THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

ECOLE DOCTORALE SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTE

Par Olivier MOREAU

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'URCA

SPECIALITE : CHIMIE

SYNTHESE DE GREFFONS ORGANIQUES A FONCTIONNALITES ANTIMICROBIENNES

GREFFAGE SUR WAFER DE SILICIUM

ASPECTS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ADHESION PARTICULAIRE

CONFIDENTIEL

Soutenue le 27 février 2006

M. F. TERRIER, Professeur, Université de Versailles Saint-Quentin	**Président**
Mme F. PONCIN-EPAILLARD, DR CNRS, Université du Maine	**Rapporteur**
Mme V. LANGLOIS, MdC, Université de Paris XII	**Rapporteur**
M. A. FEIGENBAUM, DR INRA, Université de Reims Champagne-Ardenne	**Examinateur**
Mme M.N. BELLON-FONTAINE, Professeur, ENSIA	**Invité**
M. C. PORTELLA, Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne	**Co-directeur**
Mme A. RIQUET, CR INRA, ENSIA	**Co-directeur**

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

ECOLE DOCTORALE SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTE

Par Olivier MOREAU

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'URCA

SPECIALITE : CHIMIE

SYNTHESE DE GREFFONS ORGANIQUES A FONCTIONNALITES ANTIMICROBIENNES

GREFFAGE SUR WAFER DE SILICIUM

ASPECTS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ADHESION PARTICULAIRE

CONFIDENTIEL

Soutenue le 27 février 2006

M. F. TERRIER, Professeur, Université de Versailles Saint-Quentin	**Président**
Mme F. PONCIN-EPAILLARD, DR CNRS, Université du Maine	**Rapporteur**
Mme V. LANGLOIS, MdC, Université de Paris XII	**Rapporteur**
M. A. FEIGENBAUM, DR INRA, Université de Reims Champagne-Ardenne	**Examinateur**
Mme M.N. BELLON-FONTAINE, Professeur, ENSIA	**Invité**
M. C. PORTELLA, Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne	**Co-directeur**
Mme A. RIQUET, CR INRA, ENSIA	**Co-directeur**

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans trois laboratoires de recherche dont de l'UMR Réactions Sélectives et Applications, CNRS de l'université de Reims Champagne-Ardenne, l'UMR Science de l'Aliment et de l'Emballage et de l'Unité de recherche en Bioadhésion et Hygiène des Matériaux, de l'ENSIA de Massy et financé dans le cadre du projet interrégionnal Grand Bassin Parisien – Emballage.

Je remercie tout d'abord le Docteur Fabienne Poncin-Epaillard et le Docteur Valérie Langlois d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs.

Je remercie le Professeur François Terrier d'avoir accepté d'examiner ce travail et d'avoir également présidé mon jury de thèse.

Mes sincères remerciements au professeur Charles Portella et au docteur fabien Massicot pour leur aide concernant la synthèse des différents greffons organiques.

J'adresse mes plus sincères remerciement au docteur Anne-marie Riquet pour sa disponibilité, ses compétences et son enthousiasme qui m'ont permis de mener à bien ce projet.

J'adresse mes vifs remerciements au professeur Marie-Noëlle Bellon-Fontaine de m'avoir permis de travailler au sein de son laboratoire et pour ses compétences liées à la compréhension des phénomènes d'adhésion.
Je remercie également Jean-Marie Herry pour m'avoir initié aux différentes techniques d'analyse de surface, le docteur Romain Briandet, le docteur Thierry Meylheuc et Margareth Renault pour leurs différents conseils.

Je tiens à remercier le docteur Véronique Aguiè pour son aide précieuse au niveau de la caractérisation des matériaux par ellipsométrie et Vincent Blain pour l'analyse par spectroscopie des photoélectrons.

CONFIDENTIEL

Je remercie le docteur violette Ducruet, le docteur Nishat Anjum, Laure rebière, Cécilia Berlinet, Cédric Plessis et Flavien Lecourtier qui ont fait que ce travail se passe dans de bonnes conditions et dans une bonne ambiance.

Ces remerciements n'oublient pas Ariane Bercier, Céline Damez, Marjolaine Rossit, Cédric Brule, latifa Hachadi, Jéröme Legrand, Yves Rouanet et Mathieu Lloung pour leurs coups de mains, leur bonne humeur, leurs encouragements et leur soutien.

Je veux enfin remercier ma famille et plus particulièrement mes parents pour m'avoir permis de poursuivre mes études dans de bonnes conditions.

CONFIDENTIEL

INTRODUCTION 8

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 12

I. Préservation de la sécurité sanitaire des aliments 13
I.1. Les biofilms et l'hygiène des surfaces en industrie alimentaire 13
I.1.1. La formation des biofilms 13
I.1.2. Conséquences des biofilms en situation industrielle 15
I.2. Les emballages actifs antimicrobiens 16
I.2.1. Les accessoires d'emballages à activité spécifique 17
I.2.1.1. Les absorbeurs et émetteurs de dioxyde de carbone 17
I.2.1.2. Les émetteurs d'éthanol 18
I.2.1.3. Les absorbeurs d'oxygène 18
I.2.2. Les matériaux d'emballage modifiés au cours de leur fabrication 19
I.2.2.1. Libération d'agents antimicrobiens du matériau d'emballage vers l'aliment 19
I.2.2.2. Immobilisation d'agents antimicrobiens à la surface du matériau d'emballage 20
I.3. Aspects réglementaires des matériaux au contact des aliments 22
I.3.1. Les emballages conventionnels 22
I.3.2. Cas des emballages actifs 24

II. Conception de surfaces modifiées 26
II.1. Immobilisation de molécules par adsorption 27
II.1.1. Physisorption 27
II.1.2. Technique Langmuir-Blodgett 27
II.1.3. Polyélectrolytes 28
II.1.4. « Coating deposition » 29
II.2. Immobilisation de molécules par greffage 31
II.2.1. Greffage sur les surfaces inertes 31
II.2.1.1. Greffage photochimique 31
II.2.1.2. Radiogreffage 32
II.2.2. Greffage sur les surfaces réactives 33
II.2.2.1. Hydrosilylation 34
II.2.2.2. Réaction avec les chlorosilanes 35
II.2.2.3. Réaction avec les surfaces halogénées 37

III. Prévention de la biocontamination des surfaces 40
III.1. Approche physico-chimique des phénomènes d'adhésion 40
III.1.1. Modèle thermodynamique 40
III.1.2. Théorie DLVO 44
III.1.3. Théorie étendue de la DLVO 48
III.2. Développement de matériaux limitant l'adhésion 51

CONFIDENTIEL

MATERIELS & METHODES 58

I. Conception de surfaces modifiées 59
I.1. Greffage des molécules (PEG ou SAQ) par voie thermique 60
I.1.1. Greffage sur lame de verre 60
I.1.2. Greffage sur wafer de silicium 61
I.2. Greffage des molécules (PEG ou SAQ) par voie chimique 62
I.3. Caractérisation physico-chimique des surfaces modifiées 63
I.3.1. Caractérisation par spectroscopie des photoélectrons 63
I.3.2. Caractérisation par ellipsométrie 64
I.3.3. Caractérisation par microscopie à force atomique 65

II. Conséquences des propriétés de surface sur l'adhésion particulaire 68
II.1. Propriétés de surface des wafers modifiés 68
II.1.1. Caractéristiques énergétiques 68
II.1.2. Potentiel Zêta 70
II.2. Propriétés de surface des particules de polystyrène 71
II.2.1. Particules de polystyrène 71
II.2.2. Caractéristiques énergétiques 71
II.2.3. Potentiel Zêta 74
II.3. Adhésion des particules de polystyrène à la surface des wafers modifiés 75

RESULTATS & DISCUSSION 76

I. Conception de surfaces modifiées 77
I.1. Synthèse des molécules porteuses des fonctionnalités souhaitées ... 77
I.1.1. Molécules porteuses de la fonctionnalité biocide SAQ 77
I.1.2. Molécules porteuses de la fonctionnalité répulsive PEG 79
I.2. Greffage des molécules par voie thermique 81
I.2.1. Greffage sur lame de verre 82
I.2.2. Greffage sur wafer de silicium 83
I.3. Greffage des molécules par voie chimique 85
I.4. Caractérisation physico-chimique des surfaces modifiées 86
I.4.1. Caractérisation par spectroscopie des photoélectrons (XPS) 86
I.4.1.1. Spectres généraux 86
I.4.1.2. Spectres haute résolution 89
I.4.2. Caractérisation par ellipsométrie 93
I.4.3. Caractérisation par microscopie à force atomique (AFM) 97

II. Conséquences des propriétés de surface sur l'adhésion particulaire 100
II.1. Propriétés de surface des wafers modifiés 100
II.1.1. Caractéristiques énergétiques 100

CONFIDENTIEL

II.1.2. Potentiel Zêta 104
II.2. Propriétés de surface des particules de polystyrène 107
II.2.1. Caractéristiques énergétiques 107
II.2.2. Potentiel Zêta 108
II.3. Adhésion des particules de polystyrène à la surface des wafers modifiés 109

III. Partie expérimentale de la synthèse des molécules porteuses des fonctionnalités biocide et répulsive 114
III.1. Synthèse des molécules porteuses de la fonctionnalité biocide.. 115
III.1.1. Acétalisation du diéthyle tartrate 115
III.1.2. Aminolyse de l'acétal 116
III.1.3. Quaternisation du tartramide 117
III.2. Synthèse des molécules porteuses de la fonctionnalité répulsive 122
III.2.1. Allylation des PEG 122
III.2.2. Allylation des PEG monométhylés 126
III.3. Synthèse des greffons PEG marqués paramagnétiquement..... 128
III.3.1. Hydrolyse de la fonction amide du pyrrolinoxyle 128
III.3.2. Estérification par les PEG 129
III.3.3. Allylation des PEG marqués paramagnétiquement 132

CONCLUSION GENERALE 135

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 138

GLOSSAIRE 149

CONFIDENTIEL

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes étapes de la formation des biofilms microbiens d'après INRA UBHM, Massy. 13
Figure 2 : Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation sur un support solide 26
Figure 3 : schéma de principe de la technique Langmuir-Blodgett 28
Figure 4 : (A) Schéma du procédé d'adsorption des polyélectrolytes sur un substrat, (B) Représentation simplifiée des deux premières étapes d'adsorption, (C) Structure chimique de deux polyions typiques, d'après Decher (1997).....29
Figure 5 : Schéma de principe du procédé *spin-coating*. 30
Figure 6 : Schéma de principe du procédé *dip-coating*. 30
Figure 7 : Schéma de principe du greffage photochimique initié avec un azide. 31
Figure 8 : Schéma de principe du greffage photochimique initié avec la benzophénone. 32
Figure 9 : Mécanismes mis en jeu dans le greffage radicalaire en présence d'air. 33
Figure 10 : Hydrosilylation d'un alcène avec des groupements silyles (A) et d'un alcyne avec des groupements silanols (B). 34
Figure 11 : Formule développée du polystyrène modifié d'après Maas *et al.* (2003). 35
Figure 12 : Représentation schématique d'un PEG méthacrylate greffé sur une surface de verre d'après Kaper *et al.* (2003). 35
Figure 13 : Schéma réactionnel de la formation d'un système multicouche de polyéthylène glycol par greffage chimique d'après Sharma *et al.* (2003). 36
Figure 14 : Représentation de l'amorceur utilisé par Prucker *et al.* (1998). 37
Figure 15 : Représentation schématique du greffage par halogénation/alkylation. 37
Figure 16 : Représentation schématique du greffage de polyéthylène glycol sur une surface de silice chlorée d'après Zhu *et al.* (2001). 38
Figure 17 : Représentation schématique des énergies d'interaction interfaciale impliquées dans l'adhésion d'un microorganisme (M) à la surface d'un solide (S) immergé dans un liquide (L). 40
Figure 18 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V). 41
Figure 19 : Illustration schématique de la variation du potentiel en fonction de la distance de la particule chargée (d'après Tardat-Henry, 1992). 45
Figure 20 : Energies d'interaction, d'après la théorie DLVO, en fonction de la distance de séparation (d'après Bos, 1999).....47
Figure 21 : Comparaison des énergies d'interaction, d'après la théorie DLVO classique et étendue, en fonction de la distance de séparation (d'après Bos, 1999). 50
Figure 22 : Représentation schématique du phénomène antibioadhésif des chaînes de PEG greffées 55
Figure 23 : Représentation schématique d'un sel d'ammonium quaternaire.....56
Figure 24 : Sel d'ammonium quaternaire issu de l'acide tartrique. 59
Figure 25 : Polyéthylène glycol allylé. 60
Figure 26 : Schéma de principe de l'analyse XPS. 63
Figure 27 : Dispositif expérimental de l'XPS ESCALAB 250 (CRITT MDTS, Charleville Mézière). 64
Figure 28 : Schéma de principe d'un ellipsométrie : source de lumière S avec variation de la longueur d'onde, polariseur P, compensateur de phase C, angle d'incidence Φ, échantillon E, analyseur A et détecteur D. la polarisation est soit linéaire (lin) soit elliptique (ell). 64

CONFIDENTIEL

Figure 29 : Dispositif expérimental de l'ellipsomètre spectroscopique à modulation de phase (INRA CREA, Reims). 65
Figure 30 : Schéma de principe d'un microscope à force atomique avec détection par réflexion d'un faisceau laser. 66
Figure 31 : Dispositif expérimental de l'AFM Pico LE (INRA UBHM, Massy). 66
Figure 32 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V) dans la méthode de la goutte posée. 68
Figure 33 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V) par la méthode de la bulle captive. 69
Figure 34 : dispositif expérimental du Zetacad (UBHM, INRA Massy). 70
Figure 35 : Dispositif expérimental du zêtamètre Sephy II (d'après UBHM, INRA Massy). 75
Figure 36 : Schéma réactionnel de l'acétalisation du diéthyle tartrate. 77
Figure 37 : Schéma réactionnel de l'aminolyse de l'acétal. 77
Figure 38 : Schéma réactionnel de la quaternisation du tartramide. 78
Figure 39 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG. 79
Figure 40 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG monométhylé. 79
Figure 41 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse de la fonction amide. 80
Figure 42 : Schéma réactionnel de la fixation du marqueur de spin sur le PEG. 80
Figure 43 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG marqué paramagnétiquement. 81
Figure 44 : Représentation schématique de la réaction de greffage sur lame de verre. 81
Figure 45 : Représentation schématique de la structure du wafer de silicium 1.0.0 après décontamination. 83
Figure 46 : Représentation schématique du greffage chimique du PEG sur un wafer. 85
Figure 47 : Spectres généraux XPS du wafer vierge lavé et modifié PEG et SAQ-C8Br (l'axe des ordonnées exprimé en coups par seconde est proportionnelle au nombre d'électrons émis et n'est que semi-quantitatif). 87
Figure 48 : illustration de la contribution de la composition atomique de surface du wafer en fonction de l'épaisseur de la couche greffée. 89
Figure 49 : Spectres haute résolution C1s du wafer vierge et modifié PEG et SAQ. 90
Figure 50 : Représentation schématique du PEG greffé à la surface d'un wafer de silicium. 91
Figure 51 : Représentation schématique du SAQ-C8Br greffé à la surface d'un wafer de silicium. 91
Figure 52 : Spectres haute résolution Si2p du wafer vierge et modifié PEG et SAQ. 92
Figure 53 : Epaisseur des couches de PEG greffées sur wafer de silice (Å) en fonction de la concentration 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$. 94
Figure 54 : Représentation schématique des différentes conformations des chaînes de PEG. 95
Figure 55 : Epaisseur des couches de SAQ greffées sur wafer de silice (Å) en fonction de la concentration 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$. 96
Figure 56 : Images 2D et 3D obtenues en AFM. 99
Figure 57 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG et SAQ. La ligne en pointillée rouge indique la valeur obtenue pour un wafer témoin. 101
Figure 58 : Evolution du caractère hydrophile des wafers greffés PEG 390 et 2040 en fonction du temps par la méthode de la bulle captive. 101
Figure 59 : Composantes de Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}), accepteur (γ^{+}) et donneur (γ^{-}) d'électrons de l'énergie de surface des wafers greffés. Les lignes en pointillés rouge indiquent les valeurs obtenues pour le wafer témoin. 103
Figure 60 : courbes de potentiel Zêta des wafers greffés et témoins en fonction du pH. 104
Figure 61 : Affinité des particules de polystyrène pour les deux couples de solvants utilisés dans le test MATS. 107
Figure 62 : représentation schématique des charges partielles de la fonction carboxylate. 108

CONFIDENTIEL

Figure 63 : courbes de potentiel Zêta des particules de polystyrène en fonction du pH. 108
Figure 64 : Pourcentage de particules de polystyrène adhérentes à la surface des wafers greffés après 3 h à 20°C dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M. (la ligne en pointillé rouge indique la valeur obtenue pour le wafer témoin). 109
Figure 65 : Images des particules adhérentes observées en épifluorescence pour les wafers greffés PEG et SAQ-C8Br (adhésion réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M).....110
Figure 66 : Pourcentage de particules de polystyrène adhérentes à la surface des supports greffés après 3 h à 20°C dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M. (la ligne en pointillé rouge indique la valeur obtenue pour le wafer témoin). 111
Figure 67 : Images des particules adhérentes observées en épifluorescence pour les wafers greffés PEG et SAQ-C8Br (adhésion réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M).....113

CONFIDENTIEL

Liste des tableaux

Tableau 1 : Puissance et pénétration comparées des radiations ionisantes. 32
Tableau 2 : Aspect, motif monomérique et caractéristiques énergétiques de différents polymères synthétiques (d'après van Oss 1996, Dobraczynski 1982 et Meylheuc 1998).....52
Tableau 3 : Comparaison des performances des principales méthodes utilisées pour caractériser la surface des wafers modifiés PEG et SAQ. 67
Tableau 4 : Caractéristiques énergétiques des liquides purs utilisés en $mJ.m^{-2}$ (d'après INRA UBHM, Massy). 69
Tableau 5 : Caractéristiques énergétiques des solvants utilisés en $mJ.m^{-2}$ (d'après INRA UBHM, Massy). 73
Tableau 6 : Comparaison des rendements de la réaction de quaternisation du tartramide en fonction de l'halogénure d'alkyle employé. 78
Tableau 7 : Comparaison des rendements de la réaction d'allylation en fonction de la masse molaire moyenne du PEG employé. 79
Tableau 8 : Comparaison des rendements de la réaction d'allylation en fonction de la masse molaire moyenne du PEG monométhylé employé. 80
Tableau 9 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les lames de verre greffées PEG et SAQ (greffage thermique, 4 $mg.mL^{-1}$). 82
Tableau 10 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG et SAQ (greffage thermique, 4 $mg.mL^{-1}$). 84
Tableau 11 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG-Me (greffage chimique, 4 $mg.mL^{-1}$). 85
Tableau 12 : Analyse élémentaire XPS du wafer vierge et modifié PEG et SAQ. 88
Tableau 13 : Pourcentage des différentes liaisons du pic C1s du wafer modifié PEG. 91
Tableau 14 : Pourcentage des différentes liaisons du pic C1s du wafer vierge et modifié SAQ-C8Br. 92
Tableau 15 : Récapitulatif des valeurs des angles de contact avec l'eau (θ_{EAU}), des composantes de Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}) et donneur d'électron (γ^-) et du potentiel Zêta (PZ) des wafers témoin et greffés PEG et SAQ-C8Br. 105

CONFIDENTIEL

INTRODUCTION

CONFIDENTIEL

La qualité microbiologique des denrées alimentaires est un enjeu important tant sur le plan de la santé publique que sur le plan économique. En effet, la biocontamination des produits par des micro-organismes pathogènes peut être à l'origine de toxi-infections alimentaires. Depuis quelques années, de nouvelles infections sont apparues d'autres refont surface, des cas de résistance se sont développés sans parler des nouveaux modes de transmission des infections liés à l'utilisation de nouveaux procédés. Les tendances actuelles du consommateur (i.e. plus de frais, plus de plats prêts à servir), les nouvelles technologies, la globalisation des marchés, la capacité d'adaptation des microorganismes, sont autant de facteurs qui exigent aujourd'hui un meilleur contrôle de la sécurité alimentaire.

Contrôler la sécurité alimentaire implique, entre autres, de contrôler la contamination microbiologique des surfaces susceptibles d'être en contact avec les denrées alimentaires. Différentes études ont montré que cette contamination par des germes pathogènes résultait en fait de l'adhésion micro-organismes/surfaces (rappelons que cette adhésion est la première étape dans la formation de biofilms). Vu l'amplitude des implications de ces phénomènes en alimentation, l'impact économique est significatif pour cette industrie. On peut rappeler que la formation de biofilms entraîne une augmentation des coûts de production (diminution de performance des équipements, augmentation des concentrations en produits de lavage et du temps de traitement, etc.), des pertes associées à la dégradation prématurée des produits finis, sans oublier les coûts liés aux procédures de rappel de produits contenant des organismes pathogènes et des conséquences de cas de toxi-infections évoquées précédemment. Il est clair aujourd'hui que les biofilms sont des réservoirs permanents de contamination, extrêmement difficiles à éradiquer. Il est donc nécessaire de développer des stratégies permettant de s'assurer que les surfaces au contact des denrées alimentaires ne servent pas de véhicules de transmission des pathogènes.

Pour réduire les risques de contamination des produits finis et assurer ainsi leur qualité hygiénique, les industriels ont actuellement recours à des actions curatives (optimisation des procédures de nettoyage-désinfection) combinées ou non à des actions préventives (mise en place de systèmes de surveillance et réduction de l'adhésion bactérienne). Jusqu'à présent, ces actions préventives étaient basées sur le seul choix du matériau à utiliser (nature et fini de surface ou encore topographie). De récents travaux laissent néanmoins envisager de nouvelles stratégies basées sur le développement de nouveaux matériaux à fonctionnalité antibactérienne.

CONFIDENTIEL

Ces nouveaux matériaux trouveront de larges applications dans le secteur des industries agroalimentaire et en particulier au niveau des équipements des ateliers (tables de découpe, tapis convoyeurs, containers…). Ils verront également un essor dans le domaine des emballages pour satisfaire le consommateur dans sa quête de produits faiblement traités pour leur conservation et dont la qualité finale soit proche de la qualité naturelle des produits finis.

Le but de ce travail est donc de développer une nouvelle génération de matériaux antimicrobiens, thématique démarée dans le cadre de mon travail de thèse et qui s'inscrit au sein du projet interrégionnal Grand Bassin Parisien – Emballage (2002 – 2006).

Pour limiter la contamination des surfaces par des microorganismes l'approche développée consiste à modifier les propriétés de surface d'un support donné (hydrophilie, caractéristiques énergétiques et charge de surface) par greffage de molécules spécifiques antimicrobiennes (Sels d'Ammonium Quaternaire et PolyEthylène Glycol).

Les matériaux antimicrobiens que nous cherchons à développer doivent présenter, à terme, les particularités suivantes : sécurité sanitaire, innocuité (pas de migration) et efficacité. En conséquence, nous nous sommes orientés vers un greffage covalent des molécules antimicrobiennes.

Notre objectif premier était de modifier la surface de matériaux plastique courants (de type Polyoléfine : Polypropylène ou Polyéthylène) par radiogreffage (pré-irradiation par des rayonnements corpusculaires β, Anjum *et al.*, 2006 ; 2005) de SAQ ou de PEG. Cependant, il s'est très vite avéré que le radiogreffage de monomères hydrophiles sur un support hydrophobe necessitait la mise au point de nouvelles méthodes que la quantité de molécules synthétisées à l'échelle du laboratoire ne laissait guère la possibilité de développer. En conséquence, nous avons donc choisi d'immobiliser les greffons par voie thermique et chimique sur des wafers de silicium (méthodes plus économique en greffon, Kaper *et al.* (2003), Sharma *et al.* (2003)). Par ailleurs, nous avons appréhendé les mécanismes mis en jeu dans le processus d'adhésion particulaire, avant d'envisager une modification de la surface de matériaux plastiques par ces mêmes greffons et d'en tester l'efficacité antimicrobienne.

Les tests d'adhésion sont réalisés avec des particules de polystyrène présentant des propriétés physico-chimiques de surface proches de celles de certaines souche de *Listeria monocytogenes* (Briandet, 1999). En effet, ces particules représentent un modèle moins complexe d'apréhension des phénomènes d'adhèsion dans la mesure où leurs propriétés de surface ne varient pas lors de l'adhésion contrairement aux micro-organismes.

CONFIDENTIEL

Cette étude comporte à la fois un volet chimie organique, pour la synthèse des greffons, réalisé au sein de l'UMR Réactions Sélectives et Applications, CNRS de l'université de Reims et un volet physico-chimique, pour la conception et l'étude des surfaces modifiées, réalisé au sein de l'UMR Science de l'Aliment et de l'Emballage et de l'Unité de recherche en Bioadhésion et Hygiène des Matériaux, de Massy.

L'étude bibliographique présente dans une première partie les différents systèmes qui existent pour préserver la sécurité sanitaire des aliments. Puis elle reporte les diverses méthodes d'immobilisation sur les supports solides. Enfin les mécanismes physico-chimiques impliqués dans les phénomènes d'adhésion sont exposés.

Les résultats expérimentaux s'articulent, après une description des matériels et méthodes, en trois parties :

- Dans une première partie la synthèse des greffons SAQ et PEG est décrite, puis nous nous sommes attachés à la caractérisation physico-chimique des surfaces modifiées.

- La deuxième partie porte sur la détermination des propriétés de surface des matériaux modifiées et des particules de polystyrène afin de pouvoir les relier aux résultats d'adhésion particulaire obtenus.

- Enfin dans la dernière partie, la caractérisation des différentes molécules synthétisées est exposée.

CONFIDENTIEL

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CONFIDENTIEL

I. Préservation de la sécurité sanitaire des aliments

I.1. Les biofilms et l'hygiène des surfaces en industrie alimentaire

Un biofilm est une communauté bactérienne contenue dans une matrice de polymères organiques, adhérents à une surface (Carpentier *et al.*, 1993). Les bactéries incluses dans un biofilm peuvent présenter des caractéristiques microbiologiques très différentes de leurs homologues cultivées en suspension. Ainsi, plusieurs études ont montré une plus grande résistance des cellules « biofilmées » à différents stress *i.e.* la déshydratation et les agents désinfectants (Morton *et al.*, 1998).

I.1.1. La formation des biofilms

La formation d'un biofilm sur une surface (figure 1) est généralement divisée en quatre étapes successives (Busher *et al.*, 1995) :

1. le transport des micro-organismes
2. l'adhésion initiale des cellules microbiennes au support
3. la consolidation de l'adhésion par la synthèse de composés extracellulaires
4. la colonisation du support par multiplication des cellules adhérentes accompagnée dans certains cas d'une agrégation cellulaire

CONFIDENTIEL

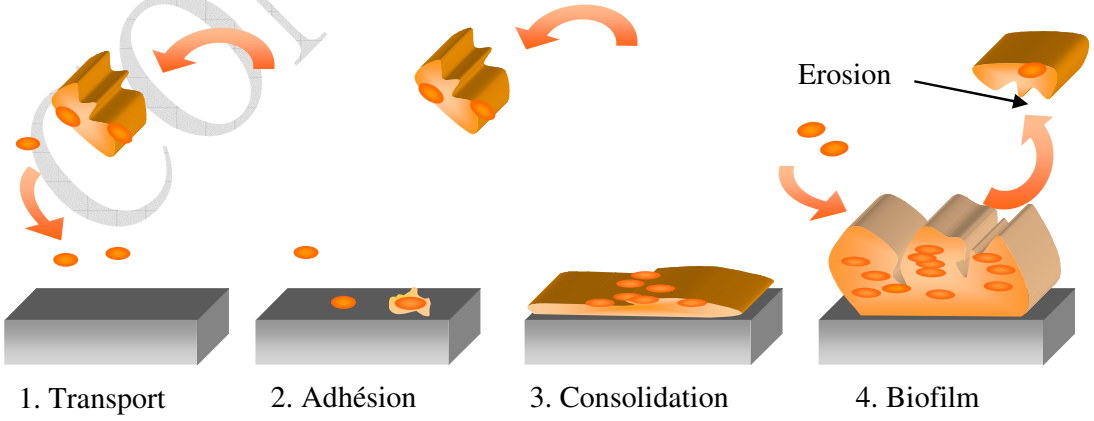


Figure 1 : Les différentes étapes de la formation des biofilms microbiens d'après INRA UBHM, Massy.

La colonisation des supports dépend en tout premier lieu du transport des cellules microbiennes vers le substrat. Ce transport est le résultat de facteurs physiques et microbiologiques tels que le mouvement Brownien, les forces de gravité (Bryers, 1987), les caractéristiques hydrodynamiques du fluide environnant (régime stationnaire, turbulent ou laminaire (Korber *et al.*, 1995) ou encore le chimiotactisme des cellules microbiennes (mobilité par l'intermédiaire de flagelles).

Arrivés à proximité des surfaces réceptrices, les micro-organismes pourront adhérer par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques (Busher *et al.*, 1984), interactions qui dépendent des propriétés physico-chimiques de surface des corps en présence.
Ces interactions non covalentes comprennent (van Oss *et al.*, 1988) :

- les interactions électrodynamiques, ou Lifshitz-van der Waals,
- les interactions polaires de type donneur/accepteur d'électrons, ou acide-base de Lewis,
- les interactions électrostatiques,
- les interactions dues au mouvement brownien,

et constituent les forces physiques primaires les plus importantes dans les interactions particulaires ou macromoléculaires en milieux aqueux et, par conséquent, dans l'adhésion microbienne (van Oss, 1996). Comme il a été mentionné précédemment, de nombreux facteurs liés aux micro-organismes, aux supports et aux fluides environnants sont susceptibles de modifier cette étape essentielle dans la formation des biofilms, ainsi que dans les forces d'adhésion biofilms-supports solides (Busher *et al.*, 1995).

Après cette étape d'adhésion, les cellules microbiennes pourront « consolider » leur position sur le support par le biais d'organites extracellulaires (adhésion des flagelles ou des pili) et/ou, si les cellules possèdent l'information génétique et le substrat nutritif nécessaire (Carpentier *et al.*, 1993), par la synthèse de polymères extracellulaires (« ancrage » des cellules).

Dans des conditions favorables, les cellules microbiennes ayant adhéré pourront se multiplier sur le support, et la coalescence des polymères extracellulaires produits par chaque cellule aboutie à la formation de la matrice organique du biofilm. Cette association matrice organique et cellules bactériennes forment ce que l'on appelle communément un « biofilm ».

CONFIDENTIEL

I.1.2. Conséquences des biofilms en situation industrielle

Les biofilms microbiens, lorsqu'ils sont constitués de bactéries pathogènes ou d'altération, peuvent avoir des conséquences importantes en industrie alimentaire, tant sur le plan économique qu'hygiénique.

Différents auteurs ont en effet montré que de nombreuses bactéries pathogènes, parmi lesquelles *L. monocytogenes*, étaient capables de former des biofilms sur les matériaux inertes utilisés en industrie alimentaire (Blackman, 1996 ; Jeong, 1994).

Cette capacité à adhérer et à former des biofilms semble également s'accompagner d'une résistance à l'action des agents désinfectants. Frank *et al.* (1990) ont ainsi mis en évidence que des cellules biofilmées de *L. monocytogenes* résistaient plus de 15 minutes à un traitement au chlorure de benzalkonium, alors que les cellules en suspension étaient toutes éliminées en 30 secondes dans les mêmes conditions.

Cette diminution de la sensibilité aux agents chimiques des cellules microbiennes cultivées en biofilms est généralement attribuée à un rôle protecteur de la matrice organique exocellulaire, et/ou à un état physiologique spécifique des cellules biofilmées. Différents travaux semblent indiquer que ce phénomène de résistance s'accentue avec le vieillissement du biofilm. Lee *et al.* (1991) ont ainsi montré qu'un biofilm de *L. monocytogenes* de huit jours était 100 fois moins sensible à l'action de l'hypochlorite de sodium qu'un biofilm de quatre jours.

En situation industrielle cette diminution de la sensibilité des biofilms aux agents désinfectants peut être amplifiée par la présence de composés organiques sur les surfaces (résidus alimentaires) susceptibles d'interagir avec les agents actifs des produits de nettoyage/désinfection, diminuant ainsi leur efficacité. Il a par exemple été montré que les protéines pouvaient diminuer l'activité bactéricide de certains désinfectants en réagissant avec leur principe actif (Chantefort *et al.*, 1984).

Une fois implanté sur une surface d'un atelier alimentaire, il est très difficile d'éliminer un biofilm microbien par les opérations de nettoyage/ désinfection classiquement utilisées. Mettler *et al.* (1998) ont montré que des échantillons de matériaux implantés pendant huit semaines sur les surfaces de différents ateliers alimentaires pouvaient atteindre des contaminations microbiennes comprises entre 10^6 et 10^7 ufc.cm^{-2} malgré les procédures d'hygiène appliquées.

CONFIDENTIEL

Des cellules pathogènes ou d'altération peuvent alors se détacher du biofilm par un phénomène « d'érosion » lié aux mouvements du fluide environnant, et contaminer les denrées alimentaires en cours de production.

I.2. Les emballages actifs antimicrobiens

L'innocuité microbienne des matériaux d'emballage mis au contact des aliments est un point à maîtriser notamment lorsque le produit exige une hygiène rigoureuse (ie pour les viandes, les poissons et les produits frais). Les matériaux « actifs » dits antimicrobiens peuvent être définis comme des matériaux présentant une activité antimicrobienne propre vis à vis de l'aliment. L'utilisation de ces matériaux doit en théorie permettre un ralentissement de la croissance, voire même une diminution du nombre des micro-organismes présents au niveau des aliments liquides ou à la surface des aliments solides. L'activité des agents antimicrobiens sur les contaminants des aliments s'exerce au cours du stockage, soit par contact des micro-organismes sur la face interne de l'emballage (par exemple lorsque les agents sont greffés chimiquement sur le matériau), soit directement dans l'aliment après émission ou diffusion lente et progressive de l'agent antimicrobien du matériau d'emballage vers le produit.

Les emballages actifs antimicrobiens se présentent sous diverses formes :

- les accessoires d'emballages à activité spécifique : sachets individuels disposés dans l'emballage et modifiant les conditions gazeuses au contact de l'aliment (absorbeurs d'oxygène) ou contenant des substances stabilisatrices encapsulées et libérées au cours du stockage (émetteurs d'éthanol) ;

- des matériaux d'emballage directement modifiés au cours de leur fabrication (incorporation des agents antimicrobiens dans la masse ou au niveau de la surface interne du matériau). La libération des agents antimicrobiens nécessite un matériau d'emballage suffisamment perméable à ces substances pour en permettre la diffusion et le relargage contrôlé vers l'aliment au cours du stockage ;

CONFIDENTIEL

- le greffage d'agents antimicrobiens à la surface du matériau d'emballage. Il s'agit d'une activité par contact direct des micro-organismes avec l'agent antimicrobien sans migration de celui-ci vers l'aliment.

L'axe majeur de la recherche sur les emballages antimicrobiens porte actuellement sur les propriétés antimicrobiennes potentielles apportées tant par l'incorporation de sachets individuels que par le relargage contrôlé d'agents antimicrobiens préalablement incorporés au sein du matériau. La maîtrise de l'hygiène des matériaux d'emballage par le développement de matériaux à surface modifiée est beaucoup plus récente.

I.2.1. Les accessoires d'emballages à activité spécifique

I.2.1.1. Les absorbeurs et émetteurs de dioxyde de carbone

Dans certains aliments, du CO_2 se forme suite à des réactions de détérioration ou de respiration. Ce CO_2 doit être éliminé pour éviter une altération de l'aliment et/ou de l'emballage (Floros *et al.*, 1997). Pour ce faire, on utilise des absorbeurs de CO_2, le plus souvent à base de CaO et d'un agent hydratant. (Parry, 1993) :

$$CaO + H_2O \rightarrow Ca(OH)_2$$
$$Ca(OH)_2 + CO_2 \rightarrow CaCO_3 + H_2O$$

Pour certains aliments comme les viandes et les volailles, une quantité importante de CO_2 (10-80%) peut être souhaitée pour limiter la croissance microbienne et donc augmenter la durée de conservation du produit (Labuza, 1996). Un système intéressant à base de carbonate ferreux permet de libérer du CO_2 tout en absorbant l'O_2 résiduel :

$$4\ FeCO_3 + 6\ H_2O + 0_2 \rightarrow 4\ Fe(OH)_3 + 4\ CO_2$$

CONFIDENTIEL

I.2.1.2. Les émetteurs d'éthanol

Le relargage contrôlé de vapeurs d'éthanol à l'intérieur des emballages est une technique qui peut également être mise en œuvre pour améliorer la stabilité microbiologique des aliments. Ces systèmes sont constitués par un matériau spécifique contenant de l'éthanol absorbé ou encapsulé, entouré par un film d'emballage de perméabilité sélective qui permet le relargage plus ou moins rapide de vapeurs d'éthanol. Ethicap® ou Antimold® (Freund Industrial Co., Japan) sont composés d'un mélange 55/10 en % d'éthanol/eau adsorbé sur une poudre de SiO_2. Ethicap® agit en absorbant l'humidité de l'aliment et en relargant des vapeurs d'éthanol.

Les émetteurs d'éthanol sont très répandus au Japon et plusieurs études rapportent un prolongement de la durée de conservation de plusieurs aliments. Cependant, l'inconvénient majeur des vapeurs d'éthanol est leur adsorption par l'aliment. Dans certains cas, la concentration d'éthanol dans l'aliment peut modifier de façon sensible les propriétés organoleptiques (Smith *et al.*, 1995).

I.2.1.3. Les absorbeurs d'oxygène

Les systèmes absorbeurs d'oxygène (incorporés dans des sachets ou directement au niveau du film d'emballage) participent à la stabilisation chimique, physiologique et micro biologique des aliments au cours de leur conservation. La majorité des absorbeurs d'oxygène commercialisés sont basés sur le principe de l'oxydation du fer (Smith *et al.*, 1990) :

$Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2\ e^-$

$\frac{1}{2}\ O_2 + H_2O + 2\ e^- \rightarrow 2\ OH^-$

$Fe^{2+} + 2\ OH^- \rightarrow Fe(OH)_2$

$Fe(OH)_2 + \frac{1}{4}\ O_2 + \frac{1}{2}\ H_2O \rightarrow Fe(OH)_3$

Ageless® (Mitsubishi Gas Chemical Co., Japan) est le système absorbeur d'oxygène le plus courant basé sur ce principe. Les sachets sont étudiés pour réduire rapidement (après 18 à 24 h) la teneur en oxygène du couple emballage/aliment à des niveaux très faible (< 0,01%) et surtout, de maintenir ce très faible niveau tant que l'emballage n'est pas ouvert. En effet, ces systèmes absorbent à la fois l'oxygène de l'atmosphère de l'emballage, mais aussi l'oxygène dissout dans l'aliment et qui est libéré progressivement dans l'espace de tête de l'aliment et

CONFIDENTIEL

enfin l'oxygène qui pénètre dans l'emballage par perméation. Quand la concentration initiale en oxygène lors du conditionnement et la perméabilité du matériau d'emballage sont connus, un absorbeur avec une capacité supérieure à celle calculée peut être utilisé. Ainsi, l'absence totale d'oxygène peut être garantie pendant toute la durée de vie du produit. Il existe d'autres absorbeurs d'oxygène, toujours basés sur le principe de l'oxydation du fer, tels que ATCO® (Standa Industrie, France), Vitalon® (Toagosei Chem. Industry Co., Japan) et Freshpax® (Multisorb Technologies Inc., USA). Ces sachets peuvent se trouver dans les emballages de nombreux aliments comme les pâtes fraîches, le salami, les gâteaux, le fromage et le café (Floros *et al.*, 1997).

De nombreuses équipes de recherche tentent d'inclure le principe d'absorbeur d'oxygène directement dans le matériau d'emballage pour éviter d'avoir recours à l'emploi de sachets. Toutefois ces systèmes posent encore souvent des problèmes d'ordre technologiques (extrusion) et il est difficile de savoir s'ils sont aussi efficaces que les sachets.
Parmi ces systèmes on peut citer le procédé OSP « Oxygen Scavenger Polymer » de Chevron Phillips qui est une résine oxydable (methylacrylate de cyclohexyle) faisant appel à un photoamorceur. Contrairement aux procédés à base de fer, le système est déclenché par la lumière et ne dépend pas de la teneur en eau pour activer le piégeur : il peut donc être utilisé à la fois pour des produits riches en eau mais aussi pour les produits secs.

