

---

## **Le transport microbien en milieu poreux**

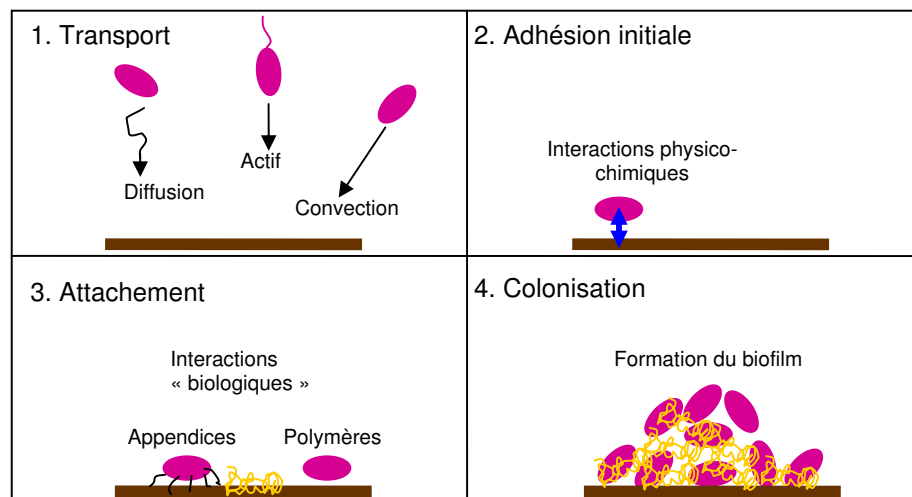
L'approche générale pour prédire le transport microbien en milieu poreux requiert de comprendre l'immobilisation des cellules bactériennes. Deux mécanismes principaux sont responsables de l'immobilisation des bactéries dans un milieu poreux : l'adsorption et la filtration. Les forces hydrodynamiques, parfois négligées, influent également sur le déplacement des bactéries en milieux poreux.

### **1. Adhésion bactérienne**

L'étude de l'adhésion bactérienne est devenu un enjeu crucial depuis que de nombreuses observations ont montré que 99,9% des bactéries vivent attachées à une surface (Costerton *et al.* 1995). Les communautés bactériennes attachées à une surface sont appelées biofilms. En 1995, Costerton *et al.* ont soutenu que les biofilms pouvait adhérer à des surfaces et les uns aux autres, incluant dans cette définition les populations adhérentes dans les milieux poreux (Costerton *et al.* 1995). Tout comme pour les biofilms il est essentiel de comprendre ces phénomènes d'adhésion dans un milieu poreux qui peuvent ralentir les cellules dans leur progression à travers un sol. Etudier l'adhérence de cellules bactériennes en milieux poreux revient à étudier les étapes initiales du développement d'un biofilm.

#### **1.1. Les étapes de l'adhésion bactérienne**

La formation d'un biofilm à lieu en 4 étapes (figure1) (van Loosdrecht *et al.* 1990):  
(i) Accès à la surface : dépend du mode de transport qui permet à une cellule bactérienne d'atteindre la surface. Ce mode de transport peut être par diffusion (mouvement Brownien ou sédimentation), par convection (flux du liquide) ou actif si la cellule dispose de moyens de propulsion. Dans ce dernier cas le chimiotactisme



**Figure 1 :** Représentation schématique des 4 étapes de la colonisation d'une surface par des microorganismes.

Inspiré de Van Loosdrecht *et al.* (1990)

joue également un rôle. (ii) Adhésion initiale : procédé essentiellement physico-chimique qui peut être réversible. (iii) Attachement : grâce à des appendices cellulaires (fibrilles, polymères...) qui forment des liaisons fortes entre la cellule et la surface, liaisons qui peuvent être irréversibles (iv) Colonisation de la surface : il s'agit de la formation du biofilm proprement dit. Dans cette étude on s'intéressera exclusivement aux 3 premières étapes car elles jouent un rôle déterminant pour le transport bactérien en milieux poreux.

#### 1.1.1. Etape 1 : le transport

Avant d'adhérer la cellule doit être transportée vers la surface et plusieurs mécanismes permettent le déplacement bactérien dans un sol pour augmenter les opportunités de contact (Marshall 1986) : (i) Les particules colloïdales sont animées de mouvements aléatoires causées par le mouvement brownien. Les bactéries, qui peuvent être assimilées à des particules colloïdales, présentent un mouvement brownien non négligeable ( $40\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$  en moyenne (Marshall 1976)) visible sous microscope. Le phénomène du mouvement brownien contribue à augmenter les opportunités de contact entre particules solides du sol et cellules bactériennes (Marshall 1976; Marshall 1986). (ii) Les mouvements de diffusion/sédimentation sont lents par rapport aux vitesses d'écoulement de l'eau du sol. Les forces de cisaillements créées par l'écoulement peuvent faciliter le rapprochement de la cellule vers une surface du sol (pour l'adsorption) (Rijnaarts 1993) ou au contraire arracher la cellule adsorbée (McClaine et Ford 2002). (iii) Enfin certaines bactéries ont leur propre mobilité grâce à la présence appendices spécifiques (flagelles...) (Becker *et al.* 2004; Camesano et Logan 1998; McCaulou 1995; McClaine et Ford 2002) et peuvent répondre à des stimuli chimiotactique (Olson *et al.* 2004). L'ensemble de ces phénomènes contribue à la mobilité des bactéries dans un milieu poreux et influent en conséquence sur leur déplacement dans un sol.

