [38]. Ceci n'est pas le cas pour les microorganismes.

Les composés organiques sont de très petite taille, ce qui leur permet de diffuser dans les particules argileuses et d'être en contact avec les cristallites de TiO_2 formés dans l'espace inter feuillet argileux.

Une fois irradiée, le transfert d'électron entre les cristallites de TiO_2 et le polluant adsorbé sur l'argile peut avoir lieu plus ou moins aisément permettant d'avoir une dégradation photocatalytique.

En revanche, les microorganismes sont de taille plus grande que les composés organiques et que les particules des argiles pontées. La taille des pores dans ces matériaux varie entre 37 et 41 Å [39] alors que la taille des bactéries se situe entre 1 et 5 µm. Les microorganismes ne pouvant être en contact direct avec les cristallites de TiO_2 dans l'argile, il ne peut y avoir de transfert d'électron pour dégrader les bactéries.

Dans notre expérience, la concentration bactérienne ne diminue pratiquement pas pour les trois concentrations en A-Ti utilisée. En plus de ne pas dégrader les microorganismes, l'A-Ti joue un rôle protecteur pour *E-coli* en empêchant les rayonnements UV-A d'arriver facilement jusqu'à la surface bactérienne. O Seven et al ont utilisé pour dégrader un groupe de bactéries et de champignons [40] le TiO_2 , le ZnO et la poussière du désert du Sahara. Ce dernier matériau, comme les argiles, ne donne pas lieu à des inactivations de microorganismes. Il contient des espèces oxydantes telles que Fe_2O_3 , ZnO... mais aussi des espèces organiques qui peuvent jouer le rôle de fertilisant pour les microorganismes.

Références

- [1] A. Bakhti, thèse de magister, USTOran (1997).
- [2] F. Belkhadem, A. Maldonado, B. Siebenhaar, J.-M. Clacens, M.J. Perez Zurita, A. Bengueddach, F. Figueras, *Appl. Clay Sci.* (2007), doi:10.1016/j.clay.2007.04.005
- [3] O. Bouras, Thèse, *N° d'ordre : 02 – 2003*, Propriétés adsorbantes d'argiles pontées organophiles: Synthèse et caractérisation. Université de Limoges, Fac. des Sciences et Techniques. Ecole Doctorale Sciences Technologie et Santé.
- [4] N.N. Binitha, S. Sugunan, *Microporous and Mesoporous Materials* 93 (2006) 82–89.
- [5] L. Khalfallah Boudali, A. Ghorbel, D. Tichit, B. Chiche, R. Dutartre and F. Figueras *Microp. Mat.*, 6,(1994), 537-541
- [6] R. Kun, K. Mogyorósi, I. Dékány, *Applied Clay Science* 32 (2006) 99–110.
- [7] C. Ooka, H. Yoshida, K. Suzuki, T. Hattori. *Micropor. and Mesopor. Mat.* 67 (2004) 143.
- [8] C. Ooka, H. Yoshida, K. Suzuki, T. Hattori. *Applied Catalysis A: General* 260 (2004) 47.
- [9] C. Ooka, H. Yoshida, M. Horio, K. Suzuki, T. Hattori. *Applied Catalysis B: Environmental* 41 (2003) 313.
- [10] A. Haouzi, thèse de doctorat, Univ. Montpellier II (1997).
- [11] V. Latour-Caturla, Elaboration, caractérisation et mise en oeuvre pour la décontamination d'effluents gazeux, de matériaux photocatalytiques originaux à base de photosensibilisateurs supportés, Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour (2004).
- [12] V. Latour, T. Pigot, H. Cardy, M. Simon, S. Lacombe, *Photochem. Photobiol. Sci.* 4 (2005) 221.
- [13] M. Watanabe, S. M. Houten, C. Mataka, M. A. Christoffolete, B.W. Kim, H. Sato, N. Messaddeq, J. W. Harney, O. Ezaki, T. Kodama, K. Schoonjans, A.C. Bianco and J. Auwerx. *Nature*, 439 (26 January 2006) 484
- [14] G. Gogniat, M. Thyssen, M. Denis, C. Pulgarin and S. Dukan. *FEMS Microbiol Lett* 258 (2006) 18.
- [15] C. Guillard, T.-H. Bui, C. Felix, V. Moules, B. Lina, P. Lejeune. *Comptes Rendus Chimie*, 11(2008)107.
- [16] T. Matsunaga, R. Tomada, Y. Nakajima, N. Nakamura and T. Komine. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (1988) 1330.
- [17] Kikuchi, Y., K. Sunada, et al. *J. of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 106 – (1997) 51.
- [18] S. Kim, M. Nishioka, et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (2005) 2762.