I.2.2. Les matériaux d'emballage modifiés au cours de leur fabrication

I.2.2.1. Libération d'agents antimicrobiens du matériau d'emballage vers l'aliment

La libération d'agents antimicrobiens nécessite un matériau d'emballage suffisamment perméable à ces substances pour en permettre la diffusion et le relargage contrôlés vers l'aliment au cours du stockage. Parmi les composés antimicrobiens « piégés » dans les films d'emballage et émis vers l'aliment, nous pouvons citer des substances comme :

- les acides organiques dont les acides sorbique, propionique et benzoïque (Han *et al.*, 1997) et leurs dérivés anhydriques (Weng *et al.*, 1997),
- les bactériocines dont la nisine et la pédiocine (Ming *et al.*, 1997),
- les enzymes dont le lysozyme (Padgett *et al.*, 1998),

CONFIDENTIEL

- les fongicides dont la benomyl (Halek *et al.*, 1989) et l'imazalil (Weng *et al.*, 1992),
- les composés organiques dont le triclosan (Cutter, 1999).

Le triclosan, dérivé du diphényléther (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenylether), présente un large spectre d'activité antimicrobien. Il agit en inhibant l'énoyl réductase, enzyme indispensable à la synthèse des lipides de la membrane bactérienne. Privées de membrane, les bactéries meurent. La société Microban Products Co. (USA) a mis au point une technique d'encapsulation du triclosan dans les matériaux plastiques de façon à ce qu'il puisse migrer vers l'aliment et empêcher le développement bactérien.
En Europe, le statut réglementaire du triclosan est limité, le SCF (Scientific Commity for Food) a approuvé son utilisation, mais avec une migration maximale vers l'aliment de 5 $mg.kg^{-1}$.
Le triclosan étant très utilisé dans les produits destinés au grand public (dentifrice, crèmes de beauté) et en milieu hospitalier (savons antiseptiques), des risques d'apparition de phénomènes de résistance bactérienne existent.

I.2.2.2. Immobilisation d'agents antimicrobiens à la surface du matériau d'emballage

Dans ces systèmes, contrairement à ceux décrits précédemment, l'activité s'exerce par contact direct des microorganismes avec la surface interne de l'emballage. Cette surface en contact peut être recouverte d'ions métalliques fixés, elle peut avoir subit un traitement physique (UV, plasma) ou être modifiée par greffage d'agents antimicrobiens.

Les technologies à base d'argent sont aujourd'hui largement développées, notamment au Japon (Ishitani, 1995). Dans ces systèmes, les ions argent ne migrent pas vers l'aliment, ils restent localisés au niveau de l'emballage. Ils sont fixés au niveau d'une fine couche d'un matériau inorganique microporeux (zéolite, céramique ou verre modifié) qui est déposée et collée sur la surface de l'emballage au contact des aliments. Ces systèmes présentent un large spectre d'activité antimicrobien.
Dans les systèmes à base de céramique on suppose que l'oxygène dissout est transformé en oxygène actif, par action catalytique de l'argent. Cet oxygène actif peut alors détériorer les différents éléments constitutifs des bactéries. Comme ces dernières ne semblent pas disposer

CONFIDENTIEL

de mécanisme inhibant l'action de l'oxygène actif dans ces conditions, l'usage de céramiques ne semble pas faciliter l'apparition de souches bactériennes résistantes.
Dans les systèmes à base de zéolites, le couplage des ions argent et des bactéries inhibe un nombre important de processus de transport et interagit tant avec les phénomènes d'oxydation cellulaire que ceux de la chaîne respiratoire.
L'efficacité des technologies à base d'argent vis-à-vis de la contamination alimentaire va dépendre du taux de nutriments dans les aliments. Sachant que les ions argent peuvent réagir avec les acides aminés (en fait avec tous les composés contenant du soufre, de l'oxygène ou de l'azote), ces technologies sont peu efficaces vis-à-vis des aliments riches en nutriments. En revanche, l'efficacité sera bonne avec les aliments pauvres en nutriments (eaux minérales ou thé).
En juin 2000, AgION™, une technologie basée sur la libération d'ions argent, a reçu l'approbation de la FDA (Food and Drug Administration) pour être utilisée dans les polymères au contact des aliments sur le marché américain.

Par irradiation UV (193 nm) il est possible de convertir les groupements amides du nylon en fonctions amines qui possèdent une activité antimicrobienne (Paik *et al.*, 1998).
Les traitements plasma se développent aussi dans le domaine de l'emballage alimentaire (Ozdemir et *al.*, 1999). Par exemple, un plasma à base de fluor peut être utilisé pour former une couche de fluor à la surface du matériau d'emballage, et ainsi conférer des propriétés antimicrobiennes au matériau.

Le greffage d'agent antimicrobien peut également être envisagé pour fonctionnaliser les matériaux d'emballage (Ozdemir *et al.*, 1998). Ce greffage assure la formation d'une liaison covalente entre le matériau d'emballage et l'agent antimicrobien. Cette liaison conférerait un caractère d'irréversibilité au greffage, dans des conditions usuelles de pH et de température du produit alimentaire, même après de longues périodes de conservation. Comme l'activité s'exerce par contact direct des micro-organismes sur la surface interne de l'emballage, cela peut apporter une certaine innocuité au matériau.
Des greffages d'enzyme (glucose oxydase) et/ou d'agents chélatants ont été proposés par Hotchkiss, 1995. La glucose oxydase catalyse la réaction du glucose avec l'oxygène qui forme du peroxyde d'hydrogène, antimicrobien. Cette enzyme a été greffée sur des supports insolubles compatibles avec les matériaux d'emballages (Wang et *al.*, 1993).

CONFIDENTIEL

Une étude d'Appendini et *al.* (2001) décrit le greffage d'un peptide présentant un large spectre d'activité antimicrobien sur du polystyrène, polymère communément utilisé dans l'emballage alimentaire.

I.3. Aspects réglementaires des matériaux au contact des aliments

I.3.1. Les emballages conventionnels

En Europe, les pouvoirs publics ne légifèrent que sur ce qui touche à la santé des consommateurs et à la protection de l'environnement. Les premières réglementations spécifiques aux plastiques se sont mises en place dans les années 1970, lorsqu'il est apparu à la fois que le chlorure de vinyle pouvait migrer dans les aliments et qu'il s'agissait d'une substance hautement cancérigène.

L'Union Européenne, après avoir défini les principes généraux d'inertie dans une directive cadre 89/109/CEE, harmonise l'ensemble des réglementations nationales en mettant en place une démarche nouvelle et très rigoureuse. Elle focalise ses efforts sur les matériaux plastiques.
Le Conseil de l'Europe, lui, aborde plusieurs domaines spécifiques en même temps : résines échangeuses d'ions, catalyseurs et auxiliaires de polymérisation, papiers cartons, vernis, silicones, métaux, caoutchoucs, encres d'impression des emballages alimentaires... . Dans le cadre de l'Accord Partiel « santé publique », il prépare des Résolutions, qui ne sont que des recommandations que les états membres sont libres d'appliquer ou non.

Le principe fondamental de réglementation des emballages conventionnels est l'inertie : les matériaux d'emballage doivent être inertes, c'est-à-dire que dans les conditions normales de leur emploi, ils ne doivent pas céder aux denrées alimentaires des constituants en quantité susceptible :

- de présenter un danger pour la santé humaine,
- d'entraîner une modification inacceptable de la composition ou une altération des caractères organoleptiques de ces denrées.

CONFIDENTIEL

Pour respecter ce principe d'inertie, les moyens mis en œuvre sont les directives spécifiques par type de matériaux qui comportent :

- une liste des substances et matières dont l'emploi est autorisé (liste positive),
- les critères de pureté de ces substances,
- les conditions particulières d'emploi,
- une limite de migration globale,
- des limites de migration spécifiques,
- les modalités relatives au prélèvement des échantillons,
- les méthodes d'analyses nécessaires au contrôle du respect des dispositions précédentes.

Les substances de la liste positive sont autorisées après évaluation du risque par le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine (CSAH) ou Scientific Commity for Food (SCF). Cette évaluation du risque tient compte à la fois du danger que représente la substance (dossier toxicologique) et de l'exposition du consommateur (dossier physico-chimique). En fonction des données toxicologiques et du niveau de migration, les substances sont classées dans 10 listes SCF numérotées de 0 à 9 :

- les listes 0 à 4 correspondent à des substances autorisées avec éventuellement des restrictions d'emploi.
- les listes 5 à 9 correspondent aux substances non autorisées à cause de leur toxicité ou aux substances dont le manque d'informations ne permet pas au CSAH de se prononcer.

L'ensemble des avis du CSAH est compilé dans un document synoptique et les futures directives reprennent toujours les avis du CSAH et s'appuient sur ce document.

La limite de migration globale pour les matières plastiques (directive 90/128/CEE) est fixée à 10 $mg.dm^{-2}$ de surface des matériaux et 60 $mg.kg^{-1}$ de produit alimentaire. Elle fixe aussi une liste de composés autorisés pour la fabrication avec des limites de migration spécifique (LMS) et des quantités maximales résiduelles dans le matériau (Qm). Par exemple le glucose et le glycérol sont autorisés sans LMS ni Qm, alors que l'éthylène glycol et l'acide maléique sont autorisés avec une LMS de 30 $mg.kg^{-1}$ et le monochlorure de vinyle avec une LMS de 1 $mg.kg^{-1}$ et une Qm de 0,01 $mg.kg^{-1}$.

CONFIDENTIEL

Les règles de base pour l'évaluation de la migration de ces constituants sont définies dans la directive 82/711/EEC, avec une liste des liquides simulateurs à utiliser (eau, acide acétique à 3 %, éthanol à 15 %, huile d'olive). Des tableaux donnent les conditions des essais de migrations (durée, température) en fonction des conditions de contact en situation réelle.

La réglementation prévoit que les matériaux d'emballages lors de leur commercialisation comportent soit la mention « pour contact alimentaire » soit un symbole (verre et fourchette accolés), soit une mention spécifique à leur emploi.

I.3.2. Cas des emballages actifs

Jusqu'à présent, la législation concernant les emballages conventionnels a été appliquée plus ou moins facilement aux emballages actifs. La limite globale de migration maximale de 60 $mg.kg^{-1}$ est cependant en totale opposition avec le principe même de certains d'entre eux et constitue un obstacle infranchissable à la mise sur le marché. Au regard de la législation actuelle, les emballages actifs peuvent se diviser en plusieurs catégories.

Lorsqu'il n'y a pas de contact direct avec la denrée alimentaire et pas d'émission de composés volatils (absorbeurs), aucune contrainte législative n'est à ce jour relevable. Il faut cependant s'assurer que les systèmes soient bien isolés de l'aliment et n'entrent jamais en contact, même occasionnellement avec le produit ou ne risquent pas d'être ingérés par le consommateur. Les sachets doivent porter une mention spéciale « ne pas consommer » et sont maintenant remplacés peu à peu par des systèmes d'étiquettes autocollantes.

Les problèmes commencent à apparaître lorsqu'il y a émission de composés volatils. S'ils sont en conformité avec les additifs et les composants alimentaires autorisés, il faut vérifier qu'ils se retrouvent dans l'aliment à des teneurs inférieures à celles admises par la législation. Pour cela des tests bien spécifiques doivent être mis en place de façon normalisée. En l'absence de ces tests de migration, il est parfois difficile de répondre à ce critère, ce qui entraîne l'apparition d'une première zone d'ombre dans le cadre législatif.

Enfin lorsqu'il y a contact avec l'aliment et migration potentielle des composés contenus dans l'emballage, la situation se complique singulièrement puisque seuls les additifs présents sur les listes positives et migrant selon les tests normalisés dans des quantités admises, sont en théorie autorisés. Or, ces listes établies pour garantir le principe d'inertie, ne comportent que des composants et additifs entrant habituellement dans la composition des matériaux en tant que matière première ou additifs de fabrication. Les composés utilisés à d'autres finalités ne

CONFIDENTIEL

figurent pas sur ces listes. Ce qui signifie qu'un composé tout à fait dépourvu de toxicité mais absent de la liste positive ne sera pas autorisé.

Paradoxalement, l'apport de ces systèmes actifs en termes de sécurité est souvent très intéressant. C'est pour cette raison qu'un « super-règlement » européen est actuellement en cours de réalisation dont le but est de fusionner toutes les directives existantes sur les matériaux au contact des denrées alimentaires. Il étend le domaine d'application aux matériaux multicouches, barrières et actifs, conçus pour libérer des constituants ou absorber des substances provenant des aliments. Ce « super-règlement » permettrait ainsi d'autoriser l'utilisation des concepts innovants dans un futur proche.

L'utilisation de matériau d'emballage antimicrobien dans l'emballage alimentaire permettrait de limiter la contamination microbienne des aliments pendant le stockage, le transport et la manipulation. Le mécanisme d'action de la plupart des emballages antimicrobiens est aujourd'hui basé sur la libération d'agents antimicrobiens vers l'aliment. Ce principe suppose un certains nombre de contraintes telles que la compatibilité avec le matériau et l'aliment, et le contrôle du relargage.

L'exploration plus récente des potentialités apportées par le greffage d'agents antimicrobiens à la surface du matériau d'emballage permettrait d'assurer au matériau les particularités suivantes :

- Sécurité : le produit serait sécurisé sur le plan sanitaire,
- Innocuité : pas de migration vers les produits alimentaires, notamment dans le cas de supports greffés.
- Efficacité : l'action coopérative de molécules regroupées sur une même surface solide s'avère plus efficace que la somme des activités individuelles dispersées dans une solution

CONFIDENTIEL

II. Conception de surfaces modifiées

Il existe deux grandes voies pour immobiliser des monomères à la surface de substrats solides : l'adsorption et la formation d'une liaison covalente.

L'adsorption suppose une forte affinité entre le monomère et la surface du support.

Pour former une liaison covalente l'approche sera différente selon que le support est inerte ou réactif :

- si le support est inerte, le greffage est rendu possible après activation radicalaire de la surface. Les radicaux générés vont ensuite réagir avec le monomère. On parle de greffage radicalaire,
- si le support présente des fonctions chimiques, le monomère réagit avec ces groupements réactifs pour former une liaison covalente (Figure 2).

CONFIDENTIEL

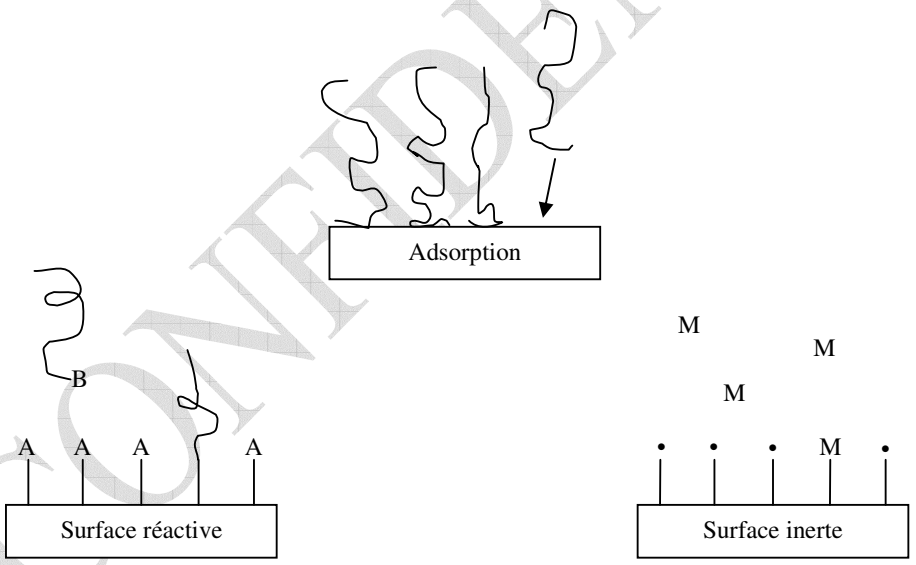


Figure 2 : Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation sur un support solide

II.1. Immobilisation de molécules par adsorption

II.1.1. Physisorption

La physisorption est un procédé réversible réalisé par l'adsorption du monomère à la surface du support (Zhao *et al.*, 2000). La densité de greffage et les caractéristiques de surface sont essentiellement contrôlées par un équilibre thermodynamique, voire cinétique. Pour assurer l'adsorption, le monomère présente une partie ayant une forte affinité pour la surface du support et une autre partie qui interagit faiblement avec ce dernier. La physisorption des monomères a lieu en présence de solvants et de surfaces spécifiques, ce qui conduit à une solvatation et une adsorption spécifiques. Dans le cas des solvants spécifiques, un solvant idéal fait précipiter une partie du co-polymère à immobiliser qui servira de point d'ancrage, l'autre partie du co-polymère étant solubilisé dans le solvant. Pour les surfaces spécifiques, une partie du co-polymère est préférentiellement adsorbé à la surface du support et l'autre partie du co-polymère forme une brosse. La structure de la couche formée dépend de la sélectivité du milieu et de la nature du monomère, de la longueur de chaque partie du co-polymère et des interactions entre le point d'ancrage et la surface.

II.1.2. Technique Langmuir-Blodgett

La technique Langmuir-Blodgett est souvent utilisée pour déposer sur des surfaces solides des molécules amphiphiles et des macromolécules comportant des segments amphiphiles (Tsukruk, 1997). Des monocouches peuvent être réalisées par compression latérale des molécules amphiphiles à l'interface air-eau, les interactions entre les segments hydrophiles et le support permettent ensuite de déposer les molécules amphiphiles par un transfert vertical (figure 3) (Batty *et al.*, 1996).

Le dépôt répété de monocouches à la surface du support permet ainsi d'obtenir un système multicouche. Le nombre de couches déposées peut être de l'ordre d'une centaine. La structure multicouche obtenue est assez ordonnée mais une augmentation du nombre de couches conduit à une diminution de la stabilité mécanique et thermique du film en raison des faibles interactions physiques mises en jeu.

CONFIDENTIEL

Une variation de la composition de la monocouche permet d'obtenir des systèmes multicouches complexes composés de différents types de molécules. L'épaisseur des monocouches dépend à la fois de la longueur des molécules, de leur orientation, de leur rigidité et du type de dépôt.

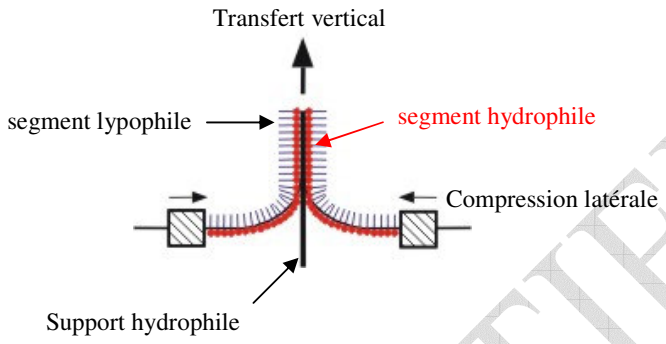


Figure 3 : schéma de principe de la technique Langmuir-Blodgett

II.1.3. Polyélectrolytes

Le principe repose sur l'adsorption en surface d'un monomère couplé à des polyélectrolytes tels que la poly-L-lysine (PLL) ou l'acide polyacrylique (PAA) (Ruiz-Tailor *et al.*, 2001). L'adsorption sur la surface se fait par interaction électrostatique entre les charges de signes opposées du polyélectrolyte et du support. Puisque l'immobilisation est dépendante des interactions électrostatiques, il est clair que le pH est un paramètre important pour la durabilité d'un tel système.

L'auto-assemblage couche par couche de polyélectrolytes de charges opposées sur des surfaces chargées offre une autre possibilité de former un système multicouche sur un support (Decher, 1997). La figure 4, illustre la formation d'un système multicouche sur un substrat chargé positivement ; les étapes 1 et 3 représentent l'adsorption d'un polyanion (le polystyrène sulfonate de sodium) et d'un polycation (la polyallylamine), respectivement, et les étapes 2 et 4 sont des procédures de lavage.

CONFIDENTIEL

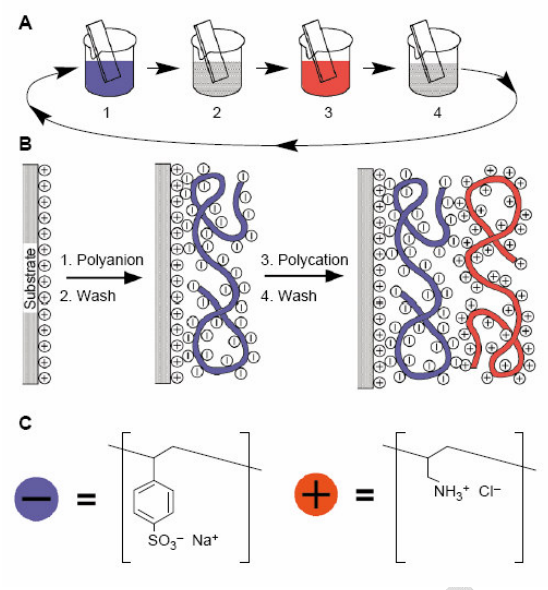


Figure 4 : (A) Schéma du procédé d'adsorption des polyélectrolytes sur un substrat, (B) Représentation simplifiée des deux premières étapes d'adsorption, (C) Structure chimique de deux polyions typiques, d'après Decher (1997).

II.1.4. « Coating deposition »

Le *spin-coating deposition* est une technique rapide et efficace pour la fabrication de couche adsorbée dont l'épaisseur varie de plusieurs nanomètres à plusieurs micromètres. Expérimentalement, le polymère en solution est placé sur la surface d'un substrat plan, puis, par rotation, la force centrifuge permet un recouvrement du substrat et une évaporation du solvant (figure 5). Les liquides visqueux tendent à former une couche uniforme à la surface du support, avec une épaisseur qui varie en fonction de la vitesse de rotation, de la concentration, de la viscosité et de la température (Walsh *et al.*, 2003). La couche ainsi formée est lisse et homogène avec une rugosité moyenne de l'ordre de quelques nanomètres.

CONFIDENTIEL

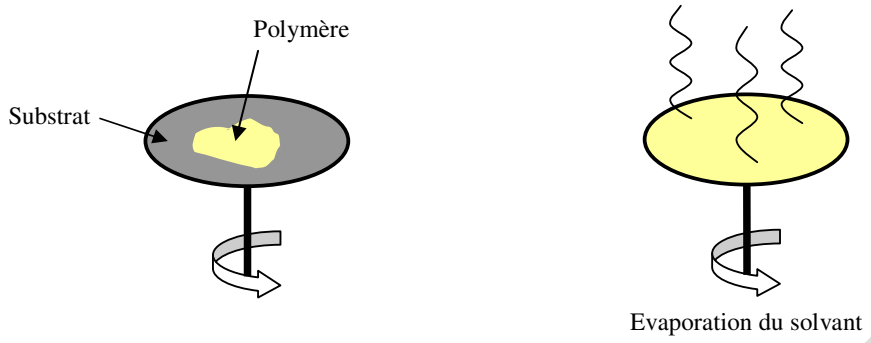


Figure 5 : Schéma de principe du procédé *spin-coating*.

Le *dip-coating* est un procédé où le substrat est immergé dans une solution qui contient la molécule à immobiliser, puis retiré avec une vitesse définie ce qui permet au solvant d'être éliminé par gravitation et évaporation (figure 6). Il en résulte la formation d'une couche adsorbée dont l'épaisseur dépend de la viscosité de la solution, du taux d'évaporation du solvant, des tensions de surface et de la vitesse d'immersion et de retrait (Siau *et al.*, 2005). Généralement, plus la vitesse à laquelle le substrat est retiré de la solution est rapide, plus l'épaisseur de la couche déposée est grande.

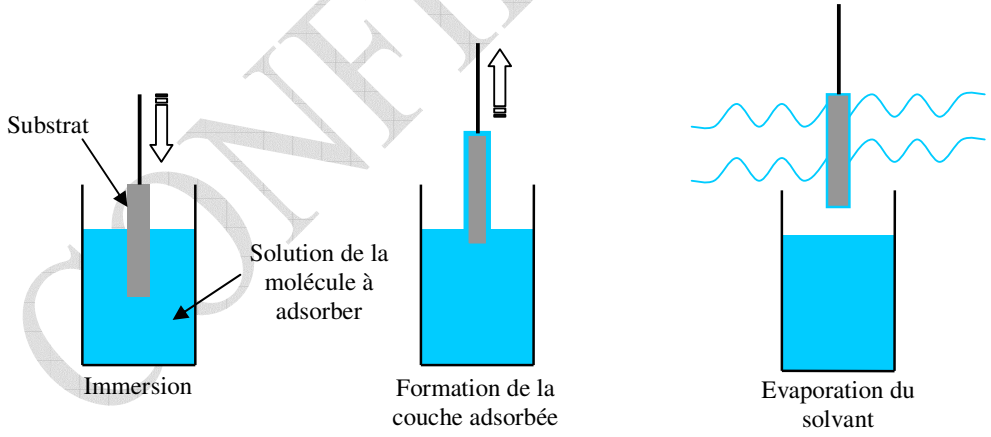


Figure 6 : Schéma de principe du procédé *dip-coating*.

CONFIDENTIEL

II.2. Immobilisation de molécules par greffage

II.2.1. Greffage sur les surfaces inertes

Pour les surfaces inertes c'est à dire sans groupements fonctionnels réactifs, telles que le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP) et le polytétrafluoroéthylène (PTFE), le greffage est rendu possible après activation radicalaire de la surface.

II.2.1.1. Greffage photochimique

Le greffage photochimique nécessite des photoamorceurs tels que des azides aromatiques ou des benzophénones substituées et conduit à un couplage covalent entre la surface d'un polymère (PH) et un monomère (M):

- sous UV, la fonction azide se transforme en intermédiaire nitrène qui peut réagir sur les doubles liaisons carbone-carbone et s'insérer sur une liaison carbone-hydrogène (figure 7) (Konno *et al.*, 2005),
- par irradiation UV, la fonction cétone de la benzophénone se transforme en une espèce de type biradicalaire capable d'arracher un hydrogène de la chaîne polymère, conduisant à la formation d'un radical qui peut ensuite réagir avec le monomère à greffer (figure 8) (Rånby *et al.*, 1999).

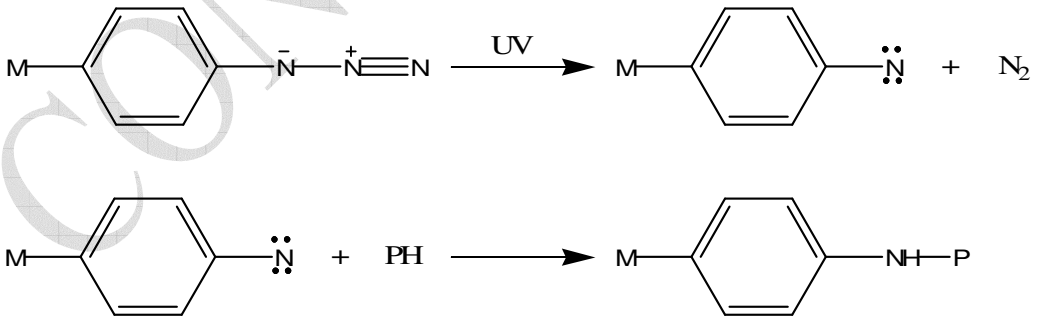


Figure 7 : Schéma de principe du greffage photochimique initié avec un azide.

CONFIDENTIEL

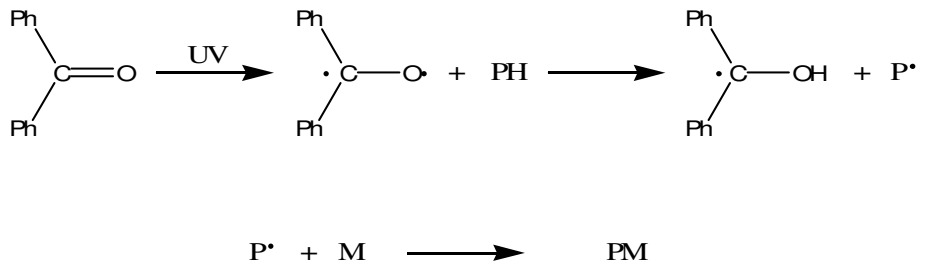


Figure 8 : Schéma de principe du greffage photochimique initié avec la benzophénone.

II.2.1.2. Radiogreffage

L'irradiation des surfaces inertes, par des rayonnements électromagnétiques (γ) ou corpusculaires (β et plasmas) provoquent des ruptures homolytiques, donc la formation de radicaux libres. La profondeur du traitement dans l'épaisseur du matériau varie en fonction de l'énergie du rayonnement (tableau 1).

Radiation	Energie (eV)	Pénétration moyenne (cm pour une densité de 1)
Gamma	10^5 - 10^8	> 100
Electrons (β)	10^4 – 10^7	< 10
Plasmas	1 - 10	< 10^{-2}

Tableau 1 : Puissance et pénétration comparées des radiations ionisantes.

Le greffage radicalaire peut s'effectuer soit par pré-irradiation, soit par irradiation simultanée. Dans la technique de pré-irradiation le polymère est tout d'abord irradié pour former des radicaux libres. Le greffage se réalise ensuite en plongeant le polymère activé dans une solution du monomère insaturé à greffer qui se lie aux radicaux libres par covalence (Marmey *et al.*, 2003 ; Yamaki *et al.*, 2003).

Dans la technique d'irradiation simultanée, le polymère et le monomère sont irradiés en même temps, et la réaction de greffage est immédiate (Kaur *et al.*, 1996).

CONFIDENTIEL

L'irradiation d'un polymère en présence d'air (figure 9), conduit à la formation de radicaux alkyles ($P^{\bullet}$) qui réagissent avec l'oxygène pour donner des radicaux peroxyles ($POO^{\bullet}$), équations 1 et 2. Ces radicaux, par abstraction d'hydrogène ou combinaison avec les radicaux alkyles primaires, forment des hydroperoxydes (POOH) ou peroxydes (POOP), équations 3 et 4. Ces peroxydes stables à température ambiante se décomposent sous l'action de la température et réagissent ensuite avec le monomère insaturé pour amorcer le greffage, équations 5 et 6.

D'après Bhattacharya *et al.* (2004), l'avantage de cette technique est que les intermédiaires peroxydes peuvent être stockés pendant de longues périodes avant d'effectuer le greffage. Cependant, il a été observé par Anjum *et al.* (2006) une diminution importante du taux de greffage, d'un échantillon de polypropylène irradié en présence d'air, après un stockage de quelques semaines à -80°C.

$$P \rightarrow P^{\bullet} \quad (1)$$

$$P^{\bullet} + O_2 \rightarrow POO^{\bullet} \quad (2)$$

$$POO^{\bullet} + PH \rightarrow POOH + P^{\bullet} \quad (3)$$

$$POO^{\bullet} + P^{\bullet} \rightarrow POOP \quad (4)$$

$$POOH + POOP \xrightarrow{\Delta} 3\ PO^{\bullet} + OH^{\bullet} \quad (5)$$

$$PO^{\bullet} + M \rightarrow POM^{\bullet} \quad (6)$$

Figure 9 : Mécanismes mis en jeu dans le greffage radicalaire en présence d'air.

II.2.2. Greffage sur les surfaces réactives

Dans cette approche, la molécule à greffer possède une extrémité fonctionnalisée qui lui permet de réagir avec le substrat afin de former une liaison covalente. Cette méthode est souvent utilisée pour préparer des monocouches sur des surfaces solides de silicium, d'or ou de quartz. La fonctionnalisation des molécules à greffer peut se faire de manière simple, en utilisant différentes réactions de la chimie organique. La surface du substrat peut aussi être modifiée chimiquement afin d'introduire les groupements fonctionnels convenables.

CONFIDENTIEL

II.2.2.1. Hydrosilylation

L'hydrosilylation résulte de la réaction d'une liaison insaturée avec un groupement silyle (Si-H) ou silanol (Si-OH) présent à la surface d'un substrat silicium, ce qui conduit à la formation d'une liaison covalente Si-C ou Si-O respectivement (figure 10). Cette réaction peut être induite de manière thermique, photochimique ou par des complexes métalliques (Buriak, 1999).

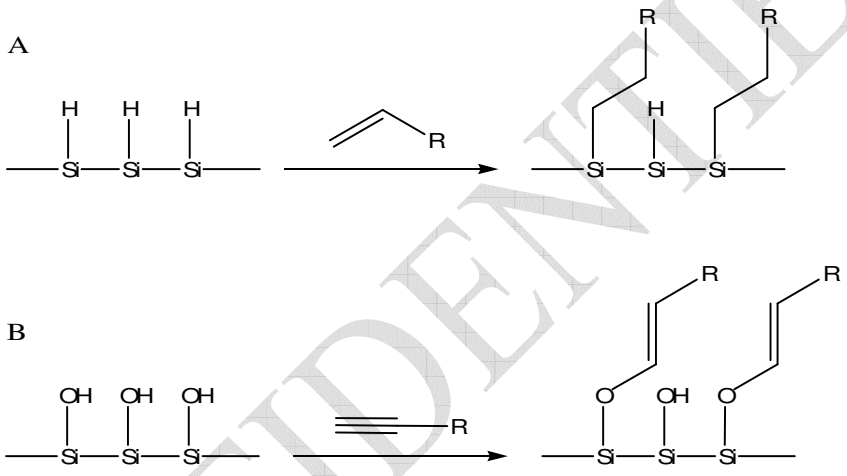


Figure 10 : Hydrosilylation d'un alcène avec des groupements silyles (A) et d'un alcyne avec des groupements silanols (B).

Maas *et al.* (2003) ont ainsi greffé du polystyrène ayant un groupement vinyle terminal (figure 11), sur des wafers de silicium avec une densité de greffage comprise entre 0,47 et 0,33 chaîne.nm^{-2} suivant la masse molaire du polystyrène modifié greffé. La liaison covalente se forme, en milieu fondu (activation thermique), par réaction des groupements silanes ou silanols présents à la surface du support de silicium avec le groupement vinylique. Selon le même protocole, Kaper *et al.* (2003), ont greffé un PEG methacrylate sur une lame de verre (figure 12).

CONFIDENTIEL

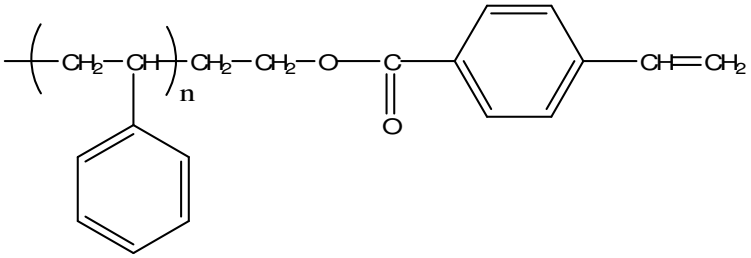


Figure 11 : Formule développée du polystyrène modifié d'après Maas *et al.* (2003).

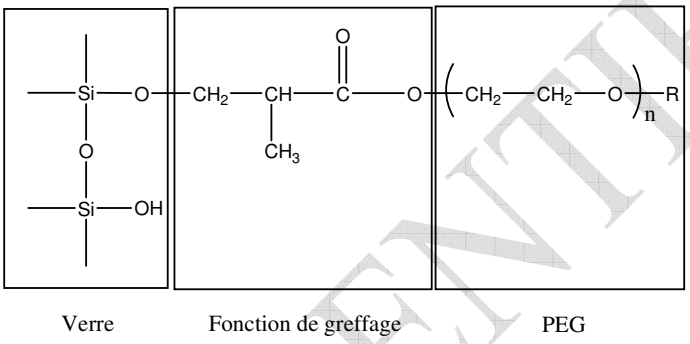


Figure 12 : Représentation schématique d'un PEG méthacrylate greffé sur une surface de verre d'après Kaper *et al.* (2003).

CONFIDENTIEL

II.2.2.2. Réaction avec les chlorosilanes

Les chlorosilanes réagissent facilement avec les groupements hydroxyles pour former des liaisons Si-O. Ainsi, la méthode employée par Zhang *et al.* (1998) et Sharma *et al.* (2003) permet le greffage chimique d'un système multicouche sur une surface de silanols, par l'intermédiaire de polyéthylène glycol-trichlorosilane (figure 13). Sharma *et al.* (2003) ont ainsi obtenu une densité de greffage de 1,30 chaînes.nm^{-2} avec un PEG de 1000 g.mol^{-1}.

Sur le même principe, des sels d'ammonium quaternaires comportant un groupement triméthoxysilane ont pu être greffés sur du silicone, après traitement du support par un plasma d'argon afin de former des groupements silanols (Gottenbos *et al.*, 2002).

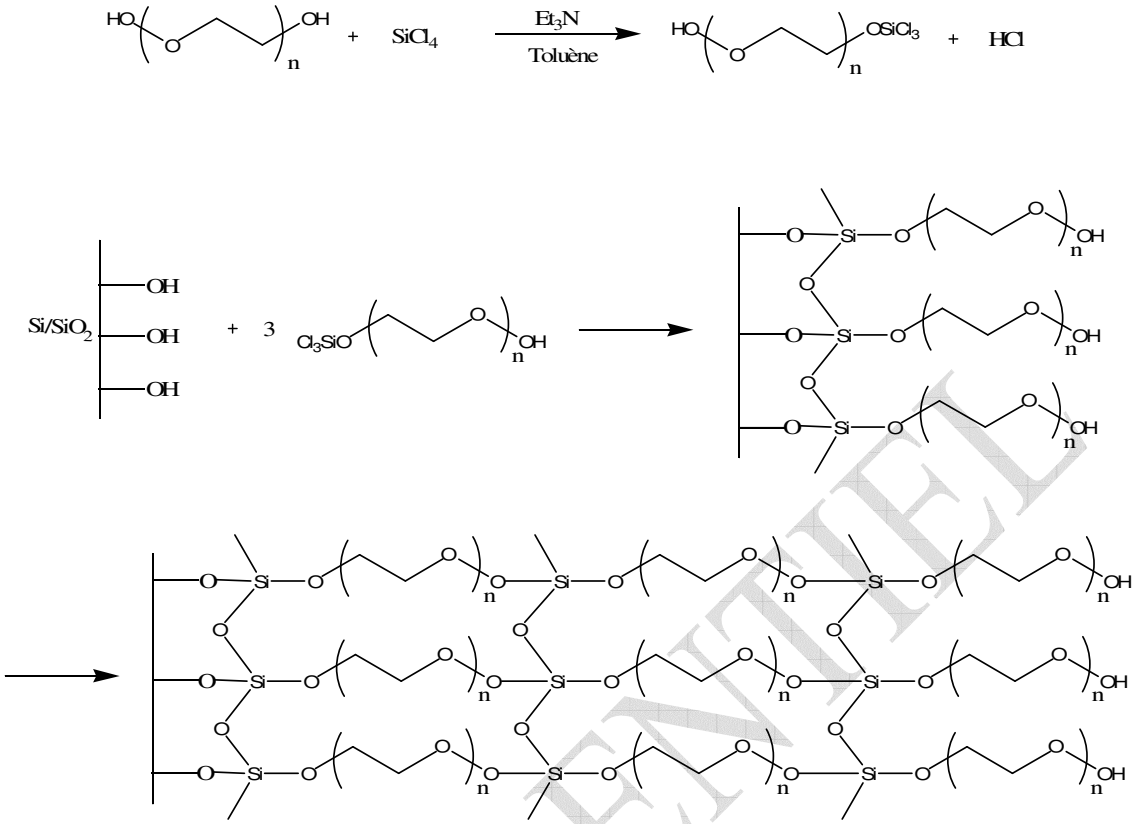


Figure 13 : Schéma réactionnel de la formation d'un système multicouche de polyéthylène glycol par greffage chimique d'après Sharma *et al.* (2003).

Une autre technique consiste à utiliser les chlorosilanes pour immobiliser des amorceurs radicalaires à la surface du substrat. Après activation des radicaux libres sont générés, ce qui permet le greffage du monomère. Pendant la phase de polymérisation qui suit, la couche greffée croît et si la densité de sites de polymérisation est suffisante, on obtient une couche greffée uniforme.

Prucker *et al.* (1998) ont mis au point une stratégie permettant de greffer l'amorceur à la surface du substrat en une seule étape (figure 14). Le système fait appel à trois composants : une fonction de greffage, l'amorceur et un groupement permettant la séparation du monomère du substrat pour une analyse ultérieure. L'amorceur est immobilisé sur la surface par réaction des chlorodiméthylsilanes avec les silanols du substrat puis, par chauffage, génère des radicaux qui permettent une polymérisation *in situ* d'un autre monomère (styrène ou autre).