#### 1.1.2. Etape 2 : adhésion initiale

L'adhésion résulte d'interactions physicochimiques entre la cellule et la phase solide. (Absolom *et al.* 1983). Un nombre croissant de publications suggère que la rétention des cellules microbiennes est fortement influencé par des caractéristiques de la paroi des

cellules (Gannon 1991). Dans les années 80 plusieurs études établissent un rapport entre les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire, l'énergie libre d'interaction et le phénomène d'adhésion cellulaire (Busscher 1984; van Loosdrecht 1989). Dans ce cas l'adhésion serait gouvernée par l'équilibre des énergies libres d'interaction entre les systèmes bactérie/solide, bactérie/liquide et liquide/solide. On parle aussi d'interactions à « longue distance » car la distance qui sépare la cellule de la surface est alors supérieure à 1nm (van Loosdrecht 1989). Marshall *et al.* suggéraient que les effets de la concentration en électrolyte sur la phase initiale réversible pouvaient être expliqués par la théorie de stabilité colloïdale DeJarguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) (Marshall 1976; Marshall 1971). Plus tard les interactions Lewis acide-base sont intégrées à la théorie DLVO (van Oss 1989) (van Oss 2003). Par la suite la théorie DLVO sera fréquemment utilisée pour tenter d'expliquer l'adhésion initiale des bactéries sur une surface.

### 1.1.3. Etape 3 : l'attachement

La phase d'attachement est d'ordre biologique avec l'implication d'appendices cellulaires (Vidal *et al.* 1998) (pilis, curlis..) et/ou la production de biopolymères (exopolysaccharides...) faisant office de colle. Lorsque les macromolécules de surface ont une affinité pour la surface un pontage peut se former ce qui a pour effet d'ancrer la bactérie à la surface. Dans ce cas la notion de sorption irréversible est employée bien qu'il s'agisse d'un abus de langage. La désorption reste possible mais est beaucoup plus difficile comparée à la sorption réversible. A noter que certains composants extracellulaires au contraire empêchent l'adhésion à cause d'interactions stériques répulsives (Liu *et al.* 2007; Rijnaarts *et al.* 1999; van Loosdrecht *et al.* 1990). La phase d'attachement concerne donc seulement les interactions stériques attractives (ou interactions de « pontage »).

## 1.2. L'approche physicochimique

### 1.2.1. La théorie DLVO

La théorie DLVO de la stabilité colloïdale a été développée par Derjaguin et Landau en 1941 et par Verwey et Overbeek en 1948 et stipule que les interactions entre particules colloïdales dépendent de l'énergie d'interaction totale entre celles-ci. Cette énergie d'interaction a plusieurs sources. La théorie développée par Derjaguin et Landau et par Verwey et Overbeek considère les interactions de type Lifshitz-van der Waals et les interactions électrostatiques. L'énergie libre d'interaction totale entre une cellule et une surface solide ( $\Delta G^{\text{TOT}}$ ) est la somme des interactions de type Lifshitz-van der Waals ( $\Delta G^{\text{LW}}$ ) et des interactions électrostatiques ( $\Delta G^{\text{EL}}$ ):

$$\Delta G^{\text{TOT}} = \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{EL}} \quad [1]$$

$\Delta G^{\text{TOT}}$  est exprimée en ( $\text{J} \cdot \text{m}^{-2}$ ).

Les forces Lifshitz-van der Waals sont généralement attractives et résultent d'un moment dipolaire créé par la rotation des électrons autour du noyau. Elles permettent des liaisons faibles entre atomes. Pour un système plan – sphère que l'on peut utiliser pour représenter les interactions entre une bactérie et la phase solide du sol on a une énergie d'interaction qui est de la forme :

$$\Delta G_{bs}^{\text{LW}}(y) = \frac{AR}{6y} \quad [2]$$

Dans cette expression,  $A$  est la constante de Hamaker,  $R$  est le rayon hydrodynamique effectif de la bactérie et  $y$  la distance de la bactérie au solide. Dans tout ce qui suit, les indices  $_{b,w,s}$  indiquent que la constante est celle de la bactérie, de l'eau et du solide, respectivement. On a donc une décroissance en  $1/y$  des interactions. Le rayon hydrodynamique effectif de la bactérie peut être obtenu par des expériences de diffusion des microorganismes. Meinders (1995) donne des valeurs pour diverses bactéries. La constante de Hamaker peut être obtenue à partir des mesures d'angle de contact entre un

lit de bactérie et un liquide (cf. § 1.2.3) Dans cette configuration (plan – plan) on a la relation :

$$\Delta G_{bs}^{LW}(y) = \frac{A}{12\pi y^2} \quad [3]$$

Si on note  $\Delta G_{y_0}^{LW}$  l'énergie d'adhésion obtenue à la distance  $y_0$  dite « distance de contact », la valeur de 1.57 Angström est généralement utilisée pour  $y_0$ , on en déduit la constante de Hamaker :

$$A = 12\pi y_0^2 \Delta G_{y_0}^{LW} \quad [4]$$

L'énergie libre d'interaction  $\Delta G_{y_0}^{LW}$  est reliée aux composantes Lifshitz-van der Waals des tensions de surfaces du solvant, de la bactérie et du solide par la relation :

$$\Delta G_{y_0}^{LW} = -2 \left( \sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}} \right) \left( \sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_b^{LW}} \right) \quad [5]$$

On voit donc que si les termes  $\left( \sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_s^{LW}} \right)$  et  $\left( \sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_b^{LW}} \right)$  sont de même signe, la constante d'Hamaker sera négative, ce qui donnera une énergie d'interaction liée aux forces Lifshitz-van der Waals négative. En utilisant cette expression de la constante de Hamaker dans l'équation pour l'interaction sphère – plan on obtient :

$$\Delta G_{swb}^{LW}(y) = 2\pi \Delta G_{y_0}^{LW} \frac{y_0^2 R}{y} \quad [6]$$

Dans cette expression,  $2\pi y_0 R$  représente la surface par laquelle se font les interactions entre la bactérie et le solide. L'énergie libre  $\Delta G_{swb}^{LW}(y)$  entre une cellule et le solide s'exprime donc en Joules.

