



**HAL**  
open science

# Influence de l'association de quantum dots ZnO avec des ions $\text{Cu}^{2+}$ sur leur (photo)toxicité. Nouveaux matériaux ZnO/rGO pour la photocatalyse solaire

Hatem Moussa

## ► To cite this version:

Hatem Moussa. Influence de l'association de quantum dots ZnO avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  sur leur (photo)toxicité. Nouveaux matériaux ZnO/rGO pour la photocatalyse solaire. Autre. Université de Lorraine, 2016. Français. NNT: 2016LORR0036 . tel-01752216

**HAL Id: tel-01752216**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752216>**

Submitted on 29 Mar 2018

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



**Influence de l'association de quantum dots ZnO avec des ions Cu<sup>2+</sup> sur leur (photo)toxicité. Nouveaux matériaux ZnO/rGO pour la photocatalyse solaire.**



**Hatem Moussa**

**Thèse**

Pour l'obtention du titre de

**Docteur de l'Université de Lorraine et de l'Université de Carthage**

**Mention : « Génie des Procédés et des Produits »**

**Et « Sciences Biologiques »**

**Thèse soutenue publiquement le 10 mars 2016**

**COMPOSITION DU JURY**

**Rapporteurs :**

- **Marie-Pierre Fontaine-Aupart**, Directrice de Recherche CNRS, Orsay
- **Safia El-bok**, Maître Assistante, Université Tunis-El Manar, Tunis

**Examineurs :**

- **Lavinia Balan**, Chargée de Recherche CNRS, Mulhouse
- **Eric Brenner**, Maître de Conférences, Université de Strasbourg, Strasbourg

**Invité :**

- **Christophe Merlin**, Maître de Conférences, Université de Lorraine, Nancy

**Directeurs de Thèse :**

- **Raphaël Schneider**, Professeur, Université de Lorraine, Nancy
- **Mossadok Ben-Attia**, Professeur, Faculté des sciences de Bizerte, Bizerte



# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à : A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde, à toi mon père.*

*A la mémoire de la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, que Dieu te garde dans son vaste paradis ; Maman que j'adore.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et sœurs ; Hossem, Hazem, Hamdi, Abir et Marwa. Et aussi pour mon petit neveu Moemen.*

*A tous mes Amis spécialement Adnene, Nabil et Abdessalem. Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.*



# Remerciements

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer cette thèse.*

*Ce mémoire est une occasion pour exprimer à Monsieur **Raphaël Schneider**, Professeur à l'Université de Lorraine, toute ma gratitude. Je vous remercie très sincèrement pour votre intérêt porté à ce sujet et pour m'avoir permis de réaliser ce modeste travail qui m'a tant appris. Pour votre sympathie, votre disponibilité, vos idées, et surtout pour vos qualités humaines et conseils, ainsi que pour votre aide précieux de tous les jours sans laquelle ce travail n'aurait pas pu être réalisé. Veuillez trouver un témoignage de ma haute considération.*

*Je remercie sincèrement Monsieur **Mossadok BEN ATTIA**, pour tous les efforts qu'il a déployés pour m'aider à réaliser ce travail. Je le remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

*J'exprime ma vive reconnaissance à Monsieur **Christophe Merlin** pour m'avoir accueilli dans son Laboratoire. Je lui témoigne toute ma gratitude pour ses conseils scientifiques et ses encouragements. Je ne peux que le remercier d'avoir accepté d'assister à cette soutenance et d'avoir manifesté tant d'intérêt pour mon sujet.*

*J'adresse mes respectueux remerciements à Madame **Marie-Pierre Fontaine-Aupart** et à Madame **Safia El-Bok** d'avoir accepté de juger et d'être les rapporteurs de cette thèse.*

*Je remercie Madame **Lavinia Balan** et Monsieur **Eric Brenner** qui m'ont fait l'honneur de participer au Jury de soutenance.*

*Je remercie Monsieur **Xavier Bellanger**, Faculté de Pharmacie, Pôle de l'Eau, pour son aide et sa disponibilité.*

*Je remercie mon ami **Sami Rtimi**, Ecole polytechnique fédérale de lausanne (EPFL), pour son aide, sa disponibilité et pour ses conseils et ses encouragements.*

*Mes remerciements les plus chaleureux vont à tous mes camarades au LRGF pour leurs encouragements et pour l'ambiance agréable tout au long de ce travail et en particulier à **Florian Donat, Aleksandra Schejn** pour sa présence dans les moments difficiles et grâce à qui j'ai passé d'excellents moments : **Bilel, Anna, Atef, Oleksii, Aurélie, Faouzi, Zahraa , Khalil, Martin et Syama.***