CONFIDENTIEL

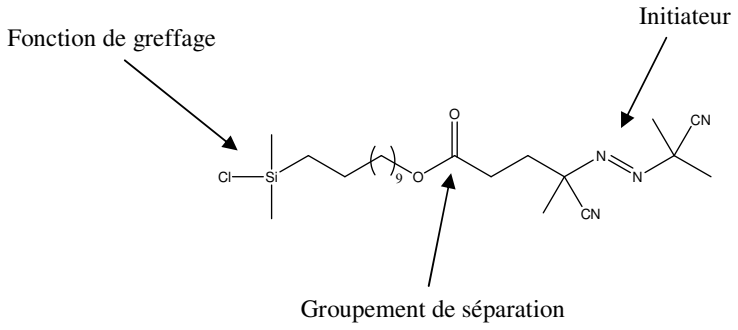


Figure 14 : Représentation de l'amorceur utilisé par Prucker *et al.* (1998).

II.2.2.3. Réaction avec les surfaces halogénées

Cette méthode est basée sur l'alkylation d'un support de silice halogéné avec un organomagnésien (Bansal *et al.*, 1996) ou un organolithien (He *et al.*, 1998). Cette réaction conduit à la formation d'une monocouche liée à la surface par une liaison Si-C (figure 15).

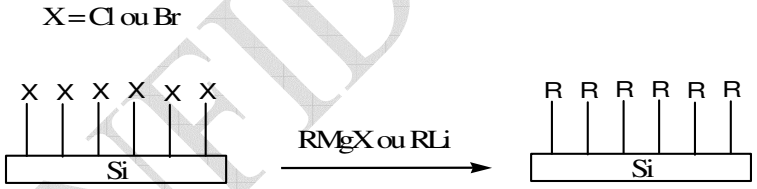


Figure 15 : Représentation schématique du greffage par halogénation/alkylation.

Sur ce principe, Zhu *et al.* (2001) ont mis au point une procédure en deux étapes qui permet de former une liaison covalente entre une surface de silice et des molécules de polyéthylène glycol. Des groupements chlore, liés à la surface de silice, réagissent avec les fonctions hydroxyles des polyéthylènes glycol pour former une liaison Si-O (figure 16) avec une densité de greffage d'environ 1,75 chaînes.nm^{-2} pour un PEG de 2000 g.mol^{-1}.

CONFIDENTIEL

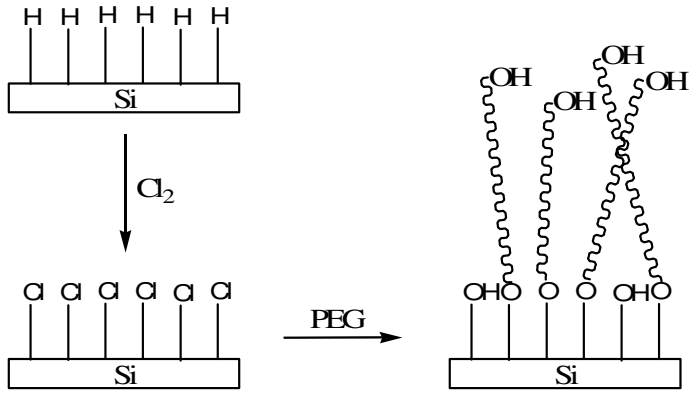


Figure 16 : Représentation schématique du greffage de polyéthylène glycol sur une surface de silice chlorée d'après Zhu *et al.* (2001).

CONFIDENTIEL

Plusieurs méthodes sont envisageables pour modifier la surface d'un support solide, chacune avec leurs avantages et leurs inconvénients.

D'un point de vue technique, il semblerait que la préparation de couche adsorbée soit plus simple à mettre en œuvre, mais il faut garder à l'esprit que cette couche est peu stable en raison des interactions faibles (de type van der Waals et/ou liaisons hydrogène et/ou électrostatiques) qui interviennent entre le substrat et la molécule immobilisée. Une désorption peut donc se produire vers un autre solvant ou avec une augmentation de la température.

Le greffage covalent permet, quant à lui, d'obtenir une modification de surface souvent plus durable.

Les matériaux antimicrobiens que nous cherchons à développer doivent présenter, à terme, les particularités suivantes : sécurité sanitaire, innocuité (pas de migration) et efficacité. En conséquence, nous nous sommes orientés vers un greffage covalent de molécules antimicrobiennes. Le choix de la méthodologie va ensuite dépendre de la nature du support à modifier. Pour les matériaux inertes (de type plastiques), le greffage radicalaire est le plus couramment utilisé mais il nécessite un équipement lourd de type plasma, accélérateurs d'électrons ou bien l'ajout d'un photoamorceur. Pour les surfaces réactives (de type silice), le greffage avec un monomère qui possède une extrémité fonctionnalisée

permettrait de réaliser des monocouches greffées de manière beaucoup plus simple. Dans un premier temps, il a donc été décidé, de suivre cette méthodologie, sachant que si le monomère contient une fonction qui peut réagir avec les radicaux (fonction allyle ou vinyle), la transposition du greffage sur les matériaux plastiques est envisageable.

CONFIDENTIEL

III. Prévention de la biocontamination des surfaces

III.1. Approche physico-chimique des phénomènes d'adhésion

Deux approches physico-chimiques, initialement considérées comme différentes, sont disponibles pour décrire les interactions mises en œuvre dans le processus bioadhésif (Bos *et al.*, 1999) :

- Le modèle thermodynamique (Absolom *et al.*, 1983), basé sur les énergies d'interaction interfaciale et qui n'inclut pas les interactions électrostatiques.
- La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek) décrit l'adhésion comme un équilibre entre les interactions de Lifshitz-van der Waals, les interactions électrostatiques et leur diminution en fonction de la distance de séparation des deux corps (Hermansson, 1999).

Chacune de ces deux approches a montré sa capacité à expliquer les phénomènes d'adhésion observés dans certains cas bien spécifiques mais elles ne permettent pas une description généralisée des phénomènes d'adhésion (van Loosdrecht *et al.*, 1989). van Oss, Chaudry et Good (1986) ont ainsi développé une théorie étendue de la DLVO en incluant les interactions acide-base de Lewis dans l'approche classique de la DLVO.

III.1.1. Modèle thermodynamique

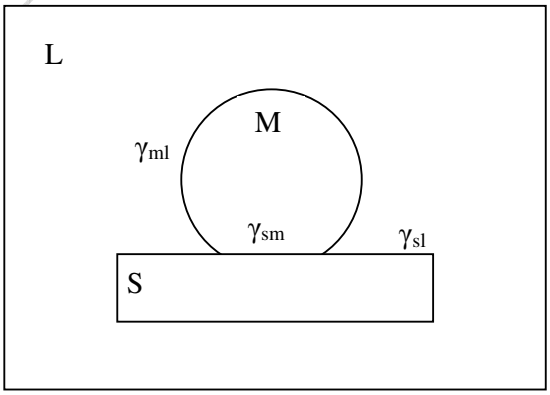


Figure 17 : Représentation schématique des énergies d'interaction interfaciale impliquées dans l'adhésion d'un microorganisme (M) à la surface d'un solide (S) immergé dans un liquide (L).

CONFIDENTIEL

Dans l'approche thermodynamique, les énergies d'interaction interfaciale liées aux forces de Lifshitz-van der Waals impliquées dans l'adhésion d'un microorganisme (M) à la surface d'un solide (S) immergé dans un liquide (L) sont comparées, comme illustré dans la figure 17. L'énergie d'adhésion est alors définie par l'équation de Dupré :

$$\Delta G_{adh} = \gamma_{sm} - \gamma_{sl} - \gamma_{ml} \quad (1)$$

Dans laquelle γ_{sm}, γ_{sl} et γ_{ml} sont les énergies d'interaction interfaciale solide-microorganisme, solide-liquide et microorganisme-liquide respectivement. L'adhésion est favorable quand ΔG_{adh} est négatif et énergétiquement défavorable lorsque ΔG_{adh} est positif.

Selon cette approche, il est impossible de déterminer expérimentalement les énergies d'interaction interfaciale. Toutefois les angles de contacts (figure 18) peuvent être reliés aux énergies interfaciales par l'équation de Young :

$$\gamma_{lv}\cos\theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad (2)$$

où γ_{lv}, γ_{sv} et γ_{sl} représentent les énergies libre à l'interface liquide-vapeur, solide-vapeur et solide-liquide respectivement.

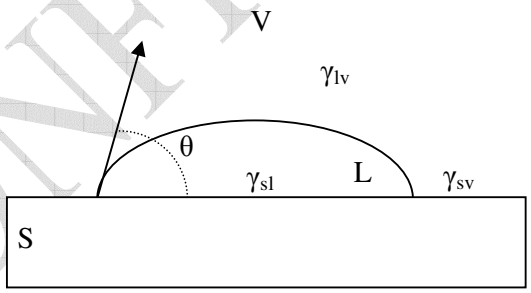


Figure 18 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V).

L'équation (2) ne peut pas être résolue pour les énergies d'interaction interfaciale γ_{sv} et γ_{sl} en mesurant l'angle de contact θ et l'énergie libre à l'interface liquide-vapeur γ_{lv} sans émettre l'hypothèse de l'existence d'une équation d'état (Neumann *et al.*, 1974) :

CONFIDENTIEL

$$\gamma_{sl} = \left(\sqrt{\gamma_{sv}} - \sqrt{\gamma_{lv}}\right)^2 \quad (3)$$

La combinaison des équations (2) et (3) avec les valeurs expérimentales de θ et γ_{lv} d'un liquide pur permet d'obtenir la valeur de γ_{sv}. Ensuite, l'équation d'état peut être employée pour calculer γ_{sm}, γ_{sl} et γ_{ml}, et ainsi déterminer ΔG_{adh}.

Les énergies libres de surface peuvent être séparées en une composante apolaire (γ^{LW}) et polaire (γ^{AB}) (van Oss *et al.*, 1986 ; Dann, 1970a, 1970b). Ces composantes peuvent être combinées (Wu, 1973) et on obtient alors l'équation suivante :

$$\gamma_{sl} = \left(\sqrt{\gamma_{sv}^{LW}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{LW}}\right)^2 + \left(\sqrt{\gamma_{sv}^{AB}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{AB}}\right)^2 \quad (4)$$

Puisque les composantes de l'énergie libre à l'interface liquide-vapeur sont connues, avec les valeurs d'angles de contact obtenues avec deux liquides purs et la combinaison des équations (2) et (4), on peut déterminer γ_{sv}. Par conséquent, l'équation (4) peut être employée pour calculer les énergies d'interaction interfaciale intervenant dans l'équation (1).

La composante acide-base de l'énergie interfaciale peut aussi être séparée en une composante donneur d'électron (γ^-) et accepteur d'électron (γ^+) :

$$\gamma_{sl} = \left(\sqrt{\gamma_{sv}^{LW}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{LW}}\right)^2 + 2\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{+}\gamma_{sv}^{-}} + \sqrt{\gamma_{lv}^{+}\gamma_{lv}^{-}} - \sqrt{\gamma_{sv}^{-}}\gamma_{lv}^{+} - \sqrt{\gamma_{sv}^{+}\gamma_{lv}^{-}}\right) \quad (5)$$

La combinaison des équations (2) et (5) permet d'obtenir l'équation de Young-van Oss :

$$(1+\cos\theta)\gamma_{lv} = 2\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{LW}\gamma_{lv}^{LW}} + \sqrt{\gamma_{sv}^{+}\gamma_{lv}^{-}} + \sqrt{\gamma_{sv}^{-}\gamma_{lv}^{+}}\right) \quad (6)$$

Cette relation permet de déterminer les composantes énergétiques du solide en effectuant les mesures d'angles de contact avec trois liquides purs de caractéristiques énergétiques connues. On obtient alors un système de trois équations à trois inconnues qui nous permet de déterminer γ_{sv}^{LW}, γ_{sv}^{+} et γ_{sv}^{-}.

CONFIDENTIEL

L'évaluation de ΔG_{adh} est relativement simple dans le cas de l'équation d'état mais devient plus complexe lorsque l'on inclut les composantes γ^{LW}, γ^{AB}, γ^{-} et γ^{+}. On peut alors simplifier le calcul en dissociant l'énergie d'adhésion en deux composantes de la façon suivante :

$$\Delta G_{adh} = \Delta G_{adh}^{LW} + \Delta G_{adh}^{AB} \tag{7}$$

En développant les valeurs des tensions interfaciales de l'équation de Dupré (1) à l'aide de l'équation (3), on obtient :

$$\Delta G_{adh}^{LW} = -2\left(\sqrt{\gamma_{mv}^{LW}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{LW}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{LW}}\right) \tag{8}$$

Les valeurs de ΔG_{adh}^{LW} sont presque toujours négatives, ce qui signifie que les forces de Lifshitz-van der Waals sont en majorité attractives. On en déduit donc que les conditions d'interaction seront plus ou moins favorables suivant la valeur positive ou négative de ΔG_{adh}^{AB} issue des interactions acide-base de Lewis. ΔG_{adh}^{AB} est alors donné par la relation :

$$\Delta G_{adh}^{AB} = -2\left(\sqrt{\gamma_{mv}^{AB}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{AB}}\right)\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{AB}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{AB}}\right) \tag{9}$$

En séparant les interactions acide-base de Lewis en leurs deux composantes accepteur et donneur d'électrons, on obtient :

$$\Delta G_{adh}^{AB} = 2\left[\left(\sqrt{\gamma_{mv}^{+}} - \sqrt{\gamma_{sv}^{+}}\right)\left(\sqrt{\gamma_{mv}^{-}} - \sqrt{\gamma_{sv}^{-}}\right) - \left(\sqrt{\gamma_{mv}^{+}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{+}}\right)\left(\sqrt{\gamma_{mv}^{-}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{-}}\right) - \left(\sqrt{\gamma_{sv}^{+}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{+}}\right)\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{-}} - \sqrt{\gamma_{lv}^{-}}\right)\right] \tag{10}$$

ΔG_{adh}^{AB} peut prendre des valeurs négatives (attraction) ou positives (répulsion) en fonction des valeurs γ^{-} et γ^{+} des trois corps.

CONFIDENTIEL

III.1.2. Théorie DLVO

Dans l'approche classique de la DLVO, l'adhésion est décrite comme un équilibre entre les interactions de Lifshitz-van der Waals attractives et les interactions électrostatiques, répulsives ou attractives. L'introduction des interactions électrostatiques nécessite la mesure des potentiels Zêta des surfaces mis en contact, en plus de la mesure des angles de contact. L'énergie libre d'interaction (G^{TOT}) peut ainsi être séparée comme ci-dessous :

$$G^{TOT}(d) = G^{LW}(d) + G^{EL}(d) \quad (11)$$

G^{LW} et G^{EL} représentant l'énergie des interactions de Lifshitz-van der Waals et l'énergie des interactions électrostatiques respectivement.
Pour une particule et une surface plane, l'énergie des interactions de Lifshitz-van der Waals est donnée par la relation (Hermansson, 1999) :

$$G^{LW}(d) = -\frac{Aa}{6d} \quad (12)$$

Avec A la constante d'Hamaker, a le rayon de la particule et d la distance de séparation entre la particule et le substrat.

Les interactions électrostatiques sont originaires des interactions de Coulomb entre particules chargées. La charge effective d'une particule colloïdale suspendue dans l'eau peut différer de sa charge réelle du fait des ions en solution, de signe opposé, qui adhèrent plus ou moins fermement à la particule :

- les ions les plus proches de la particule y sont fortement retenus par attraction électrostatique. Ils constituent la couche fixe ou adhérente ou couche de Stern**,** qui se déplace avec la particule, abaisse sa charge réelle, et forme autour d'elle une sorte d'écran protecteur (figure 19).

- La concentration de ces ions diminue rapidement quand on s'éloigne de la particule (la force d'attraction varie en effet en $1/r^6$, r représentant la distance au centre de la

CONFIDENTIEL

particule). Il existe donc une deuxième couche diffuse ou couche de Gouy, qui n'adhère pas à la particule, mais qui forme un nuage autour d'elle, s'estompe et devient nulle à une certaine distance de la particule. Dans un champ électrique, ces ions, de signe contraire à celui de la particule, sont attirés par cette dernière, mais sont attirés également par le pôle opposé. Cette couche freine donc le mouvement électrophorétique (migration de particules colloïdales à l'intérieur de la solution, sous l'effet d'un champ électrique).

Ainsi, la charge effective tient compte d'une part de la couche fixe et d'autre part, de la couche diffuse (Tardat-Henry *et al.*, 1992).

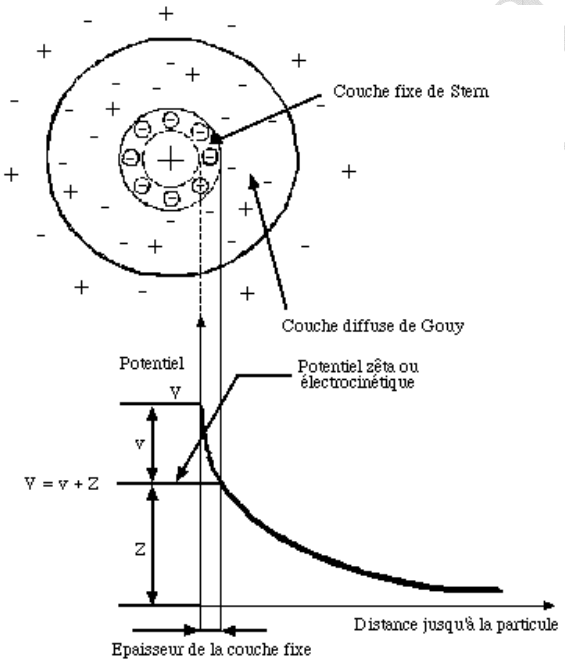


Figure 19 : Illustration schématique de la variation du potentiel en fonction de la distance de la particule chargée (d'après Tardat-Henry, 1992).

On sait que tout corps portant une charge électrique q exerce un potentiel V proportionnel à q/r. Dans le cas d'une particule colloïdale, il est très difficile de déterminer ce potentiel V dû à la charge réelle, mais on peut le décomposer en deux parties :

$$V = v + Z$$

où v est un potentiel de contact qui varie brusquement, de manière à peu près linéaire, à l'intérieur de la gaine que constitue la couche fixe, et Z, potentiel Zêta ou électrocinétique. Ce dernier est le seul qui importe vraiment : il est dû non pas à la charge réelle, mais à la charge effective de l'ensemble (particule + double couche). Inversement, c'est cette charge effective (et, par conséquent, le potentiel Zêta) qui détermine la mobilité de la particule, ainsi que sa stabilité vis-à-vis de la coalescence (formation d'agglomérats) (Hunter, 1986). Le potentiel Zêta correspond au point où commence la couche diffuse (c'est-à-dire à l'extérieur de la couche fixe) (Crow, 1994). Lorsque la charge effective diminue, le potentiel Zêta diminue et la stabilité diminue, même si la charge réelle (et, par conséquent, le potentiel V) ne varie pas (Tardat-Henry *et al.*, 1992).

Le potentiel V n'est pas directement mesurable, mais il est relié au potentiel électrocinétique ou Zêta (ζ) par la relation :

$$V = \zeta\left(1 + \frac{d}{a}\right)\exp(\kappa d) \qquad (13)$$

avec a le rayon de la particule, d la distance de séparation entre la particule et le substrat et $\frac{1}{k}$ la longueur de Debye (épaisseur de la double couche ionique diffuse) donnée par la relation :

$$\frac{1}{\kappa} = \sqrt{\frac{\varepsilon k T}{4\pi e^2 \sum_i v_i^2 n_i}} \qquad (14)$$

où, ε est la constante diélectrique du milieu liquide, k la constante de Boltzmann, T la température absolue en Kelvin, e la charge de l'électron, v_i la valence de chaque espèce ionique et n_i le nombre d'ions de chaque espèce par cm^3 de liquide.

Pour une particule et une surface plane, l'énergie des interactions électrostatiques est donnée par la relation (van Oss, 1994) :

$$G^{EL}(d) = aV^2 \varepsilon \ln[1 + \exp(-\kappa d)] \qquad (15)$$

CONFIDENTIEL

Les interactions électrostatiques sont dues au recouvrement de la double couche ionique associée aux charges présentes à la surface des particules et du substrat (Rutter *et al.*, 1980). Cette interaction est répulsive si la particule et le substrat ont des charges de surface de même signe, et attractive dans le cas contraire et diminue exponentiellement en fonction de la distance de séparation des deux corps.

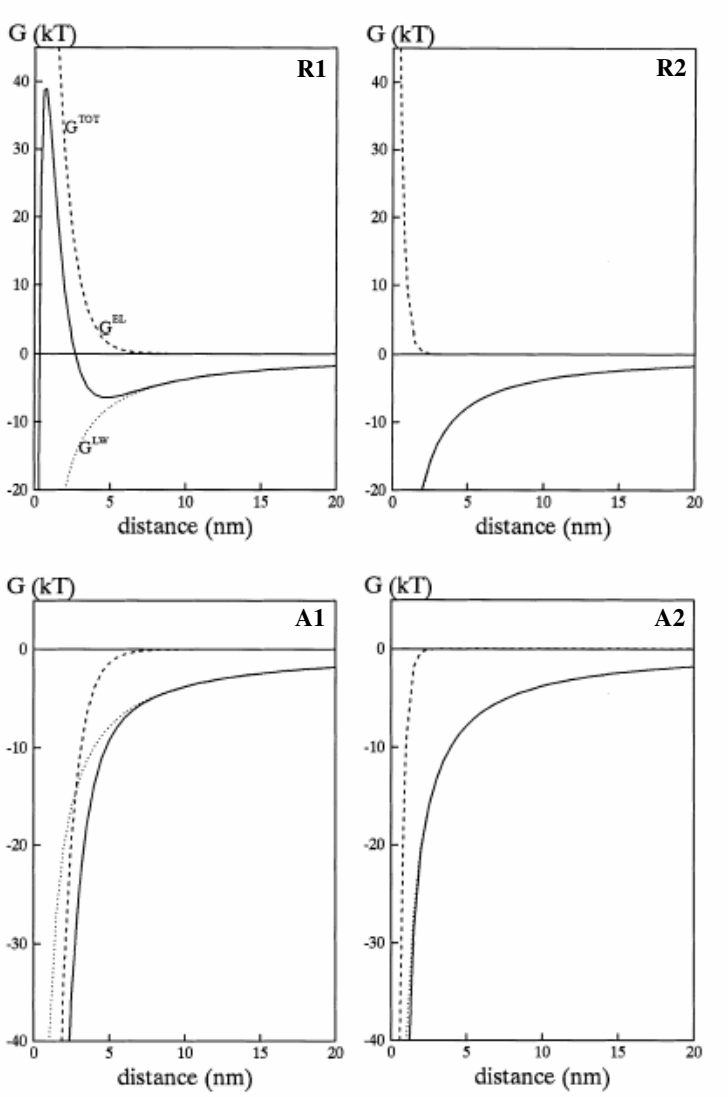


Figure 20 : Energies d'interaction, d'après la théorie DLVO, en fonction de la distance de séparation (d'après Bos, 1999).

La figure 20 illustre la diminution de l'énergie des interactions de Lifshitz-van der Waals et électrostatiques en fonction de la distance de séparation entre une particule et une surface plane, dans des conditions d'interactions électrostatiques répulsives (R1 et R2) et

attractives (A1 et A2) et pour une force ionique du milieu de suspension faible (A1 et R1) et forte (A2 et R2).

D'après la figure 20, on constate que les interactions de Lifshitz-van der Waals ne sont pas influencées par la force ionique du liquide de suspension dans lequel est réalisée l'adhésion alors que les interactions électrostatiques le sont fortement à cause du masquage des charges de surface. En fait, pour des forces ioniques élevées, comme dans le sérum physiologique, les interactions électrostatiques perdent leur influence.

Dépendant de la force ionique, un second minima de l'énergie libre d'interaction existe de quelques kT, pour lequel les particules sont réversiblement capturées sur le substrat, avant le premier minima d'adhésion qui nécessite une faible distance de séparation. Pour les énergies d'interaction, l'utilisation d'une échelle d'énergie en kT est généralement préférée, puisque un kT représente l'énergie liée au mouvement Brownien d'un organisme, lequel permet d'avoir une valeur de référence pour l'adhésion.

III.1.3. Théorie étendue de la DLVO

La théorie étendue de la DLVO ajoute les interactions hydrophobes/hydrophiles (van Oss, 1995) (représentées par l'énergie libre d'interaction liée aux forces acide-base de Lewis) à la théorie de la DLVO classique. Ainsi, on considère les quatre interactions non covalentes fondamentales, à savoir (van Oss, 1988) :

- les interactions de Lifshitz-van der Waals,
- les interactions électrostatiques,
- les interactions acide-base de Lewis (que l'on considère comme non-covalente même si les sites sont forts),
- les interactions dues au mouvement brownien.

CONFIDENTIEL

L'énergie d'adhésion totale est alors donnée par :

$$G^{TOT}(d) = G^{LW}(d) + G^{EL}(d) + G^{AB}(d) + G^{BR}(d) \quad (16)$$

Les énergies d'interaction de Lifshitz-van der Waals $G^{LW}(d)$ et électrostatique $G^{EL}(d)$ sont similaires à celles de la théorie DLVO classique (équations 11 et 14).

Pour une particule et une surface plane, la diminution, en fonction de la distance de séparation, de l'énergie d'interaction acide-base de Lewis, décrivant les effets hydrophobes attractifs et hydrophiles répulsifs, est exprimée par la relation (van Oss, 1994) :

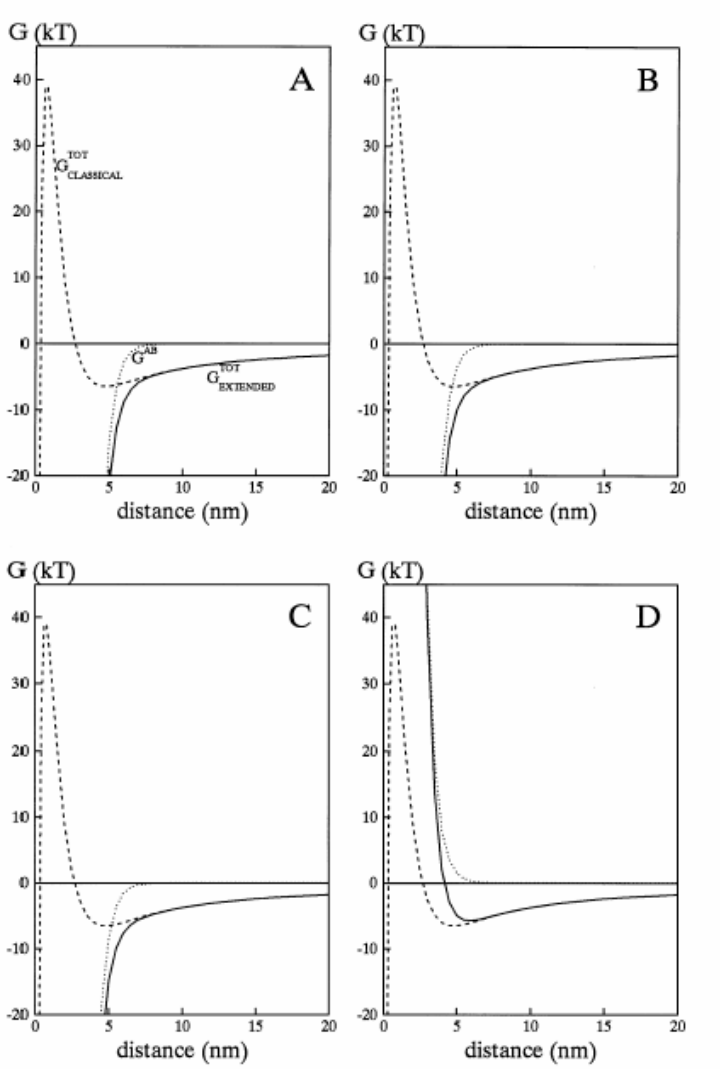
$$G^{AB}(d) = 2\pi\, a\lambda \Delta G^{AB}_{adh} \exp[(d_0 - d)/\lambda] \quad (17)$$

avec a le rayon de la particule, λ la longueur de corrélation de molécules dans un milieu liquide, ΔG^{AB}_{adh} l'énergie des interactions acide-base de Lewis obtenue par la théorie de la DLVO classique, d_0 la distance de plus petite approche entre deux surfaces, d la distance de séparation entre la particule et le substrat.

Lorsque les contributions $G^{LW}(d)$, $G^{EL}(d)$ et $G^{AB}(d)$ de $G^{TOT}(d)$ sont mesurées indépendamment, on peut obtenir une valeur de $G^{TOT}(d)$ en additionnant les valeurs de ces entités et en leur ajoutant +1kT pour $G^{BR}(d)$ (pour un système à deux degrés de liberté). Par contre, si les différentes contributions de $G^{TOT}(d)$ sont déterminées de façon globale (par exemple, en déterminant les tensions interfaciales), $G^{BR}(d)$ est déjà inclue dans $G^{TOT}(d)$.

La figure 21 illustre la diminution de l'énergie libre d'interaction calculée par la théorie DLVO classique (comprenant les interactions de Lifshitz-van der Waals et électrostatiques) et l'énergie des interactions acide-base de Lewis en fonction de la distance de séparation entre une particule et une surface plane, pour une force ionique faible du milieu de suspension, entre des surfaces apolaires (A), monopolaire (B et D) et bipolaire (C).
Comme on peut le voir dans la figure 21, l'influence des interactions acide-base est nettement supérieure à celle des interations de Lifshitz-van der Waals et électrostatiques. Cependant, les interactions acide-base sont des interactions à courte distance et il est nécessaire que la particule et le substrat soit relativement proche pour que ces forces deviennent effectives.

CONFIDENTIEL



	γ_s^-	γ_s^+	γ_m^-	γ_m^+
A	0	0	0	0
B	15	0	15	0
C	15	0	0	15
D	50	2	20	2

Energies libre de surface du substrat et du microorganisme en $mJ.m^{-2}$.

Figure 21 : Comparaison des énergies d'interaction, d'après la théorie DLVO classique et étendue, en fonction de la distance de séparation (d'après Bos, 1999).

Les phénomènes d'adhésion sont complexes et ne peuvent pas être décrits par un seul mécanisme général. Cependant, la physico-chimie permet d'expliquer l'adhésion aux substrats avec une validité plutôt bonne.

Les charges et les énergies libres de surface sont responsables des interactions à longue et courte distance. Les interactions à longue distance, entre les particules et le substrat, sont décrites comme un équilibre entre les interactions de Lifshitz-van der Waals et les interactions électrostatiques. Les interactions à courte distance interviennent lorsque les particules sont proches de la surface du substrat et font essentiellement intervenir les interactions acide-base de Lewis.

La théorie permettant d'avoir une description la plus complète possible des interactions mis en jeu dans le processus bioadhésif est la théorie étendue de la DLVO puisqu'elle prend en compte toutes les interactions précitées. C'est donc cette approche physico-chimique que nous avons choisie d'utiliser pour la compréhension de nos résultats d'adhésion particulaire.

III.2. Développement de matériaux limitant l'adhésion

En accord avec la théorie étendue de la DLVO, l'énergie de surface des supports solides peut influencer l'adhésion microbienne. Le tableau 2 présente les caractéristiques énergétiques de surface de quelques polymères synthétiques. Ces matériaux, bien que d'aspect physique relativement proche, présentent des structures chimiques et en conséquence des caractéristiques énergétiques de surface très différentes. Ainsi, Bellon-Fontaine *et al.* (1990) ont montré que l'adhésion de *Streptococcus thermophilus* variait selon le polymère synthétique testé et que cette variation était reliée aux propriétés physico-chimiques de surface des supports.

CONFIDENTIEL

Polymère	Aspect physique	Motif monomère	γ^{LW} mJ.m^{-2}	γ^{+} mJ.m^{-2}	γ^{-} mJ.m^{-2}
Polytétrafluoroéthylène	Blanc, semi-opaque	$-CF_2-CF_2-$	16	0	2
Polypropylène	Blanc, semi-opaque	$-CH_2-CH(CH_3)-$	26	0	0
Polyéthylène	Blanc, semi-opaque	$-CH_2-CH_2-$	33	0	0
Polymétacrylate de méthyle	Transparent	$-CH_2-C(CO-OCH_3)(CH_3)-$	40	0	15
Polystyrène	Transparent	$-CH_2-CH(Phy)-$	42	0	1

Tableau 2 : Aspect, motif monomérique et caractéristiques énergétiques de différents polymères synthétiques (d'après van Oss 1996, Dobraczynski 1982 et Meylheuc 1998).

Van der Mei *et al* (1992) ont étudié l'adhésion de six souches de staphylocoques, avec une charge de surface négative, sur des surfaces acryliques chargées positivement et négativement, avec des mouillabilités similaires. L'adhésion de toutes ces souches a été importante sur la surface chargée positivement (ζ = +2 mV) et réduite sur celle chargée négativement (ζ = -13 mV). Ce résultat souligne bien l'influence des interactions électrostatiques (potentiel Zêta) sur les phénomènes d'adhésion.

Ainsi, il est possible de limiter la biocontamination d'un support en modifiant ses propriétés de surface. Par exemple, le traitement plasma d'argon (Everaert *et al.*, 1998) d'un

CONFIDENTIEL

support de silicone hydrophobe rend la surface hydrophile. L'adhésion des souches de micro-organisme étudiées est alors plus faible sur le support traité que sur le support vierge.

Une étude de Meylheuc *et al.* (2001) montre une réduction significative (<90%) de l'adhésion de *Listeria monocytogenes* sur des surfaces d'acier inoxydable recouvertes de biosurfactants (adsorption). Cette réduction peut être reliée à une augmentation du caractère donneur d'électron du substrat. Sur le même principe, Briandet (1999) a mis en évidence que l'implantation de biofilms « positifs » à la surface d'acier inoxydable permet de limiter l'adhésion et la multiplication de *Listeria monocytogenes* en modifiant les propriétés physico-chimiques du support.

Un autre moyen de limiter la biocontamination porte sur le développement de matériaux fonctionnels biocides et/ou répulsifs.

Une stratégie intéressante, permettant de réduire considérablement les forces d'attraction initiant le processus adhésif, est de créer à la surface du matériau une interface biocompatible à travers le greffage de macromolécules neutres et hydrophiles, telles que le polyméthacrylate d'hydroxyéthyle, le polyacrylamide, le poly-*N,N*-diméthylacrylamide et le polyéthylène glycol (Harris, 1992). Parmi ces macromolécules, le polyéthylène glycol/(PEG), un polymère hydrosoluble, non ionique et non toxique, semble être le plus efficace (Harris, 1992).

Une explication possible du caractère répulsif des PEG serait liée à son énergie libre d'interaction interfaciale quasi nulle avec l'eau qui permet de diminuer les forces impliquées dans le phénomène d'adhésion. Cependant d'autres polymères hydrosolubles et non ioniques ont aussi une énergie libre interfaciale faible mais ils sont moins efficaces que le PEG (Coleman *et al.*, 1982). Ceci suggère que d'autres facteurs interviennent dans l'effet répulsif des PEG.

Andrade et de Gennes expliquent la faible adhésion de microorganismes à la surface de matériaux greffés PEG à l'aide de la théorie de la stabilisation colloïdale (Jeon *et al.*, 1991a, 1991b). Le caractère hydrophile et la solubilité des PEG conduisent à des surfaces qui en milieu aqueux sont dans un état quasi liquide. Les chaînes de PEG greffées ont alors une grande flexibilité et une grande mobilité (Kjellander *et al.*, 1981). Le PEG est le plus flexible des polymères hydrosoluble car il ne possède pas de groupement latéral encombrant dans sa

CONFIDENTIEL

structure (-CH_2-CH_2-O-). En milieux aqueux, les chaînes de PEG, avec une mobilité et un volume d'exclusion important, repoussent les particules qui approchent de la surface (Kingshott *et al.*, 1999).

La figure 22 représente schématiquement les interactions entre une particule et des chaînes de PEG greffées sur une surface.

La figure 22A illustre l'effet de répulsion stérique. Quand une particule approche de la surface, les chaînes de PEG hydratées sont compressées, ce qui conduit à une perte des conformations possibles des chaînes. Thermodynamiquement, cette compression est défavorable ce qui engendre des forces répulsives qui gardent à distance les particules de la surface du matériau. De plus, le volume d'exclusion important en milieux aqueux des PEG contribue à l'efficacité de la répulsion stérique.

La figure 22B illustre l'effet de mobilité des chaînes hydratées de PEG greffées. Pour adhérer de façon irréversible, les bactéries doivent être en contact avec la surface pendant un temps suffisant pour que les interactions physico-chimiques aient lieu. Les chaînes de PEG en mouvement empêchent l'immobilisation des bactéries à la surface et donc leur adhésion. La mobilité des chaînes de PEG augmente avec leur longueur, ce qui laisse supposer que les longues chaînes de PEG sont plus efficaces que les courtes chaînes (Halperin, 1999). L'augmentation de la longueur de chaîne a aussi pour effet une augmentation de l'épaisseur de la couche greffée et par voie de conséquence, une augmentation de la distance de séparation entre la surface et la particule. Il en résulterait une atténuation des interactions attractives de Lifshitz-van der Waals (Lee *et al.*, 1989). Cet aspect semble toutefois controversé : Sofia *et al.* (1998) n'observent pas d'effet « longueur de chaîne », alors que Prime *et al.* (1993), le mentionne même avec des chaînes très courtes. Il est vraisemblable que cette divergence de résultats soit à relier à des densités de greffage plus ou moins importantes selon la méthodologie suivie et donc à des conformations de chaînes différentes. Or, plusieurs travaux indiquent que cette conformation affecte la pénétration des molécules d'eau, donc le déploiement de la chaîne en milieu aqueux et sa mobilité. L'interaction des molécules d'eau avec les chaînes de PEG serait d'ailleurs plus importante que la répulsion stérique (Pertsin *et al.*, 2000 ; Zolk *et al.*, 2000).

En dépit de travaux multiples, le mécanisme d'action précis de l'effet répulsif des PEG reste mal connu.

CONFIDENTIEL

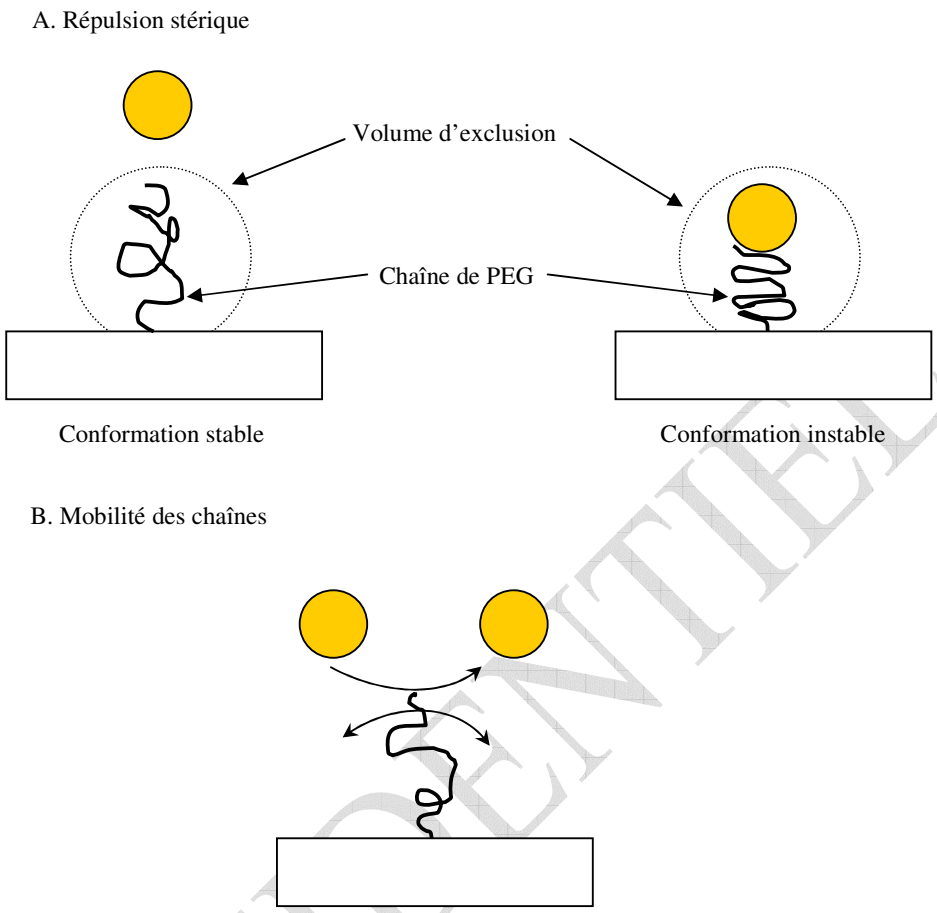


Figure 22 : Représentation schématique du phénomène antibioadhésif des chaînes de PEG greffées

Une autre approche possible pour prévenir la biocontamination est de conférer à la surface du matériau des propriétés biocides en greffant des sels d'ammonium quaternaire (SAQ). Les SAQ sont des composés amphiphiles comportant généralement un groupement ammonium hydrophile chargé positivement et une chaîne alkyle hydrophobe (figure 23). L'ensemble de cette configuration physique en fait des tensio-actifs cationiques. Ils sont faiblement toxiques pour l'homme et largement utilisés en tant qu'antiseptiques et désinfectants (Mcdonnell *et al.*, 1999). Ces composés montrent une activité biocide vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes : des bactéries à gram positif et négatif, des champignons et certains virus (Ahlström *et al.*, 1995). Les SAQ sont connus pour leur activité par contact direct avec les microorganismes. Le mécanisme d'action le plus couramment décrit dans la littérature (Salton, 1968) peut se décomposer en plusieurs séquences :

CONFIDENTIEL

I. adsorption et pénétration dans la paroi cellulaire,
II. réaction avec la membrane cytoplasmique suivie d'une désorganisation de la membrane,
III. fuite du matériel intracellulaire de faible masse molaire,
IV. dégradation des protéines et des acides nucléiques,
V. perte de l'intégrité de la paroi cellulaire et donc mort de la cellule.