Les forces électrostatiques sont définies par les interactions de Coulomb entre entités chargées. Elles peuvent être répulsives et attractives selon le signe des charges portées par les surfaces en présence. Les surfaces naturelles sont souvent chargées négativement

mais des charges positives existent (oxydes métalliques par exemple). Les bactéries étant généralement chargées négativement, on peut donc avoir des répulsions électrostatique aussi bien que des attractions entre le solide et la surface cellulaire (Marshall 1986).

Les interactions électrostatiques entre une bactérie et la phase solide dans une phase aqueuse peuvent être décrites par :

$$\Delta G_{swb}^{EL}(y) = \pi R \epsilon_r \epsilon_0 \left( 2\psi_b \psi_s \ln \left( \frac{1 + e^{-ky}}{1 - e^{-ky}} \right) + (\psi_b^2 + \psi_s^2) \ln(1 - e^{-2ky}) \right) [7]$$

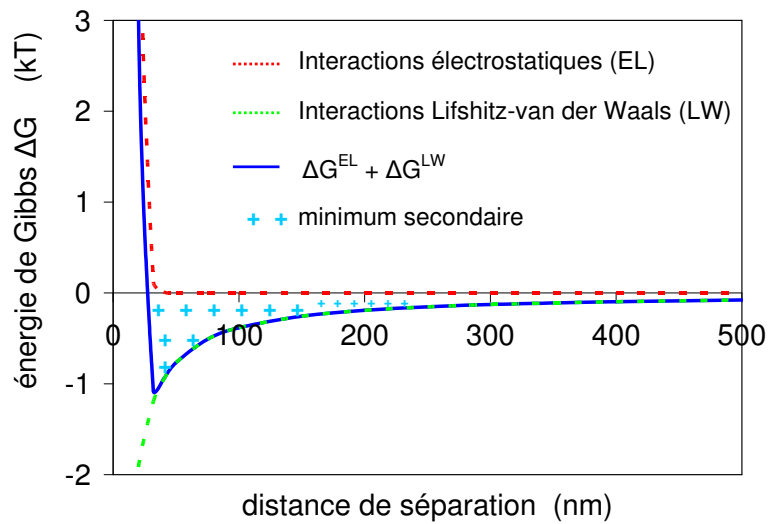
avec  $y$  la distance entre la bactérie et le solide,  $\epsilon_r \epsilon_0$  la permittivité diélectrique du liquide,  $\psi_{b,s}$  les potentiels à la surface de la bactérie et du solide et  $k$  la longueur de Debye-Hückel qui est calculée à partir de la composition de la solution du sol.

Dans l'équation, les longueurs sont en mètres, les potentiels sont en volts (V) et la permittivité diélectrique du vide est en  $C.V^{-1}.m^{-1}$ . On a donc pour les dimensions un résultat qui est en :  $m.C.V^{-1}.m^{-1}.V^2 = C.V=J$ . L'énergie libre d'interaction électrostatique entre une cellule et le solide s'exprime donc en Joules.  $\Delta G_{swb}^{EL}(y)$  et  $\Delta G_{swb}^{LW}(y)$  sont souvent exprimées en « kT » en divisant les Joules par le produit  $kT$  où  $k$  est la constante de Boltzman (J/K) et  $T$  est la température (K). A 25C, le produit  $kT$  vaut  $4.11 \cdot 10^{-21}$ .

Les potentiels  $\psi_{s,b}$  à la surface du solide et de la bactérie sont calculés à partir de l'équation suivante faisant intervenir le potentiel  $\zeta$  obtenu à partir d'expériences de mobilité électrophorétique:

$$\psi_{s,b} = \zeta_{s,b} (1 + z/R) e^{kz} [8]$$

Dans cette expression,  $z$  est la distance entre le plan de glissement et la surface du colloïde,  $R$  le rayon du colloïde et  $k$  la longueur de Debye-Hückel.



**Figure 2 :** Energie libre d'interactions entre une surface plane et une particule sphérique.

Toutes les deux sont chargées négativement en fonction de la distance résultant de l'addition des forces LW et EL (théorie DLVO)



L'importance des interactions électrostatiques est très dépendante de la présence d'ions dans le milieu (van Loosdrecht 1989) (force ionique et espèce) ce qui n'est pas le cas des forces de Lifshitz-van der Waals. L'énergie d'interaction de Gibbs entre une surface plane et un colloïde sphérique en fonction de la distance de séparation est illustrée dans la figure 2 dans le cas où le colloïde et la surface ont des charges de même signe et présentent aussi des interactions Lifshitz-van der Waals négatives.

Le colloïde est attiré vers la surface lorsque  $\Delta G$  est négatif et inversement. Parce que les bactéries et les grains des milieux poreux ont généralement une charge électrique globale de même signe (négatifs)  $\Delta G^{EL}$  est positif et empêche l'adhésion. En revanche les interactions Lifshitz-van der Waals contribuent à la rétention des bactéries près de la surface puisque  $\Delta G^{LW}$  est négatif. Il se forme un puits à quelques dizaines de nanomètres de la surface dont la profondeur diminue au fur et à mesure que la distance de séparation colloïde-surface augmente. Ce puits est appelé minimum secondaire et est responsable de la rétention réversible de colloïdes sur une surface solide.