- [19] S. Y. Kim, M. Nishioka, et al. FEMS Microbiology Letters 236 (2004) 109.
- [20] G. GOGNIAT, mécanismes d'action du TiO₂ Illuminé sur *escherichia coli*. Thèse N°3578 (2006). Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne.
- [21] O. Legrini, E. Oliveros, M.A. Braun, Chem. Rev. 93 (1993) 671.
- [22] E. Nebot Sanza, I. Salcedo Davila, J.A. Andrade Balao, J.M. Quiroga Alonso. Wat. Res. 41 (2007) 3141 – 3151.
- [23] D. Bahnemann, D. Bockelmann, R. Golish, Sol. Energy Mater. 24 (1997) 564.
- [24] M. Bekbolet, Water Sci. Technol. 35 (1997) 95.
- [25] C. Min, C. Hyenmi, C. Wonyong, Y. Jeyong, Water Res. 38 (2004) 1069.
- [26] A.G. Rincon, C. Pulgarin, Appl. Catal. B: Environ. 44 (2003) 263.
- [27] J.M. Herrmann, Catal. Today 53 (1999) 115.
- [28] A.B. Britt, Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 47 (1996) 75.
- [29] T.A. Dahl, in: G.R. Melz, R.G. Zepp, D.G. Crosby (Eds.), Aquatic and Surface Photochemistry, CRC Press, Boca Raton, 1994, p. 241.
- [30] M. Schafer, C. Schmitz, R. Facius, G. Horneck, B. Milow, K.H. Funken, J. Ortner, Photochem. Photobiol. 71 (2000) 514.
- [31] L. Villén, F. Manjon, D. Garcia-Fresnadillo, G. Orellana. Applied Catalysis B: Environmental 69 (2006) 1.
- [32] M. Cho, H. Chung, W. Choi and J. Yoon. Water Research 38 (2004), 1069.
- [33] T.A. Dahl, W.R. Midden, P.E. Hartman, J. Bacteriol. 171 (1989) 2188.
- [34] Q. Lin, T. Tsuchido, M. Makano, Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 (1991) 585.
- [35] T. A. Dahl, W. R. Midden, and P.E. Hartman. J. of bacteriology 171 (Avr 1989) 2188.
- [36] C. Ooka, H. Yoshida, K. Suzuki, T. Hattori. Applied Catalysis A: General 260 (2004) 47.
- [37] C-J. Liao, S-L Kuo. J. of the Chinese Institute of Chemical Engineers 38 (2007) 177.
- [38] K-I. Shimizu, T. Kaneko, T. Fujishima, T. Kodama, H. Yoshida, Y. Kitayama Appl.Catal. A: Gen. 225 (2002) 185.
- [39] C. Ooka, H. Yoshida, K. Suzuki, T. Hattori Microp. and Mesop. Mat. 67 (2004) 143.
- [40] O. Seven, B. Dindar, S. Aydemir, D. Metin, M.A. Ozinel, S. Icli J.of Photochem. and Photobiol. A: Chem. 165 (2004) 103.