L'activité biocide des SAQ augmente avec la longueur de la chaîne alkyle portée par l'azote (Ahlström *et al.*, 1995 ; 1999), avec une activité maximale pour un nombre de carbone compris entre 12 et 16 (Chauhan *et al.*, 2004 ; Dizman *et al.*, 2004). Avec de longues chaînes, les SAQ peuvent mieux s'adsorber sur la surface cellulaire et ainsi déstabiliser la membrane cytoplasmique.

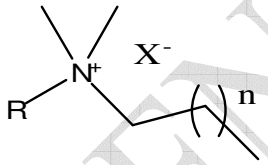


Figure 23 : Représentation schématique d'un sel d'ammonium quaternaire

Comme les surfaces fonctionnalisées avec un SAQ présentent une charge de surface positive, elles exercent une interaction attractive sur les bactéries chargées négativement. Cependant l'adhésion est seulement l'une des premières étapes dans la formation d'un biofilm et pour que le biofilm se développe les bactéries adhérentes doivent se multiplier, or l'action des SAQ permet de prévenir cette croissance bactérienne.

Ainsi, Harkes *et al.* (1992) ont montré que la croissance de *Escherichia coli* était inhibée sur une surface fonctionnalisée avec un SAQ. Gottenbos *et al.* (2000) signalent que la croissance de *P. aeruginosa* à la surface de polymères greffés SAQ diminue avec une augmentation de la force d'adhésion (charge de surface positive).

Des polyméthacrylates greffés avec des chlorures d'ammonium quaternaire méthylés (Gottenbos *et al.*, 2001) ou éthylés (Kenawy *et al.*, 1998) exercent une activité antimicrobienne envers les souches à gram-négative, alors que les staphylocoque à gram-positif sont peu affectés par ces polymères antimicrobiens.

CONFIDENTIEL

Des dendrimères moins hydrosolubles fonctionnalisés avec du chlorure de diméthyldodecylammonium montrent aussi une forte activité bactéricide à l'encontre de *S. aureus* (Zhisheng Chen *et al.*, 1999).

Cependant, l'apparition de phénomènes de résistance a été constatée par différents auteurs. Crocker (1951) et Chaplin (1952) ont étudié l'adaptation et la tolérance de certaines bactéries vis à vis des SAQ. Ils ont montré que *S. marcescens* et *E. coli* pouvaient devenir résistantes à l'action des SAQ. En revanche, il n'a pas été possible d'augmenter la résistance de *S. aureus*, mais ceci doit être dû à la forte concentration en SAQ employée (Chaplin, 1952). MacGregor *et al.* (1958) expose que *P. aeruginosa* peut devenir tolérante après une exposition continue aux SAQ.

D'après Crocker (1951), les caractéristiques physiques de *E. coli* sont modifiées au contact des SAQ, alors que Soprey *et al.* (1968) expliquent qu'il n'y a pas de différence notable entre les bactéries résistantes et non-résistantes

CONFIDENTIEL

MATERIELS & METHODES

CONFIDENTIEL

I. Conception de surfaces modifiées

Pour limiter la contamination des surfaces par des microorganismes l'approche développée consiste à modifier les propriétés de surface d'un support donné (hydrophilie, caractéristiques énergétiques et charge de surface) par greffage de molécules porteuses de fonctionnalités biocide et/ou répulsive. Ces fonctionnalités permettraient de limiter la contamination microbienne par deux mécanismes d'action différents.

Dans une première approche la molécule greffée va exercer une activité biocide sur la paroi cellulaire des microorganismes au contact. Une telle activité peut être apportée par des sels d'ammonium quaternaires (SAQ). De nouvelles applications de l'acide tartrique (agro-ressource disponible en quantité suffisante) sont susceptibles d'apporter des molécules (figure 24) dont l'originalité porte d'une part sur la rigidité de la rotule entre les deux fonctionnalités qui peut-être un atout pour les propriétés d'orientation recherchées et d'autre part sur la longueur de la chaîne alkyle R portée par l'atome d'azote qui permettrait de vérifier l'influence de la balance hydrophile/lipophile de telles molécules sur l'efficacité biocide. Selon la littérature, il semblerait que plus la chaîne alkyle R est longue, plus forte serait l'activité bactéricide des SAQ liée à l'hydrophibicité (Ahlström *et al.*, 1999). Avec une longue chaîne alkyle les SAQ peuvent mieux s'adsorber sur la surface cellulaire et ainsi déstabiliser la membrane cytoplasmique.

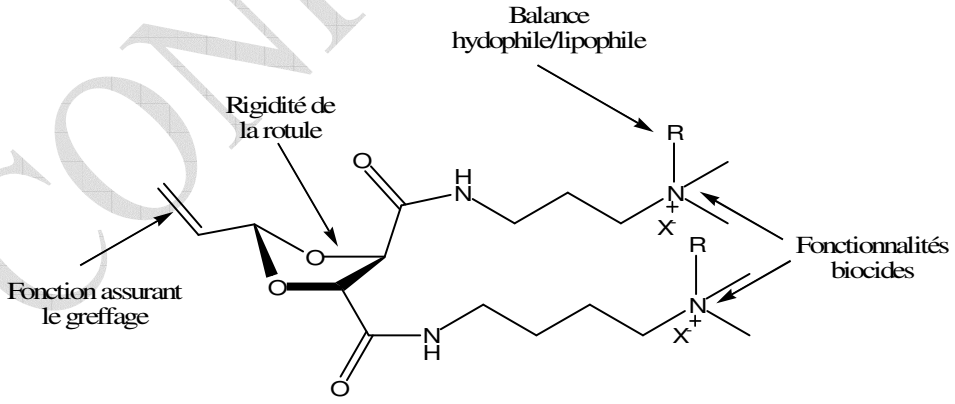


Figure 24 : Sel d'ammonium quaternaire issu de l'acide tartrique.

CONFIDENTIEL

Cependant, certains auteurs évoquent le fait qu'une action à long terme des SAQ risque d'induire des phénomènes de résistance (Russell, 2004). Aussi, dans une deuxième approche, nous avons décidé de synthétiser puis immobiliser des molécules qui permettraient de limiter l'adhésion des microorganismes par des phénomènes d'exclusion stérique. Une telle activité peut être apportée par des polymères de type polyéthylène glycol (PEG). Des PEG de longueur de chaîne variable ont été synthétisés afin d'étudier l'influence de la longueur sur la mobilité, paramètre important dans la mise en place du processus répulsif des PEG fixés à une extrémité (figure 25). La synthèse et des essais de greffage de PEG marqué paramagnétiquement (PEG-NO$^{\bullet}$) ont également été réalisés. Il s'agissait là de mesurer par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) la mobilité des chaînes et d'en tirer des informations quant à leurs conformations après greffage sur un support solide.

Figure 25 : Polyéthylène glycol allylé.

L'objectif de notre étude est de vérifier s'il serait possible à terme de remplacer avec une même efficacité un SAQ par un PEG.

I.1. Greffage des molécules (PEG ou SAQ) par voie thermique

Le greffage des PEG et SAQ a été réalisée sur lame de verre et sur wafer de silicium.

I.1.1. Greffage sur lame de verre

Des lames de microscope en verre de 76 × 26 × 1,2-1,4 mm sont utilisées comme support pour le greffage.

CONFIDENTIEL

Pour éliminer les contaminations de surface, les lames de verre sont en premier plongées dans une solution de RBS 35 à 2% (agent tensio-actif de nettoyage), placées dans un bain à ultrason pendant 20 minutes, rincées avec de l'eau chaude, puis avec de l'eau millipore (résistivité 18.2 MΩ.cm). Elles sont ensuite immergées dans du méthanol, placées dans un bain à ultrason pendant 30 minutes et rincées avec de l'eau millipore. Les oxydes métalliques présents à la surface des lames sont éliminés par action de l'acide nitrique à 95 °C pendant 45 minutes. Enfin, les lames sont abondamment rincées avec de l'eau millipore et séchées dans une étuve à 50°C (Kaper *et al.*, 2003).

Un dépôt solide des molécules respectivement PEG ou SAQ à la surface de la lame de verre est effectué par évaporation, sous un courant d'argon, d'une solution à 4 $mg.mL^{-1}$ de la molécule (100 mg) dans le chloroforme, préalablement dégazée sous argon. Les lames de verre sont alors placées sous vide à 145°C pendant 24 heures pour le greffage, puis elles sont lavées avec de l'eau millipore, séchées sous vide et stockées sous argon.

I.1.2. Greffage sur wafer de silicium

Des wafers de silicium d'un diamètre de 76,2 ± 0,5 mm et d'une épaisseur de 360 ± 25 µm, avec une orientation 1.0.0 (NEYCO, Paris) sont utilisées comme support pour le greffage.

Les wafers de silicium sont tout d'abord décontaminés à 80°C pendant 15 minutes avec un mélange 1 :1 :5, v/v/v d'ammoniaque à 25 %, de peroxyde d'hydrogène à 30 % et d'eau déminéralisée, respectivement, pour éliminer les particules présentes à la surface. La contamination métallique de surface (Wang *et al.*, 2001) est éliminée par un traitement à 80°C pendant 15 minutes dans un mélange 1 :1 :6, v/v/v d'acide chlorhydrique à 37 %, de peroxyde d'hydrogène à 30 % et d'eau déminéralisée, respectivement. Les wafers sont alors abondamment rincés avec de l'eau millipore, séchés sous vide et stockés sous argon.

Un dépôt solide du greffon (PEG ou SAQ) à la surface du wafer de silicium est réalisé par évaporation, sous un courant d'argon, à partir d'une solution de concentration connue du greffon dans le chloroforme, préalablement dégazée avec de l'argon. Les wafers sont ensuite

CONFIDENTIEL

placés sous vide à 145°C pendant 24 heures pour le greffage, puis ils sont lavés avec de l'eau millipore, séchés sous vide et stockés sous argon.

Pour vérifier l'influence de la concentration d'un greffon donné sur les propriétés physico-chimiques des matériaux, le greffage a été effectué par série, avec des solutions à 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$ ce qui correspond à des masses de greffons de 100, 250 et 1000 mg respectivement.

I.2. Greffage des molécules (PEG ou SAQ) par voie chimique

Dans un premier temps, les wafers de silicium sont décontaminés à 80°C pendant 15 minutes avec un mélange 1 :1 :5, v/v/v d'ammoniaque à 25 %, de peroxyde d'hydrogène à 30 % et d'eau déminéralisée, respectivement. Puis ils sont traités à 80°C pendant 15 minutes avec un mélange 1 :1 :6, v/v/v d'acide chlorhydrique à 37 %, de peroxyde d'hydrogène à 30 % et d'eau déminéralisée, respectivement. Les wafers sont abondamment rincés avec de l'eau millipore, séchés sous vide et stockés sous argon.

Le PEG monométhylé (1,6 g, 0,8 mmol, $\overline{M}_n = 2000$) est dissout dans 80 mL de toluène anhydre pour pouvoir réaliser la chlorosilanisation. On ajoute ensuite goutte à goutte et à température ambiante de la triéthylamine (0,1 mL, 0,7 mmol). La solution est alors agitée pendant 1 heure. Puis on additionne le tétrachlorure de silicium (0,08 mL, 0,7 mmol) et on agite à température ambiante pendant 15 minutes. Comme la réaction implique des réactifs sensibles à l'air, elle est réalisée sous atmosphère inerte. La solution de PEG-trichlorosilane est ensuite filtrée et le filtrat est directement utilisé pour effectuer le greffage, par traitement du wafer pendant 1 heure à température ambiante avec une faible agitation. Les wafers sont ensuite lavés avec de l'eau millipore, séchés sous vide et stockés sous argon.

Le rendement des différentes réactions de greffage n'a pu être déterminé par pesée à cause de la trop faible variation de masse. Cependant, une densité de greffage peut être déterminée à partir des épaisseurs des couches greffées obtenues par ellipsométrie.

CONFIDENTIEL

I.3. Caractérisation physico-chimique des surfaces modifiées

Il existe de nombreuses méthodes qui permettent la caractérisation, à l'échelle microscopique, voire macroscopique, des zones interfaciales et interphasiales. Leur but est d'obtenir des informations aussi complètes que possible sur la propreté des surfaces de départ, le rôle des traitements de surface, les liaisons chimiques créées à l'interface, la formation d'une interphase...

Il est possible de classer les différentes techniques en fonction de leurs caractéristiques. Les méthodes d'analyse de surface sont généralement limitées par l'impossibilité de traverser de fortes épaisseurs de matériau pour accéder à la zone interfaciale. Les méthodes optiques, quand à elles, peuvent souvent traverser les matériaux mais il est généralement impossible de discriminer le signal de l'interface de celui du matériau traversé.

I.3.1. Caractérisation par spectroscopie des photoélectrons

(CRITT MDTS, Charleville-Mézières)

La spectroscopie des photoélectrons (XPS, X-Ray Photoelectron Spectroscopy) est une méthode d'analyse chimique de surface basée sur la mesure de l'énergie de liaison des électrons par effet photoélectrique suite au bombardement de la surface par rayon X comme indiqué figure 26. Elle détecte tous les éléments sauf l'hydrogène et l'hélium. Les principales informations obtenues par XPS sont :

- l'identification des atomes présents en surface grâce à la spécificité des énergies de liaisons des électrons
- l'identification de l'environnement chimique des atomes grâce aux déplacements chimiques

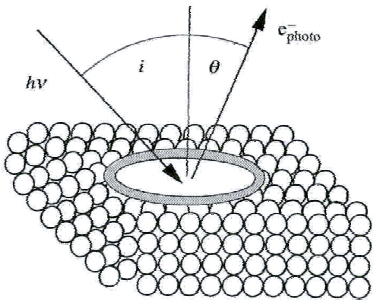


Figure 26 : Schéma de principe de l'analyse XPS.

CONFIDENTIEL

Les analyses ont été conduites sur un appareil XPS ESCALAB 250, thermo (figure 27) avec une source de rayon X monochromatique AlKα et des détecteurs channeltrons. Un analyseur hémisphérique est utilisé pour mesurer les énergies de liaison des photoélectrons émis.

Les spectres généraux sont mesurés entre 0 et 1100 eV et les spectres haute résolution sont effectués pour les atomes de carbone et de silicium. Tous les spectres sont calibrés en fixant la valeur du pic C1s à 285 eV.

Figure 27 : Dispositif expérimental de l'XPS ESCALAB 250 (CRITT MDTS, Charleville Mézière).

I.3.2. Caractérisation par ellipsométrie

(INRA CREA, Reims)

L'ellipsométrie est une technique optique d'analyse de surface fondée sur la mesure du changement de l'état de polarisation de la lumière après réflexion sur une surface plane (figure 28). Les paramètres de l'ellipse obtenue après réflexion permettent la caractérisation de l'épaisseur optique du matériau constitutif de l'échantillon.

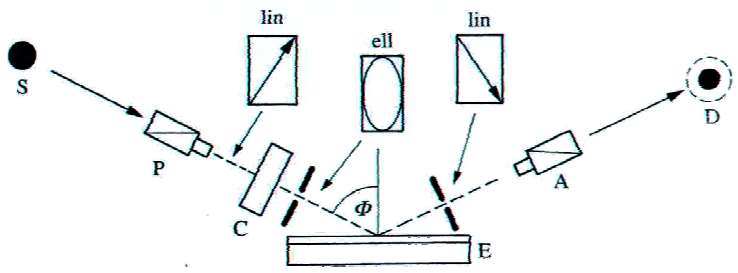


Figure 28 : Schéma de principe d'un ellipsométrie : source de lumière S avec variation de la longueur d'onde, polariseur P, compensateur de phase C, angle d'incidence Φ, échantillon E, analyseur A et détecteur D. la polarisation est soit linéaire (lin) soit elliptique (ell).

CONFIDENTIEL

L'épaisseur de la couche greffée à la surface des wafers de silicium a été déterminée en utilisant un ellipsomètre spectroscopique à modulation de phase, ISA-Jobin-Yvon (figure 29), dont le spectre s'étend de 250 à 800 nm, à un angle d'incidence de 70°. Les mesures ont été effectuées à l'air ambiant dans une pièce climatisée à 20°C.

La couche greffée est supposée être homogène, optiquement isotrope, et transparente (i.e. $\kappa = 0$). L'épaisseur des couches est déterminée à l'aide du logiciel, DeltaPsi 2, en supposant que l'indice de réfraction est de 1.460 pour le PEG. Cette estimation est basée sur l'indice de réfraction du PEG cristallin. Comme le PEG peut être légèrement hydraté, la valeur exacte de l'indice de réfraction n'est pas précisément connue. Pour le SAQ, l'indice de réfraction est modélisé avec une loi de dispersion « Cauchy transparent » dont la formule est : $n(\lambda) = A + B.10^4/\lambda^2 + C.10^9/\lambda^4$ avec $\kappa(\lambda) = 0$. Les termes A, B et C étant des variables ajustées lors du calcul de l'épaisseur de la couche de SAQ greffée.

Trois mesures ellipsométriques sont réalisées à différents endroits de chaque échantillon. Ceci est répété au moins trois fois pour les trois concentrations de greffage (4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$).

Figure 29 : Dispositif expérimental de l'ellipsomètre spectroscopique à modulation de phase (INRA CREA, Reims).

I.3.3. Caractérisation par microscopie à force atomique

(INRA UBHM, Massy)

La microscopie à force atomique (AFM, Atomic Force Microscopy) est basée sur l'interaction entre une pointe sonde et la surface d'un échantillon (figure 30). L'AFM possède la capacité de visualiser la topographie de la surface avec une résolution qui atteint l'échelle

CONFIDENTIEL

du nanomètre. L'AFM détermine la topographie de la surface par la mesure du champ de force présent entre la sonde constituée d'une pointe fine et la surface de l'échantillon. La pointe de l'AFM balaye la surface de l'échantillon, effleurant et suivant le relief de sa topographie. Ce mouvement de va-et-vient de la pointe forme une image qui représente la topographie de la surface.

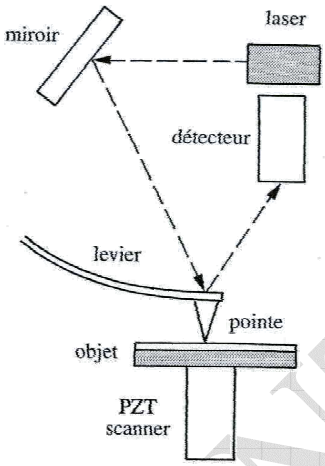


Figure 30 : Schéma de principe d'un microscope à force atomique avec détection par réflexion d'un faisceau laser.

Les images sont réalisées avec un AFM Pico LE, Molecular Imaging (figure 31) avec des pointes en nitrure de silicium dans le mode contact. Les images AFM ont été acquises en scannant les échantillons à l'air ambiant dans une pièce climatisée à 20°C ou dans une cellule permettant de travailler en milieu aqueux.

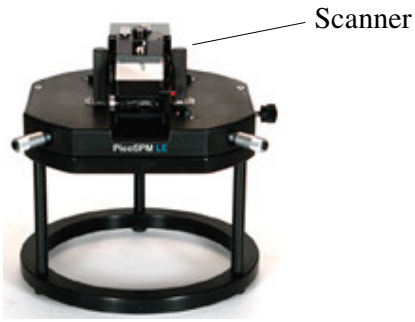


Figure 31 : Dispositif expérimental de l'AFM Pico LE (INRA UBHM, Massy).

CONFIDENTIEL

Le tableau 3 résume les performances des principales méthodes utilisées pour caractériser la surface des wafers modifiés PEG et SAQ.

Tecnhique	XPS	Ellipsométrie	AFM
Principe			
• excitation	RX	hν	force
• émision	e^-	hν	force
• analyse	E(l)	Polarisation	F(x,y)
Information	éléments liaison chimique	épaisseur	topographie
Eléments	Tous sauf H et He	tous	tous
Résolution	0,5 – 1 eV	2 Å	10 nm (x,y) 0 – 1 nm (z)
Surface analysée	10 mm^2	1 mm^2	10^{-6} – 10^{-2} mm^2
Profondeur analysée	1 – 5 nm	< 0,1 nm	< 0,1 nm

Tableau 3 : Comparaison des performances des principales méthodes utilisées pour caractériser la surface des wafers modifiés PEG et SAQ.

CONFIDENTIEL

II. Conséquences des propriétés de surface sur l'adhésion particulaire

II.1. Propriétés de surface des wafers modifiés

(INRA UBHM, Massy)

II.1.1. Caractéristiques énergétiques

Les caractéristiques énergétiques de surface des matériaux ont été déterminées à partir de mesures d'angles de contact (θ) par la méthode de la goutte posée à l'aide d'un goniomètre Kruss G40. On mesure optiquement l'angle de contact entre une surface solide et la tangente au point d'intersection solide/goutte de liquide (figure 32).

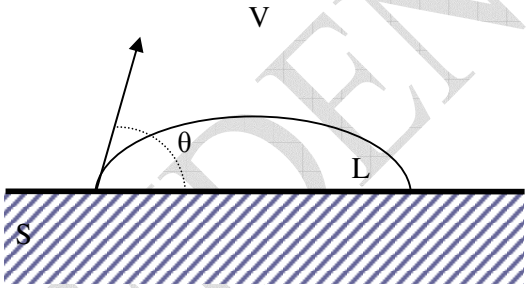


Figure 32 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V) dans la méthode de la goutte posée.

Les mesures d'angles de contact sont réalisées avec trois liquides purs, eau millipore (résistivité 18.2 MΩ.cm), diiodométhane (Sigma) et éthylène glycol (Sigma), de caractéristiques énergétiques connues (Tableau 4). Toutes les valeurs des angles de contacts présentées sont la moyenne d'une dizaine de mesures effectuées sur trois échantillons issus d'une même concentration de greffage.

Les composantes de Lifshitz-van der Waals (γ_{SV}^{LW}), donneur d'électrons (γ_{SV}^{-}) et accepteur d'électrons (γ_{SV}^{+}) sont déterminées à partir de l'équation de Young-van Oss (van Oss, 1995) :

CONFIDENTIEL

$$(1+\cos\theta)\gamma_{LV} = 2\left(\sqrt{\gamma_{SV}^{LW}\gamma_{LV}^{LW}} + \sqrt{\gamma_{SV}^{+}\gamma_{LV}^{-}} + \sqrt{\gamma_{SV}^{-}\gamma_{LV}^{+}}\right) \quad (18)$$

La composante acide-base de Lewis (γ_{SV}^{AB}) est donnée par la relation :

$$\gamma_{SV}^{AB} = 2\sqrt{\gamma_{SV}^{+}\gamma_{SV}^{-}} \quad (19)$$

L'énergie de surface des substrats (γ_{SV}) peut être calculée avec la relation :

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SV}^{LW} + \gamma_{SV}^{AB} \quad (20)$$

	γ_{LV}^{LW}	γ_{LV}^{-}	γ_{LV}^{+}
Eau millipore	21.8	25.5	25.5
Diiodométhane	50.8	0	0
Ethylène glycol	29.3	30.1	3

Tableau 4 : Caractéristiques énergétiques des liquides purs utilisés en $mJ.m^{-2}$ (d'après INRA UBHM, Massy).

L'évolution du caractère hydrophile en milieux aqueux des wafers greffés PEG est suivie par la méthode de la bulle captive à l'aide d'un goniomètre Kruss G40 et d'une cellule permettant de travailler en milieu liquide. On mesure optiquement l'angle de contact entre une surface solide et la tangente au point d'intersection solide/bulle d'air (figure 33).

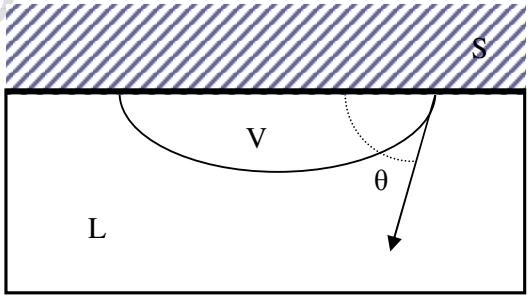


Figure 33 : Représentation de l'angle de contact (θ) au point triple solide (S), liquide (L) et vapeur (V) par la méthode de la bulle captive.

CONFIDENTIEL

II.1.2. Potentiel Zêta

Pour les surfaces planes, le potentiel Zêta peut être déterminé par des mesures de potentiel d'écoulement. Ce dernier dépend à la fois de la charge de surface du substrat et des propriétés de l'électrolyte utilisé. Lorsqu'un flux de solution ionique circule dans un capillaire sous l'application d'une pression ΔP, les charges présentes dans la partie mobile de la double couche ionique adsorbée sur la surface solide sont transportées vers l'extrémité du capillaire. Ce mouvement induit une différence de potentiel ΔE appelée potentiel d'écoulement (van Wagenen *et al.*, 1990).

Le potentiel d'écoulement est relié au potentiel Zêta ζ par la relation (Boulangé-Petermann *et al.*, 1995) :

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{D}\left(K_{sol} + \frac{L_{surf}}{b}\right)\frac{\Delta E}{\Delta P} \qquad (21)$$

où η représente la viscosité de la solution aqueuse, D la constante diélectrique du milieu, K_{sol} la conductivité de la solution, L_{surf} la conductance spécifique de la surface et b la demi-distance entre les deux surfaces.

Les valeurs du potentiel Zêta des matériaux ont été obtenues en mesurant la variation du potentiel d'écoulement d'une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M (pH compris entre 5,5 et 6), en fonction de la pression appliquée. Le pH de la solution est ajusté de 6 à 3 par ajout de HNO_3 et de 6 à 7 par ajout de KOH. Les mesures sont réalisées à l'aide du dispositif expérimental présenté figure 34.

Figure 34 : dispositif expérimental du Zetacad (UBHM, INRA Massy).

CONFIDENTIEL

II.2. Propriétés de surface des particules de polystyrène

(INRA UBHM, Massy)

II.2.1. Particules de polystyrène

Les particules de polystyrène fluorescentes (Sigma) utilisées pour les tests d'adhésion ont un diamètre moyen de 1 µm avec des groupements carboxylates greffés en surface.

Les particules sont lavées par une succession de trois centrifugations (10 minutes à 25°C et à 8000 g) et de remises en suspension dans du NaCl $1{,}5.10^{-1}$ M (pour la méthode MATS) ou dans du NaCl $1{,}5.10^{-3}$ M (pour la détermination du potentiel Zêta).

II.2.2. Caractéristiques énergétiques

Pour déterminer le caractère acide-base de Lewis et l'hydrophobicité des particules, on peut utiliser le test de partage MATS (Microbial Adhesion To Solvents). Ce test est basé sur la comparaison entre l'affinité d'une particule pour un solvant apolaire et monopolaire (caractère donneur ou accepteur d'électrons) (Bellon-Fontaine *et al.*, 1996). Le solvant monopolaire peut être un acide ou une base de Lewis, mais les deux solvants doivent posséder la même énergie libre de surface liée au caractère de Lifshitz-van der Waals. Pour ce système, l'énergie d'interaction ΔG_{pls}^{TOT} entre les particules (p) et le solvant (s) dans un liquide de suspension (l) peut être décrite par la relation :

$$\Delta G_{pls}^{TOT} = \Delta G_{pls}^{LW} + \Delta G_{pls}^{AB} + \Delta G_{pls}^{EL} \qquad (22)$$

Si l'on se place dans un liquide de force ionique importante, comme l'eau physiologique, les interactions électrostatiques sont inhibées. On a alors $\Delta G_{pls}^{EL} \approx 0$. En se basant sur le modèle thermodynamique, les interactions de Lifshitz-van der Waals et acide-base de Lewis sont données par les relations suivantes :

$$\Delta G_{pls}^{LW} = -2\left(\sqrt{\gamma_p^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_l^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right) \qquad (23)$$

CONFIDENTIEL

$$\Delta G_{pls}^{AB} = 2\left[\left(\sqrt{\gamma_p^+} - \sqrt{\gamma_l^+}\right)\left(\sqrt{\gamma_p^-} - \sqrt{\gamma_l^-}\right) - \left(\sqrt{\gamma_p^+} - \sqrt{\gamma_s^+}\right)\left(\sqrt{\gamma_p^-} - \sqrt{\gamma_s^-}\right) - \left(\sqrt{\gamma_l^+} - \sqrt{\gamma_s^+}\right)\left(\sqrt{\gamma_l^-} - \sqrt{\gamma_s^-}\right)\right] \quad (24)$$

Si l'on considère les interactions entre les particules et un solvant monopolaire accepteur d'électrons (comme le chloroforme), on a alors $\gamma_s^- = 0$ et on obtient :

$$\Delta G_{pls}^{TOT} = -2\left(\sqrt{\gamma_p^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_l^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right) + 2\left(\sqrt{\gamma_s^+\gamma_p^-} + \sqrt{\gamma_s^+\gamma_l^-} - \sqrt{\gamma_p^+\gamma_l^-} - \sqrt{\gamma_p^-\gamma_l^+}\right) \quad (25)$$

Avec un solvant apolaire, i.e. $\gamma_s^- = \gamma_s^+ = 0$, ayant la même composante Lifshitz-van der Waals que le solvant monopolaire (cas de l'hexadécane avec le chloroforme), on obtient la relation suivante :

$$\Delta G_{pls}^{TOT} = -2\left(\sqrt{\gamma_p^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_l^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}}\right) + 2\left(-\sqrt{\gamma_p^+\gamma_l^-} - \sqrt{\gamma_p^-\gamma_l^+}\right) \quad (26)$$

Ainsi la différence d'interaction entre les particules et ces deux solvants ne sera liée qu'à la différence δ^- obtenue par soustraction des équations (25) et (26) :

$$\delta^- = 2\left(\sqrt{\gamma_s^+\gamma_p^-} + \sqrt{\gamma_s^+\gamma_l^-}\right) \quad (27)$$

γ_s^+ et γ_l^- sont des constantes caractéristiques des solvants et du liquide de suspension. Le terme δ^- est donc directement relié au caractère donneur d'électrons des particules γ_p^-.

De la même façon, en utilisant un couple de solvants, l'un monopolaire donneur d'électrons ($\gamma_s^+ = 0$) et l'autre apolaire ($\gamma_s^- = \gamma_s^+ = 0$), tous deux ayant les mêmes composantes Lifshitz-van der Waals (cas de l'acétate d'éthyle et du décane), il est possible de définir un terme δ^+ représentant la différence des énergies d'interaction entre les particules et ces solvants :

$$\delta^+ = 2\left(\sqrt{\gamma_s^-\gamma_p^+} + \sqrt{\gamma_s^-\gamma_l^+}\right) \quad (28)$$

CONFIDENTIEL

δ^+ est donc proportionnel au caractère accepteur d'électrons des particules γ_p^+, γ_s^- et γ_l^+ étant des constantes.

La méthode MATS ne permet pas d'estimer de manière absolue les énergies d'interactions avec les différents solvants, et donc les composantes donneur et accepteur d'électrons des particules. Cependant, les énergies d'interactions sont estimées par une mesure relative de l'affinité des particules pour les différents solvants et la différence d'affinité permet d'évaluer le caractère donneur et accepteur d'électrons des particules.

Sur cette base, quatre solvants ont été utilisés pour déterminer le caractère acide-base de Lewis des particules par la méthode MATS :

- le couple chloroforme (acide, accepteur d'électrons) et hexadécane (apolaire) qui permet de déterminer le caractère basique (donneur d'électrons)

- le couple acétate d'éthyle (basique, donneur d'électrons) et décane (apolaire) qui permet de déterminer le caractère acide (accepteur d'électrons)

Les caractéristiques énergétiques de ces solvants sont données dans le tableau 5

	γ_s^{LW}	γ_s^+	γ_s^-
Chloroforme	27.2	3.8	0
Hexadécane	27.7	0	0
Acétate d'éthyle	23.9	0	19.4
Décane	23.9	0	0

Tableau 5 : Caractéristiques énergétiques des solvants utilisés en $mJ.m^{-2}$ (d'après INRA UBHM, Massy).

Expérimentalement, une suspension de particules de polystyrène dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M est réalisée afin d'obtenir une densité optique initiale (DO_i) de l'ordre de 0.8 à 400 nm.

Cette suspension (2.4 mL) est agitée avec 0.4 ml de solvant. Après 15 minutes de décantation, la densité optique finale (DO_f) de la phase aqueuse est mesurée à 400 nm. L'affinité des

CONFIDENTIEL

particules de polystyrène pour le solvant est ensuite estimée par la variation d'absorbance de la phase aqueuse avant et après contact avec le solvant selon la relation :

$$\% \text{ Affinité} = \left(1 - \frac{DO_f}{DO_i}\right) \times 100 \qquad (29)$$

Des difficultés ont été rencontrées lors de l'étape de décantation avec les solvants apolaires. Après agitation, les particules de polystyrène présentaient d'avantage d'affinité pour la surface en verre du tube de décantation que pour la phase aqueuse ce qui entraînait des erreurs de mesure de la densité optique finale et donc sur le pourcentage d'affinité.

II.2.3. Potentiel Zêta

Pour des particules en suspension, le potentiel Zêta peut être déterminé par des mesures de mobilité électrophorétique. En effet, sous l'effet d'un champ électrique, les particules se déplacent à une certaine vitesse, le sens de déplacement dépendant de la charge globale des particules. Les mesures de mobilité électrophorétique nous donnent accès à cette vitesse de déplacement des particules à partir de la relation :

$$\mu = \frac{V_p}{E} \qquad (30)$$

où V_p est la vitesse de déplacement des particules et E l'intensité du champ électrique appliqué.

La mobilité électrophorétique (μ) peut ensuite être reliée au potentiel Zêta (ζ) par l'équation de Smoluchowski (Levine *et al.*, 1974) :

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{\varepsilon}\mu \qquad (31)$$

avec η la viscosité et ε la permittivité du milieu de suspension.

CONFIDENTIEL

Les mesures de mobilités électrophorétiques des particules de polystyrène ont été réalisées sur des suspensions dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M. Le pH des suspensions étant ajusté dans la gamme pH 2-7 par ajout de KOH ou de HNO_3. Les mesures sont réalisées sous un champ électrique de 50 V à l'aide d'un Zêtamètre laser (SEPHY) couplé à un microscope BX 40 (Olympus) selon le dispositif expérimental présenté figure 35.

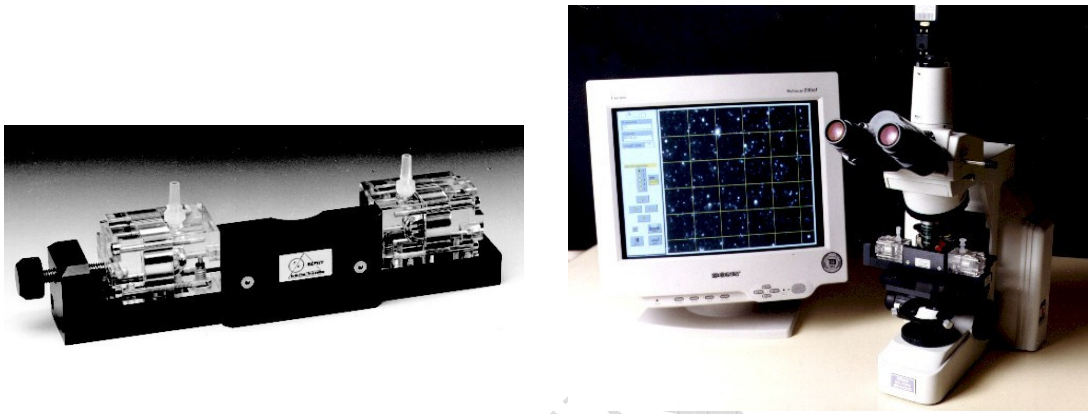


Figure 35 : Dispositif expérimental du zêtamètre Sephy II (d'après UBHM, INRA Massy).

II.3. Adhésion des particules de polystyrène à la surface des wafers modifiés

Les particules de polystyrène sont dispersées dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M ou $1.5.10^{-1}$ M afin d'obtenir une concentration finale de 5.10^{-3} % p/v. 10 mL de cette suspension sont mis en contact avec les matériaux modifiés PEG ou SAQ pendant 3 heures à 20°C. A l'issue de cette période, les particules de polystyrènes non-adhérentes sont éliminées à l'aide de 5 fois 10 mL du milieu de suspension. Après séchage des supports, les particules fluorescentes sont observées à l'aide d'un microscope à épifluorescence BH II (Olympus), avec un objectif x10, relié à un appareil photo numérique. Le pourcentage de particules de polystyrène présentes à la surface des différents matériaux est alors déterminé à l'aide du logiciel PimPC (Adersa). Chaque valeur présentée est la moyenne de 10 mesures effectuées sur trois échantillons d'une même concentration de greffage.

CONFIDENTIEL

RESULTATS & DISCUSSION

CONFIDENTIEL

I. Conception de surfaces modifiées

I.1. Synthèse des molécules porteuses des fonctionnalités souhaitées

Les molécules doivent comporter à la fois :

- une fonction assurant le greffage (en général une fonction vinylique ou allylique).
- le fragment structural portant l'activité antibactérienne.

I.1.1. Molécules porteuses de la fonctionnalité biocide SAQ

Dans un premier temps, l'acétalisation du diéthyle tartrate par le diéthylacétal d'acroléine, en présence d'une quantité catalytique d'acide camphorsulfonique, permet d'introduire la fonction de greffage en l'occurrence ici un groupement allylique (figure 36).

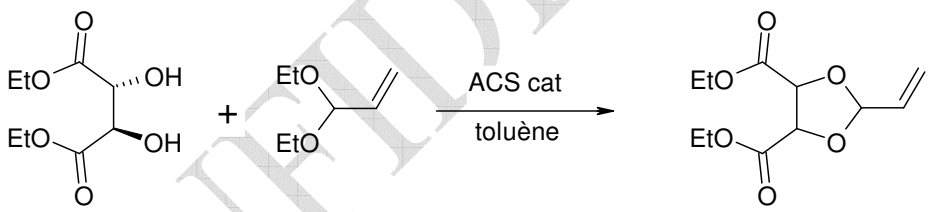


Figure 36 : Schéma réactionnel de l'acétalisation du diéthyle tartrate.

L'introduction du bras espaceur s'effectue par aminolyse de l'acétal précédemment formé en présence d'un excès de 3-diméthylamino-propylamine (figure 37). En modifiant la nature de la diamine, il serait possible de faire varier la structure du bras espaceur.

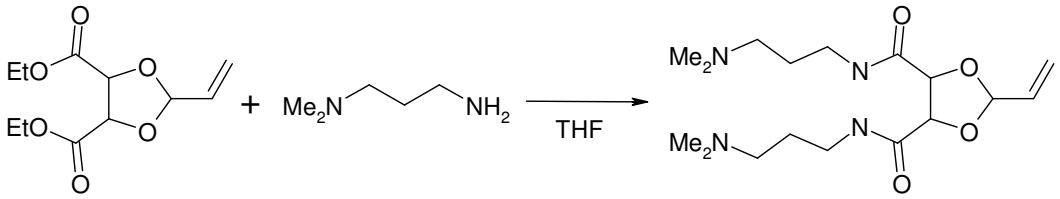


Figure 37 : Schéma réactionnel de l'aminolyse de l'acétal.