*Je ne saurais passer sous silence tous les membres du laboratoire de Biosurveillance à la faculté des sciences de Bizerte, pour les bons moments passés ensemble, **Mouna, Asma , Nabil, Ahmed et Safé** ... Merci !*

*Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes. Que me pardonnent celles que j'oublie ici.*







# **Table des Matières**



**Table des Matières**

|  |    |
|--|----|
| Remerciements.....   | 4  |
| Table des Matières.....  | 10 |
| Liste des Abréviations.....  | 16 |
| Introduction Générale.....   | 22 |
| Chapitre I. Introduction, propriétés, synthèse et utilisations des nanoparticules ZnO..... | 28 |
| I.1 Définition d'une nanoparticule.....  | 28 |
| I.2 Propriétés des nanoparticules de ZnO.....  | 28 |
| I.3 Synthèses des particules ZnO.....  | 29 |
| I.4 Structure des particules ZnO.....  | 32 |
| I.4.1 Structures Unidimensionnelles (1D).....  | 34 |
| I.4.2 Structures Bidimensionnelles (2D).....   | 35 |
| I.4.3 Structures Tridimensionnelles (3D).....  | 36 |
| I.5 Utilisation des nanoparticules de ZnO.....   | 37 |
| I.5.1 Les applications pharmaceutiques et cosmétiques.....                                 | 38 |
| I.5.1.1 Biocapteurs.....   | 38 |
| I.5.1.2 Traitement des tumeurs.....  | 38 |
| I.5.1.3 Thérapie génique.....  | 39 |
| I.5.1.4 Administration des médicaments.....  | 39 |
| I.5.2 Les applications électroniques.....  | 40 |
| I.5.2.1 Capteurs de gaz.....   | 40 |
| I.5.2.2 Cellules solaires.....   | 41 |
| I.5.2.3 Dispositifs électroniques (LEDs, stockage des données,).....                       | 41 |
| I.5.3 Industrie textile.....   | 42 |
| I.5.4 Produits cosmétiques.....  | 42 |
| I.5.5 Autres utilisation.....  | 43 |
| I.6 Références bibliographiques.....   | 44 |
| Chapitre II. Toxicité et cytotoxicité des nanoparticules ZnO                               |    |
| II.1 Généralités sur la toxicité de ZnO.....   | 56 |
| II.2 Normes de l'OMS sur la toxicité de ZnO.....   | 56 |

|   |    |
|---|----|
| II.3 Voie d'exposition aux nanoparticules ZnO chez l'être humain.....   | 57 |
| II.3.1 voie cutanée.....  | 57 |
| II.3.2 voie pulmonaire.....   | 58 |
| II.4 Toxicité vis-à-vis de l'être humain.....   | 59 |
| II.5 Toxicité vis-à-vis des virus .....   | 59 |
| II.6 Toxicité vis-à-vis des Tumeurs.....  | 60 |
| II.7 Toxicité vis-à-vis des plantes.....  | 60 |
| II.8 Toxicité vis-à-vis des bactéries.....  | 61 |
| II.8.1 Cytotoxicité vis-à-vis de la bactérie <i>E. coli</i> .....   | 61 |
| II.8.2 Cytotoxicité vis-à-vis d'autres familles de bactéries.....   | 63 |
| II.9 Mécanismes de toxicité.....  | 64 |
| II.9.1 Production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs).....  | 65 |
| II.9.2 Libération d'ions Zn <sup>2+</sup> .....   | 66 |
| II.9.3 Interactions électrostatique avec la bactérie.....   | 67 |
| II.10 Facteurs influençant la toxicité.....   | 68 |
| II.10.1 Concentration des nanoparticules.....   | 68 |
| II.10.2 Agrégation des nanoparticules.....  | 68 |
| II.10.3 Dopage des nanoparticules.....  | 69 |
| II.10.4 Stabilisants des nanoparticules.....  | 69 |
| II.11 Références bibliographiques.....  | 69 |
| Chapitre III. Trace amounts of Cu <sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots..... | 78 |
| Introduction.....   | 80 |
| Abstract.....   | 82 |
| III.1 Introduction.....   | 82 |
| III.2. Experimental.....  | 84 |
| III.2.1. Synthesis of oleate-capped ZnO QDs.....  | 84 |
| III.2.2. Synthesis of Cu-doped ZnO QDs (ZnO:Cu QDs).....  | 85 |
| III.2.3. Synthesis of APTMS-capped ZnO and ZnO:Cu QDs.....  | 85 |
| III.2.4. Synthesis of ZnO QDs with Cu <sup>2+</sup> ions adsorbed at their surface (ZnO@APTMS/Cu).....                  | 85 |