Van Loosdrecht *et al.* (van Loosdrecht 1989) ont utilisé la théorie pour expliquer l'adhésion de microorganismes sur différentes surfaces. Ainsi l'adhésion de cellules bactérienne à du polystyrène a pu être décrite quantitativement à l'aide de la théorie DLVO. Les auteurs ont estimé une énergie de Gibbs d'adhésion de 2 à 3 kT par cellule. Cette valeur remarquablement faible correspond à une adhésion dans le minimum secondaire comme le décrit la théorie DLVO. C'est dans ce minimum que se produit l'adhésion réversible selon Redman (Redman *et al.* 2004).

### 1.2.2. Théorie DLVO étendue (ou XDLVO)

La théorie DLVO classique se limite aux interactions apolaires de Lifshitz-van der Waals et les interactions électrostatiques entre surfaces immergées dans un liquide. Cependant lorsque ce liquide est polaire (comme l'eau) une autre catégorie



d'interactions non covalentes entre en jeu : les interactions Lewis acide base découvertes par Lewis en 1923. Les interactions Lewis Acide Base (AB) sont responsables de toutes les interactions non électrostatiques, non covalentes et polaires dans l'eau (van Oss 1993). En milieu aqueux les interactions AB peuvent être attractives (attractions hydrophobes) ou répulsives (répulsions hydrophiles). Dans un système totalement hydrophobe les interactions AB sont nulles. Van Oss a largement développé et discuté le rôle des interactions AB en milieux aqueux (van Oss 1993).

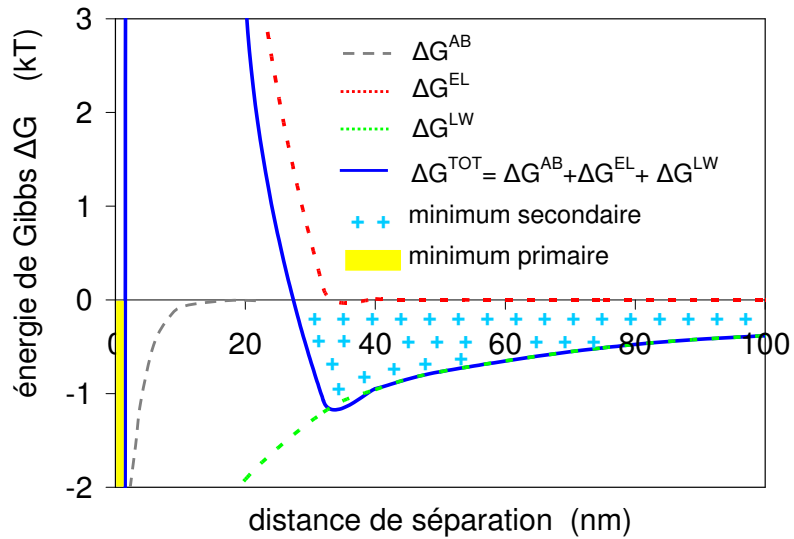
En 1989 van Oss propose une « extension » de la théorie DLVO dans laquelle les interactions hydrophiles/hydrophobes et osmotiques sont prises en compte (van Oss 1989). Les interactions osmotiques sont négligeables dans le cas des cellules si bien que l'énergie d'adhésion totale ( $\Delta G^{\text{TOT}}$ ) peut être exprimée par la formule suivante :

$$\Delta G^{\text{TOT}} = \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{EL}} + \Delta G^{\text{AB}} \quad [9]$$

$\Delta G^{\text{LW}}$  et  $\Delta G^{\text{EL}}$  correspondent respectivement aux interactions Lifshitz-van der Waals et électrostatiques (voir équation [1]) et  $\Delta G^{\text{AB}}$  aux interactions Lewis acides bases (van Oss 1989). Selon van Oss les interactions AB sont de 10 à 100 fois plus fortes que les interactions LW ( $\Delta G^{\text{LW}}$ ) lorsque des surfaces sont en contact direct (van Oss 1989) A noter que Van Oss considère que les surfaces en interactions ne peuvent pas réellement être en contact «direct» mais ont une distance d'approche minimale qu'il évalue à 0.157nm (van Oss 1994). Tout comme les interactions LW et EL l'intensité des interactions AB diminue lorsque la distance cellule surface augmente (van Oss 1995) :

$$\Delta G_{swb}^{\text{AB}}(y) = 2\pi R y_0 \Delta G_{y_0}^{\text{AB}} e^{(y_0 - y)/\lambda} \quad [10]$$

Comme précédemment,  $R$  est le rayon de la bactérie,  $y_0$  est la distance d'approche minimale,  $y$  est la distance entre la bactérie et le solide et  $\lambda$  est la



**Figure 3 :** Energie libre d'interactions entre une surface plane hydrophobe et une particule sphérique hydrophile.

Toutes les deux sont chargées négativement en fonction de la distance résultant de l'addition des forces AB, LW et EL (théorie XDLVO)

longueur caractéristique d'influence des interactions acide-base. Cette longueur est prise égale à 0.6nm (van Oss 1995). La décroissance exponentielle et la faible valeur de  $\lambda$  font que les interactions acide-base jouent un rôle à très courte distance uniquement. L'énergie libre d'interaction au contact,  $\Delta G_{y_0}^{AB}$  est reliée aux composantes acide-base de la tension de surface du solvant, de la bactérie et du solide selon :

$$\Delta G_{swb}^{AB} = 2\left(\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_w^-} + \sqrt{\gamma_b^+ \gamma_w^-} + \sqrt{\gamma_s^- \gamma_w^+} + \sqrt{\gamma_b^- \gamma_w^+} - \sqrt{\gamma_s^+ \gamma_b^-} - \sqrt{\gamma_s^- \gamma_b^+} - 2\sqrt{\gamma_w^+ \gamma_w^-}\right) [11]$$

Dans cette expression,  $\gamma^+$  indique la composante accepteur d'électron et  $\gamma^-$  la composante donneur.