CONFIDENTIEL

Enfin, l'addition d'halogénure d'alkyle sur le tartramide permet d'obtenir les sels d'ammonium quaternaires (figure 38). Il est à noter que des essais préalables ont permis de déterminer le meilleur solvant pour la quaternisation, à savoir l'acétonitrile. Plusieurs essais ont été effectués en modifiant la nature de l'halogénure d'alkyle tant au niveau de la longueur de chaîne que de l'halogénure employé (cf §1 p59).

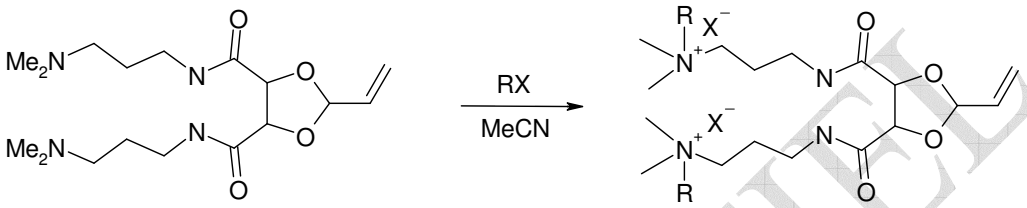


Figure 38 : Schéma réactionnel de la quaternisation du tartramide.

On observe alors que lorsque la longueur de la chaîne alkyle augmente, le rendement diminue. Il en est de même avec la réactivité de l'halogénure. En effet avec le chlorooctane, on obtient le produit désiré avec un rendement de 38 %, lorsque l'on effectue la réaction sans solvant, tandis qu'avec le bromooctane, la réaction est effectuée dans les conditions classiques avec un très bon rendement (tableau 6). Trois SAQ avec une chaîne alkyle en C1, C8 et C14 ont été synthétisés par cette méthode. Les greffages ont ensuites été réalisé avec le SAQ comportant une chaîne alkyle en C8 et un brome car ce dernier est le meilleur compromis entre rendement de synthèse et longueur de chaîne alkyle.

Halogénure d'alkyle	Rendement (%)	Quantité synthétisée (g)
CH_3I	98	2,4
$C_8H_{17}Cl$	38	1,2
$C_8H_{17}Br$	90	124,1
$C_{14}H_{27}Br$	74	2,4

Tableau 6 : Comparaison des rendements de la réaction de quaternisation du tartramide en fonction de l'halogénure d'alkyle employé.

CONFIDENTIEL

I.1.2. Molécules porteuses de la fonctionnalité répulsive PEG

La synthèse de greffons issus de polyéthylène glycol semble intéressante du fait qu'il existe commercialement un très grand nombre de PEG de longueur de chaîne variable. L'introduction de la fonction de greffage (figure 39) peut être réalisée par réaction d'un halogénure d'allyle avec un groupement hydroxyle du PEG (Doyle *et al.*, 2000). Pour obtenir un PEG monoallylé et non bisallylé, il est nécessaire d'utiliser 0,53 équivalent d'iodure d'allyle par rapport à la quantité de PEG mis en réaction ce qui conduit à des quantités faibles de PEG monoallylé (tableau 7).

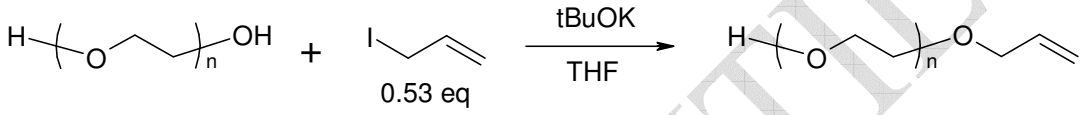


Figure 39 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG.

Masse molaire moyenne du PEG ($g.mol^{-1}$)	Rendement (%)	Quantité synthétisée (g)
150	74	1,5
400	70	6,1
2000	64	12,8
10000	55	10,1

Tableau 7 : Comparaison des rendements de la réaction d'allylation en fonction de la masse molaire moyenne du PEG employé.

Pour optimiser la synthèse, un PEG monométhylé (figure 40) a été utilisé comme produit de départ (Napoli *et al.*, 2001) ce qui permet d'obtenir les PEG monoallylés avec de bons rendements (tableau 8).

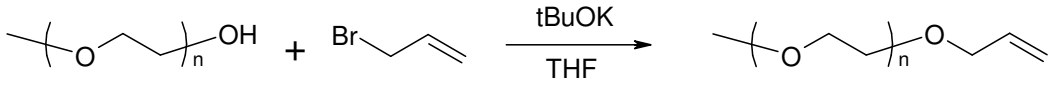


Figure 40 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG monométhylé.

CONFIDENTIEL

Masse molaire moyenne du PEG monométhylé ($g.mol^{-1}$)	Rendement (%)	Quantité synthétisée (g)
350	79	119,5
2000	83	124,7

Tableau 8 : Comparaison des rendements de la réaction d'allylation en fonction de la masse molaire moyenne du PEG monométhylé employé.

Les PEG marqués paramagnétiquement ont été synthétisés en utilisant comme produit de départ le radical 3-carboxamide-2,2,5,5-tétraméthylpyrroline-1-oxyle. Le traitement de ce nitroxyde par une solution de soude concentrée (figure 41) permet d'obtenir le radical 3-carboxy-2,2,5,5-tétraméthylpyrroline-1-oxyle (Rozantzev *et al.*, 1965).

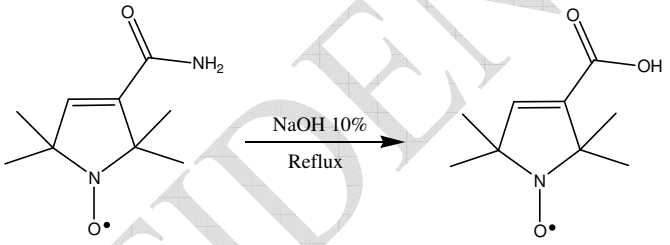


Figure 41 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse de la fonction amide.

La fixation du marqueur de spin sur les différents PEG s'effectue par estérification (figure 42), en ayant préalablement transformé la fonction acide du pyrrolidinyloxy en chlorure d'acyle par le chlorure de thionyle (Törmälä *et al.*, 1973).

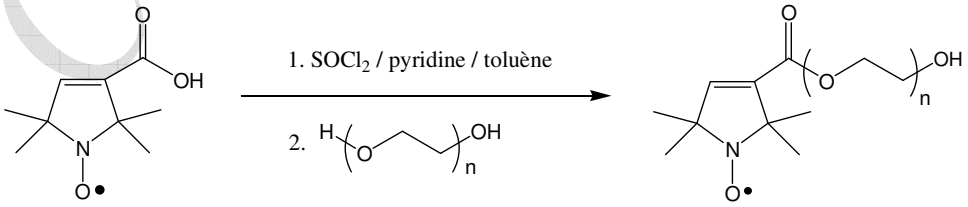


Figure 42 : Schéma réactionnel de la fixation du marqueur de spin sur le PEG.

CONFIDENTIEL

Enfin, la fonction de greffage est introduite de la même manière que précédemment (figure 43).

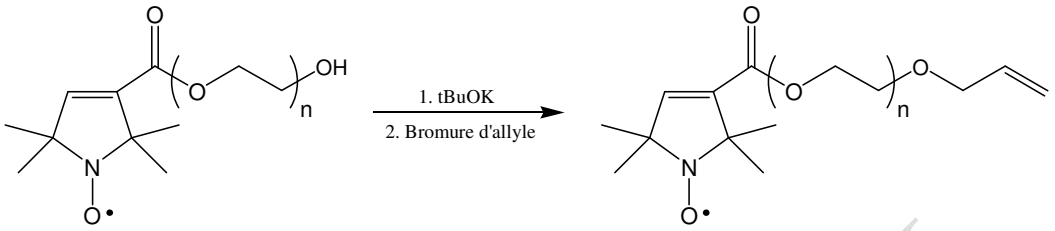


Figure 43 : Schéma réactionnel de l'allylation du PEG marqué paramagnétiquement.

I.2. Greffage des molécules par voie thermique

Les conditions de greffage suivies (§ I.1. page 60) devraient conduire à la formation de monocouches de PEG ou de SAQ greffées par liaison covalente à la surface de lame de verre ou de wafer de silicium. D'après Maas *et al.* (2003), le groupement allylique est transformé en groupement alcool primaire par chemisorption d'eau, qui va ensuite réagir avec les groupements silanols présents à la surface du matériau pour former une liaison éther par déshydratation intermoléculaire (figure 44).

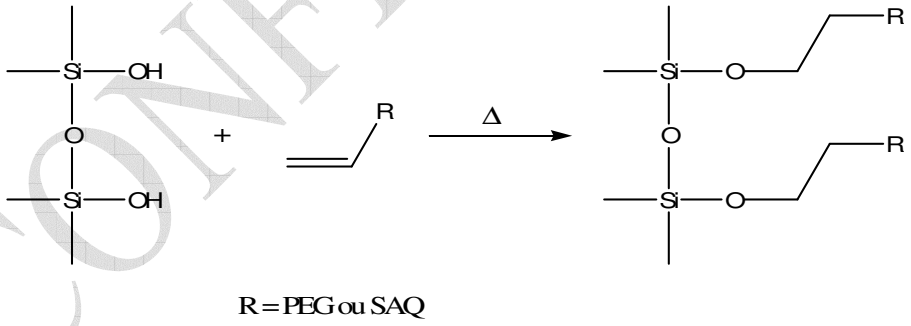


Figure 44 : Représentation schématique de la réaction de greffage sur lame de verre.

Ce greffage nécessite des températures de réactions élevées (entre 150 et 200°C) et de préférence de fortes concentrations en molécules réactives (solutions pures ou très concentrées), ce qui peut entrainer des phénomènes d'homopolymerisation et/ou de reticulation.

CONFIDENTIEL

Comme la volatilité des molécules à immobiliser est faible (M > 390 g.mol^{-1}) la réaction est réalisée sans solvant, ce qui peut conduire à un greffage plus dense qu'en solution (absence de pression osmotique entre les molécules), sous atmosphère inerte (l'oxygène pouvant entraîner des réactions secondaires non désirées) et au dessus de la température de fusion de la molécule à immobiliser pour que sa mobilité soit suffisante (Sieval *et al.*, 2000).
Les premiers essais ont été conduits à partir d'un dépôt solide des greffons (PEG 390, 2040 et 10040 et SAQ-C8Br) issu d'une solution à 4 mg.mL^{-1}.

I.2.1. Greffage sur lame de verre

Les valeurs d'angles de contact avec l'eau des molècules greffées à la surface des lames de verre (tableau 9) indiquent une modification de l'hydrophilie de la surface qui passe d'une mouillabilité totale à une hydrophilie moyenne (entre 45 et 57 °). La longueur de la chaîne de PEG ne semble pas influencer la mouillabilité de surface.
Une mouillabilité aux alentours de 45° pour les PEG est en accord avec les résultats obtenus par Kaper *et al.* (2003), qui reportent un angle de contact avec l'eau de 43° pour un PEG méthacrylate de 9800 g.mol^{-1} greffé sur lame de verre par voie thermique.
Le caractère moins hydrophile de la surface SAQ-C8Br (58°) pourrait être lié à l'effet lipophile de la chaîne alkyle en C8 portée par l'azote.

	Angles de contact avec l'eau (°)
Lame de verre lavée	Mouillabilité totale
Lame de verre après traitement thermique	69,7 ± 3,7
PEG 390	45,2 ± 3,5
PEG 2040	45,0 ± 1,9
PEG 10040	46,6 ± 2,9
SAQ-C8Br	57,7 ± 2,8

Tableau 9 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les lames de verre greffées PEG et SAQ (greffage thermique, 4 mg.mL^{-1}).

CONFIDENTIEL

Pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques des lames de verre modifiées, une analyse de la composition chimique de surface par XPS et une mesure de l'épaisseur de la couche greffée par ellipsométrie, ont été envisagées. Cependant, il s'est avéré que la nature du support et son épaisseur (1 mm) se prêtaient mal à ces types d'analyse. En effet, l'épaisseur de l'échantillon peut poser problème en XPS, alors que pour l'ellipsométrie la diffusion du rayon incident dans la masse de la lame de verre rend l'analyse impossible. Le greffage des molécules sur des supports plus fins (de type lamelle de microscope) est difficilement envisageable en raison de leur fragilité. Ce sont donc des supports de type wafer de silicium, dont la structure est présentée figure 45, qui ont été retenus pour la suite de l'étude.

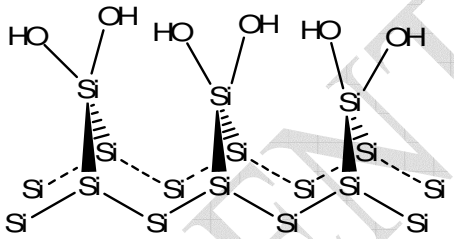


Figure 45 : Représentation schématique de la structure du wafer de silicium 1.0.0 après décontamination.

I.2.2. Greffage sur wafer de silicium

Comme précédemment sur lame de verre, le greffage de PEG et de SAQ se traduit par une modification de la surface du wafer. Les valeurs d'angles de contact rassemblées dans le tableau 10 souligne la diminution du caractère hydrophile des wafers greffés : en effet, si le wafer nettoyé présente une excellente mouillabilité (θ_{eau} = 26°), les wafers greffés PEG présentent un angle de contact compris entre 36 et 50° et ceux greffés SAQ-C8Br un angle de contact d'environ 73°.

CONFIDENTIEL

	Angles de contact avec l'eau (°)
Wafer lavé	25,9 ± 0,6
Wafer après traitement thermique	70,0 ± 4,1
PEG 390	49,7 ± 9,2
PEG 2040	36,0 ± 1,7
PEG 10040	38,3 ± 0,9
SAQ-C8Br	72,2 ± 11,6

Tableau 10 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG et SAQ (greffage thermique, 4 $mg.mL^{-1}$).

Contrairement aux résultats obtenus sur lames de verre, on peut noter d'une part l'influence de la longueur de la chaîne des PEG sur la mouillabilité et d'autre part le caractère nettement moins hydrophile des surfaces après greffage du SAQ. Plusieurs hypothèses telles que l'influence de la nature du support sur la densité de greffage et/ou l'influence de la conformation des chaînes de PEG selon leur longueur peuvent être avancées pour tenter d'expliquer ces différences :

- la mouillabilité mesurée à la surface des lames de verre modifiées par des greffons à courtes chaînes, PEG 390 et SAQ-C8Br, varie peu (écartype max de 3,53°) au regard des wafers modifiés par ces mêmes greffons (écartype max de 11,6°). Ce résultat peut, en première approximation, laisser supposer une meilleure densité de greffage sur lame de verre et, par voie de conséquence une influence moindre de la nature du support (traité thermiquement) sur la mouillabilité finale ;

- la mouillabilité mesurée après greffage des PEG à longues chaînes, PEG 2040 ou 10040, varie peu (écartype max de 2,9°) et ce quel que soit la nature du support envisagé. Un meilleur recouvrement de la surface des supports dû à la conformation des longues chaînes de PEG pourrait en partie expliquer ce résultat.

Pour apporter des informations sur la conformation des chaînes en fonction de leur longueur, des essais de greffage de PEG marqué paramagnétiquement ont été réalisés sur les wafers de silicium. Cependant, il est vraisemblable que le groupement aminoxyle se dégrade lors du traitement thermique à 145°C sous vide, dans la mesure il n'est plus observable en RPE. Des essais de greffage par voie chimique ont donc été envisagés.

CONFIDENTIEL

I.3. Greffage des molécules par voie chimique

Pour éviter la dégradation du groupement aminoxyle, nous avons suivi une méthode chimique de greffage mise au point par Zhang *et al.* (1998). La réaction du groupement hydroxyle du PEG monométhylé, utilisé comme produit de départ, avec le tétrachlorure de silicium assure la formation d'un groupement trichlorosilane. L'hydrolyse du PEG-trichlorosilane par des traces d'eau adsorbées à la surface du wafer entraîne la formation de silanols qui se condensent ensuite avec ceux présents à la surface du wafer pour former un réseau de liaisons Si-O-Si (figure 46).

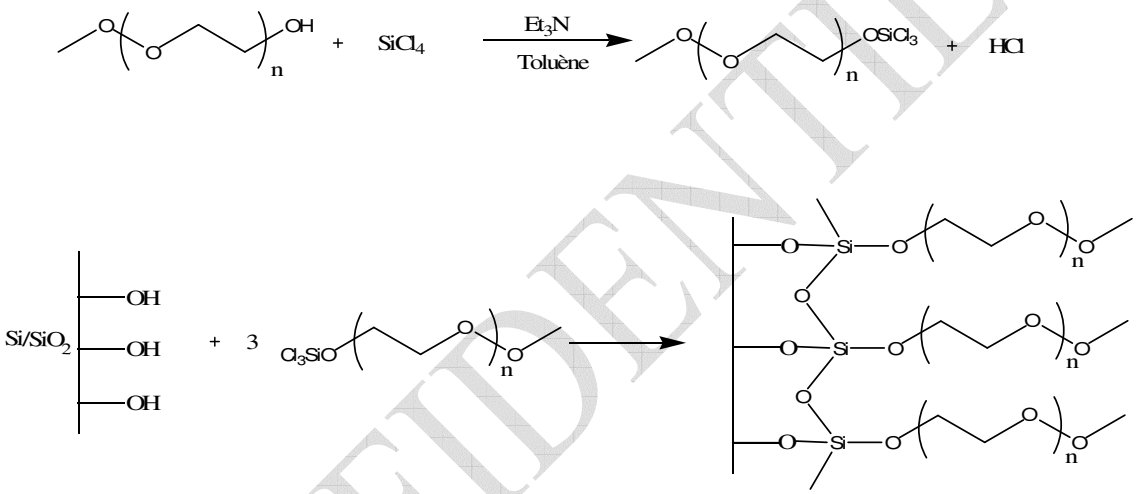


Figure 46 : Représentation schématique du greffage chimique du PEG sur un wafer.

La pertinence de cette méthode a été vérifiée en greffant à la surface du wafer un PEG monométhylé commercial de 2000 g.mol^{-1}, dont on peut supposer que le comportement sera similaire à celui du PEG 2040. Les mesures d'angles de contact avec l'eau (tableau 11) montrent en effet une diminution du caractère hydrophile similaire à celle observée pour le PEG 2040 greffé par la méthode thermique (environ 36°).

	Angles de contact avec l'eau (°)
Wafer lavé	25,90 ± 0,57
PEG-Me 2000	36,31 ± 4,50

Tableau 11 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG-Me (greffage chimique, 4 mg.mL^{-1}).

CONFIDENTIEL

Cependant la densité de PEG marqués paramagnétiquement ainsi greffées à la surface des wafers s'est avérée insuffisante pour observer un signal exploitable en RPE.

Compte tenu de ces résultats, seule la méthode de greffage des molécules par voie thermique sera retenue dans la suite de cette étude parce qu'elle est plus simple à mettre en œuvre que la méthode chimique. De plus, on constate que la variabilité des angles de contacts est plus faible pour la méthode thermique que pour la méthode chimique (Tableau 10 et 11).

I.4. Caractérisation physico-chimique des surfaces modifiées

I.4.1. Caractérisation par spectroscopie des photoélectrons (XPS)

L'analyse par spectroscopie des photoélectrons est réalisée pour confirmer la présence de PEG ou de SAQ à la surface des wafers de silicium. Les spectres généraux donnent accès à la composition élémentaire de surface et les spectres hautes résolution permettent de définir le type de liaisons engagées dans la structure greffée.

I.4.1.1. Spectres généraux

La figure 47 illustre les différents spectres généraux XPS obtenus pour le wafer de silicium témoin lavé et les wafers modifiés PEG et SAQ-C8Br avec des solutions à 4 $mg.mL^{-1}$.

Le spectre général du wafer de silicium vierge lavé traduit la présence d'oxygène (pic O1s à 532 eV), de carbone (pic C1s à 285 eV) et de silicium (pics Si2s à 150 eV et Si2p à 99 eV). La présence du carbone est vraisemblablement liée à une contamination pratiquement inévitable du à une adsorption de composés hydrocarbonés présents dans l'environnement (Seah *et al.*, 1994).

Les mêmes pics O1s, C1s, Si2s et Si2p sont observés à la surface des wafers greffés PEG mais dans des proportions différentes.

CONFIDENTIEL

Après greffage du SAQ, un pic supplémentaire N1s (400 eV) témoigne de la présence d'azote à la surface du matériau modifié.

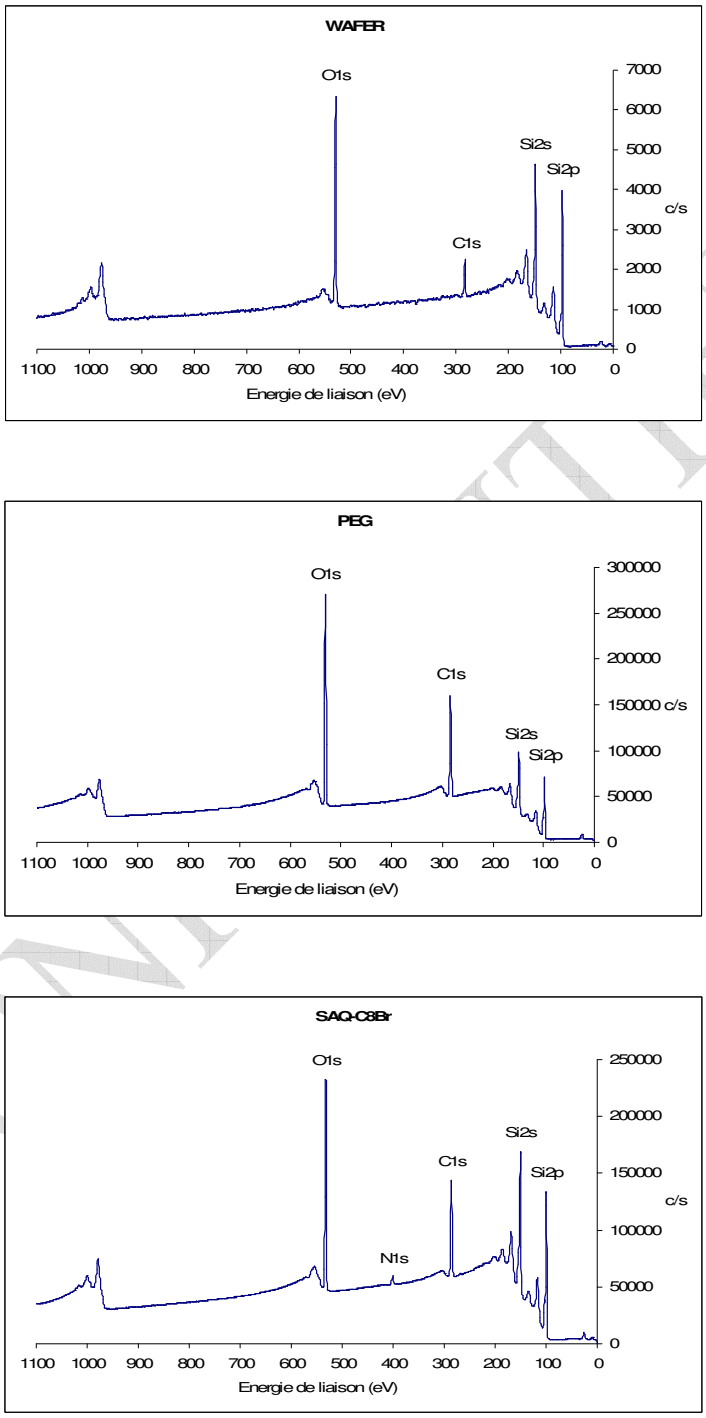


Figure 47 : Spectres généraux XPS du wafer vierge lavé et modifié PEG et SAQ-C8Br (l'axe des ordonnées exprimé en coups par seconde est proportionnelle au nombre d'électrons émis et n'est que semi-quantitatif).

Le tableau 12 résume la composition élémentaire de surface obtenue à partir des spectres généraux.

	Composition atomique de surface (%)			
	Carbone	Oxygène	Silicium	Azote
WAFER	15,1	26,4	58,5	0
PEG 390	42,8	27,5	29,7	0
PEG 2040	27,9	29,9	42,2	0
PEG 10040	46,9	30,0	23,1	0
SAQ-C8Br	28,9	22,2	46,9	2,1

Tableau 12 : Analyse élémentaire XPS du wafer vierge et modifié PEG et SAQ.

Par comparaison à un wafer témoin lavé :

- les wafers greffés PEG montrent une augmentation significative du pourcentage de carbone, une légère augmentation du pourcentage d'oxygène et une diminution importante du pourcentage de silicium. Ces variations sont très vraisemblablement liées à la présence du PEG à la surface du wafer puisque ce dernier est composé de 67 % de carbone et de 33 % d'oxygène alors que le wafer vierge est constitué de 15 % de carbone, de 26 % d'oxygène et de 59 % de silicium ;

- le wafer greffé SAQ-C8Br montre également une augmentation significative du pourcentage de carbone (15→28 %), une diminution du pourcentage d'oxygène (26→22 %) et de silicium (58→47 %), ainsi que l'apparition d'azote. Le SAQ-C8Br étant composé de 80 % de carbone, 10 % d'oxygène et 10 % d'azote, ces variations sont en accord avec la présence de SAQ à la surface du wafer.

La diminution plus ou moins importante du pourcentage de silicium après greffage peut s'expliquer par une variation d'épaisseur de la couche de PEG ou de SAQ greffée à la surface du wafer. Pour un même angle d'émission des rayons X, la profondeur analysée (Λ) est identique (figure 48). En conséquence, plus l'épaisseur de la couche greffée est importante, plus la contribution de la composition atomique du wafer est faible. Ainsi, parmi

CONFIDENTIEL

les wafers recouverts de PEG, il est fort probable que l'analyse ait été réalisée sur des échantillons pour lesquels l'épaisseur de la couche de PEG 2040 greffée soit très inférieure à celles des PEG 390 et 10040.

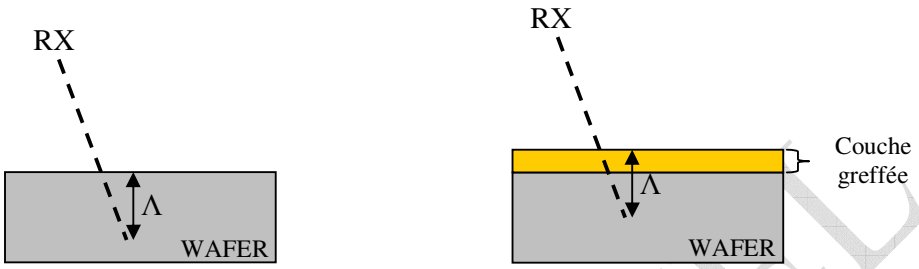


Figure 48 : illustration de la contribution de la composition atomique de surface du wafer en fonction de l'épaisseur de la couche greffée.

Pour définir les types de liaisons engagées dans la structure greffée, les spectres hautes résolution des pics C1s et Si2p ont été effectués.

I.4.1.2. Spectres haute résolution

Le spectre haute résolution du pic C1s du wafer vierge (figure 49) montre la présence de deux pics correspondant à une énergie de liaison C-C (285 eV) et C-O (286,5 eV). Ils attestent de la contamination hydrocarbonée, suggérée précédemment.

Le spectre haute résolution du pic C1s des wafers greffés PEG présente aussi un pic C-C et un pic C-O mais décalé de +1.5 eV car les énergies de liaison XPS d'un atome augmentent avec son degré d'oxydation. Celui de la wafer greffé SAQ-C8Br est quant à lui composé de trois pics qui correspondrait aux énergies de liaisons C-C et C-N^+ (285 eV), C-O (286,5 eV) et O=C-N (288,1 eV).

CONFIDENTIEL

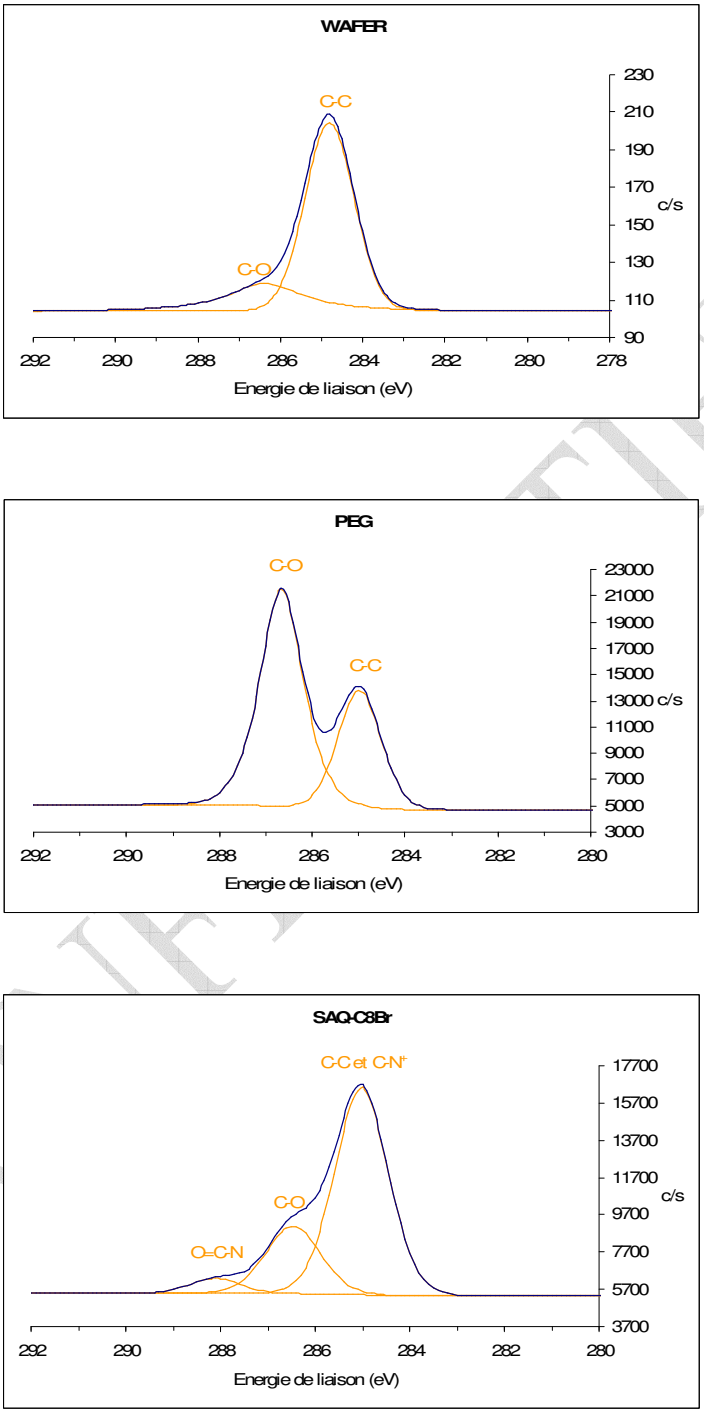


Figure 49 : Spectres haute résolution C1s du wafer vierge et modifié PEG et SAQ.

Une représentation schématique d'un PEG greffé à la surface d'un wafer de silicium (figure 50) permet de calculer les pourcentages théoriques des liaisons C-C et C-O et le spectre haute résolution permet de déterminer les pourcentages expérimentaux (tableau 13).

Ces pourcentages théoriques et expérimentaux étant très similaires, ils confirment la présence de PEG à la surface du wafer.

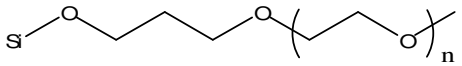


Figure 50 : Représentation schématique du PEG greffé à la surface d'un wafer de silicium.

	Pourcentage des différentes liaisons (%)	
	C-C	C-O
PEG (théorique)	37	63
PEG (expérimental)	34	66

Tableau 13 : Pourcentage des différentes liaisons du pic C1s du wafer modifié PEG.

Comme précédemment, les pourcentages théoriques et expérimentaux des différentes liaisons d'un SAQ-C8Br greffé à la surface d'un wafer ont été calculés à partir de la figure 51 et du spectre haute résolution C1s. Ce calcul n'est en fait qu'une évaluation dans la mesure où les liaisons C-C et C-N^+ ont des énergies trop proches pour être différenciées en déconvoluant le pic C1s. On constate tableau 14 que les pourcentages théoriques et expérimentaux sont proches ce qui confirme la présence de SAQ-C8Br à la surface du wafer.

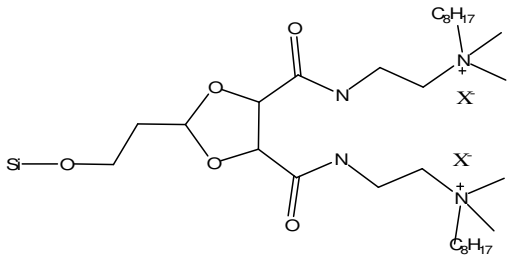


Figure 51 : Représentation schématique du SAQ-C8Br greffé à la surface d'un wafer de silicium.

CONFIDENTIEL

	Pourcentage des différentes liaisons (%)		
	C-C et C-N$^+$	C-O	O=C-N
SAQ-C8Br (théorique)	75	20	5
SAQ-C8Br (expérimental)	71	24	5

Tableau 14 : Pourcentage des différentes liaisons du pic C1s du wafer vierge et modifié SAQ-C8Br.

Pour s'assurer du greffage, par la mise en évidence d'une liaison Si-O-C, la déconvolution des pics Si2p des wafers vierges et modifiés a été effectuée. Le spectre Si2p du wafer vierge est composé de deux pics à 99,2 et 99,8 eV qui correspondent au silicium du wafer (orientation 1.0.0) et d'un pic à 102,5 eV relié à une énergie de liaison Si-O (figure 52). Les spectres Si2p des wafers modifiés PEG et SAQ-C8Br sont rigoureusement identiques à celui du wafer vierge. Les énergies de liaison de SiO_2 (102,5 eV) et Si-O-C (102,1 eV) trop proches, le manque de sensibilité du silicium en XPS et le rapport entre le nombre de liaison SiO_2 et Si-O-C, ne nous permette de certifier un greffage Si-O-C

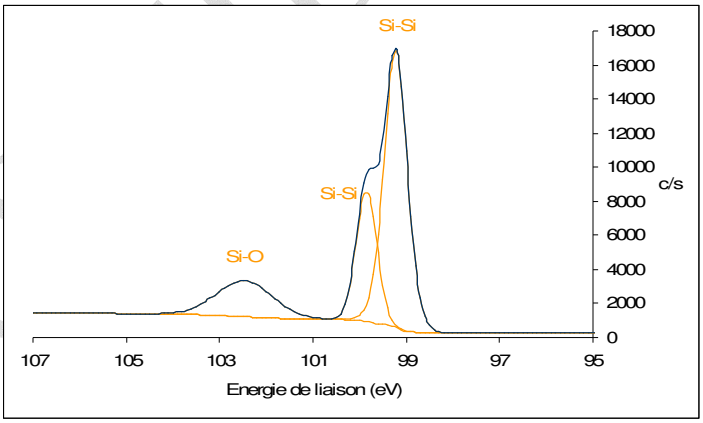


Figure 52 : Spectres haute résolution Si2p du wafer vierge et modifié PEG et SAQ.

I.4.2. Caractérisation par ellipsométrie

Dans un premier temps, les épaisseurs théoriques de PEG greffé à la surface des wafers ont été estimées par modélisation moléculaire (Bouquant J. URCA, communication personnelle).

Pour le PEG 390 (n = 7) :

- dans sa conformation étendue, la longueur est de 30 Å ;
- dans sa conformation la plus stable, sous forme de sphère, le volume est de 377 $Å^3$ avec un diamètre de 9 Å.

Pour le PEG 2040 (n = 45) :

- dans sa conformation étendue (pas parfaitement linéaire), la longueur est de 164 Å ;
- dans sa conformation repliée la plus grande longueur est de 51 Å et le volume de 1964 $Å^3$. Dans cette conformation, on observe deux coudes et trois chaînes pratiquement parallèles.

Pour le PEG 10040 (n = 227), le calcul n'a pas été possible mais une estimation est faite à partir des résultats du PEG 390 qui nous permettent d'évaluer la longueur du motif polymère CH_2-CH_2-O à 3,43 Å et du motif CH_2=CH-CH_2-O + CH_3 à 5,7 Å. On en déduit alors que dans une conformation étendue, la longueur du PEG 10040 serait d'environ 785 Å.

Expérimentalement, les mesures ellipsométriques ont été effectuées sur des wafers greffés par série (1, 2, 3). Chaque série incluant des wafers greffés avec des solutions à 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$ en PEG et SAQ-C8Br séchés sous vide et stockés sous argon. L'épaisseur de la couche de passivation (SiO_2) déterminée à partir de mesures effectuées sur des wafers lavés est d'environ 15 Å.

Les épaisseurs des couches de PEG greffé à la surface des wafers varient globalement entre 10 et 50 Å. Les résultats présentés figure 53 montrent que cet écart ne peut être relié :

- ni à la concentration de PEG utilisée lors du greffage (4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$) pour une chaîne de PEG donnée,
- ni à la longueur de la chaîne de PEG et ceci quelle que soit la concentration considérée.

CONFIDENTIEL

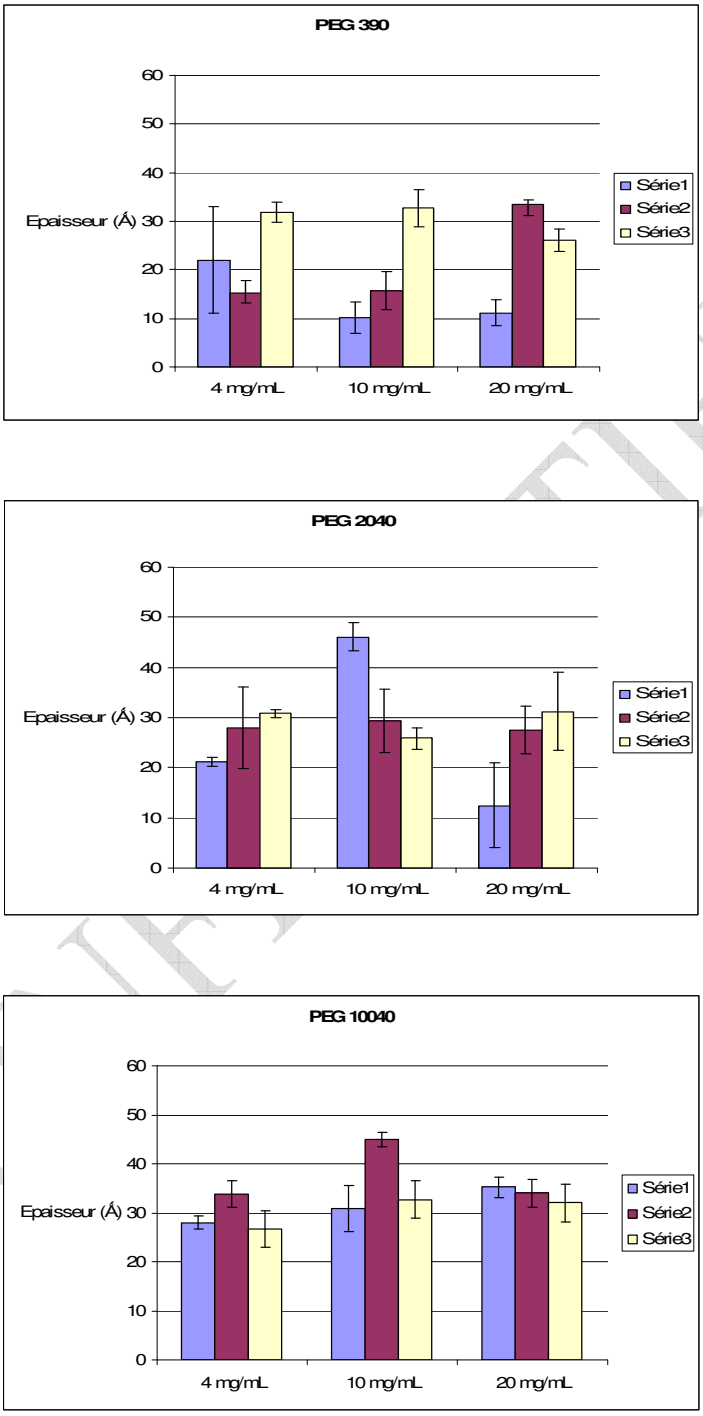


Figure 53 : Epaisseur des couches de PEG greffées sur wafer de silice (Å) en fonction de la concentration 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$.

En revanche, si l'on se réfère aux valeurs théoriques, on peut tout à fait admettre que la variation d'épaisseur soit à relier à la conformation adoptée par les molécules une fois greffées.