Conclusion

Conclusion générale

Dans ce travail, nous avons étudié les potentialités de la photocatalyse dans la désinfection des eaux contaminées par une biopollution. Cette dernière est simulée par un microorganisme modèle : *Escherichia-coli*. Les différents paramètres étudiés permettent d'optimiser les conditions générales de la désinfection photocatalytique. Aucune inactivation bactérienne n'a lieu en absence de TiO_2 (photolyse UVA) après 5 heures d'irradiation. Les rayonnements UVB et UVC ont été, quant à eux, nocifs pour les bactéries, les concentrations des microorganismes décroissent jusqu'à un niveau non détectable en 8 et 120 min en utilisant les radiations UVC et UVB respectivement. Cependant, à intensités équivalentes, les rayonnements UVB présentent une efficacité comparable à celle des UVA. Les rayonnements UVC restent très létaux même à faible intensité.

En associant le TiO_2 au rayonnement UVA, nous observons une importante inactivation bactérienne. L'étude de l'effet de la concentration en TiO_2 révèle une meilleure inactivation pour des concentrations en dioxyde de titane de 0,25 g/L. A cette concentration, la population bactérienne décroît à un niveau non détectable après trois heures d'irradiation. Pour cette même durée d'irradiation et pour une concentration dix fois plus importante en TiO_2 (2,5 g/L), il reste environ 10^4 cfu/mL.

Ce résultat suggère un effet écran provoqué par l'excès de TiO_2 . Les particules du dioxyde de titane se déposent sur la paroi bactérienne et forment plusieurs couches empêchant la lumière d'arriver sur le photocatalyseur directement en contact avec la paroi bactérienne. Comparé aux composés organiques, qui requièrent une concentration optimale en TiO_2 , pour leur photodégradation, égale à 2,5 g/L, les microorganismes nécessitent, pour leur inactivation, une concentration en TiO_2 10 fois plus faible quelle que soit la concentration initiale des microorganismes.

En utilisant des rayonnements UVA, UVB et UVC d'intensité équivalente, l'efficacité de l'inactivation photocatalytique avec les UVB est comparable à celle utilisant les UVA. L'efficacité des rayonnements UVC demeure très puissante malgré une intensité lumineuse réduite. La comparaison faite entre les efficacités d'inactivation photolytique et photocatalytique confirme la supériorité du procédé photocatalytique au procédé photolytique en utilisant les rayonnements UVA et UVB. Cette tendance est inversée en présence des rayonnements UVC, dans ce dernier cas la photolyse est plus efficace que la photocatalyse. Les particules de TiO_2 enveloppent la bactérie, et jouent un rôle protecteur. Ce résultat indique alors clairement la possibilité d'utiliser les rayonnements solaire (qui contiennent de 3 à 5% d'UVA) pour une désinfection photocatalytique de l'eau.

L'étude de l'effet de l'intensité lumineuse sur l'inactivation photocatalytique dans les trois domaines UV, montre une amélioration de l'efficacité en augmentant l'intensité. Le temps nécessaire pour atteindre l'inactivation de *E-coli* est directement proportionnel à l'intensité lumineuse jusqu'à environ 2 mW/cm^2 en UVA), puis devient proportionnel à la racine carrée de l'intensité.

La durabilité du traitement photocatalytique est évaluée. Aucune réactivation bactérienne n'a été observée après 48 heures de l'arrêt des irradiations.

D'un point de vue mécanisme, nous nous sommes intéressés à l'effet du TiO_2 sur les microorganismes à l'obscurité. En visualisant *E-coli* sur différents milieux de cultures, il semble que le dioxyde de titane commence à altérer la membrane bactérienne en absence de la lumière et avant l'apparition des espèces réactives de l'oxygène (EROs). Des protéines périplasmiques nécessaires à l'intégrité membranaire pourraient être relarguées et compromettre ainsi la semi perméabilité de la paroi bactérienne. Ces protéines seraient difficilement visualisables dans le surnageant puisqu'elles peuvent s'adsorber sur les particules de TiO_2 . Ce résultat permet de proposer un schéma du processus d'inactivation photocatalytique des microorganismes. L'inactivation bactérienne pourrait se passer en deux étapes :

- La déstabilisation de la membrane bactérienne par TiO_2 dans l'obscurité,
- Attaque, des EROs sur les cibles externes (paroi) qui sont déjà endommagées dans l'obscurité avant d'atteindre les cibles internes (ADN, plasmide...).