|   |     |
|---|-----|
| III.2.5. DST assays.....  | 86  |
| III.2.6. NBT assays.....  | 86  |
| III.2.7. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> assays.....  | 87  |
| III.2.8. Singlet oxygen detection.....  | 87  |
| III.2.9. Cytotoxicity assays.....   | 88  |
| III.3. Results and discussion.....  | 89  |
| III.3.1. Synthesis and characterization of ZnO QDs.....   | 89  |
| III.3.2. ROS production from ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs.....  | 94  |
| III.3.3. Cytotoxicity towards Escherichia coli cells.....   | 101 |
| III.4. Conclusions.....   | 105 |
| III.5. References.....  | 106 |
| III.6. Supporting information.....  | 113 |
| Chapitre IV. Photocatalyse.....   | 128 |
| IV.1. Généralités.....  | 130 |
| IV.2. Différents semi-conducteurs utilisés en photocatalyse.....  | 131 |
| IV.3. Facteurs influençant l'efficacité du photocatalyseur.....   | 131 |
| IV.4. Oxyde de graphène.....  | 132 |
| IV.4.1. Synthèse de l'oxyde de graphène.....  | 132 |
| IV.5. Oxyde de graphène réduit (rGO).....   | 134 |
| IV.6. ZnO et photocatalyse.....   | 135 |
| IV.7. Le graphène en photocatalyse.....   | 137 |
| IV.8. Activité photocatalytique de ZnO associé avec le graphène.....  | 139 |
| IV.9. Références.....   | 140 |
| Chapitre V. ZnO rods/reduced graphene oxide composites prepared via a solvothermal reaction for efficient sunlight-driven photocatalysis..... | 148 |
| Introduction.....   | 150 |
| Abstract.....   | 152 |
| V.1. Introduction.....  | 152 |
| V.2. Experimental section.....  | 154 |
| V.2.1. Materials.....   | 154 |

|  |     |
|--|-----|
| V.2.2. Preparation of exfoliated graphene oxide.....                           | 154 |
| V.2.3. Reduction of GO.....  | 155 |
| V.2.4. Solvothermal synthesis of ZnO rods and of ZnO/rGO composites.....       | 155 |
| V.2.5. Photocatalytic degradation of Orange II.....                            | 156 |
| V.2.6. Characterization.....   | 156 |
| V.3. Results and discussion.....   | 157 |
| V.3.1. Synthesis and characterization of ZnO/rGO composites.....               | 157 |
| V.3.2. Photocatalytic experiments.....   | 166 |
| V.3.2.1. Influence of photocatalyst loading.....                               | 166 |
| V.3.2.3. Effect of dye concentration.....                                      | 169 |
| V.3.2.3 Influence of the pH.....   | 170 |
| V.3.2.4. Influence of ions and molecules on the photocatalytic efficiency..... | 170 |
| V.3.2.5. Recycling of the catalyst.....  | 172 |
| V.3.2.6. Photocatalytic mechanism.....   | 174 |
| V.4. Conclusions.....  | 175 |
| V.5. References.....   | 176 |
| V.6. Supporting information.....   | 181 |
| Conclusion Générale et Perspectives.....                                       | 188 |
| Liste des Figures.....   | 192 |
| Résumé.....  | 198 |
| Abstract.....  | 199 |