Le PEG 390 à courte chaîne serait indifféremment dans sa conformation stable sous forme de sphère (10 Å) ou dans sa conformation étendue (30 Å), tandis que les PEG à plus longues chaînes adopteraient davantage une conformation repliée. Une telle conformation assurerait un meilleur recouvrement de la surface (figure 54) et la rendrait plus homogène. C'est ce que l'on observe avec le PEG 10040 tant en ce qui concerne son épaisseur que sa mouillabilité (tableau 7 page 79).

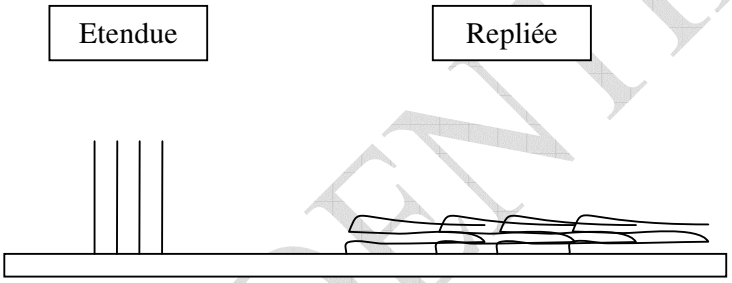


Figure 54 : Représentation schématique des différentes conformations des chaînes de PEG.

Un autre facteur et non le moindre pouvant influer sur la variabilité des épaisseurs obtenues porte sur la nature hydroscopique du PEG. L'humidité relative de l'air ambiant absorbée par la couche de PEG lors de la mesure peut faire varier son épaisseur (Roosjen *et al.*, 2004).

L'épaisseur théorique (calculée à partir des valeurs de longueur de liaison) d'une monocouche de SAQ-C8Br greffée à la surface d'un wafer de silicium est d'environ 18 Å. Celles mesurées expérimentalement varient globalement entre 10 et 20 Å pour des concentrations comprises entre 4 et 20 $mg.mL^{-1}$ (figure 55) ce qui laisse supposer un greffage monomoléculaire avec une orientation majoritairement verticale du SAQ.

CONFIDENTIEL

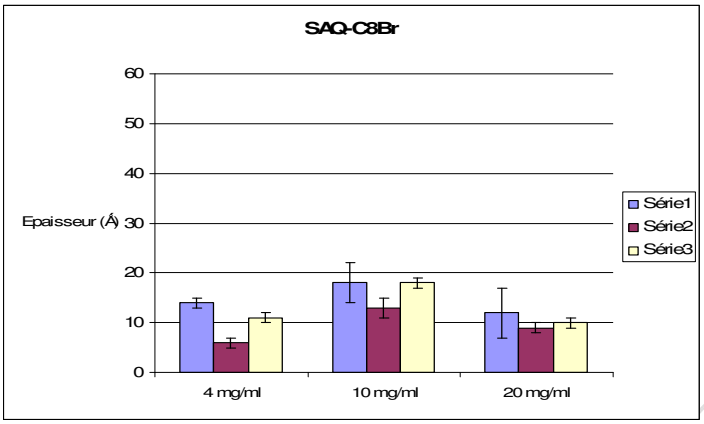


Figure 55 : Epaisseur des couches de SAQ greffées sur wafer de silice (Å) en fonction de la concentration 4,10 et 20 $mg.mL^{-1}$.

Bien que l'épaisseur du tapis moléculaire ne soit pas rigoureusement identique en tout point de la surface (écartype moyen de 2 Å), la concentration de surface (Γ) de la couche de SAQ peut être évaluée à partir de la relation (Cuypers *et al.*, 1983) :

$$\Gamma = d\rho_0$$

où d est l'épaisseur moyenne de la couche de SAQ (environ 12 Å) et ρ_0 sa densité (approximativement 1,5 $g.cm^{-3}$).

La densité de greffage (σ) peut être estimée grâce à l'équation :

$$\sigma = \frac{N_A \Gamma}{M}$$

avec N_A le nombre d'Avogadro et M la masse molaire du SAQ.

La concentration de surface moyenne serait alors estimée à 0,18 $\mu g.cm^{-2}$ (soit 0,28 $mmol.cm^{-2}$) ce qui semble extrêmement faible. Pourtant, on peut supposer qu'une bactérie de 1 µm de dimension moyenne venant en contact avec une telle surface serait soumise à l'action simultanée de $1{,}7.10^6$ molécules de SAQ (σ = 1,7 $SAQ.nm^{-2}$) ce qui est considérable.

CONFIDENTIEL

I.4.3. Caractérisation par microscopie à force atomique (AFM)

La topographie de surface du wafer lavé et des wafers greffés PEG et SAQ-C8Br a été caractérisée par AFM. La topographie de surface des couches de PEG 390 et de SAQ-C8Br d'une part et celles des PEG 2040 et 10040 d'autre part étant similaires, nous ne les présenterons pas séparément.
Les représentations en 2D et 3D des wafers greffés montrent une modification de la topographie avec une augmentation de la largeur des irrégularités de surface par rapport au wafer vierge (figure 56a, b et c).

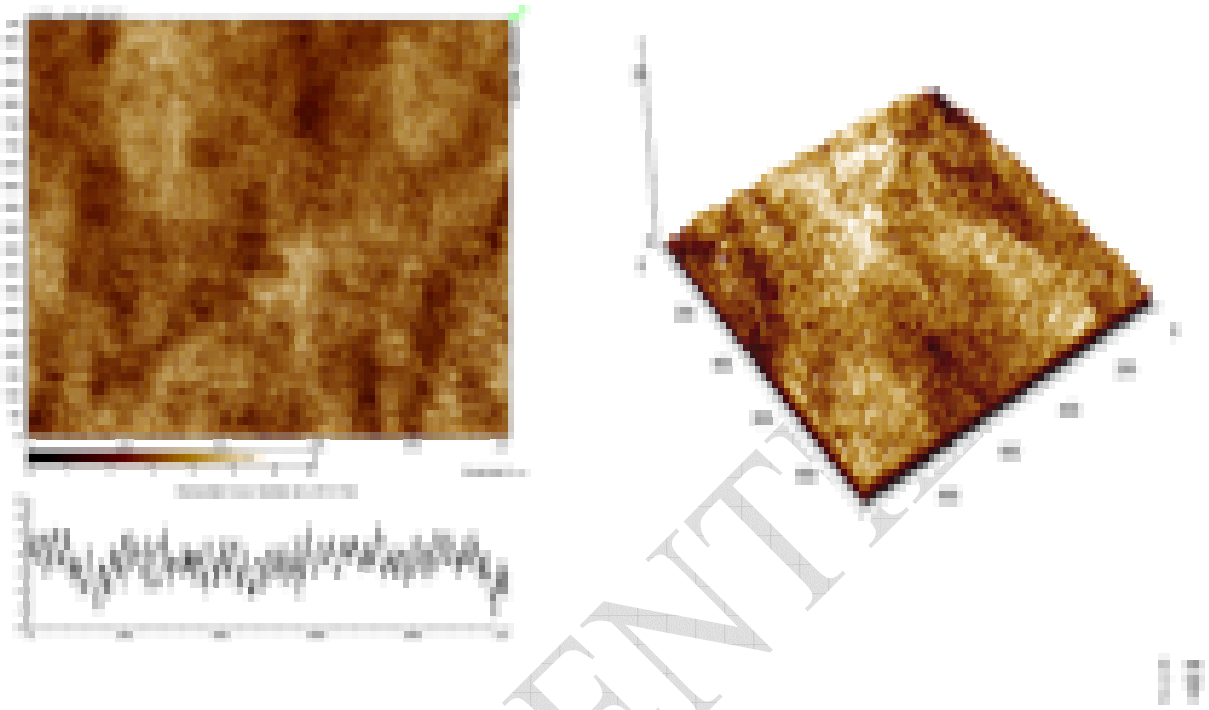
Le relief de la surface des wafers greffés PEG 2040 et 10040 est plus marqué que celui des wafers greffés PEG 390. Ce résultat peut être attribué au recouvrement plus ou moins homogène de la surface lié tant à la différence de conformation des chaînes qu'au nombre de sites disponibles pour le greffage.

Les images 56c et 56d comparent la topographie de surface d'un wafer greffé PEG 2040 analysée en milieux sec et aqueux, respectivement. L'apparence de la surface est plus marquée en milieux aqueux avec une augmentation nette de la taille des irrégularités de surface. En milieu aqueux, les chaînes de PEG forment des liaisons hydrogènes entre leurs groupements éthers et les molécules d'eau, ce qui conduit à un déploiement de la chaîne et donc une modification nette de la topographie de surface.

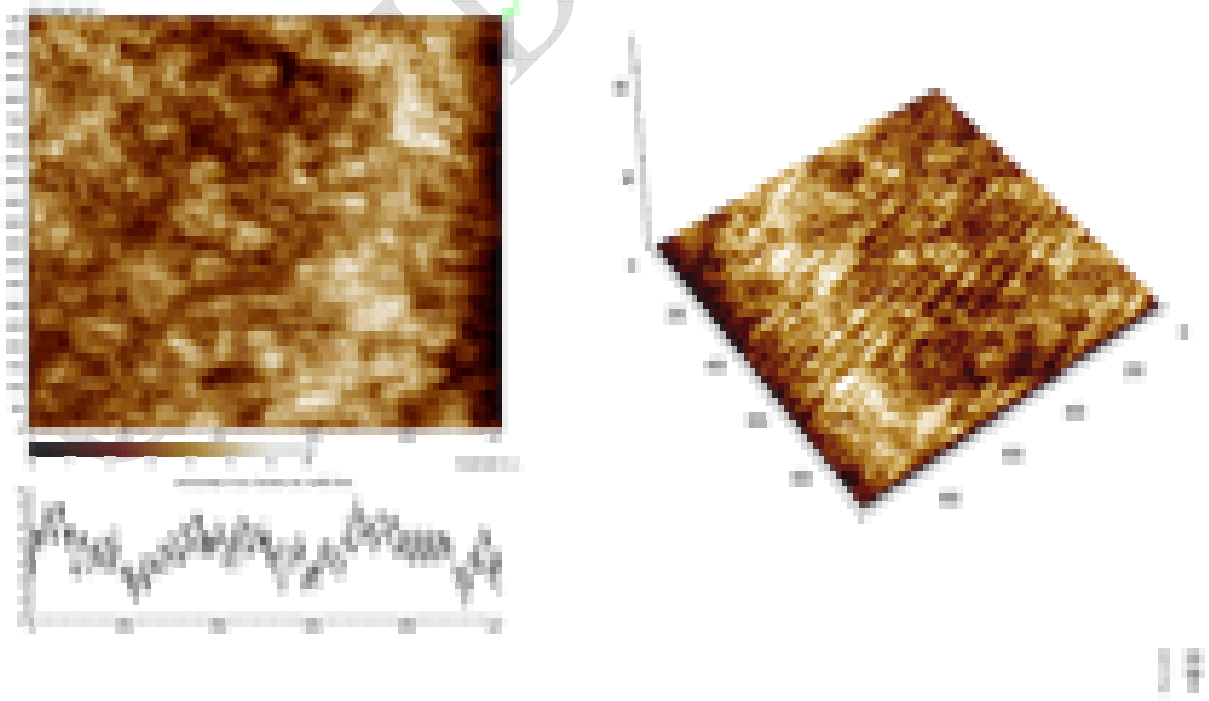
CONFIDENTIEL

La caractérisation physico-chimique des wafers de silicium modifiés PEG et SAQ indique clairement que la méthode de greffage thermique mise en œuvre ne permet pas d'obtenir des surfaces suffisamment homogènes pour être reproductibles. Cependant, préalablement à l'optimisation des conditions de greffage, il a paru plus judicieux de vérifier l'efficacité de ces matériaux vis-à-vis de l'adhésion particulaire.

a. Wafer vierge

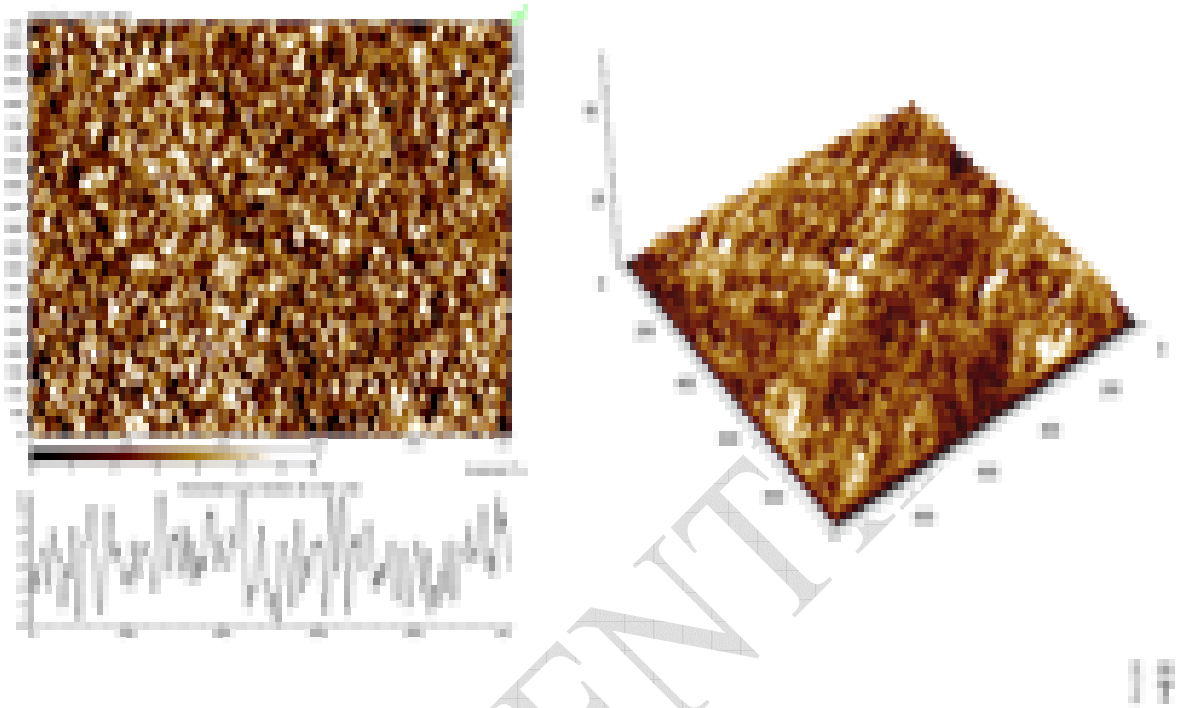


b. SAQ-C8Br et PEG 390



DENTI

c. PEG 2040 et 10040



d. PEG 2040 et 10040 en milieux aqueux

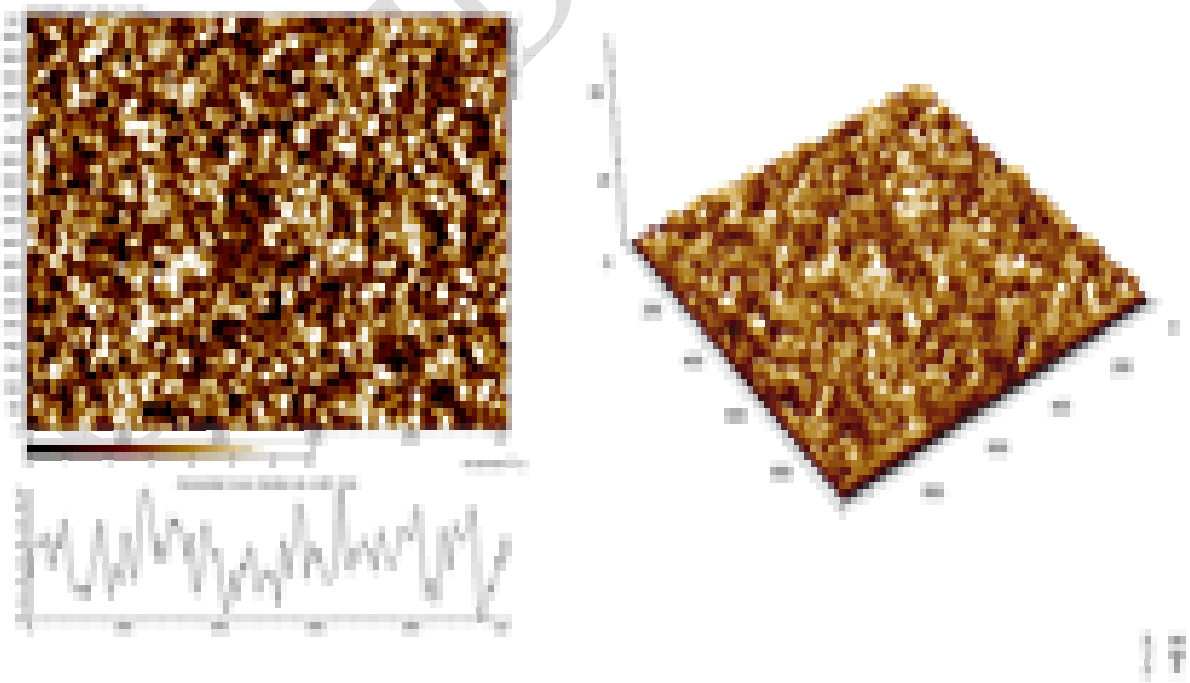


Figure 56 : Images 2D et 3D obtenues en AFM.

II. Conséquences des propriétés de surface sur l'adhésion particulaire

En accord avec la théorie étendue de la DLVO, il est clairement établi que les phénomènes d'adhésion sont influencés par les propriétés de surface des supports solides et des particules. Les caractéristiques énergétiques (composantes de Lifshitz-van der Waals, donneur d'électron et accepteur d'électron) ainsi que le potentiel Zêta (charge de surface) des wafers greffés et des particules utilisées pour les tests d'adhésion ont été déterminées, afin de pouvoir les relier aux résultats d'adhésion obtenus.

II.1. Propriétés de surface des wafers modifiés

II.1.1. Caractéristiques énergétiques

La méthode des angles de contact couplée à l'équation de Young-van Oss est une méthode de référence pour la caractérisation physico-chimique des supports solides. Cette méthode permet de déterminer les caractéristiques énergétiques de surface d'une couche greffée sur un support solide, à condition que cette dernière soit suffisamment recouvrante pour masquer les propriétés de surface du support initial.

La mouillabilité des wafers greffés par voie thermique a déjà été déterminée pour une concentration de 4 $mg.mL^{-1}$ lors du choix des conditions de greffage (tableau 10 page 84). Dans ce chapitre, elles ont été reprises et complétées avec les valeurs obtenues pour des concentrations de 10 et 20 $mg.mL^{-1}$ en molécule à greffer (Figure 57).

Les valeurs d'angle de contact avec l'eau des wafers greffés PEG 390 se situent aux alentours de 49 ± 8°, alors que celles des wafers greffés PEG 2040 et 10040 sont comprises entre 35 et 40 ± 2° et ce quelles que soit la concentration en PEG utilisée lors du greffage (4, 10 ou 20 mg/ml). Ces résultats tendent à confirmer d'une part que le nombre de sites silanols disponibles pour le greffage est saturé dès 4 $mg.mL^{-1}$ et d'autre part que les conditions de greffage suivies n'assurent pas une densité de greffage suffisante pour recouvrir de façon homogène la surface du wafer.

CONFIDENTIEL

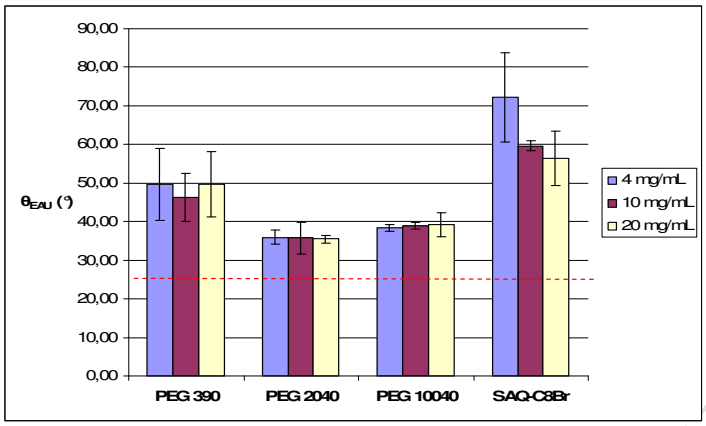


Figure 57 : Angles de contacts obtenus avec l'eau pour les wafers greffés PEG et SAQ. La ligne en pointillée rouge indique la valeur obtenue pour un wafer témoin.

L'augmentation du caractère hydrophile avec l'augmentation de la longueur de chaîne de PEG peut s'expliquer par un déploiement plus important de la chaîne en milieu aqueux dû à une augmentation du nombre de liaisons hydrogènes formées entre les groupements éthers du PEG et les molécules d'eau. Cette hypothèse a été vérifiée en suivant, par la méthode de la bulle captive, l'évolution en milieu aqueux du caractère hydrophile des wafers greffés PEG (figure 58). Le caractère hydrophile du wafer greffé PEG 390 varie peu au cours du temps alors que celui du wafer greffé PEG 2040 augmente fortement. Ce résultat traduit une modification de la conformation des chaînes de PEG en milieux aqueux qui est d'autant plus importante que la conformation initiale est repliée.

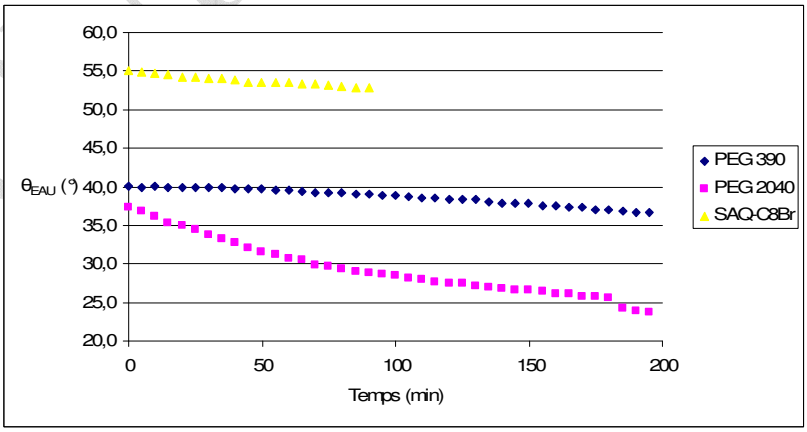


Figure 58 : Evolution du caractère hydrophile des wafers greffés PEG 390 et 2040 en fonction du temps par la méthode de la bulle captive.

CONFIDENTIEL

Pour les wafers greffés SAQ-C8Br, il semblerait qu'une augmentation de la concentration en SAQ lors du greffage se traduit par une augmentation du caractère hydrophile (72 → 59°). Il est probable que ce résultat soit lié à une meilleure densité de greffage et donc une influence moindre du support traité thermiquement (θ_{EAU} = 70°).
Il est intéressant de souligner que les valeurs d'angle de contact avec l'eau obtenues par Gottenbos *et al.* (2002) pour des disques de silicone greffés avec un SAQ-C18 sont de 106°. La plus longue chaîne alkyle portée par l'azote serait responsable du caractère nettement plus hydrophobe de la surface de ces matériaux.

Les composantes de Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}), donneur d'électron (γ^-) et accepteur d'électron (γ^+) de l'énergie de surface des wafers greffés, tout comme celles du wafer témoin (ligne en pointillée rouge), ont été calculées à partir des valeurs d'angles de contact obtenues avec l'eau, le diiodométhane et l'éthylène glycol (figure 59).
Le diiodométhane a été retenu préférentiellement au formamide ou au DMSO pour lesquels les angles de contact avec les wafers modifiés étaient trop faibles pour être mesurés. L'éthylène glycol a été retenu préférentiellement à l'alpha-bromonaphtalène pour les mêmes raisons ou au glycérol trop visqueux pour obtenir un angle de contact stable.

Le greffage de PEG à la surface des wafers a pour conséquence une augmentation de la composante de Lifshitz-van der Waals et une diminution de la composante donneur d'électrons. Les wafers greffés PEG présentent les caractéristiques suivantes :

- Une forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals, $\gamma^{LW} \approx 47$ mJ.m^{-2} ;
- un caractère donneur d'électrons élevé ; $\gamma^- \approx 45$ mJ.m^{-2} pour les wafers greffés PEG 390 et $\gamma^- \approx 55$ mJ.m^{-2} pour les wafers greffés PEG 2040 et 10040 ;
- un faible caractère accepteur d'électrons, $\gamma^+ \approx 0{,}7$ mJ.m^{-2}.

Ces résultats sont proches des valeurs données par Cornelissen *et al.* (1998) qui rapportent pour les caractéristiques énergétiques du PEG pur des valeurs de 43 mJ.m^{-2} pour la composante de Lifshitz-van der Waals, de 64 mJ.m^{-2} pour la composante donneur d'électrons et de 0 mJ.m^{-2} pour la composante accepteur d'électrons.

Le greffage de SAQ-C8Br à la surface des wafers a pour conséquence de diminuer légèrement la composante de Lifshitz-van der Waals et significativement la composante donneur d'électrons comme les wafers greffés PEG. Les wafers greffés SAQ présentent une

CONFIDENTIEL

forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals ($\gamma^{LW} \approx 33$ mJ.m^{-2}), un fort caractère donneur d'électrons ($\gamma^{-} \approx 30$ mJ.m^{-2}) et un faible caractère accepteur d'électrons ($\gamma^{+} \approx 0{,}5$ mJ.m^{-2}).

Toutes les wafers modifiés présentent un caractère donneur d'électrons prédominant ($\gamma^{-} >> \gamma^{+}$) (van Oss, 1994).

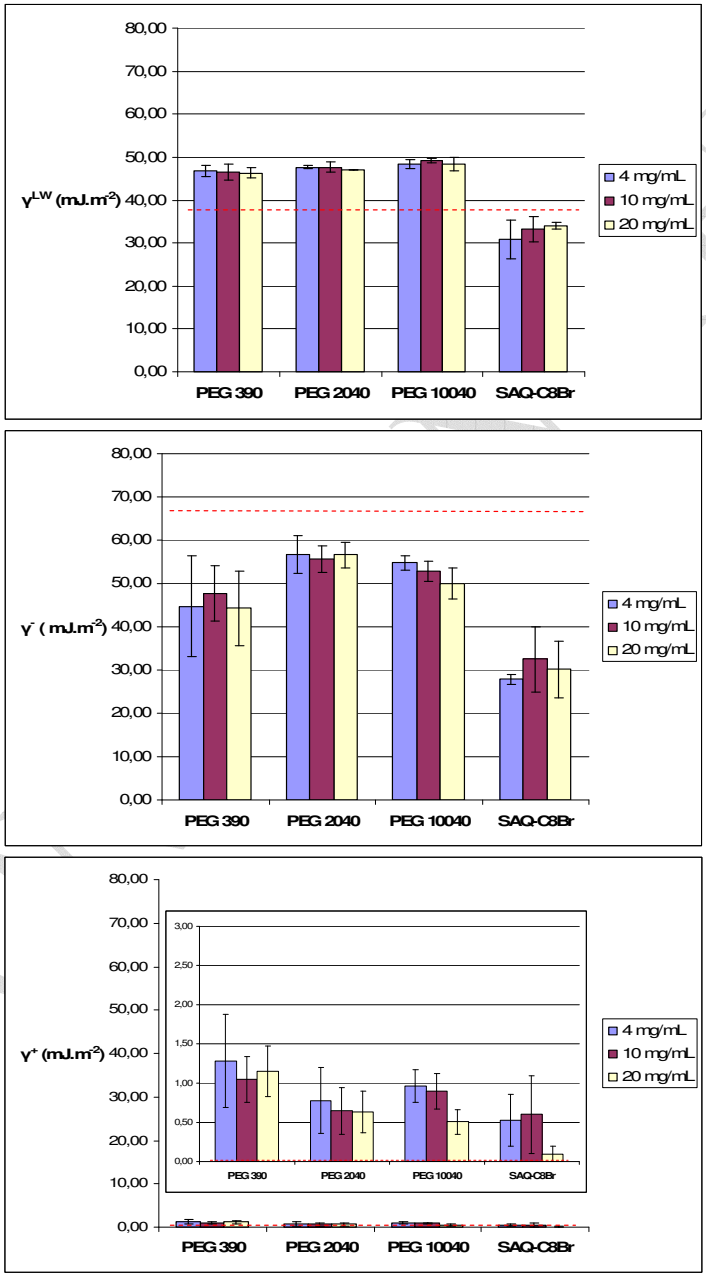


Figure 59 : Composantes de Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}), accepteur (γ^{+}) et donneur (γ^{-}) d'électrons de l'énergie de surface des wafers greffés. Les lignes en pointillés rouge indiquent les valeurs obtenues pour le wafer témoin.

II.1.2. Potentiel Zêta

Les courbes de potentiel Zêta obtenues à partir des mesures de potentiel d'écoulement des wafers sont présentées figure 60.

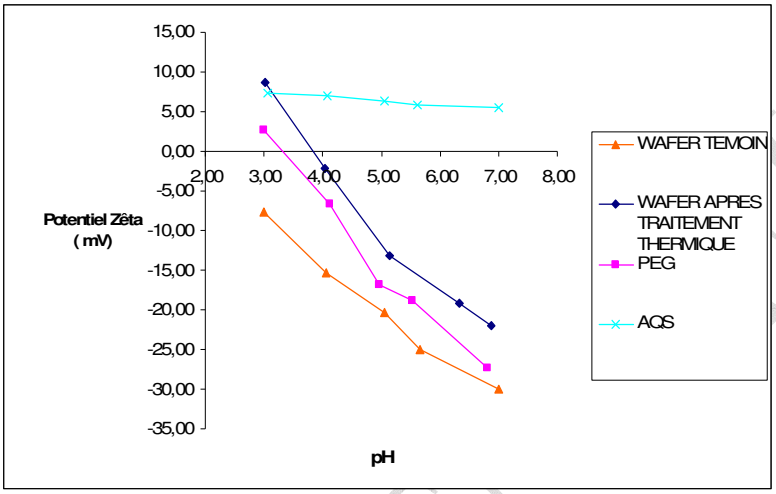


Figure 60 : courbes de potentiel Zêta des wafers greffés et témoins en fonction du pH.

La valeur négative (-25 mV) du potentiel Zêta du wafer témoin lavé au pH de la solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M (pH compris entre 5,5 et 6) peut s'expliquer par l'ionisation des groupements silanols présents à la surface du wafer en milieux aqueux :

$$SIOH \rightarrow SIO^- + H^+$$

Le wafer présente un point isoélectrique aux alentours de pH 2-3. Si le pH de la solution est inférieur à 2, la surface est chargée positivement et si le pH est supérieur à 3, la surface est chargée négativement (Sharma *et al.*, 2003).

Pour mieux apprécier l'influence éventuelle du support sur la mesure du potentiel Zêta des wafers modifiés, celui-ci a également été déterminé pour le wafer après traitement thermique. Le potentiel Zêta est alors plus élevé (-13 mV) qu'après lavage (-25 mV) avec point isoélectrique aux alentours de pH 4. Résultats que l'on peut attribuer à une couche de passivation (SiO_2) plus importante.

CONFIDENTIEL

Le potentiel Zêta des wafers greffés PEG 390, 2040 et 10040 est identique et négatif dans la gamme de pH étudié comme indiqué par Efremova *et al.* (2001). Sa valeur au pH de la solution de NaCl se situe vers -19 mV. Cette charge négative peut provenir tant d'une légère oxydation des chaînes de PEG que d'une certaine contribution du potentiel Zêta du wafer si la couche de PEG greffée n'est pas suffisamment épaisse ou dense (Vermette *et al.*, 2003).

Le potentiel Zêta du wafer greffé SAQ-C8Br est positif. Sa valeur au pH de la solution de NaCl est de +5,8 mV. Cette charge positive est selon toute vraisemblance liée aux groupements N^+ présents à la surface du wafer. Gottenbos *et al.* (2002) ont mesuré un potentiel Zêta de +16 mV à pH = 7 pour des disques de silicone greffés avec un SAQ-C18, tandis qu'à ce même PH le potentiel Zêta du SAQ-C8Br est de +5,5 mV. Cette différence confirme là encore une densité de greffage insuffisante pour masquer complètement l'effet du support.

Les résultats rassemblés tableau 15 rappellent les propriétés de surface des wafers modifiés ou non (caractéristiques mesurées sur des surfaces préalablement séchées sous vide)

	θ_{EAU} (°)	γ^{LW} (mJ.m^{-2})	γ^- (mJ.m^{-2})	PZ (mV)
WAFER TEMOIN	26 ± 1	37 ± 1	67 ± 1	-25
PEG 390	49 ± 8	46 ± 1	45 ± 9	-19
PEG 2040	36 ± 2	47 ± 1	56 ± 3	-19
PEG 10040	39 ± 2	49 ± 1	52 ± 2	-19
SAQ-C8Br	58-72	33 ± 3	30 ± 5	+6

Tableau 15 : Récapitulatif des valeurs des angles de contact avec l'eau (θ_{EAU}), des composantes de Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}) et donneur d'électron (γ^-) et du potentiel Zêta (PZ) des wafers témoin et greffés PEG et SAQ-C8Br.

CONFIDENTIEL

- Wafers témoins lavés
  - hydrophile ;
  - forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals ;
  - caractère donneur d'électrons très élevé ;
  - charge de surface fortement négative.

- Wafers greffés PEG
  - hydrophile ;
  - forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals ;
  - caractère donneur d'électrons élevé ;
  - charge de surface fortement négative.

- Wafers greffés SAQ-C8Br
  - moyennement hydrophile ;
  - forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals ;
  - caractère donneur d'électrons élevé ;
  - charge de surface positive.

Par comparaison avec le wafer témoin lavé :

- les wafers modifiés PEG et SAQ présentent une capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals et un caractère donneur d'électrons proches ;
- les wafers greffés PEG seraient moins hydrophile mais nous avons vu précédemment que ce caractère dépend des conditions de mesure et qu'il évolue en milieu aqueux ;
- les wafers greffés SAQ-C8Br sont moins hydrophile et leur charge de surface est opposée. On peut s'attendre à des résultats d'adhésion particulaire différents.

D'après la théorie étendue de la DLVO, l'adhésion serait limitée avec des particules ayant les propriétés de surfaces suivantes :

- plutôt hydrophile ;
- faible capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals, afin de limiter les interactions attractives de Lifshitz-van der Waals avec le support ;

CONFIDENTIEL

- fort caractère donneur d'électrons, afin de favoriser les interactions acide-base de Lewis répulsives donneur/donneur d'électrons ;
- charge de surface négative pour le support greffé PEG et positive pour le support greffé SAQ, afin de favoriser les interactions électrostatiques répulsives.

II.2. Propriétés de surface des particules de polystyrène

II.2.1. Caractéristiques énergétiques

Le caractère acide-base de Lewis et l'hydrophilie des particules de polystyrène fluorescentes ont été déterminés par la méthode MATS. Les résultats de ce test de partage entre solvants et suspension particulaire (figure 61) montrent que les particules utlisées ont une affinité plus importante pour le chloroforme (solvant accepteur d'électrons) que pour l'hexadécane (solvant apolaire), ce qui traduit un caractère donneur d'électrons. Ces particules présentent aussi un caractère accepteur d'électrons puisque leur affinité pour l'acétate d'éthyle (solvant donneur d'électrons) est supérieure à celle du décane (solvant apolaire). Ces résultats soulignent le caractère amphotère de ces particules hydrophiles (forte affinité pour les solvants polaires).

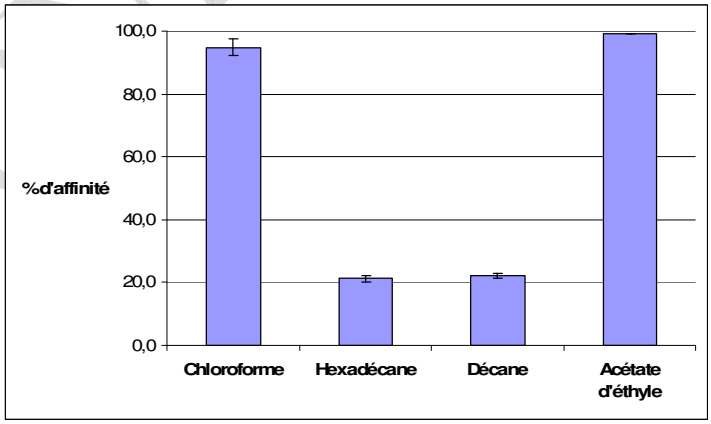


Figure 61 : Affinité des particules de polystyrène pour les deux couples de solvants utilisés dans le test MATS.

CONFIDENTIEL

Le caractère amphotère de ces particules de polystyrène provient vraisemblablement des groupements carboxylates présents à leur surface (figure 62). Comme l'atome d'oxygène est plus électronégatif que l'atome de carbone, le carbone de la fonction carboxylate présente un appauvrissement en électrons qui se traduit par la formation d'une charge positive partielle δ^+ (accepteur d'électrons) et inversement, l'oxygène présente une charge négative partielle δ^- (donneur d'électrons).

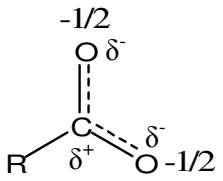


Figure 62 : représentation schématique des charges partielles de la fonction carboxylate.

II.2.2. Potentiel Zêta

Les courbes de potentiel Zêta obtenues à partir des mesures de mobilité électrophorétique des particules de polystyrène sont données figure 63. On peut noter que ces particules présentent un point isoélectrique aux alentours de pH 5. La valeur du potentiel Zêta au pH de la solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M (pH compris entre 5,5 et 6) étant de -41,2 mV.

Pour des pH compris entre 5 et 7, les groupements des particules de polystyrène seraient sous forme carboxylate (charge de surface négative), alors que pour des pH compris entre 2 et 5, ils seraient sous forme acide carboxylique (charge de surface positive) en raison d'une reprotonation de la fonction carboxylate en milieu acide.

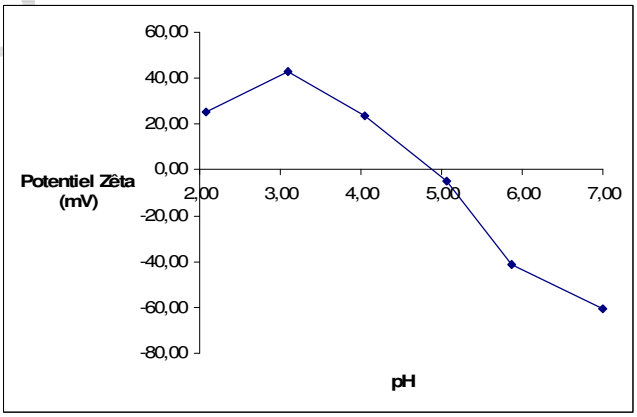


Figure 63 : courbes de potentiel Zêta des particules de polystyrène en fonction du pH.

CONFIDENTIEL

En résumé, les particules de polystyrène sont hydrophile, amphotère et présentent une charge de surface fortement négative au pH de la solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M.

II.3. Adhésion des particules de polystyrène à la surface des wafers modifiés

L'adhésion a tout d'abord été réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M, donc de faible force ionique. Le pourcentage de particules adhérentes à la surface des différents wafers est présenté figure 64.

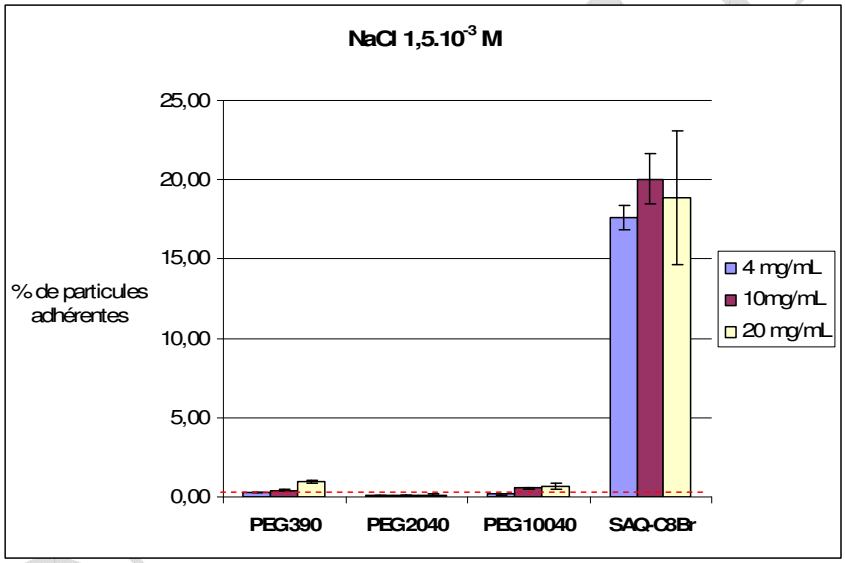


Figure 64 : Pourcentage de particules de polystyrène adhérentes à la surface des wafers greffés après 3 h à 20°C dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M. (la ligne en pointillé rouge indique la valeur obtenue pour le wafer témoin).