La figure 3 illustre l'énergie d'interaction entre une surface plane (hydrophobe) et un colloïde sphérique en fonction de la distance de séparation calculée avec la théorie DLVO étendue.

Comme pour la figure 2 un puits d'énergie ( $\Delta G^{\text{TOT}} < 0$ ) se forme à quelque dizaine de nanomètres de la surface résultant de l'addition des répulsions électrostatiques et des attractions dues aux interactions LW (à cette distance les interactions AB sont nulles). Les interactions AB agissent pour des distances de séparation entre colloïdes de quelques nanomètres seulement. Si  $\Delta G^{AB}$  est largement négatif il se forme un autre puits d'énergie appelé «minimum primaire». Lorsqu'une particule est retenue à la surface dans le minimum primaire on parle d'adhésion irréversible à cause du caractère puissant de ces forces hydrophobes. En effet il est important de relativiser les différentes interactions mises en jeu : si l'interaction d'énergie libre au minimum secondaire ne mesure que quelque kT, l'énergie d'interaction de la barrière électrostatique et le minimum primaire peuvent atteindre plusieurs milliers de kT. Cela plaide pour attribuer un caractère réversible au minimum secondaire et un caractère irréversible au minimum primaire.



Meinders *et al.* ont comparé la théorie DLVO classique avec la théorie DLVO étendue pour l'adhésion de 3 souches bactériennes sur 3 surfaces différentes (Meinders *et al.* 1995). Selon les auteurs la théorie DLVO classique ne prédisait pas d'adhésion des bactéries sur une surface hydrophobe (le FEP ou fluoroéthylènepropylène) alors que la théorie DLVO étendue prédisait au contraire une adhésion très forte à cette surface. Les expériences ont montré qu'il y avait bien une adhésion de bactéries sur le FEP. La prise en compte des interactions hydrophobes dans la théorie XDLVO a donc permis une meilleure évaluation de l'adhésion bactérienne sur des surfaces hydrophobes. Les auteurs concluent que les interactions acides bases sont nécessaires dans la théorie DLVO. Enfin, Meinders *et al.* affirment que l'adhésion bactérienne initiale peut être expliquée en termes de propriétés physicochimique de surface et qu'elle est gouvernée par l'existence d'un minimum secondaire réversible (Meinders *et al.* 1995).

### 1.2.3. Applications

#### A. Méthode de détermination des interactions LW et AB

La tension superficielle (aussi appelé énergie d'interface ou énergie de surface) est la tension qui existe à la surface de séparation de deux milieux ou composés. La composante apolaire  $\gamma_{12}^{LW}$  et la composante polaire  $\gamma_{12}^{AB}$  de la tension superficielle entre deux matériaux 1 et 2 s'écrivent respectivement:

$$\gamma_{12}^{LW} = \left( \sqrt{\gamma_1^{LW}} - \sqrt{\gamma_2^{LW}} \right)^2 \quad [12]$$

$$\gamma_{12}^{AB} = 2 \left( \sqrt{\gamma_1^+} - \sqrt{\gamma_2^+} \right) \left( \sqrt{\gamma_1^-} - \sqrt{\gamma_2^-} \right) \quad [13]$$

Avec  $\gamma_{1,2}^{LW}$  ( $\text{mJ.m}^{-2}$ ) la composante Lifshitz-van der Waals de la tension de surface pour les matériaux 1 et 2 respectivement.  $\gamma_{1,2}^+$  et  $\gamma_{1,2}^-$  ( $\text{mJ.m}^{-2}$ ) sont les composantes accepteurs/donneur d'électrons de la tension de surface des matériaux 1 et 2. Les composantes de l'énergie de surface  $\gamma^{LW}$  et  $\gamma^{AB}$  peuvent être obtenues à partir de mesures d'angles de contact selon la méthode décrite par Grasso *et al.* (Grasso *et al.* 1995)

Liquides	$\gamma^{LW}$ (mJ.m <sup>-2</sup> )	$\gamma^{AB}$ (mJ.m <sup>-2</sup> )	$\gamma^+$ (mJ.m <sup>-2</sup> )	$\gamma^-$ (mJ.m <sup>-2</sup> )
Eau	21.8	51.0	25.5	25.5
Formamide	39.0	19.0	39.6	2.3
1-bromonaphtalène	44.4	0	0	0
Chloroforme	27.2	3.8	3.8	0
Hexadécane	27.2	0	0	0
Décane	23.9	0	0	0
Ethyl acétate	23.9	19.4	0	19.4

**Tableau 1 :** Composantes Lifshitz (LW) , acide – base(AB) de la tension de surface et paramètres donateurs ( $\gamma^-$ ) et accepteurs ( $\gamma^+$ ) d'électrons de plusieurs liquides utilisés habituellement pour réaliser des mesures d'angles de contact.