# Liste Abréviations



## Liste Abréviations

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>1D</b>                        | structures unidimensionnelles          |
| <b><math>^1\text{O}_2</math></b> | oxygène singulet                       |
| <b>2D</b>                        | structures bidimensionnelles           |
| <b>3D</b>                        | structures tridimensionnelles          |
| <b>ACE</b>                       | antigène carcino-embryonnaire          |
| <b>APTMS</b>                     | 3-Aminopropyltriméthoxysilane          |
| <b>BC</b>                        | bande de conduction                    |
| <b>BET</b>                       | Brunauer-Emmett-Teller                 |
| <b>BLG</b>                       | graphène bi-couche                     |
| <b>BV</b>                        | bande de valence                       |
| <b><i>C. jejuni</i></b>          | <i>Campylobacter jejuni</i>            |
| <b>CDs</b>                       | cellules dendritiques                  |
| <b>CLSM</b>                      | microscopie confocale à balayage laser |
| <b>CSC</b>                       | cellules solaires à colorant           |
| <b>DCV</b>                       | dépôt chimique en phase vapeur         |
| <b>DPV</b>                       | dépôt physique en phase vapeur         |
| <b>DRS</b>                       | diffuse reflectance absorption spectra |
| <b>DST</b>                       | Disodium terephthalate                 |
| <b><i>E. coli</i></b>            | <i>Escherichia coli</i>                |
| <b>EELS</b>                      | Electron energy loss spectroscopy      |
| <b>EROs</b>                      | espèces réactives d'oxygène            |

## Liste Abréviations

---

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| <b>FLG</b>                        | graphène contenant quelques feuillets                              |
| <b>GaN</b>                        | Nitride de gallium   |
| <b>GO</b>                         | Oxyde de graphène  |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | Peroxyde d'hydrogène   |
| <b>HRP</b>                        | Enzyme horseradish peroxidase                                      |
| <b>HSV-1</b>                      | Virus herpès simplex   |
| <b>ICP-OES</b>                    | Couplage plasma induit par haute fréquence – spectrométrie optique |
| <b>IRM</b>                        | Imagerie de résonance magnétique                                   |
| <b>ISO</b>                        | International Organization for Standardization                     |
| <b>LCV</b>                        | Leuco crystal violet   |
| <b>LEDs</b>                       | diodes électroluminescentes  |
| <b>LPS</b>                        | Lipopolysaccharides  |
| <b>MB</b>                         | Methylene blue   |
| <b>ME</b>                         | membranaire externe de la bactérie                                 |
| <b>NBT</b>                        | Nitroblue tetrazolium  |
| <b>NPs</b>                        | Nanoparticules   |
| <b>NTC</b>                        | Nanotubes de carbone   |
| <b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b> | radical superoxyde   |
| <b>OH<sup>•</sup></b>             | radical hydroxyle  |
| <b>OMS</b>                        | Organisation mondiale de la santé                                  |
| <b>PL</b>                         | Photoluminescence  |
| <b>QDs</b>                        | Quantum dots   |
| <b>QY</b>                         | Quantum yield  |
| <b>RB</b>                         | Rose Bengal  |

## Liste Abréviations

---

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>rGO</b>              | oxyde de graphène réduit                  |
| <b><i>S. aureus</i></b> | <i>Staphylococcus aureus</i>              |
| <b>SAED</b>             | Selected area electron diffraction        |
| <b>SDA</b>              | dispositifs acoustiques                   |
| <b>SEM</b>              | Scanning electron microscope              |
| <b>SLG</b>              | graphène mono-couche                      |
| <b>SOSG</b>             | Singlet Oxygen Sensor Green               |
| <b>STEM</b>             | Scanning transmission electron microscopy |
| <b>TEM</b>              | Microscopie électronique en transmission  |
| <b>TiO<sub>2</sub></b>  | Dioxyde de titane                         |
| <b>TMAH</b>             | Tetramethylammonium hydroxyde             |
| <b>TNF</b>              | Facteur de nécrose tumorale               |
| <b>UFC</b>              | Unités formant des colonies               |
| <b>UV</b>               | Rayons ultraviolets                       |
| <b>XPS</b>              | X-ray photoelectron spectroscopy          |
| <b>XRD</b>              | X-ray Diffraction                         |
| <b>ZnO</b>              | Oxyde de Zinc                             |





---

# **Introduction Générale**





# Introduction Générale

Ces dernières années, les énormes progrès réalisés en nanotechnologie ainsi qu'en science des matériaux ont conduit à la synthèse de nombreuses nouvelles nanoparticules sans réellement connaître l'ensemble des propriétés associées à leurs dimensions. Cosmétiques, emballages, automobiles, textiles,... les nanoparticules ont envahi notre quotidien. Les industriels y voient la solution à de nombreux problèmes car ces nanoparticules possèdent des propriétés physico-chimiques exceptionnelles par rapport aux matériaux massifs. Cependant, les risques encourus avec des matériaux qui possèdent des propriétés dépendantes de leur taille, de leur morphologie et de leur composition, génèrent de nombreuses craintes susceptibles de freiner leur acceptation par une large majorité de l'opinion publique.