L'adhésion des particules de polystyrène sur les wafers greffés PEG, quelle que soient leurs longueurs, est très faible (inférieur à 1%) et similaire à celle mesurée sur le wafer témoin :

- si l'on considère les interactions à courte distance, les wafers greffés PEG présentent un caractère donneur d'électrons et les particules de polystyrène un caractère accepteur/donneur d'électrons. Il peut donc se créer des interactions acide-base de Lewis attractives ou répulsives.

- si l'on considère les interactions à longue distance, les interactions de Lifshitz-van der Waals sont attractives tandis que les interactions électrostatiques entre les wafers greffées PEG (ζ = -19 mV) et les particules de polystyrène (ζ = -41 mV) sont répulsives.

Sur les wafers greffés SAQ-C8Br, l'adhésion des particules de polystyrène est d'environ 19%, soit une valeur nettement supérieure à celle mesurée sur le wafer témoin ou greffé PEG :

- si l'on considère les interactions à courte distance, les wafers greffés SAQ présentent aussi un caractère donneur d'électrons, il peut donc aussi se créer des interactions acide-base de Lewis attractives ou répulsives.
- si l'on considère les interactions à longue distance, les interactions de Lifshitz-van der Waals sont attractives tout comme les interactions électrostatiques entre les wafers greffés SAQ (ζ = +6 mV) et les particules de polystyrène (ζ = -41 mV), ce qui favorise l'approche des particules à la surface des wafers.

En principe, l'influence des interactions acide-base de Lewis est nettement supérieure à celle des interactions électrostatiques. Cependant, il s'agit d'interactions à courte distance et il est nécessaire que la particule et le substrat soient relativement proches pour que les forces deviennent effectives. Ces conditions sont vraisemblablement satisfaites entre les particules de polystyrène et le wafer-SAQ. En revanche, pour des solutions de faible force ionique, l'adhésion des particules de polystyrène serait gouvernée majoritairement par les interactions électrostatiques répulsives des wafers greffés PEG.

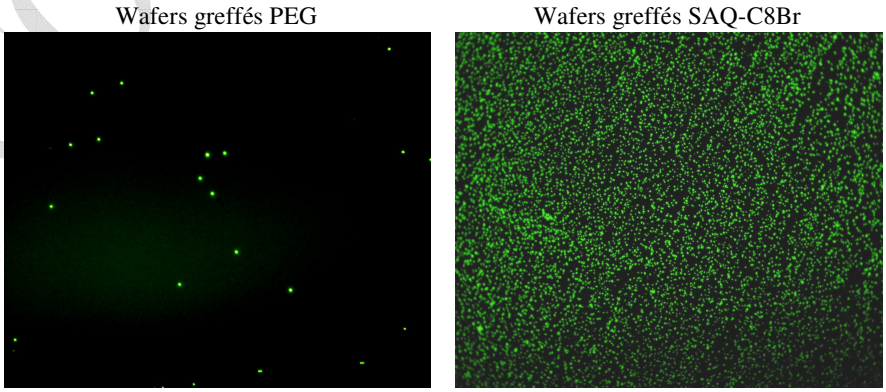


Figure 65 : Images des particules adhérentes observées en épifluorescence pour les wafers greffés PEG et SAQ-C8Br (adhésion réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-3}$ M).

CONFIDENTIEL

L'adhésion a ensuite été réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M afin de masquer les interactions électrostatiques par une augmentation de la force ionique du milieu de suspension. Le pourcentage de particules adhérentes à la surface des différentes wafers greffés est présenté figure 66.

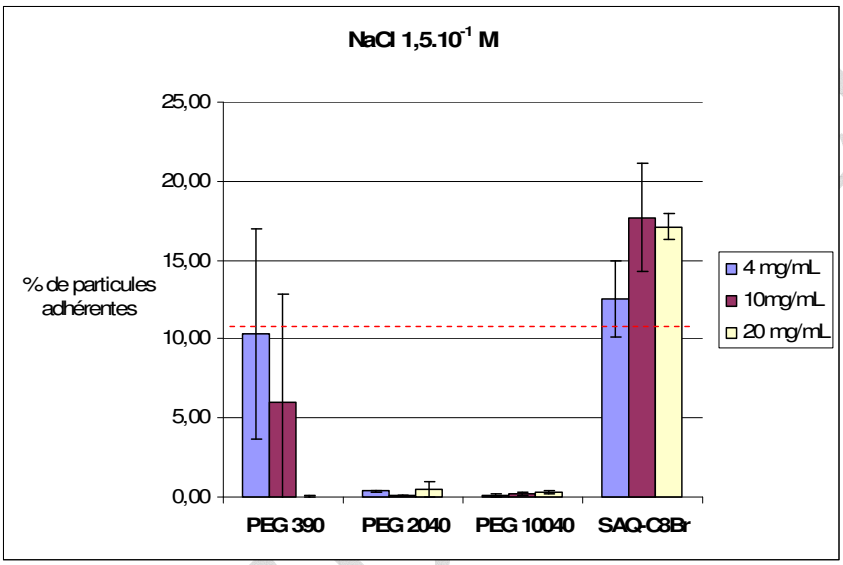


Figure 66 : Pourcentage de particules de polystyrène adhérentes à la surface des supports greffés après 3 h à 20°C dans une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M. (la ligne en pointillé rouge indique la valeur obtenue pour le wafer témoin).

Pour le wafer témoin, on remarque une augmentation importante du pourcentage de particules adhérentes (0,1 → 11 %), ce qui tendrait à indiquer que les interactions acide-base de Lewis sont attractives, puisque selon la théorie de la DLVO étendue l'influence des interactions acide-base de Lewis est nettement supérieure à celle des interactions attractives de Lifshitz-van der Waals.

Pour les wafers recouverts de PEG 390, on constate une augmentation significative de l'adhésion pour des concentrations lors du greffage de 4 et 10 $mg.mL^{-1}$ et une adhésion quasi nulle pour une concentration de 20 $mg.mL^{-1}$. Pour les wafers recouverts de PEG 2040 et 10040, l'adhésion des particules reste négligeable quelle que soit la force ionique du milieu de

suspension. Il semblerait donc que la concentration en PEG lors du greffage mais surtout la longueur de la chaîne aient une influence sur le mécanisme d'adhésion.

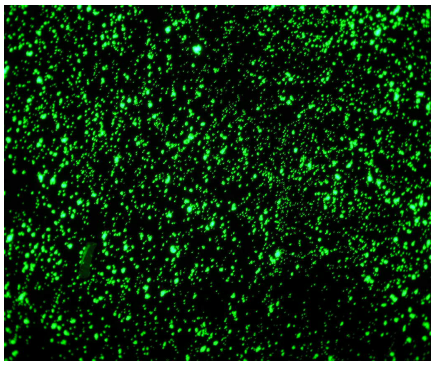
Pour les supports greffés PEG, l'augmentation de la force ionique du milieu de suspension a pour effet de diminuer fortement les interactions électrostatiques répulsives avec les particules de polystyrène. On pourrait donc raisonnablement s'attendre à une augmentation significative de l'adhésion des particules de polystyrène à la surface des wafers. Or, celle-ci n'est effective que pour le PEG 390 à courte chaîne. Ce résultat laisse supposer que d'autres phénomènes tels l'exclusion stérique ou l'épaisseur de la couche greffée interviennent pour empêcher l'adhésion des particules. En milieu aqueux les chaînes de PEG sont mobiles et ont un large volume d'exclusion. Quand une particule approche de la surface du substrat, les chaînes de PEG sont compressées ce qui conduit à la création d'une force répulsive osmotique (Lee *et al.*, 1995).

L'adhésion plus importante obtenue pour le PEG à chaîne courte (PEG 390) pourrait s'expliquer par une mobilité de chaîne moins importante. En milieu aqueux, le changement de conformation du PEG 390 est en effet assez limité au regard du PEG 2040 (figure 58 page 101).

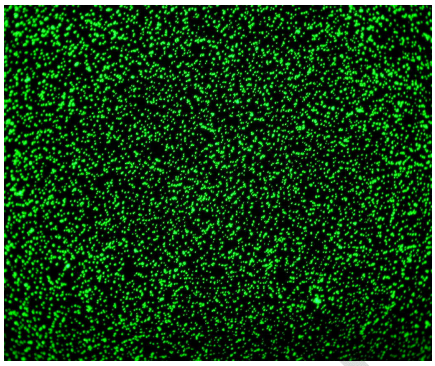
Le pourcentage de particules adhérentes sur les wafers greffés SAQ ne semble guère affecté par la force ionique du milieu de suspension (NaCl à $1.5.10^{-3}$ ou $1.5.10^{-1}$ M) ce qui signifie que les interactions attractives acide-base de Lewis sont nettement supérieures aux interactions électrostatiques.

CONFIDENTIEL

Support greffé PEG 390



Support greffé SAQ-C8Br



Support greffé PEG 2040 et 10040

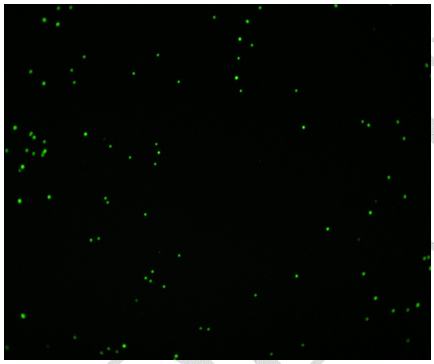


Figure 67 : Images des particules adhérentes observées en épifluorescence pour les wafers greffés PEG et SAQ-C8Br (adhésion réalisée avec une solution de NaCl à $1.5.10^{-1}$ M).

CONFIDENTIEL

III. Partie expérimentale de la synthèse des molécules porteuses des fonctionnalités biocide et répulsive

Purification des solvants :

Le THF et l'éther ont été séchés et purifiés par distillation sur sodium/benzophénone sous atmosphère d'argon. L'acétonitrile et le dichlorométhane sont distillés sur hydrure de calcium. Le toluène est séché par distillation fractionnée en présence de chlorure de calcium.

Chromatographies :

L'avancement des réactions a été suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) de silice Merck 60 PF_{254} ou par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur un chromatographe HP 5890.

Les purifications par chromatographie flash sont réalisées sur silice Merck 60 (0,040-0,063 mm).

Caractérisation des produits :

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^{1}H) et du carbone (RMN ^{13}C) ont été enregistrés, sauf indication contraire, dans le chloroforme deutérié ($CDCl_3$) sur un appareil BRUCKER AC 250 (à 250,13 ; 62,89 MHz) à l'UFR Sciences de Reims. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm par rapport au $CDCl_3$ (^{1}H et ^{13}C) pris comme référence interne. Les constantes de couplage J sont exprimées en Hertz et la multiplicité des signaux est représentée comme suit : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), sext (sextuplet), sept (septuplet), m (multiplet).

Les spectres infrarouge (IR) ont été réalisés sur un appareil à transformée de Fourier AVATAR 320 FT-IR en film (pour les liquides) ou en pastille KBr (pour les solides). Les nombres d'ondes sont exprimés en cm^{-1}.

Les spectres de masse (MS) ont été enregistrés sur un spectromètre couplé à la chromatographie en phase gazeuse (GCMS, THERMOQUEST Trace GC 2000 Series).

Les spectres de masse haute résolution (HR-ESI-MS) ont été enregistrés sur un spectromètre Micromass Q-TOF en utilisant la source electrospray en mode positif.

CONFIDENTIEL

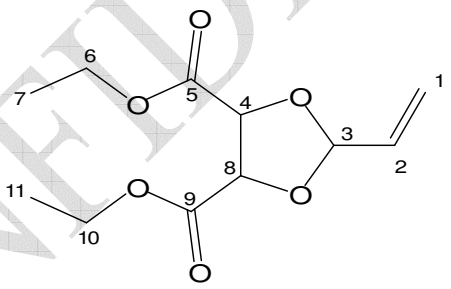
Les points de fusion (non corrigés) ont été déterminés en tube capillaire à l'aide d'un appareil Büchi.

Les spectres de résonance paramagnétique électronique ont été enregistré sur un appareil BRUCKER ESP 300 (9,6 GHz) à l'UMR Scale de Massy. Les écarts hyperfins Azz sont exprimés en Gauss et mesuré par la différence entre la position des deux raies extrêmes du signal.

A cause de la nature très hygroscopique des SAQ et PEG, il n'a pas été possible de mesurer le point de fusion de certaines molécules.

III.1. Synthèse des molécules porteuses de la fonctionnalité biocide

III.1.1. Acétalisation du diéthyle tartrate



1
M = 244,25
$C_{11}H_{16}0_6$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 500 mL équipé d'un Dean Stark, porter à reflux une solution contenant le diéthyle tartrate (13,5 mL, 78,6 mmol), le diéthylacétal d'acroléine (13 mL, 85 mmol) et le catalyseur acide, l'acide camphorsulfonique (250 mg, 1,1 mmol) dans du toluène (300 mL). L'évolution de la réaction est suivie par CPG (50°C, 5 min ; 50°C-150°C, 10°C/min ; 150°C, 10min). Après 20 heures, ajouter de nouveau 50 mg de catalyseur et laisser à reflux durant 12 heures supplémentaires. Evaporer les solvants sous vide. Le brut est purifié sur colonne de gel de silice (20% AcOEt, 80% essence G).

CONFIDENTIEL

Rendement : 68 %

Caractérisation :

Aspect : huile

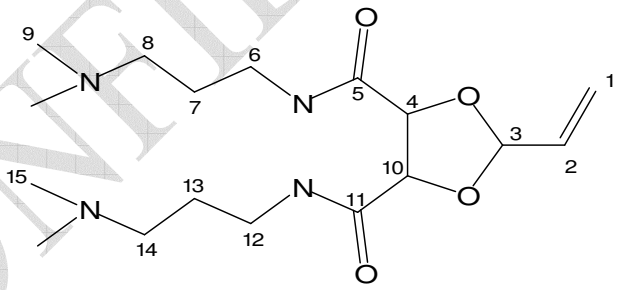
Rf = 0,4 (essence G/AcOEt : 80/20)

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 1,33 (t, $^{3}J_{H,H}$ = 7,1 Hz, 3H, H-7 ou H-11), 1,34 (t, $^{3}J_{H,H}$ = 7,1 Hz, 3H, H-7 ou H-11), 4,28 (q, $^{3}J_{H,H}$ = 7,2 Hz, 2H, H-6 ou H-10), 4,29 (q, $^{3}J_{H,H}$ = 7,2 Hz, 2H, H-6 ou H-10), 4,73 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 3,5 Hz, 1H, H-4 ou H-8), 4,83 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 3,5 Hz, 1H, H-4 ou H-8), 5,4-5,7 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,85-6,0 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 14 (C-7 et C-11), 61,9 (C-6 et C-10), 77,3 (C-4 et C-8), 106,9 (C-3), 122,1 (C-1), 133,1 (C-2), 169,4 (C-5 et C-9).

IR (Film) : 2985, 2940, 2909, 1785, 1439, 1373, 1220, 1122, 1028, 951.

III.1.2. Aminolyse de l'acétal



2

M = 356,47

$C_{17}H_{32}N_40_4$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant, dissoudre la molécule 1 (13,34 g, 55 mmol) dans 40 mL de THF anhydre, puis ajouter 2,8 équivalents de 3-diméthylamino-propylamine (19,4 mL, 154 mmol). Porter ensuite le mélange à reflux. L'évolution de la réaction est suivie par CPG (100°C, 5 min ; 100°C-250°C, 10°C/min ; 250°C, 10 min). Après

CONFIDENTIEL

24 heures d'agitation à reflux, le solvant est évaporé et le milieu réactionnel est tiré sous vide pour éliminer la diméthylamino-propylamine en excès.

Rendement : 94 %

Caractérisation :

Aspect : huile

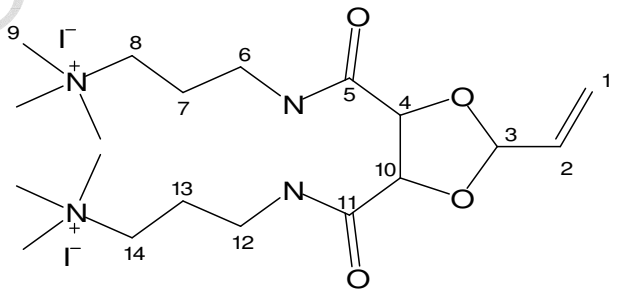
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 1,68 (quint, $^{3}J_{H,H}$ = 6,3 Hz, 2H, H-7 ou H-13), 1,69 (quint, $^{3}J_{H,H}$ = 6,3 Hz, 2H, H-7 ou H-13), 2,22 (s, 12H, H-9), 2,37 (t, $^{3}J_{H,H}$ = 6,3 Hz, 2H, H-8 ou H-14), 2,39 (t, $^{3}J_{H,H}$ = 6,3 Hz, 2H, H-8 ou H-14), 3,26-3,50 (m, 4H, H-6 et H-12), 4,58 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 5,2 Hz, 1H, H-4 ou H-10), 4,62 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 5,2 Hz, 1H, H-4 ou H-10), 5,43-5,61 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,84-5,97 (m, 1H, H-2), 7,96 (s, 1H, NH), 8,12 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 25,9 (C-7 ou C-13), 26,2 (C-7 ou C-13), 38,8 (C-8 ou C-14), 39,1 (C-8 ou C-14), 45,3 (C-9), 45,4 (C-9), 58,2 (C-6 ou C-12), 58,4 (C-6 ou C-12), 77,9 (C-4 ou C-10), 78,2 (C-4 ou C-10), 105,3 (C-3), 121,7 (C-1), 133,0 (C-2), 168,8 (C-5 ou C-11), 169,1 (C-5 ou C-11).

IR (Film) : 3307, 2944, 2818, 2770, 1671, 1529.

CONFIDENTIEL

III.1.3. Quaternisation du tartramide



3

M = 640,35

$C_{19}H_{38}I_2N_4O_4$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL, dissoudre 2 (1,35 g, 3,8 mmol) dans 20 mL de dichlorométhane anhydre, Additionner ensuite 2,2 équivalents d'iodure de méthyle (0,52 mL, 8,4 mmol) au goutte à goutte. Après 20 heures d'agitation à température ambiante, laver la phase organique avec de l'eau puis extraire la phase aqueuse avec du dichlorométhane. Evaporer la phase aqueuse.

Rendement : 98 %

Caractérisation :

Aspect : solide orangeâtre

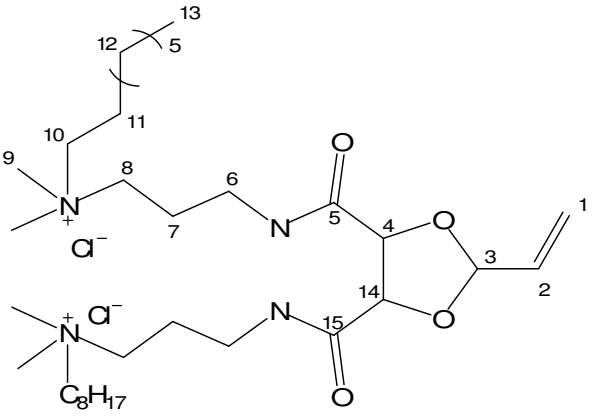
Tf = 218-220°C

RMN ^{1}H (D_2O) : 1,85-2,05 (m, 4H, H-7 et H-13), 2,98 (s, 18H, H-9), 3,15-3,25 (m, 8H, H-6, H-8, H-12 et H-14), 4,58 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 5,0 Hz, 1H, H-4 ou H-10), 4,61 (d, $^{3}J_{H,H}$ = 5,0 Hz, 1H, H-4 ou H-10), 5,40-5,60 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,75-5,90 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C (D_2O) : 23,1 (C-7 et C-13), 36,5 (C-6 et C-12), 53,5 (C-9), 64,5 (C-8 ou C-14), 78,2 (C-4 ou C-10), 78,3 (C-4 ou C-10), 106,5 (C-3), 124,1 (C-1), 132,2 (C-2), 171,5 (C-5 ou C-11), 171,7 (C-5 ou C-11).

HR-ESI-MS : m/z 513,1932 (calc. 513,1938) $[C_{19}H_{38}I_2N_40_4 - I^-]^+$.

CONFIDENTIEL



4

M = 653,82

$C_{33}H_{66}Cl_2N_4O_4$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant, introduire 2 (1,78 g, 5 mmol) et 3,4 équivalents de chlorooctane (3 mL, 17 mmol). Après 24 heures d'agitation à 160°C, le milieu réactionnel est repris dans de l'eau. Extraire la phase aqueuse avec du dichlorométhane et évaporer l'eau. L'huile jaune obtenue est reprise dans du méthanol, séchée sur sulfate de magnésium et concentrée sous vide.

Rendement : 38 %

Caractérisation :

Aspect : solide marron

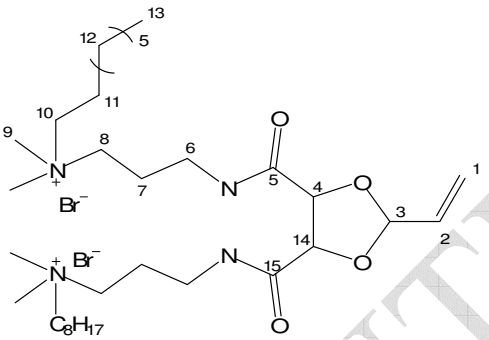
RMN ^{1}H (D_2O) : 0,81 (t, 6H, $^3J_{H,H}$ = 6,7 Hz, H-13), 1,1-1,4 (m, 20H, H-12), 1,66 (m, 4H, H-11), 1,97 (m, 4H, H-7), 3,02 (s, 12H, H-9), 3,20-3,45 (m, 12H, H-6, H-8 et H-10), 4,65 (s, 2H, H-4), 5,50-5,67 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,80-5,98 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C (D_2O) : 13,9 (C-13), 22,2 (C-7, C-11 ou C-12), 22,4 (C-7, C-11 ou C-12), 22,6 (C-7, C-11 ou C-12), 25,8 (C-7, C-11 ou C-12), 28,6 (C-7, C-11 ou C-12), 31,4 (C-7, C-11 ou C-12), 36,4 (C-6), 51,2 (C-9), 61,4 (C-8 ou C-10), 64,4 (C-8 ou C-10), 78,2 (C-4 ou C-14), 78,4 (C-4 ou C14), 106,6

CONFIDENTIEL

(C-3), 124,0 (C-1), 132,2 (C-2), 171,4 (C-5 ou C-15), 171,6 (C-5 ou C-15).

HR-ESI-MS : m/z 617,4764 (calc. 617,4773) $[C_{33}H_{66}Cl_2N_40_4 - Cl^-]^+$.



5

M = 742,73

$C_{33}H_{66}Br_2N_40_4$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 500 mL muni d'un réfrigérant, dissoudre 2 (18,17 g, 51 mmol) dans 50 mL d'acétonitrile. Additionner ensuite 2,2 équivalents de bromooctane (19,3 mL, 112 mmol). Après 24 heures d'agitation au reflux, le milieu réactionnel est repris dans de l'eau. Extraire la phase aqueuse avec de l'acétate d'éthyle et évaporer l'eau. La pâte jaunâtre obtenue est reprise dans du méthanol, séchée sur sulfate de magnésium et concentrée sous vide.

Rendement : 90 %

Caractérisation :

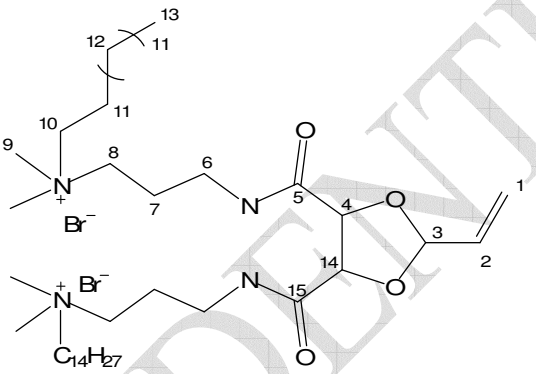
Aspect : solide jaunâtre

RMN ^{1}H (D_2O) : 0,85 (t, 6H, $^3J_{H,H}$ = 6,8 Hz, H-13), 1,2-1,4 (m, 20H, H-12), 1,71 (m, 4H, H-11), 2,01 (m, 4H, H-7), 3,06 (s, 12H, H-9), 3,20-3,45 (m, 12H, H-6, H-8 et H-10), 4,68 (d, 1H, $^3J_{H,H}$ = 5,3 Hz, H-4 ou H-14), 4,70 (d, 1H, $^3J_{H,H}$ = 5,3 Hz, H-4 ou H-14), 5,50-5,75 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,85-6,05 (m, 1H, H-2).

CONFIDENTIEL

RMN ^{13}C (D_2O) : 13,9 (C-13), 22,3 (C-7, C-11 ou C-12), 22,5 (C-7, C-11 ou C-12), 22,7 (C-7, C-11 ou C-12), 25,9 (C-7, C-11 ou C-12), 28,6 (C-7, C-11 ou C-12), 31,5 (C-7, C-11 ou C-12), 36,5 (C-6), 51,3 (C-9), 61,5 (C-8 ou C-10), 64,4 (C-8 ou C-10), 78,3 (C-4 ou C-14), 78,4 (C-4 ou C14), 106,6 (C-3), 124,0 (C-1), 132,2 (C-2), 171,4 (C-5 ou C-15), 171,6 (C-5 ou C-15).

HR-ESI-MS : m/z 661,4260 (calc. 661,4267) $[C_{33}H_{66}Br_2N_40_4 - Br^-]^+$.



6

M = 911,05

$C_{45}H_{90}Br_2N_40_4$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant, dissoudre 2 (1,73 g, 4,9 mmol) dans 10 mL d'acétonitrile. Additionner ensuite 2,2 équivalents de bromotétradécane (3,2 mL, 10,8 mmol). Après 48 heures d'agitation au reflux, le milieu réactionnel est repris dans de l'eau. Extraire la phase aqueuse avec de l'acétate d'éthyle et évaporer l'eau. La pâte jaunâtre obtenue est reprise dans du méthanol, séchée sur sulfate de magnésium et concentrée sous vide.

Rendement : 74 %

Caractérisation :

CONFIDENTIEL

Aspect : pâte jaunâtre

RMN ^{1}H (CD_3OD) : 0,91 (t, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 6,9 Hz, H-13), 1,20-1,45 (m, 44H, H-12), 1,78 (m, 4H, H-11), 2,04 (m, 4H, H-7), 3,13 (s, 12H, H-9), 3,27-3,52 (m, 12H, H-6, H-8 et H-10), 4,65 (d, 1H, $^{3}J_{H,H}$ = 6,4 Hz, H-4 ou H-14), 4,67 (d, 1H, $^{3}J_{H,H}$ = 6,4 Hz, H-4 ou H-14), 5,42-5,72 (m, 3H, H-1 et H-3), 5,92-6,10 (m, 1H, H-2).

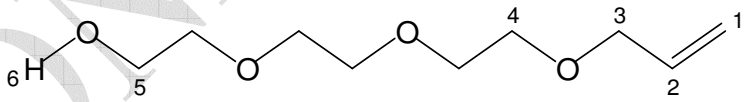
RMN ^{13}C (CD_3OD) : 14,5 (C-13), 23,6, 23,7, 24,0, 27,4, 30,3, 30,4, 30,6, 30,7, 30,8, 33,0 (C-7, C-11 ou C-12), 37,1 (C-6), 51,1 (C-9), 63,0 (C-8 ou C-10), 65,6 (C-8 ou C-10), 79,5 (C-4 ou C-14), 79,7 (C-4 ou C14), 107,5 (C-3), 122,5 (C-1), 134,7 (C-2), 171,6 (C-5 ou C-15), 172,2 (C-5 ou C-15).

HR-ESI-MS : m/z 829,6148 (calc. 829,6145) $[C_{45}H_{90}Br_2N_40_4 - Br^-]^+$.

III.2. Synthèse des molécules porteuses de la fonctionnalité répulsive

L'indice de polydispersité des differents PEG utilisé n'est pas indiqué par le fabricant.

III.2.1. Allylation des PEG



7

$\overline{M}_n = 190,24$

$C_9H_{18}0_4$

Mode opératoire :

Dans un tricol de 500 mL muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, dissoudre le triéthylène glycol (2,7 mL, 20 mmol) dans 200 mL de THF anhydre. Ajouter ensuite 0,52 équivalent de tertbutylate de potassium (1,18 g, 10,5 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner au goutte à goutte, par l'intermédiaire de l'ampoule à brome, une solution de 0,53 équivalent d'iodure d'allyle (1 mL, 10,6 mmol) dans

CONFIDENTIEL

20 mL de THF. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie flash (éluant : AcOEt).

Rendement : 74 %

Caractérisation :

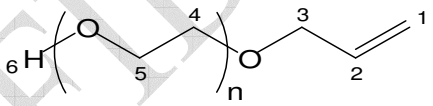
Aspect : huile jaunâtre

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3,50-3,72 (m, 13H, H-4 et H-6), 3,97 (d, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5,6 Hz, H-3), 5,05-5,30 (m, 2H, H-1), 5,75-5,97 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 61,5 (C-5), 69,2 (C-3), 70,2, 70,4, 70,5, 72,1, 72,4 (C-4), 117,0 (C-1), 134,5 (C-2).

IR (Film) : 3415, 2869, 1646, 1121.

HR-ESI-MS : m/z 213,1106 (calc. 213,1103) $[C_9H_{18}0_4 + Na]^+$.



8

$\overline{M}_n = 440$

Mode opératoire :

Dans un tricol de 1 L muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, dissoudre le PEG 400 (13,1 mL, 37 mmol) dans 150 mL de THF anhydre. Ajouter ensuite 0,53 équivalent de tertbutylate de potassium (2,3 g, 19,5 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner au goutte à goutte, par l'intermédiaire de l'ampoule à brome, une solution de 0,53 équivalent d'iodure d'allyle (1,8 mL, 19,7 mmol) dans 60 mL de THF. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

CONFIDENTIEL

Rendement : 70 %

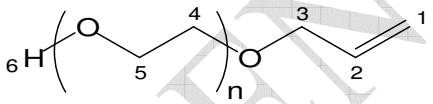
Caractérisation :

Aspect : huile jaunâtre

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3,41-3,68 (m, H-4 et H-6), 3,93 (d, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5,7 Hz, H-3), 5,20-5,24 (m, 2H, H-1), 5,70-5,89 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 61,4 (C-5), 69,2 (C-3), 70,1, 70,4, 72,0, 72,4 (C-4), 116,9 (C-1), 134,6 (C-2).

IR (Film) : 3373, 2869, 1640, 1112.



9

$\overline{M}_n = 2040$

Mode opératoire :

Dans un tricol de 500 mL muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, dissoudre le PEG 2000 (13,1 mL, 37 mmol) dans 150 mL de THF anhydre. Ajouter ensuite 0,52 équivalent de tertbutylate de potassium (583 mg, 5,2 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner au goutte à goutte, par l'intermédiaire de l'ampoule à brome, une solution de 0,53 équivalent d'iodure d'allyle (485 µL, 5,3 mmol) dans 15 mL de THF. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

Rendement : 64 %

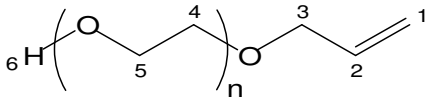
Caractérisation :

Aspect : solide blanc

CONFIDENTIEL

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3,43-3,70 (m, H-4 et H-6), 3,92 (d, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5,7 Hz, H-3), 5,20-5,25 (m, 2H, H-1), 5,71-5,90 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 61,3 (C-5), 69,1 (C-3), 70,0, 70,3, 71,9, 72,3 (C-4), 116,8 (C-1), 134,5 (C-2).



10

$\overline{M}_n = 10040$

Mode opératoire :

Dans un tricol de 250 mL muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, dissoudre le PEG 10000 (10,0 g, 1 mmol) dans 100 mL de dichlorométhane anhydre. Ajouter ensuite 1 équivalent de tertbutylate de potassium (112 mg, 1 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner au goutte à goutte, par l'intermédiaire de l'ampoule à brome, une solution de 1 équivalent d'iodure d'allyle (87 µL, 1 mmol) dans 15 mL de dichlorométhane. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, filtrer le milieu réactionnel sur célite et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

Rendement : 55 %

Caractérisation :

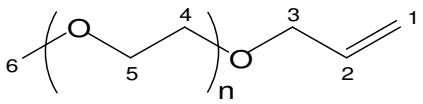
Aspect : solide blanc

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3,41-3,71 (m, H-4 et H-6), 3,94 (d, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5,7 Hz, H-3), 5,21-5,26 (m, 2H, H-1), 5,72-5,91 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 61,5 (C-5), 69,2 (C-3), 70,0, 70,3, 71,9, 72.3 (C-4), 116.8 (C-1), 134.5 (C-2).

CONFIDENTIEL

III.2.2. Allylation des PEG monométhylés



11

$\overline{M}_n = 390$

Modes opératoires :

- Protocole A

Dans un un ballon de 500 mL dissoudre le PEG monométhyle éther 350 (9,9 mL, 31 mmol) dans 250 mL de toluène. Refroidir la solution à 0°C et ajouter 3 équivalents d'hydrure de sodium (2,23 g, 93 mmol). Après que le dégagement gazeux soit terminé, additionner au goutte à goutte 5 équivalents de bromure d'allyle (13,5 mL, 155 mmol). Agiter la solution à température ambiante pendant 12 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de sodium et concentrer sous vide.

Rendement : 69%

- Protocole B

Dans un ballon de 250 mL dissoudre le PEG monométhyléther 350 (3,2 mL, 10 mmol) dans 100 mL de THF anhydre. Ajouter 3 équivalents de tertbutylate de potassium (3,37 g, 30 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 5 équivalents de bromure d'allyle (4,3 mL, 50 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 12 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

Rendement : 79%

CONFIDENTIEL

- Protocole C

Dans un ballon de 500 mL dissoudre le PEG monométhyléther 350 (32,1 mL, 100 mmol) dans 250 mL de THF anhydre. Ajouter 1,5 équivalents de tertbutylate de potassium (16,83 g, 150 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 2 équivalents de bromure d'allyle (17,4 mL, 200 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

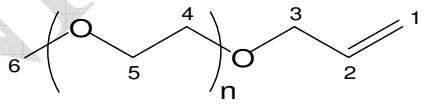
Rendement : 82%

Caractérisation :

Aspect : huile jaunâtre

RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3.31 (s, 3H, H-6), 3.43-3.65 (m, H-4 et H-5), 3.95 (dd, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5.7, 1.2 Hz, H-3), 5.05-5.27 (m, 2H, H-1), 5.75-5.95 (m, 1H, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 59.0 (C-6), 69.4 (C-3), 70.46, 70.52, 70.6, 71.9, 72.2 (C-4), 117.0 (C-1), 134,7 (C-2).



12

$\overline{M}_n$ = 2040

Modes opératoires :

- Protocole A

Dans un ballon de 500 mL dissoudre le PEG monométhyle éther 2000 (60 g, 30 mmol) dans 250 mL de THF anhydre. Ajouter 3 équivalents de tertbutylate de potassium (10,10 g, 90 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 5 équivalents de bromure d'allyle (13 mL, 150 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le

CONFIDENTIEL

solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de sodium et concentrer sous vide.

Rendement : 80%

- Protocole B

Dans un ballon de 500 mL dissoudre le PEG monométhyle éther 2000 (40 g, 20 mmol) dans 250 mL de THF anhydre. Ajouter 1.5 équivalents de tertbutylate de potassium (3,36 g, 30 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 2 équivalents de bromure d'allyle (3,5 mL, 40 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide. Précipiter le solide dans de l'hexane, filtrer et tirer sous vide.

Rendement : 83%

Caractérisation :

Aspect : solide blanc

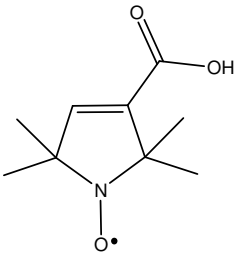
RMN ^{1}H ($CDCl_3$) : 3,34 (s, 3H, H-6), 3.45-3.75 (m, H-4 et H-5), 3,99 (dt, 2H, $^{3}J_{H,H}$ = 5,7, 1,3 Hz, H-3), 5,14 (ddt, 1H, $^{3}J_{H,H}$ = 10,3, 1,7, 1,2 Hz, H-1), 5,24 (ddt, 1H, $^{3}J_{H,H}$ = 17,2, 1,7, 1,6 Hz, H-1), 5,88 (ddt, 1H, $^{3}J_{H,H}$ = 17,2, 10,4, 5,7 Hz, H-2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 58,9 (C-6), 69,3 (C-3), 70,4, 71,8, 72,1 (C-4), 117.0 (C-1), 134.6 (C-2).

CONFIDENTIEL

III.3. Synthèse des greffons PEG marqués paramagnétiquement

III.3.1. Hydrolyse de la fonction amide du pyrrolinoxyle



13

M = 184,23

$C_9H_{14}NO_3$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 25 mL, muni d'un réfrigérant et d'une sorti de gaz relié à un bulleur, dissoudre le radical 3-carboxamide-2,2,5,5-tétraméthylpyrroline-1-oxyle (1,03 g, 5,6 mmol) dans 12 mL d'une solution de soude à 10%. Chauffer à reflux jusqu'à ce que le dégagement d'ammoniac cesse. Après 24 heures d'agitation, acidifier le milieu jusque pH=3 avec une solution d'acide chlorhydrique 3M. Filtrer le précipité formé et extraire le filtrat acide avec de l'éther. Sécher les phases éthérées réunies sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

Rendement : 99%

Caractérisation :

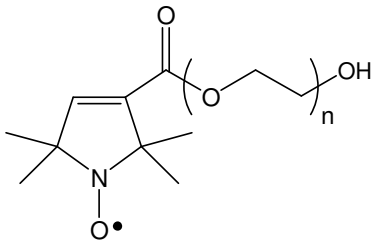
Aspect : solide jaunâtre

MS (IE) : 184,2 M^+

Azz = 35,05

CONFIDENTIEL

III.3.2. Estérification par les PEG



14

$\overline{M}_n = 566,23$

Mode opératoire :

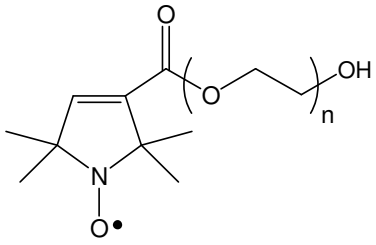
Dans un ballon de 50 mL, dissoudre 13 (700 mg, 3,8 mmol) dans 20 mL d'un mélange toluène / pyridine distillée (1 : 1). Ajouter 1,2 équivalents de chlorure de thionyle (0,33 mL, 4,6 mmol). Poursuivre la réaction 15 minutes à température ambiante. Additionner sous agitation 0,5 équivalent de PEG de masse molaire moyenne égale à 400 (760 mg, 1,9 mmol) dissout dans de la pyridine anhydre. Après 24 heures de réaction à température ambiante, filtrer le chlorure de pyridinium formé et précipiter le produit avec de l'éther anhydre. Redissoudre le produit dans du toluène anhydre, filtrer et refaire précipiter avec de l'éther anhydre. Sécher sous vide de la rampe.

Rendement : 30%

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 32,03



15

$\overline{M}_n = 2166,23$

CONFIDENTIEL

Mode opératoire :

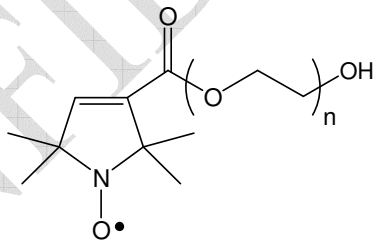
Dans un ballon de 25 mL, dissoudre 13 (184 mg, 1 mmol) dans 5 mL d'un mélange toluène / pyridine distillée (1 : 1). Ajouter 1,2 équivalents de chlorure de thionyle (0,09 mL, 1,2 mmol). Poursuivre la réaction 15 minutes à température ambiante. Additionner sous agitation 0,5 équivalent de PEG de masse molaire moyenne égale à 2000 (1 g, 0,5 mmol) dissout dans de la pyridine anhydre. Après 24 heures de réaction à température ambiante, filtrer le chlorure de pyridinium formé et précipiter le produit avec de l'éther anhydre. Redissoudre le produit dans du toluène anhydre, filtrer et refaire précipiter avec de l'éther anhydre. Sécher sous vide de la rampe.