L'équation de Dupré-Young relie l'angle de contact formé par une goutte de liquide déposé sur une surface plane (voir annexe 2 page 253) à la tension superficielle entre un liquide et un solide (van Oss 1994) :

$$(1 + \cos \theta) \gamma_L = 2 \left( \sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+} \right) \quad [14]$$

$\gamma_L$  est la tension de surface du liquide ( $\text{mJ.m}^{-2}$ ) utilisé pour les mesures de l'angle de contact  $\theta$ . La tension de surface  $\gamma_L$  est reliée aux composantes Lifshitz-van der Waals et Lewis acide-base par la formule suivante :

$$\gamma_L = \gamma_L^{LW} + 2\sqrt{\gamma_L^- \gamma_L^+} \quad [15]$$

Le tableau 1 donne quelques exemples de composantes  $\gamma_L^{LW}$  et  $\gamma_L^{AB}$  ainsi que les paramètres donneur ( $\gamma_L^-$ ) et accepteur d'électrons ( $\gamma_L^+$ ) de 4 liquides habituellement utilisés pour les mesures d'angles de contact. A noter que pour des composés totalement hydrophobes les paramètres  $\gamma^-$  et  $\gamma^+$  sont nuls.

Les paramètres  $\gamma_B^{LW}$ ,  $\gamma_B^+$  et  $\gamma_B^-$  caractéristiques de la cellule peuvent être déterminés par le calcul, si on dispose de trois mesures d'angles de contact avec trois liquides différents (tableau 1). A noter que plusieurs travaux ont montré que  $\gamma_B^{LW}$  est environ égal à  $40\text{mJ/m}^2$  pour de nombreuses bactéries (van der Mei *et al.* 1998; van Oss 1994). De plus, cette composante de la tension de surface ne varie pas significativement de l'état logarithmique à l'état stationnaire et à l'état de dégénérescence de la culture bactérienne comme le montre plusieurs travaux (Chen et Strevett 2001; Grasso 1996; Strevett et Chen 2003). De même la littérature suggère que la grande majorité des cellules bactérienne présente une surface mono polaire négative ( $\gamma^-$  dix fois plus important que  $\gamma^+$ ) et hydrophile (van der Mei *et al.* 1998; van Oss 1994). De nombreux auteurs ont trouvé une bonne corrélation entre mesures d'angles de contact et adhésion bactérienne et ont appliqué ce concept à leurs travaux (Absolom *et al.* 1983; Busscher *et al.* 1984; Norde 1989).



### B. Détermination de l'hydrophobicité

Ayant déterminé les composantes de la tension de surface, l'hydrophilicité ou l'hydrophobicité d'une surface microbienne peut être estimée en calculant, l'énergie libre totale d'interaction  $\Delta G_{bwb}^{TOT}$  entre cellules microbiennes immergées dans l'eau.  $\Delta G_{bwb}^{TOT}$  est la somme de  $\Delta G_{bwb}^{LW}$ , interactions Lifshitz-van der Waals et  $\Delta G_{bwb}^{AB}$ , interactions acides bases (van Oss 1994). Les énergies d'interaction Lifchitz et Lewis sont données par :

$$\Delta G_{bwb}^{LW} = -2\left(\sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_b^{LW}}\right)^2 \quad [16],$$

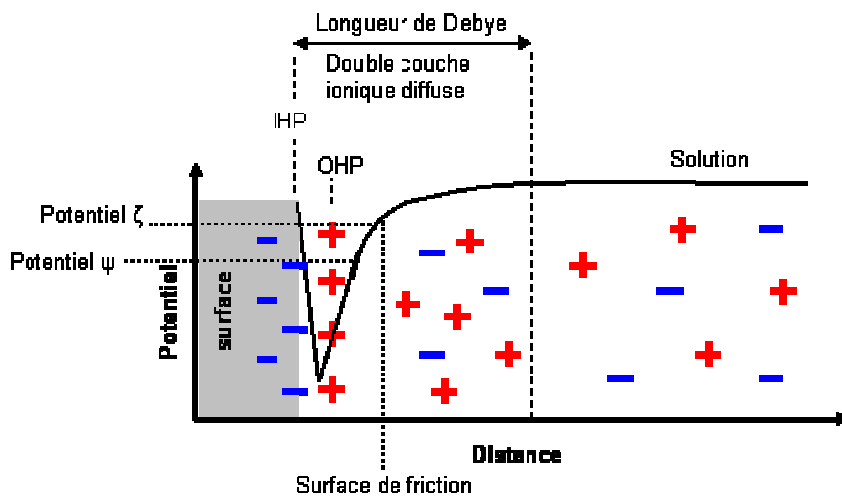
$$\Delta G_{bwb}^{AB} = -4\left(\sqrt{\gamma_b^+} - \sqrt{\gamma_w^-}\right)\left(\sqrt{\gamma_{b1}^-} - \sqrt{\gamma_w^+}\right) \quad [17]$$

Selon van Oss (van Oss 1994), une surface microbienne est hydrophile si  $\Delta G_{bwb}^{TOT}$  est supérieur à zéro et hydrophobe si  $\Delta G_{bwb}^{TOT}$  est inférieur à zéro. Le degré d'hydrophilicité ou d'hydrophobicité peut être estimé à partir de la valeur absolue de  $\Delta G_{131}^{TOT}$ . Ainsi van der Mei et ses collègues ont déterminé l'hydrophobicité de la surface cellulaire de plusieurs souches microbiennes à partir d'angles de contact (van der Mei *et al.* 1998). Leurs résultats indiquent que la majorité des microorganismes sont hydrophiles, mais surtout que les surfaces cellulaires ont un fort caractère donneur d'électrons et très peu accepteur d'électrons.