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) sont un des produits phares de la gamme des nanomatériaux. En raison de ses propriétés physicochimique et optiques, ZnO est présent dans de très nombreux produits comme les peintures, les produits pharmaceutiques, les cellules solaires, les photocatalyseurs, les antibactériens, les médicaments,...

Il a récemment été démontré que les nanoparticules de ZnO présentaient une activité cytotoxique très supérieure à celle attendue pour les éléments les composant. Cette toxicité aurait deux sources, une libération d'ions  $Zn^{2+}$  et une production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs), avec des contributions relatives qui restent encore difficiles à anticiper. Si la libération de métaux dépend de la composition et la stabilité de la nanoparticule, la production d'EROs est directement liée à la nature réactive de la nanoparticule et de sa chimie de surface.

Notre travail se divise en deux grandes parties :

- La première décrit la synthèse, la production photo-induite d'EROs et des études toxicologiques sur les Quantum Dots (QDs) de ZnO. Ce chapitre est divisé en trois sections:

- Tout d'abord, la synthèse, la dispersion en milieu aqueux et la caractérisation de trois des QDs, ZnO et ZnO dopé avec du cuivre et ZnO modifié avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  en surface,
  - Puis, l'étude de la capacité de ces trois QDs à générer des EROs ( $\text{OH}^\circ$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^\circ$ ,  $^1\text{O}_2$ ),
  - Et enfin, l'étude de la toxicité de ces trois nanoparticules vis-à-vis de la bactérie *E. coli*.
- La seconde partie porte sur l'étude de l'activité photocatalytique des nanobâtonnets de ZnO.

Ce chapitre est divisé en deux paragraphes :

- La synthèse et la caractérisation de nanobâtonnets de ZnO associés à l'oxyde de graphène réduit via une méthode solvothermale,
- L'étude de l'activité photocatalytique du nanocomposite ZnO/rGO pour la dégradation du colorant Orange II sous irradiation solaire ou visible et l'influence des conditions de milieu sur l'efficacité du catalyseur.

Le manuscrit est divisé en cinq grands chapitres :

- Le chapitre I présente une synthèse bibliographique très générale sur les nanoparticules de ZnO. Leurs propriétés physico-chimiques, les différentes méthodes des synthèses, ainsi que les nombreuses structures (unidimensionnelle, bidimensionnelle, et tridimensionnelle) pouvant être préparées sont décrites. Ce chapitre se termine par une description des diverses utilisations et applications des nanoparticules de ZnO.
- Le chapitre II est également une synthèse bibliographique sur la toxicité des nanoparticules ZnO, sur leur mécanisme d'action, ainsi que sur leurs effets sur différents organismes et les facteurs qui influencent la cytotoxicité.
- Le chapitre III présente notre étude sur les QDs ZnO et sur l'effet du dopage ou de l'association avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  sur la capacité de ces nanoparticules à générer des EROs. Ce chapitre se termine par une étude toxicologique de la croissance de la bactérie *E. coli* en présence des QDs ZnO à la lumière ou à l'obscurité. Ces résultats sont présentés par notre article publié dans « Journal of Hazardous Materials ».

Hatem Moussa, Christophe Merlin, Clément Dezanet, Lavinia Balan, Ghouti Medjahdi, Mossadok Ben-Attia, Raphaël Schneider, Trace amounts of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots. *Journal of Hazardous Materials* 304 (2016) 532–542. [doi:10.1016/j.jhazmat.2015.11.013](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.11.013)

- Le chapitre IV présente une synthèse bibliographique sur la photocatalyse à l'aide de nanoparticules de semi-conducteurs, les facteurs qui influencent l'efficacité des photocatalyseurs, et l'activité photocatalytique des nanoparticules ZnO associées ou non à des matériaux graphitiques.
- Le chapitre V présente notre étude sur la synthèse et l'association des nanoparticules de ZnO avec l'oxyde de graphène réduit. Cette étude est présentée via notre article publié dans le journal : « *Applied Catalysis B : Environmental* ». Hatem Moussaa, Emilien Giro, Kevin Mozet, Halima Alem, Ghouti Medjahdi, Raphaël Schneider, ZnO rods/reduced graphene oxide composites prepared *via* a solvothermal reaction for efficient sunlight-driven photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental* 185 (2016) 11–21. [doi:10.1016/j.apcatb.2015.12.007](https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.12.007)
- La dernière partie de ce mémoire se compose de la conclusion et des perspectives sur les nanoparticules ZnO à la fois en termes de toxicité et d'activité photocatalytique.