Les autres matériaux testés, photosensibilisateurs et argile pontée, ont montré des efficacités de désinfection variables. Les photosensibilisateurs de différentes natures déposés ou inclus dans des gels de silice génèrent des espèces réactives de l'oxygène (notamment $^1\text{O}_2$). Ces matériaux préparés et caractérisés par porosimétrie et spectroscopie DRUV diffèrent selon la nature de la molécule introduite dans le matériau hôte et du mode de fixation (inclusion ou déposition).

Mais le résultat le plus surprenant est celui de l'inactivation bactérienne en présence de silice seule. En effet ce matériau hôte a eu un effet sur les microorganismes : leur inactivation a bien eu lieu après 6 heures d'irradiation en UVA.

Comparés au TiO_2 ces matériaux se caractérisent par une longue période d'induction. Leur action n'est pas immédiate comme dans le cas du dioxyde de titane. Ce résultat est attribué à l'absence, dans le cas des photosensibilisateurs, de l'espèce réactive de l'oxygène la plus puissante : le radical hydroxyle et à des mécanismes de défenses bactériens performants contre l'oxygène singulet. Le mode d'introduction de ces molécules dans le matériau hôte a un effet important sur l'efficacité de l'inactivation. Selon que la molécule photosensibilisatrice est greffée à la surface ou à l'intérieur du grain de silice, le matériau a plus ou moins d'efficacité contre les microorganismes. Parmi toutes les molécules testées, l'anthraquinone est celle qui donne l'inactivation photocatalytique d'*E-coli* la plus importante. L'efficacité des photosensibilisateurs a également été évaluée en utilisant la lumière visible. Bien que très faible, cette activation dans le visible conduit à la désinfection indiquant que leur utilisation dans la désinfection solaire pourrait être envisagée.

L'argile pontée avec le titane a été caractérisée à l'aide de la diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge et l'analyse BET. Les rayons X montrent pour cette argile un écartement de feuillet atteignant les 115\AA , la structure du matériau est toutefois très altérée comme observé par DRX et IR.

L'altération de la couche octaédrique est attribuée à la très forte acidité de la solution de pontage utilisée. L'efficacité de ces argiles pontées pour inactiver E-coli est négligeable dans nos conditions expérimentales. Si la littérature rapporte des résultats positifs pour l'argile pontée avec le titane dans la dégradation photocatalytique de composés organiques, il semble que ce n'est pas le cas vis à vis des microorganismes. L'argile peut contenir de la matière organique qui peut jouer le rôle de fertilisant et permettre aux microorganismes de résister aux irradiations. De plus, ce matériau peut absorber une partie des rayonnements UV qui ne sont plus disponibles pour activer les phases de TiO_2 qui se sont formées lors du pontage. L'absence d'efficacité dans l'inactivation d'E-coli peut également être attribuée à la taille des microorganismes qui ne peuvent pas rentrer en contact avec TiO_2 intercalé.

L'efficacité du processus de désinfection photocatalytique ayant été confirmée, son utilisation peut être envisagée non seulement pour la stérilisation et la potabilisation de l'eau, mais aussi pour la désinfection de surfaces contaminées par des biofilms.

Ces travaux de thèse ont montré que le procédé photocatalytique est un procédé intéressant pour désinfecter l'eau en utilisant les UV-A et les UV-B et mettre à profit les 4-5 % de rayonnement UV présent dans le spectre solaire. Pour l'Algérie possédant un ensoleillement important ce procédé pourrait ainsi être un procédé d'avenir environnemental et économique.