### c. Interactions cellule/surface selon la théorie XDLVO

L'adhésion de cellule bactériennes à une surface solide peut être évaluée en utilisant  $\Delta G_{bws}^{TOT}$ , l'énergie libre totale des interactions entre la surface des cellules bactériennes, la surface des particules constituant le milieu poreux et l'eau (van Oss 1994) calculée comme indiquée précédemment à la distance de d'approche minimum. (Equations 6, 7, 9 et 10)

Au début des années 2000 Chen et Strevett ont publié une série d'articles montrant une bonne corrélation entre les paramètres de rétention des cellules dans



**Figure 4 :** Illustration schématique de la double couche électrique à la surface d'un solide chargé négativement.

un milieu poreux et les énergies d'interaction prédites par la théorie XDLVO (Chen *et al.* 2003; Chen et Strevett 2001; Chen et Strevett 2002; Chen et Strevett 2003; Chen et Strevett 2003; Chen et Strevett 2003). Les auteurs ont constatés une proportionnalité entre attachement microbien sur différents supports poreux et les valeurs de  $\Delta G_{bws}^{TOT}$ . D'après les travaux de Chen et Strevett  $\Delta G_{bws}^{TOT}$  n'est donc pas seulement un indicateur qualitatif pour l'adsorption bactérienne sur une surface mais serait aussi une grandeur pouvant être reliée à des paramètres intervenant dans la modélisation de la rétention. Mais les auteurs soulignent que différentes interactions ont été calculées pour une distance à l'équilibre où les interactions électrostatiques peuvent être négligées (van Loosdrecht 1989). Ces résultats sont en contradiction avec d'autres travaux qui insistent sur l'importance des interactions électrostatiques et leur sensibilité à l'environnement chimique.

#### 1.2.4. Sensibilité des interactions électrostatiques à l'environnement

##### *a. La force ionique*

Les interactions électrostatiques de la théorie DLVO sont très sensibles à la force ionique et aux espèces ioniques de l'environnement. Cela est du à la longueur de Debye, (ou double couche électronique aussi appelé double couche ionique diffuse) dont l'épaisseur dépend de la quantité et de la qualité des ions présents dans la solution. En effet la longueur de Debye intervient dans les équations [7] et [8] pour calculer le potentiel de surface et  $\Delta G^{EL}$ . Le potentiel  $\zeta$  des particules ou des surfaces immergées dans un liquide contenant des ions dissous est le potentiel mesuré à la surface de friction de la couche limite par des méthodes telles que l'électrophorèse ou le potentiel d'écoulement. La figure 4 illustre la double couche ionique diffuse ainsi que la surface de friction. (Pour une surface solide dont la charge globale est négative) Les cations attirés vers les charges négatives de la surface solide pour assurer la neutralité électrique sont appelés cations compensateurs. On appelle IHP (Inner Helmholtz Plane) le lieu défini par les charges négatives à la surface du solide et OHP (Outer Helmholtz plane) le plan défini par les cations compensateurs. On trouve aussi pour la région définie par ces

Solution	Force ionique (mol.l <sup>-1</sup> )	1/k en nm
H <sub>2</sub> O	0	1000
NaCl	10 <sup>-5</sup>	100
NaCl	10 <sup>-3</sup>	10
NaCl	10 <sup>-1</sup>	1
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 <sup>-5</sup>	56
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 <sup>-3</sup>	5,6
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 <sup>-1</sup>	0,56
MgSO <sub>4</sub>	10 <sup>-5</sup>	48
MgSO <sub>4</sub>	10 <sup>-3</sup>	4,8
MgSO <sub>4</sub>	10 <sup>-1</sup>	0,48

Par Gouy (1910) et Henry (1931) publié dans (van Oss 1994)

**Tableau 2 :** Exemples de longueurs de Debye en fonction de différentes forces ioniques et espèces chimiques.

deux plans le terme de couche de Stern. Au-delà de la couche de Stern ou, ce qui est équivalent, au de la du OHP, on trouve une couche avec des cations mobiles, qui constitue la couche diffuse. La couche de Stern et la couche diffuse constituent la double couche du colloïde. L'épaisseur de la double couche ou longueur de Debye est calculée avec l'équation suivante :

$$1/\kappa = \left[ (\epsilon k T) / (4\pi e^2 \sum v_i^2 n_i) \right]^{1/2} \quad [18]$$

$\epsilon$  étant la constante diélectrique du milieu liquide (pour l'eau  $\epsilon = 80$ ),  $k$  la constante de Boltzmann ( $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ ),  $T$  la température absolue en degrés Kelvin,  $e$  la charge de l'électron ( $e = -1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ ),  $v_i$  la valence de chaque espèce ionique et  $n_i$  le nombre d'ions de chaque espèce par  $\text{cm}^3$  de liquide.

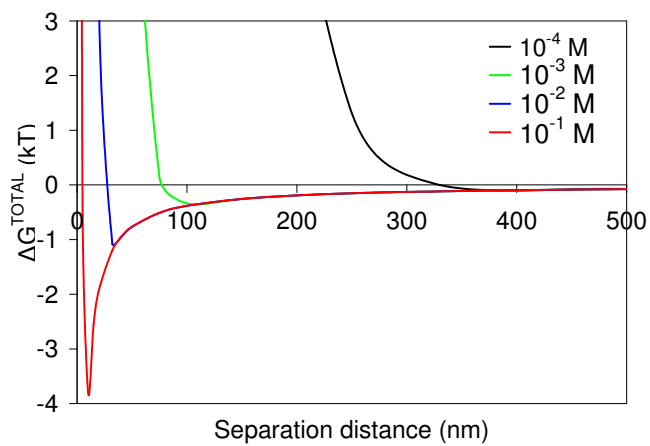
Par conséquent, d'après l'équation [18], toute augmentation de la force ionique s'accompagne d'une diminution de l'épaisseur de la double couche diffuse et de la longueur de Debye. De même la longueur de Debye est diminuée par des ions de valence élevée. Le tableau 2 illustre la valeur de Debye pour quelques solutions d'électrolytes aqueux. D'après l'équation [7], une diminution de la longueur de Debye va se traduire par une atténuation plus rapide de l'influence du potentiel de surface et donc une possibilité d'approche accrue pour les colloïdes vers les surfaces.