# **Chapitre I. Introduction, Propriétés, Synthèse et Utilisations des Nanoparticules ZnO**



## **I.1 Définition d'une nanoparticule**

La propriété la plus remarquable d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouvent en surface. Cela confère à la nanoparticule une surface d'échange (ou surface spécifique) très importante résultant dans des propriétés physiques et chimiques particulières. Ces propriétés peuvent entraîner des effets biologiques très particuliers, qui restent encore largement incompris, notamment si les nanoparticules entrent en contact avec le vivant. Les sources de nanoparticules sont diverses : il existe des nanoparticules naturelles (fumées des volcans, par exemple), produites par l'homme de manière non intentionnelle (particules issues de moteurs diesel ou particules contenues dans la fumée de soudage) ou produites par l'homme de manière intentionnelle en raison de leur nouvelles propriétés (nanoparticules manufacturées).

Beaucoup de nanoparticules sont des produits synthétisés en raison des propriétés uniques spécifiques à leurs dimensions. Des progrès substantiels ont été réalisés, ces dernières années, au regard de leur définition notamment par la formation de groupes d'experts qui travaillent à l'élaboration de normes. On constate, aujourd'hui, qu'un consensus international existe. On peut citer ceux de l'Institut Britannique de Normalisation [BSI, 2005], de l'American Society for Testing and Materials [ASTM, 2006], du groupe nordique [Schneider et al, 2007] et les normes ISO [ISO, 2008]. Les nanoparticules sont définies comme des particules de synthèse ayant une ou plusieurs dimensions de moins de 100 nm. Par contre, la terminologie relative aux différents aspects des nanotubes fait encore l'objet de discussions.

## **I.2 Propriétés des nanoparticules de ZnO**

Au cours des dernières années, les nanoparticules de ZnO sont devenues l'un des nanomatériaux les plus produits. ZnO est l'un des matériaux phare commercialisé par Bayer Corporation (Bayer, Co, LTD), le premier fournisseur des nano-ZnO sur le marché.

ZnO, avec des propriétés physiques et chimiques uniques, telles qu'une grande stabilité chimique, un coefficient de couplage électrochimique élevé, une large gamme d'absorption et une photostabilité élevée, est un matériau multifonctionnel. ZnO est classé comme un semi-conducteur du groupe II-VI et est sur la frontière entre semiconducteur ionique et covalent.

ZnO est un semiconducteur direct à large bande interdite (3,37 eV à température ambiante). L'énergie de l'exciton est 60 meV [Li et al. 2007], valeur beaucoup plus élevée que celle des



matériaux semiconducteurs à bande interdite large, tels que GaN (21 à 25 meV) et ZnSe (20 à 22 meV) [Uthirakumar et al. 2007]. Cette grande énergie de l'exciton de ZnO permet une émission excitonique efficace, même à température ambiante, et confère à ce matériau des propriétés très avantageuses pour de nombreux dispositifs photoniques [Peng et al. 2006]. Le semiconducteur ZnO peut également absorber dans l'infrarouge.

En raison de ces diverses propriétés et des applications potentielles de ZnO, il y a eu beaucoup de travaux consacrés à la préparation de nanocristaux et de films de ZnO au cours de ces dernières années [Singh et al. 2008].

### **I.3 Synthèses des particules ZnO**

ZnO peut être produit dans une très riche variété de structures et offre une large gamme de propriétés. Différentes approches ont été développées au cours des dernières années pour la synthèse de nanoparticules de ZnO. On peut les diviser en trois catégories, les synthèses en phase vapeur, en solution et en phase solide [Muccillo et al. 2004]. Parmi ces procédés, les méthodes les plus courantes sont le transport de vapeur [Yu et al. 2005], la pyrolyse par pulvérisation [Liu et al. 1986], la décomposition thermique [Liewhiran et al 2006], la synthèse hydrothermale [Liu et al. 2003b], le procédé sol-gel [Lauf et al. 1984, Peng et al. 2006], et les précipitations directes [Chen C et al. 2008 ; Siqingaowa et al. 2006].

Le dépôt physique en phase vapeur (DPV) et le dépôt chimique en phase vapeur (DCV) ont été mis au point pour la synthèse de nanoparticules de ZnO de structures complexes telles que des agglomérats « fleur-like » et « web-like ». Ces procédés nécessitent généralement plusieurs étapes, des équipements sophistiqués et de hautes températures et ne sont pas couramment utilisés pour la synthèse de nanoparticules de ZnO.