Rendement : 82%

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 33,25



16

$\overline{M}_n = 10166,23$

Mode opératoire :

Dans un ballon de 25 mL, dissoudre 14 (37 mg, 0,2 mmol) dans 5 mL d'un mélange toluène / pyridine distillée (1 : 1). Ajouter 1,2 équivalents de chlorure de thionyle (0,02 mL, 0,24 mmol). Poursuivre la réaction 15 minutes à température ambiante. Additionner sous agitation 0,5 équivalent de PEG de masse molaire moyenne égale à 10000 (1 g, 0,1 mmol) dissout dans de la pyridine anhydre. Après 24 heures de réaction à température ambiante, filtrer le chlorure de pyridinium formé et précipiter le produit avec de l'éther anhydre.

CONFIDENTIEL

Redissoudre le produit dans du toluène anhydre, filtrer et refaire précipiter avec de l'éther anhydre. Sécher sous vide de la rampe.

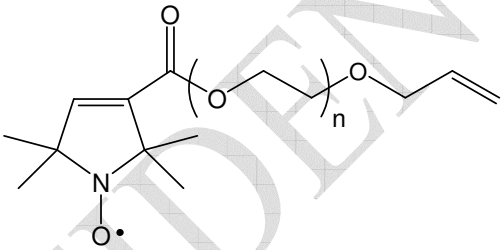
Rendement : 40%

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 34,78

III.3.3. Allylation des PEG marqués paramagnétiquement



17

$\overline{M}_n = 606,23$

Mode opératoire :

Dans un ballon dissoudre 14 (329 mg, 0,58 mmol) dans du THF anhydre. Ajouter 1,5 équivalents de tertbutylate de potassium (98 mg, 0.87 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 2 équivalents de bromure d'allyle (0,1 mL, 1,16 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

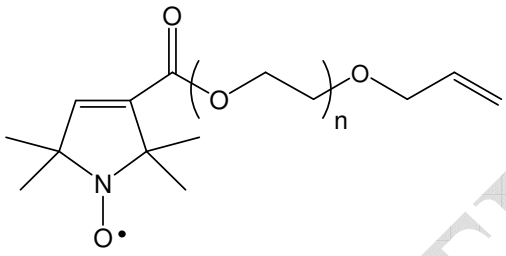
Rendement : 64%

CONFIDENTIEL

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 31,59



18

$\overline{M}_n$ = 2206,23

Mode opératoire :

Dans un ballon dissoudre 15 (885 mg, 0,4 mmol) dans du THF anhydre. Ajouter 1,5 équivalents de tertbutylate de potassium (69 mg, 0,6 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 2 équivalents de bromure d'allyle (0,07 mL, 0,8 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

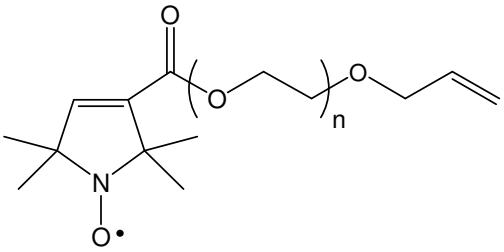
Rendement : 80%

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 32;46

CONFIDENTIEL



19

$\overline{M}_n = 10206,23$

Mode opératoire :

Dans un ballon dissoudre 16 (1,22 g, 0,12 mmol) dans du THF anhydre. Ajouter 1,5 équivalents de tertbutylate de potassium (20 mg, 0,18 mmol). Agiter cette suspension 30 minutes à température ambiante. Additionner ensuite au goutte à goutte 2 équivalents de bromure d'allyle (0,02 mL, 0,24 mmol) et agiter la solution à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer le milieu réactionnel sur célite et évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans du dichlorométhane et laver avec de l'eau. Sécher sur sulfate de magnésium et concentrer sous vide.

Rendement : 75%

Caractérisation :

Aspect : solide beige

Azz = 32,93

CONFIDENTIEL

CONCLUSION GENERALE

CONFIDENTIEL

L'objectif de ce travail est de concevoir des surfaces modifiées par greffage de molécules porteuses de fonctionnalités biocide (Sels d'Ammonium Quaternaire) et/ou répulsive (PolyEthylène Glycol) et d'appréhender les mécanismes mis en jeu dans l'adhésion particulaire afin de limiter la contamination microbienne des surfaces.

Dans la première partie de cette étude, des greffons SAQ-C8Br, PEG 390, 2040 et 10040 ont été greffés selon un protocole de greffage thermique sur des supports hydrophiles (lames de verre ou wafers de silicium). La mouillabilité, la composition atomique, l'épaisseur et la topographie des surfaces ainsi modifiées ont été caractérisées par la mesure des angles de contact, par spectroscopie des photoélectrons, par ellipsométrie et par microscopie à force atomique.

Dans un deuxième temps, nous avons abordé la compréhension des mécanismes impliqués dans le processus d'adhésion de particules de polystyrène, supposées mimer le comportement de microorganismes tels que certaines souches de *Listeria monocytogenes*, à la surface des wafers modifiés SAQ ou PEG.

Cette étude a été réalisée par la mesure des caractéristiques énergétiques (composantes de Lifshitz-van der Waals, donneur d'électron et accepteur d'électron) ainsi que du potentiel Zêta (charge de surface) des deux composants en présence.

La caractérisation physico-chimique de la surface des wafers modifiés PEG et SAQ confirme la présence des greffons, mais atteste d'une densité de greffage qui dépend de la nature du support employé (lame de verre ou wafer) et qui est sans doute insuffisante pour recouvrir de façon homogène la surface du wafer. Pour les matériaux greffés avec des chaînes de PEG longue (PEG 2040 et 10040), la faible densité de greffage est en partie masquée par un meilleur recouvrement de la surface dû à une conformation repliée des chaînes.

Les wafers modifiés PEG et SAQ ont une forte capacité à échanger des interactions de Lifshitz-van der Waals et un caractère donneur d'électrons élevé. Cependant, les wafers modifiés PEG sont globalement plus hydrophile que les wafers modifiés SAQ. Ils ont une capacité à échanger des interactions attractives de Lifshitz-van der Waals plus importante et présentent un caractère donneur d'électrons plus fort. Enfin, leur charge de surface est négative alors que celle des wafers modifiés SAQ est positive.

Les résultats des tests d'adhésion confirment l'influence de la nature du substrat et soulignent le rôle des interactions physico-chimiques impliquées dans le processus d'adhésion des

CONFIDENTIEL

particules de polystyrène à la surface des wafers modifiés : L'approche physico-chimique de la DLVO étendue explique les phénomènes d'adhésion observés avec le système wafer-SAQ. En effet, les interactions acide-base de Lewis sont attractives et nettement supérieures aux interactions électrostatiques ce qui a pour effet de favoriser l'adhésion des particules de polystyrène. En revanche, avec le système wafer-PEG, les interactions de Lifshitz-van der Waals, acide-base de Lewis et électrostatiques ne suffisent pas pour décrire complètement son comportement répulsif. D'autres phénomènes tels que la répulsion stérique et la mobilité des chaînes de PEG interviennent pour empêcher l'adhésion des particules.

Les SAQ ayant une activité biocide, on peut raisonnablement supposer que les supports modifiés SAQ, qu'ils soient de type silice ou plastique, permettraient de détruire les microorganismes au fur et à mesure de leur adhésion. De tels matériaux sont susceptibles d'apporter des solutions intéressantes dans les industries agroalimentaires où les risques de contamination microbienne sont incontournables. Une contrainte évidente à ce système est que les bactéries doivent venir en contact avec la surface pour être sensibles à la surconcentration locale en molécules biocides et pouvoir être détruites. La cinétique de décontamination serait alors imposée par la mobilité des bactéries pourvues ou non de cils ou de flagelles. Une autre contrainte, est que la surface ne doit pas être recouverte par des composés (protéines) susceptible de venir l'encrasser. Une solution proposée serait alors de remplacer ou de combiner les greffons SAQ par des greffons PEG qui permettraient de limiter la contamination biologique des surfaces.

CONFIDENTIEL

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CONFIDENTIEL

Absolom D.R., Lamberti F.V., Policova Z.,Zingg W., Van Oss C.J. and Neumann A.W. (1983), Surface thermodynamics of bacterial adhesion, Applied and Environmental Microbiology, 46 : 90-97.

Ahlström B., Chelminska-Bertilsson M., Thompson R.A. and Edebo L. (1995), Long-Chain Alkanoylcholines, a New Category of soft Antimicrobial Agents That Are Enzimatically Degradable, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39(1) : 50-55.

Ahlström B., Thompson R.A. and Edebo L. (1999), The effect of hydrocarbon chain length, pH, and temperature on the binding and bactericidal effect of amphiphilic betaine esters on *Salmonella typhimurium*, Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, 107 : 318-324.

Anjum N., Moreau O. and Riquet A.M. (2006), Surface designing of polypropylene by critical monitoring of the grafting conditions, Journal of Applied Polymer Science, 100(1) : 546-553.

Anjum N., Bhuvanesh G. and Riquet A.M. (2005), Surface designing of polypropylene by critical monitoring of the grafting conditions : Structural Investigations, Journal of Applied Polymer Science, in press.

Appendini P. and Hotchkiss J. (2001), Surface modification of poly(styrene) by the attachment of an antimicrobial peptide, Journal of Applied Polymer Science, 81 : 609-616.

Bansal A., Li X., Lauermann I., Lewis N.S., Yi S.I. and Weinberg W.H. (1996), Alkylation of Si Surfaces Using a Two-Step Halogenation/Grignard Route, Journal of American Chemical Society, 118(30) : 7225-7226.

Batty S.V., Richardson T., Dias F.B., Voss J.P., Wright P.V. and Ungar G. (1996), LB films of novel polyethers and their salt complexes, Thin Solid films, 284 : 530-532.

Bellon-Fontaine M.N., Mozes N., van der Mei H.C., Sjollema J., Cerf O., Rouxhet P.G. and Busscher H.J. (1990), A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata, Cell Biophysics, 17 : 93-106.

Bellon-Fontaine M.-N., Rault J. and Van Oss C.J. (1996), Microbial adhesion to solvents : a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells, Colloids and Surface B: Biointerfaces, 7 : 47-53.

Bhattacharya A. and Misra B.N. (2004), Grafting : a versatile means to modify polymers, Techniques, factors and applications, Progress in Polymer Science, 29 : 767-814.

Blackman I.C. and Frank J.F. (1996), Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces, Journal of Food Protection 59(8) : 827-831.

Bos R., van der Mei H.C. and Bussher H.J. (1999), Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions – its mechanisms and methods for study, FEMS Microbiology Reviews, 23 :179-230.

CONFIDENTIEL

Boulangé-Petermann L., Doren A., Baroux B., and Bellon-Fontaine M.-N. (1995), Zeta Potential measurements on Passive Metals, Journal of Colloid and Interface Science, 171 : 179-186.

Briandet R. (1999), Maitrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms - aspects physico-chimiques, Thèse de Doctorat, Ecole nationale supérieure agronomique de Rennes.

Bryers J.D. (1987), Biologically active surfaces : process governing the formation and persistance of biofilms, Biotechnology Progress, 2 : 9-23.

Buriak J.M. (1999), Organomettallic chemistry on silicon surfaces : formation of functional monolayers bound through Si-C bonds, Chemical Communications, 12 : 1051-1060.

Busher H.J., Weerkamp A.H., van der Mei H.C., van Pelt A.W.J., de Jong H.P. and Arends J. (1984), Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion, Applied and Environmental Microbiology, 48 : 980-983.

Busher H.J., Bos R. and van der Mei H.C. (1995), Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion, FEMS Microbiology Letters, 128 : 229-234.

Carpentier B. and Cerf O. (1993), Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry, Journal of Applied Bacteriology, 75 : 499-511.

Chantefort A. et Druilles J. (1984), Activité bactéricide de quelques désinfectants en présence ou non de substances interférentes protéiques, Pathologie Biologie, 32 : 615-618.

Chaplin C.E. (1952), Bacterial resistance to quaternary ammonium disinfectants, Journal of Bacteriology, 63 : 453-458.

Chauhan G.S., Singh B. and Dhiman S.K. (2004), Functionnalization of poly(4-vinyl pyridine) grafted cellulose by quaternization reactions and a study on the properties of postquaternized copolymers, Journal of Applied Polymer Science, 91(4) : 2454-2464.

Coleman D.L., Gregonis D.E. and Andrade J.D. (1982), Blood-materials interactions : The minimum interfacial free energy and the optimum polar/apolar ratio hypotheses, Journal of Biomedical Materials Research, 16 : 381-398.

Cornelissen E.R., van den Boomgaard Th. and Strathmann H. (1998), Physicochemical aspects of polymer selection for ultrafiltration and microfiltration membranes, Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects, 138 : 283-289.

Crocker C.K. (1951), Variations in characteristics of *E. coli* induced by quaternary ammonium compounds, Journal of Milk Food Technology, 14 : 138-140.

Crow D.R. (1994), Principles and Applications of Electrochemistry, fourth edition, Academic & professional, 282.

Cutter N.C. (1999), The effectiveness of triclosan-incorporated plastic against bacteria on beef surfaces, Journal of food Protection, 62 : 474-479.

CONFIDENTIEL

Cuypers P.A., Corsel J.W., Janssen M.P., Kop J.M.M., Hermens W.T. and Hemker H.J. (1983), The Adsorption of Prothrombin to Phosphophatidylserine Multylayers Quantitated by Ellipsometry, Journal of Biological Chemistry, 258(4) : 2426-2431.

Dann J.R. (1970a), Forces involved in the adhesive process. I Critical surface tensions of polymeric solids as determined with polar liquids, Journal of Colloid and Interface Science, 32 : 302-320.

Dann J.R. (1970b), Forces involved in the adhesive process. II Nondispersion forces at solid-liquid interfaces, Journal of Colloid and Interface Science, 32 : 321-331.

Decher G. (1997), Fuzzy nanoassemblies : toward layered polymeric multicomposites, Science, 277 : 1232-1237.

Dizman B., Elasri M.O. and Mathias L.J. (2004), Synthesis and antimicrobial activities of new water-soluble bis-quaternary ammonium methacrylate polymers, Journal of Applied Polymer Science, 94(2) : 635-642.

Dobraczynski A., Piperaud M., Trotignon J.P. et Verdu J. (1982), Les matières plastiques, Edition de l'usine nouvelle, AFNOR, France.

Doyle M.P. and Hu W. (2000), Selectivity in Reactions of Allyl Diazoacetates as a Function of Catalyst and Ring Size from γ-Lactones to Macrocyclic Lactones, Journal of Organic Chemistry, 65 : 8839-8847.

Efremova N.V., Sheth S.R. and Leckband D.E. (2001), Protein-Induced Changes in Poly(ethylene glycol) Brushes : Molecular Weight and Temperature Dependence, Langmuir, 17 : 7628-7636.

Everaert E.P.J.M., van de Belt-Gritter B., van der Mei H.C., Busscher H.J., Verkerke G.J., Dijk F., Mahieu H.F. and Reitsma A. (1998), In vitro and in vivo microbial adhesion and growth on argon plasma-treated silicone rubber voice prostheses, Journal of Materials Science : Materials in Medicine, 9 : 147-157.

Floros J.D., Dock L.L. and Han J.H. (1997), Active packaging technologies and applications, Food Cosmetics and Drug Packaging, 20 : 10-17.

Frank J.F. and Koffi R. A. (1990), Surface growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat, Journal of Food Protection, 53(7) : 550-554.

Gottenbos B., van der Mei H.C., Feijin J. and Busscher H.J. (2000), Adhesion and surface growth of Staphylococcus epidermis and Pseudomonas aeruginosa on biomedical polymers, Journal of Biomedical Materials Research, 50 : 208-214.

Gottenbos B., Grijpma D.W., van der Mei H.C., Feijin J. and Busscher H.J. (2001), Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48 : 7-13.

CONFIDENTIEL

Gottenbos B., van der Mei H.C., Klatter F., Nieuwenhuis P. and Busscher H.J. (2002), In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber, Biomaterials, 23 : 1417-1423.

Halek W. and Garg A. (1989), Fungal inhibition by a fungicide coupled to an ionomeric film, Journal of Food Safety, 9 : 215-222.

Halperin A. (1999), Polymer Brushes that Resist Adsorption of Model Proteins :Design Parameters, Langmuir, 15(7) : 2525-2533.

Han J.H. and Floros J.D. (1997), Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity, Journal of Plastic Film and Sheeting, 13 : 287-298.

Harris J.M. (1992) (Ed.), Poly(ethylene glycol) Chemistry : Biotechnical and Biomedical Applications. Plenum Press, New York.

Harkes G., Dankert J.and Feijen J. (1992), Growth of uropathogenic *E. coli* strains at solid surfaces, Journal of Biomaterial Science : Polymer Edition, 3 : 403-418.

He J., Patitsas S.N., Preston K.F., Wolkow R.A. and Wayner D.D.M. (1998), Covalent bonding of thiophenes to Si(111) by halogenation/thienylation route, Chemical Physics Letters, 286 : 508-514.

Hermansson M. (1999), The DLVO theory in microbial adhesion, Colloids and Surfaces B : Biointerfaces, 14 : 105-119.

Hotchkiss J.H. (1995), Overview on chemical interactions betwenn food and packaging materials, Food and Packaging Materials-Chemical Interactions, Edited by P. Ackermann, M. Jägerstad, T. Ohlsson, Cambridge, Royal Society of Chemistry, 3-11.

Hunter J. (1986), Zeta Potential in Colloid Science-Principles and Applications, Academic Press, London.

Ishitani T. (1995), Active packaging for food quality preservation in Japan, Foods and Packaging Materials-Chemical Interactions, Ackerman P., Jägerstad M., Oglsson T., eds, Cambridge, Royal Society of Chemistry, 177-188.

Jeon S.I., Lee L.H., Andrade J.D. and de Gennes P.G. (1991a), Protein-surface interactions in the presence of polyethylene oxide : I. Simplified theory, Journal of Colloid and Interface Science, 142 : 149-158.

Jeon S.I., Lee L.H., Andrade J.D. and de Gennes P.G. (1991b), Protein-surface interactions in the presence of polyethylene oxide : II. Effect of protein size, Journal of Colloid and Interface Science, 142 : 159-166.

Jeong D.K. and Frank J F. (1994), Growth of *Listeria monocytogenes* at 10°C in biofilms with microorganisms isolated from meat and diary processing environments, Journal of Food Protection 57(7) : 576-586.

CONFIDENTIEL

Kaper H.J., Busscher H.J. and Norde W. (2003), Characterization of poly(ethylene oxide) brushes on glass surfaces and adhesion of *Staphylococcus epidermis*, Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition, 14 : 313-324.

Kaur I., Misra B.N., Chauhan M.S., Chauhan S. and Gupta A. (1996), Viscometric, conductometric, and ultrasonic studies of gelatin-g-polyacrylamide composite, Journal of applied Polymer Science, 59 : 389-397.

Kenawy E., Abdel-Hay F.I., El-Shanshoury A.R. and El-Newehy M.H. (1998), Biologically active polymers : synthesis and antimicrobial activity of modified glycidyl methacrylate polymers having a quaternary ammonium and phosphonium groups, Journal of Controlled Released, 50 : 145-152.

Kingshott P. and Griesser H.J. (1999), Surfaces that resist bioadhesion, Current Opinion in Solid State and Materials Science, 4 : 403-412.

Kjellander R. and Florin E. (1981), Water structure and changes in thermal stability of the system poly(ethylene-oxide)-water, Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I : Physical Chemistry in Condensed Phases, 77(9) : 2053-2077.

Konno T., Hasuda H., Ishihara K. and Ito Y. (2005), Photo-immobilization of a phospholipid for surface modification, Biomaterials, 26 : 1381-1388.

Korber D.R., Lawrence R., Lappin-Scott H.M. and Costerton J.W. (1995), Growth of microorganisms on surfaces. *In* Microbial Biofilms, Edited by H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton, Cambridge University Press.

Labuza T.P. (1996), An introduction to active packaging for foods, Food Technol., 50 : 68-71.
Lee J.H., Lee H.B., Andrade J.D. (1995), Blood compatibility of polyethylene oxide surfaces, Progress in Polymer Science, 20 : 1043-1079.

Lee J., Martic P.A. and Tan J.S. (1989), Protein adsorption on pluronic copolymer-coated polystyrene particles, Journal of Colloid and Interface Science, 131(1) : 252-266.

Lee J.H., Lee H.B. and Andrade J.D. (1995), Blood compatibility of polyethylene oxide surfaces, Progress in Polymer Science, 20 : 1043-1079.

Lee S. and Frank J.F. (1991), Inactivation of surface-adherent *Listeria monocytogenes* hypochlorite and heat, Journal of Food Protection, 54 : 4-6.

Levine S. and Neale G.H. (1974), The prediction of electrokinetic phenomena within multiparticle systems. I. Electrophoresis and electroosmosis, Journal of Colloid and Interface Science, 47 : 520-529.

Maas J.H., Cohen Stuart M.A., Sieval A.B., Zuilhof H. and Sudhölter E.J.R. (2003), Preparation of polystyrene brushes by reaction of terminal vinyl groups on silicon and silica surfaces, Thin Solid Films, 426 : 135-139.

CONFIDENTIEL

MacGregor D.R. and Elliker P.R. (1958), A comparison of some properties of strains of Pseudomonas aeruginosa sensitive and resistance to quaternary ammonium compounds, Canadian Journal of Microbiology, 4 : 499-503.

Marmey P., Porte M.C. and Baquey C. (2003), PVDF multifilament yarns grafted with polystyrene induced by γ-irradiation : Influence of the grafting parameters on the mechanical properties, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B : Beam interactions with Materials and Atoms, 208 : 429-433.

Mcdonnell G. and Russell A.D. (1999), Antiseptics and Disinfectants : Activity, Action, and Resistance, Clinical Microbiology Reviews, 12(1) : 147-179.

Mettler E. and Carpentier B. (1998), Variations over time of microbial load and physicochemical properties of floor materials after cleaning in food industry premises, Journal of Food Protection, 61 : 57-65.

Meylheuc T., julien C., Rault J. et Bellon-Fontaine M.N. (1998), Adhésion de *L. monocytogenes* au polytétrafluoroéthylène et à l'acier inoxydable AISI 304 – Influence du conditionnement de surface par un biosurfactant. Poster INRA UBHM, Massy.

Meylheuc T., van Oss C.J. and Bellon-Fontaine M.N. (2001), Adsorption of biosurfactant on solid surfaces and consequences regarding the bioadhesion of *Listeria monocytogenes* LO28, Journal of Applied Microbiology, 91 : 822-832.

Ming X., Weber G.H., Ayres J.W. and Sandine W.E. (1997), Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meat, Journal of Food Science, 62 : 413-415.

Morton L.H.G., Greenway D.L.A., Gaylarde C.C. and Surman S.B. (1998), Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides, International Biodeterioration & Biodegradation, 41 : 247-259.

Napoli A., Tirelli N., Kilcher G. and Hubbell J.A. (2001), New Synthetic Methodologies for Amphiphilic Multiblock Copolymers of Ethylene Glycol and Propylene Sulfide, Macromolecules, 34 : 8913-8917.

Neumann A.W., Good R.J., Hope C.J. and Sejpal M. (1974), An equation-of-state approach to determine to determine surface tensions of low-energy solids from contact angles, Journal of Colloid and Interface Science, 49 : 291-304.

Ozdemir M. and Sadikoglu H. (1998), An new and emerging technology : laser-induced surface modification of polymers, Trends in Food Science & Technology, 9 : 159-167.

Ozdemir M., Yurteri C.U. and Sadikoglu H. (1999), Surface treatment of food packaging polymers by plasmas, Food Technology, 53(4) : 54-58.

Padgett T., Han I.Y. and Dawson P.L. (1998), Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films, Journal of Food Protection, 61 : 1130-1335.

CONFIDENTIEL

Paik J.S., Dhanasekharan M. and Kelly M.J. (1998), Antimicrobial activity of UV-irradiated nylon film for packaging applications, Packaging Technology and Science, 11 : 179-187.

Parry R.T. (1993), Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods : Introduction, London Blackie Academic and Professional, 1-17.

Pertsin A.J. and Grunze M. (2000), Computer Simulation of Water near the Surface of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers, Langmuir, 16(23) : 8829-8841.

Prime K.L. and Whitesides G.M. (1993), Adsorption of proteins onto surfaces containing end-attached oligo(ethylene oxide) : a model system using self-assembled monolayers, Journal of American Chemical Society, 115(23) : 10714-10721.

Prucker O. and Rühe J. (1998), Mechanism of Radical Chain Polymerizations Initiated by Azo Compounds Covalently Bound to the Surface of Spherical Particles, Macromolecules, 31(3) : 602-613.

Rånby B., Yang W.T. and Tretinnikov O. (1999), Surface photografting of polymer fibers, films and sheets, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B : Beam interactions with Materials and Atoms, 151 : 301-305.

Roosjen A., van der Mei H.C., Busscher H.J. and Norde W. (2004), Microbial Adhesion to Poly(ethylene oxide) Brushes : Influence of Polymer Chain Length and Temperature, Langmuir, 20 : 10949-10955.

Rozantzev E. G. and Krinitzkaya L. A. (1965), Free iminoxyl radicals in the hydrogenated pyrrole series, Tetrahedron, 21(2) : 491-497.

Ruiz-Tailor L.A., Martin T.L., Zaugg F.G., Witte K., Indermhule P., Nock S. and Wagner P. (2001), Monolayers of derivatized poly(L-lysine)-grafted poly(ethylene glycol) on metal oxides as a class of biomolecular interfaces, PNAS, 98 : 852-857.

Russell A.D. (2004), Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon, Journal of Hospital Infection, 57 : 97-104.

Rutter P.R. and Vincent B. (1980), The adhesion of microorganisms to surfaces, physico-chemical aspects ; In : Microbial Adhesion to Surfaces, Ellis Horwood, London.

Salton M.R.J. (1968), Lytic agents, cell permeability and monolayer penetrability, Journal of General Physiology, 52 : 277S-252S.

Seah M.P., Qiu J.H., Cumpson P.J. and Castle J.E. (1994), Simple method of depth profiling (stratifying) contamination layers, illustrated by studies on stainless steel, Surface and Interface Analysis, 21 : 336-341.

Sharma S., Johnson R.W. and Desai T.A. (2003), Ultrathin poly(ethylene glycol) films for silicon-based microdevices, Applied Surface Science, 206 : 218-229.

CONFIDENTIEL

Siau S., Vervaet A., Degrande S., Schacht E. and van Calster A. (2005), Dip coating of dielectric and solder mask epoxy polymer layers for build-up purposes, Applied Surface Science, 245 : 353-368.

Sieval A.B., Linke R., Zuilhof H. and Sudhölter E.J.R. (2000), High-Quality Alkyl Monolayers on Silicon Surfaces, Advanced Materials, 12(19) : 1457-1460.

Smith J.P., Ramaswamy H.S. and Simpson B.K. (1990), Developments in food packaging technology. Part II : Storage aspects, Trends in Food Science & Technology, 1 : 111-118.

Smith J.P., Hoshino J. and Abe Y. (1995), Interactive packaging involving sachet technology, Active Food Packaging, Rooney M.L., ed, London Blackie Academic and Professional, 143-173.

Sofia S.J., Premnath V. and Merrill E.W. (1998), Poly(ethylene oxide) Grafted to silicon Surface : Grafting Density and Protein Adsorption, Macromolecules, 31(15) : 5059-5070.

Soprey P.R. and Maxcy R.B. (1968), Tolerance of bacteria for quaternary ammonium compounds, journal of Food Science, 33 : 536-540.

Tardat-Henry M. et Beaudry J.P. (1992), Chimie des eaux, deuxième édition, Griffon d'argile, France, 537.

Törmälä P., Lattilä H. and Lindberg J.J. (1973), Solid and liquid state relaxations in spin-labelled poly(ethylene glycol) at high temperatures ($T > T_g$), Polymer, 14(10) : 481-487.

Tsukruk V.V. (1997), Assembly of supramolecular polymers in ultrathin films, Progress in Polymer Science, 22 : 247-311.

van der Mei H.C., Brokke P., Dankert J., Feijen J. and Busscher H.J. (1992), Influence of electrostatic interactions on the deposition efficiencies of coagulase-negative staphylococci to collector surface in a parallel plate flow chamber, Journal of Dispersion Science and Technology, 13 : 447-458.

van Loosdrecht M.C.M., Lyklema J., Norde W. and Zehnder A.J.B. (1989), Bacterial adhesion : A physicochemical approach, Microbial Ecology, 17 : 1-15.

van Oss C.J., Good R.J. and Chaudhury M.K. (1986), The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in « hydrophobic interactions » between biopolymers and low energy surfaces, Journal of Colloid and Interface Science, 111 : 378-390.

van Oss C.J., Chaudry M.K. and Good R.J. (1988), Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopics systems, Chemical Reviews., 88 : 927-941.

van Oss C.J. (1994), Interfacial Forces in Aqueous Media, New York : Marcel Decker.

van Oss C.J. (1995), Hydrophobicity of biosurfaces – origin, quantitative determination and interaction energies, Colloids Surfaces B : Biointerfaces, 5 : 91-110.

van Oss C.J. (1996), Forces interfaciales en milieux aqueux, Masson, Paris.

CONFIDENTIEL

Van Wagenen R.A. and Andrade J.D. (1980), Flat plate streaming potential investigations: Hydrodynamics and electrokinetic equivalency, Journal of Colloid and Interface Science, 76(2) : 305-314.

Vermette P. and Meagher L. (2003), Interactions of phospholipid- and poly(ethylene glycol)-modified surfaces with biological systems : relation to physico-chemical properties and mechanisms, Colloids and Surfaces B : Biointerfaces, 28 : 153-198.

Walsh C.B. and Franses E.I. (2003), Ultrathin PMMA films spin-coated from toluene solutions, Thin Solid Films, 429 : 71-76.

Wang C. and Hsiue G. (1993), Glucose oxidase immobilization onto plasma induced graft copolymerised polymeric membrane modified by poly(ethylene oxide) as a spacer, Journal of Applied Polymer Science, 50 : 1141-1149.

Wang J., Tu H., Zhou W., Zhu W. and Liu A. (2001), In situ Raman spectroscopy study on silicon surface in NH_4OH/H_20_2 and HCl/H_20_2 aqueous solutions, Microelectronic Engineering, 56 : 221-225.

Weng Y.M. and Hotchkiss J.H. (1992), Inhibition of surface moulds on cheese by polyethylene film containing the antimycotic imazalil, Journal of Food Protection, 55 : 367-369.

Weng Y.M. and Chen M.J. (1997), Sorbic anhydride as antimycotic additive in polyethylene foof packaging films, Food Science & Technology, 30 : 485-487.

Wu S. (1973), Polar and nonpolar interactions in adhesion, The Journal of Adhesion, 5 : 39-55.

Yamaki T., Asano M., Maekawa Y., Morita Y., Suwa T., Chen J., Tsubokwa N., Kobayashi K., Kubota H. and Yoshida M. (2003), Radiation grafting of styrene into crosslinked PTFE films and subsequent sulfonation for fuel cell applications, Radiation Physics and Chemistry, 67 : 403-407.

Zhang M., Desai T. and Ferrari M. (1998), Proteins and cells on PEG immobilized silicon surfaces, Biomaterials, 19 : 953-960.

Zhao B. and Brittain W.J. (2000), Polymer brushes : surface-immobilized macromolecules, Progress in Polymer Science, 25 : 677-710.

Zhisheng Chen C., Beck Tan N.C. and Cooper S.L. (1999), Incoporation of dimethyldodecylammonium chloride functionnalities onto poly(propylene imine) dendrimers significantly enhances their antibacterial properties, Chemical Communications, 16 : 1585-1586.

Zhu X.-Y., Jun Y., Staarup D.R., Major R.C., Danielson S., Boiadjiev V., Gladfelter W.L., Bunker B.C. and Guo A. (2001), Grafting of High-Density Poly(Ethylene Glycol) Monolayers on Si(111), Langmuir, 17 : 7798-7803.

CONFIDENTIEL

Zolk M., Eisert F., Pipper J., Herrwerth S., Eck W., Buck M. and Grunze M. (2000), Solvation of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers Studied by virational Sum Frequency Spectroscopy, Langmuir, 16(14) : 5849-5852.

CONFIDENTIEL

GLOSSAIRE

CONFIDENTIEL

ΔG_{adh}	Energie d'adhésion
γ_{sm}	Energie d'interaction interfaciale solide-microorganisme
γ_{sl}	Energie d'interaction interfaciale solide-liquide
γ_{ml}	Energie d'interaction interfaciale microorganisme-liquide
θ	Angle de contact
γ_{lv}	Energie libre à l'interface liquide-vapeur
γ_{sv}	Energie libre à l'interface solide-vapeur
γ_{sl}	Energie libre à l'interface solide-liquide
γ_{sv}^{LW}	Composante apolaire de l'énergie à l'interface solide-vapeur
γ_{lv}^{LW}	Composante apolaire de l'énergie à l'interface liquide-vapeur
γ_{sv}^{AB}	Composante polaire de l'énergie à l'interface solide-vapeur
γ_{lv}^{AB}	Composante polaire de l'énergie à l'interface liquide-vapeur
γ_{sv}^{+}	Composante accepteur d'électron de l'énergie à l'interface solide-vapeur
γ_{sv}^{-}	Composante donneur d'électron de l'énergie à l'interface solide-vapeur
γ_{lv}^{+}	Composante accepteur d'électron de l'énergie à l'interface liquide-vapeur
γ_{lv}^{-}	Composante donneur d'électron de l'énergie à l'interface liquide-vapeur
ΔG_{adh}^{LW}	Composante apolaire de l'énergie d'adhésion
ΔG_{adh}^{AB}	Composante polaire de l'énergie d'adhésion
γ_{mv}^{LW}	Composante apolaire de l'énergie à l'interface microorganisme-vapeur
γ_{mv}^{AB}	Composante polaire de l'énergie à l'interface microorganisme-vapeur
γ_{mv}^{+}	Composante accepteur d'électron de l'énergie à l'interface microorganisme-vapeur
γ_{mv}^{-}	Composante donneur d'électron de l'énergie à l'interface microorganisme-vapeur
G^{TOT}	Energie libre d'interaction
G^{LW}	Energie des interactions de Lifshitz-van der Waals
G^{EL}	Energie des interactions électrostatiques
A	Constante d'Hamaker
a	Rayon de la particule
d	Distance de séparation entre la particule et le substrat

CONFIDENTIEL

r	Distance au centre de la particule
q	Charge électrique
V	Potentiel
v	Potentiel de contact
Z, ζ	Potentiel Zêta ou électrocinétique
$\frac{1}{k}$	Longueur de Debye (épaisseur de la double couche ionique diffuse)
ε	Constante diélectrique du milieu liquide
k	Constante de Boltzmann
T	Température absolue en Kelvin
e	Charge de l'électron
v_i	Valence de chaque espèce ionique
n_i	Nombre d'ions de chaque espèce par cm^3 de liquide
G^{AB}	Energie des interactions acide-base de Lewis
λ	Longueur de corrélation de molécules dans un milieu liquide
d_0	Distance de plus petite approche entre deux surfaces
κ	Coefficient d'extinction
ΔP	Différence de pression
ΔE	Différence de potentiel (potentiel d'écoulement)
η	Viscosité de la solution aqueuse
D	Constante diélectrique du milieu
K_{sol}	Conductivité de la solution
L_{surf}	Conductance spécifique de la surface
b	Demi-distance entre les deux surfaces
ΔG_{pls}^{TOT}	Energie d'interaction entre des particules et un solvant dans un liquide de suspension
ΔG_{pls}^{LW}	Composante apolaire de l'énergie d'interaction entre des particules et un solvant dans un liquide de suspension
ΔG_{pls}^{AB}	Composante polaire de l'énergie d'interaction entre des particules et un solvant dans un liquide de suspension
ΔG_{pls}^{EL}	Composante électrostatique de l'énergie d'interaction entre des particules et un solvant dans un liquide de suspension

CONFIDENTIEL

γ_p^{LW} Composante apolaire des particules

γ_s^{LW} Composante apolaire du solvant

γ_l^{LW} Composante apolaire du liquide de suspension

γ_p^{+} Composante accepteur d'électron des particules

γ_s^{+} Composante accepteur d'électron du solvant

γ_l^{+} Composante accepteur d'électron du liquide de suspension

γ_p^{-} Composante donneur d'électron des particules

γ_s^{-} Composante donneur d'électron du solvant

γ_l^{-} Composante donneur d'électron du liquide de suspension

δ^{-} Différence d'interaction entre les particules, un solvant monopolaire accepteur d'électrons et un solvant apolaire ayant la même composante Lifshitz-van der Waals que le solvant monopolaire

δ^{+} Différence d'interaction entre les particules, un solvant monopolaire donneur d'électrons et un solvant apolaire ayant la même composante Lifshitz-van der Waals que le solvant monopolaire

DO_i Densité optique initiale

DO_f Densité optique finale

μ Mobilité électrophorétique

V_p Vitesse de déplacement des particules

E Intensité du champ électrique appliqué

Λ Profondeur analysée par XPS

Γ Concentration de surface

ρ_0 Densité

σ Densité de greffage

N_A Nombre d'Avogadro

M Masse molaire

ACS Acide CamphorSulfonique

AFM Atomic Force Microscopy

CCM Chromatographie sur Couche Mince

CONFIDENTIEL

CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CSAH	Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine
DLVO	Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek
FDA	Food and Drug Administration
IR	Infrarouge
LMS	limite de migration spécifique
MATS	Microbial Adhesion To Solvents
OSP	Oxygen Scavenger Polymer
PAA	Acide PolyAcrylique
PE	PolyEthylène
PEG	PolyEthylène Glycol
PEG 390	PolyEthylène Glycol monoallylé de masse molaire moyenne égale à 390 $g.mol^{-1}$
PEG 2040	PolyEthylène Glycol monoallylé de masse molaire moyenne égale à 2040 $g.mol^{-1}$
PEG 10040	PolyEthylène Glycol monoallylé de masse molaire moyenne égale à 10040 $g.mol^{-1}$
PLL	Poly-L-Lysine
PP	PolyPropylène
PTFE	PolyTétraFluoroEthylène
Qm	quantité maximale résiduelle dans le matériau
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RPE	Résonance Paramagnétique Electronique
RX	Rayons X
SAQ	Sel d'Ammonium Quaternaire
SAQ-C8Br	Sel d'Ammonium Quaternaire issu de l'acide tartrique avec une chaîne alkyle de huit carbones et des bromures comme contre ions
SCF	Scientific Commity for Food
SM	Spectrométrie de Masse
THF	TétraHydroFurane
UV	Ultra-Violet
XPS	X-Ray Photoelectron Spectroscopy

CONFIDENTIEL

Résumé

Préserver la sécurité alimentaire implique, entre autres, de contrôler la contamination microbiologique des surfaces susceptibles d'être en contact avec les denrées alimentaires. Différentes études ont montré que cette contamination par des germes pathogènes résultait en fait de l'adhésion micro-organismes/surfaces. Il est donc nécessaire de développer des stratégies permettant de s'assurer que les surfaces en contact alimentaire ne servent pas de véhicules de transmission des pathogènes.

Pour ce faire, l'approche proposée est de greffer à la surface des matériaux des groupements fonctionnels permettant soit de limiter l'adhésion, soit d'apporter une activité biocide. La conception de ces matériaux modifiés nécessite, dans un premier temps, la synthèse de monomères qui comportent à la fois une fonction de greffage et un fragment structural portant l'activité antibactérienne. Ensuite le greffage covalent de ces monomères permet d'augmenter la durabilité de la modification du matériau et de limiter la migration des agents antimicrobiens vers les produits alimentaires.

Mots-clés : Sécurité sanitaire, modification de surface, adhésion.

Summary

Preserving food safety implies, inter alia, to control the microbiological contamination of surfaces which are likely to be in contact with the foodstuffs. Various studies showed that this contamination by pathogenic germs resulted in fact from the adhesion of micro-organisms on the surfaces of materials, which is directly in contact with food. It is thus necessary to develop some strategies, ensuring that surfaces, which are in contact with food are not responsible for transmission of the pathogenic agents.

With this intention, our approach is to modify the surface of the materials by grafting in order to either limit adhesion, or to develop antimicrobial activity. The design of these modified materials requires, initially, the synthesis of monomers, which have the possibility to graft and at the same time a fragment carrying the anti-bacterial activity. The covalent grafting of these monomers enable to increase the durability of the modified material and to limit the migration of the antimicrobial agent towards the foodstuffs.

Keywords: health safety, surface modification, adhesion.

CONFIDENTIEL