Plusieurs articles montre la relation entre force ionique, forces électrostatiques et adhésion cellulaire sur différentes surfaces (Li et Logan 2004; Rijnaarts *et al.* 1999; van Loosdrecht 1989). Selon la conclusion de ces études l'augmentation de la force ionique inhibe les répulsions électrostatiques augmentant ainsi l'adhésion et inversement (Rijnaarts 1995). La relation entre force ionique, interactions électrostatiques et transport microbien en milieux poreux a également été étudiée (Choi *et al.* 2007; Johnson *et al.* 1996; Li et Logan 1999; Redman *et al.* 2004; Rijnaarts *et al.* 1999). Ces publications mettent en évidence l'importance du rôle des électrolytes sur l'adhésion et par conséquent le déplacement de cellules bactériennes à travers une matrice poreuse.





Récemment Choi *et al.* ont étudié le transport de *Pseudomonas aeruginosa* à travers des colonnes de sable (Choi *et al.* 2007). Différentes conditions de force ionique (KCl) et de vitesse de Darcy (vitesse de la solution dans les pores) ont été testées. Pour une même vitesse de Darcy, l'augmentation de la force ionique résultait en une forte diminution du nombre de cellules récupérées en sortie de colonne : à 0mM 85% des cellules ont traversé le sable alors qu'à 0,56mM et 1,13mM seulement 56% et 16% des cellules ont été récupérées respectivement. Les auteurs en concluent que la longueur de Debye, fortement réduite par la molarité élevée de la solution, a réduit les répulsions électrostatiques entre les cellules de *P. aeruginosa* et les grains de sables (tous les deux chargés négativement). Dans de telles conditions l'environnement est favorable à l'adhésion des cellules sur la matrice de sable empêchant ainsi leur transport. Lorsque la molarité de la solution est nulle la double couche électronique est très épaisse ce qui se traduit par de fortes répulsions électrostatiques entre les bactéries et le sable créant ainsi des conditions défavorable pour l'adhésion. Dans de telles conditions le transport bactérien en milieu poreux est favorisé. En théorie, en considérant que les répulsions électrostatiques empêchent toute interaction entre les cellules et le sable, 100% des bactéries devraient être récupérées à la sortie de la colonne. Or 15% des cellules ont été retenue par la matrice de sable. En réalisant des observations au microscope à balayage électronique Choi *et al.* notent la présence de cellules dans les crevasses microscopiques de la surface des grains de sable. Ils en concluent donc qu'en présence de répulsions électrostatiques le piégeage physique des cellules dans le sable est responsable des 15% de bactéries qui n'ont pas été transportées (Choi *et al.* 2007). Cependant ce mécanisme, vérifié par des observations au microscope, n'est seul responsable de la rétention que dans des solutions de forces ioniques très faibles (0mM dans le cas de l'article de Choi *et al.*). En effet Redman *et al.* ont mis en évidence un autre facteur responsable de la rétention d'*Escherichia coli* dans une matrice de sable : le minimum secondaire (Redman *et al.* 2004).



**Figure 5 :** Energie libre d'interactions entre une surface plane et une particule sphérique.

Toutes les deux sont chargées négativement en fonction de la distance et de la force ionique résultant de l'addition des forces LW et EL (théorie DLVO).

*b. Le rôle du minimum secondaire et force ionique*

Redman *et al.* constatent le transport seulement partiel d'*E. coli* à travers une colonne de sable malgré la présence de la barrière électrostatique (Redman *et al.* 2004). Ils suggèrent que les cellules qui n'ont pas été transportées sont retenues dans le minimum secondaire. Pour vérifier cette hypothèse ils diminuent la force ionique du milieu pour éliminer le minimum secondaire. Les interactions de Lifshitz-van der Waals n'étant pas influencées par la composition et la concentration de la solution, les interactions électrostatiques peuvent devenir prépondérantes lorsque la force ionique est inférieure à  $10^{-3}$ M, jusqu'à éliminer le minimum secondaire (figure 5).

Redman *et al.* constatent alors qu'en diminuant la force ionique l'ensemble des bactéries retenue dans le sable sortent de la colonne. Ils en déduisent que ces bactéries étaient retenues dans le minimum secondaire éliminé par la diminution de la force ionique. Tong et Johnson ont obtenu des résultats similaires avec des microsphères (Tong et Johnson 2006)

*c. L'effet du pH de la solution sur les interactions électrostatiques*

L'adhésion bactérienne est sensible au changement de pH du milieu (Hamadi *et al.* 2005). La plupart des études montrent une meilleure adhésion lorsque le pH de la suspension bactérienne est proche du point isoélectrique (PIE) (Webb *et al.* 1999). Le PIE est la valeur du pH pour laquelle la charge électrique nette d'une surface est nulle. Rijnaarts *et al.* ont utilisé le PIE des bactéries comme un indicateur de présence de polymères à la surface cellulaire qui inhibent l'adhésion (Rijnaarts *et al.* 1995). Leurs résultats montrent aussi que le PIE des bactéries est généralement inférieur à 3. Van der Wal *et al.* ont montré que les groupements anioniques à la surface des cellules bactériennes dominent les groupements cationiques (van der Wal *et al.* 1997). Cela explique pourquoi lorsque le pH augmente (i) le potentiel  $\zeta$  des bactéries diminue (ii) le PIE des bactéries se situe généralement en pH très acide. Or dans bien des cas, le transport bactérien concerne des environnements avec des pH proches de la neutralité (entre 6 et 8) valeurs bien supérieures au PIE des bactéries. Si on fait exception des