Les procédés chimiques en solution et à basse température tels que l'hydrolyse, la précipitation et la synthèse hydrothermale sont efficaces et sont les plus couramment utilisés pour la préparation d'une grande variété de nanostructures de ZnO.

La précipitation a été utilisée avec succès pour concevoir des structures de ZnO [Sepulveda et al. 2009]. P. Uthirakumar et *al.* ont notamment synthétisé des nanoparticules de ZnO en utilisant une voie en phase liquide, sans l'aide d'une base, d'agent tensio-actif ou de « template » et cela à basse température et via un procédé en une seule étape. Ces auteurs ont montré que la

croissance cristalline de ZnO était très sensible au mélange de solvants, et donc à la miscibilité, à leur polarité et à l'homogénéité du précurseur dans le milieu réactionnel.

Sepulveda et *al.* ont synthétisé des structures submicroniques de ZnO par une précipitation en phase aqueuse [Sepulveda et al. 2009]. Ils suggèrent que le mécanisme de croissance de ZnO s'opère par auto-agrégation, et qu'un tel regroupement orienté peut être amélioré en augmentant la température de la réaction.

J. Wang et L. Gao ont synthétisé des nanoparticules de ZnO assemblées en objets unidimensionnels en utilisant une méthode de modèle-libre [J. Wang et L. Gao]. Ils ont montré que de longs fils reliés par de nombreux nanocristaux de ZnO hexaédraux pouvaient être obtenus après un recuit à une température de plus de 500°C. Les propriétés des nanoparticules de ZnO influent fortement sur la microstructure des matériaux, y compris la taille des cristaux, leur morphologie, leur orientation, le rapport d'aspect, et même la densité cristalline [Liu B et al. 2003].

Tableau .I.1: Synthèses et propriétés des nanoparticules de ZnO [Zhong Lin Wang, 2004].

| Méthodes              | Précurseurs  | Propriétés  | Références                  |
|-----------------------|--|---|-----------------------------|
| <b>Mécanochimique</b> | ZnCl <sub>2</sub> , Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , NaCl                                 | Structure wurtzite                                | [Aghababazadeh et al. 2006] |
| <b>Précipitations</b> | ZnSO <sub>4</sub> , NaOH   | Structure wurtzite                                | [Kumar, S.S. et al. 2013]   |
|                       | Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>        | Structure wurtzite                                | [Rataboul et al. 2002]      |
|                       | Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , NaOH  | Structure hexagonale, forme en fleur              | [Kumar,K.M et al.,2013]     |
|                       | ZnCl <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> OH, CTAB (bromure de cétyl triméthylammonium)          | Structure zincite; taille de particule : 54-60 nm | [Polsongkram et al., 2008]  |
| <b>Sol-gel</b>        | Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , NaOH, PVP (polyvinylpirrolidone)                    | Structure wurtzite                                | [Singh et al. 2013]         |
|                       | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> Zn, TMAH (hydroxyde de tétraméthylammonium) | Taille de particule: 20-50 nm                     | [Ristic et al., 2005]       |
|                       | Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , acide oxalique, éthanol                             | Structure wurtzite                                | [Sharma et al, 2012]        |
| <b>Hydrothermale</b>  | Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , méthanol, NaOH                                      | Structure wurtzite                                | [Aneesh et al., 2007]       |
|                       | Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , HMT C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub>      | Structure wurtzite                                | [Polsongkram et al. 2008]   |
| <b>Solvothermale</b>  | Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , PVP, ethanol, NaOH                                  | Structure wurtzite                                | [Yiamsawas et al, 2009]     |
|                       | ZnSO <sub>4</sub> , NaOH, Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , acide stéarique                | Structure wurtzite                                | [Segovia et al. 2012]       |

La variété des méthodes de production de ZnO permet d'obtenir des particules différentes par leur forme, leur taille et leur structure spatiale.

#### **I.4 Structures des nanoparticules de ZnO**

L'oxyde de zinc peut être produit en des particules (1D), (2D) ou (3D). Les structures unidimensionnelles sont le plus grand groupe, comprenant les nanotubes [Banerjee et al. 2003, Frade et al. 2012] et tubes [Wu et al. 2002, Liu et al. 2005], les aiguilles [Wahab et al. 2007], les hélices, ressorts et anneaux [Kong et al. 2004], les rubans [Pan et al. 2001], les ceintures [Huang et al. 2016], les fils [Nikoobakht et al. 2013, Cui et al. 2012] et les formes peigne [Xu et al. 2012]. L'oxyde de zinc peut être obtenu en 2D, comme par exemple les nanocomprimés, les nanofeuilles, et les nanoplateaux [Chiua et al. 2010, Jose-Yacaman et al. 2005]. Pour les structures 3D d'oxyde de zinc, on peut citer les formes en fleur, en pissenlit, des flocons de neige,... [Polshettiwar et al. 2009, Bitenc et al. 2009] (Fig. I.1).

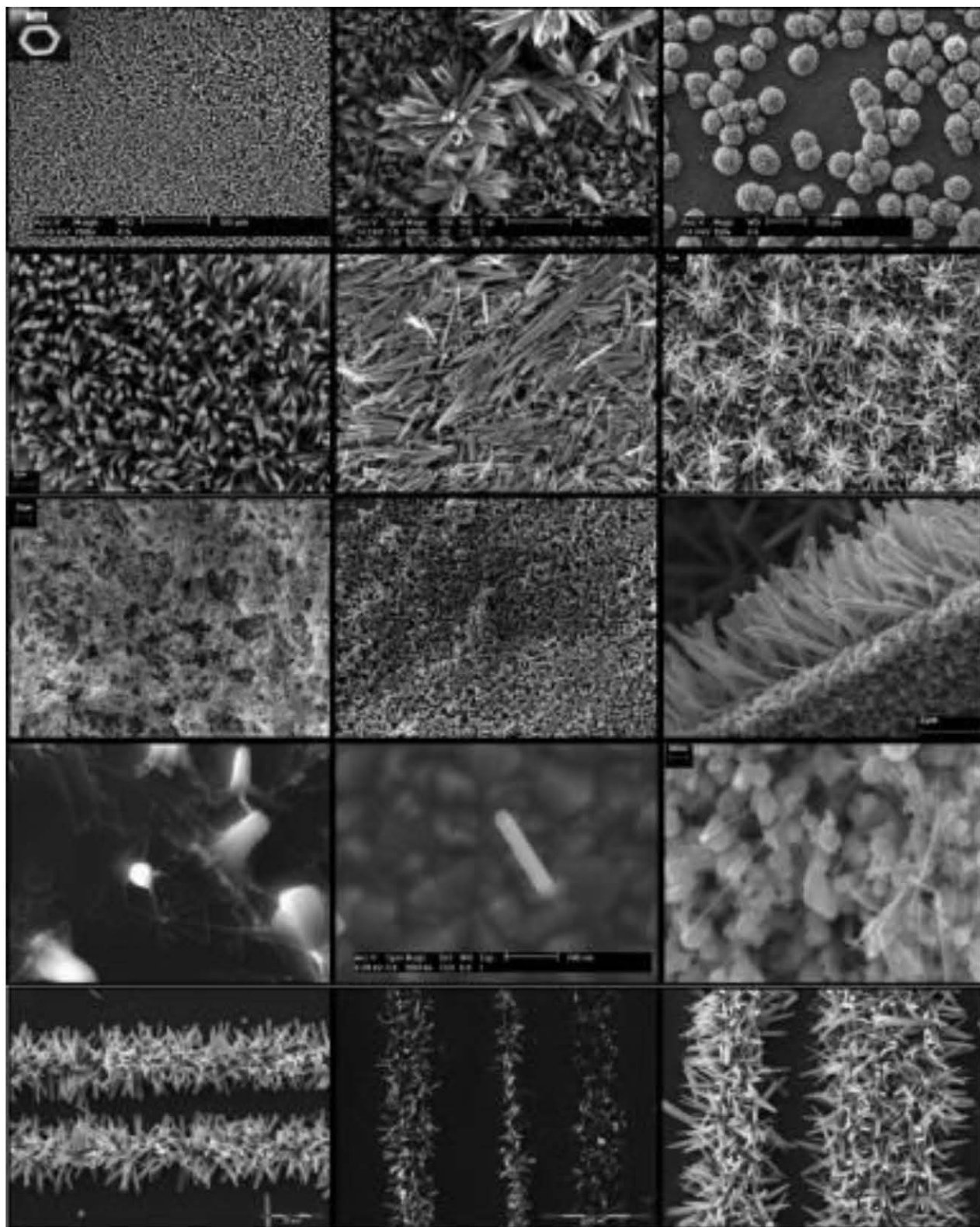
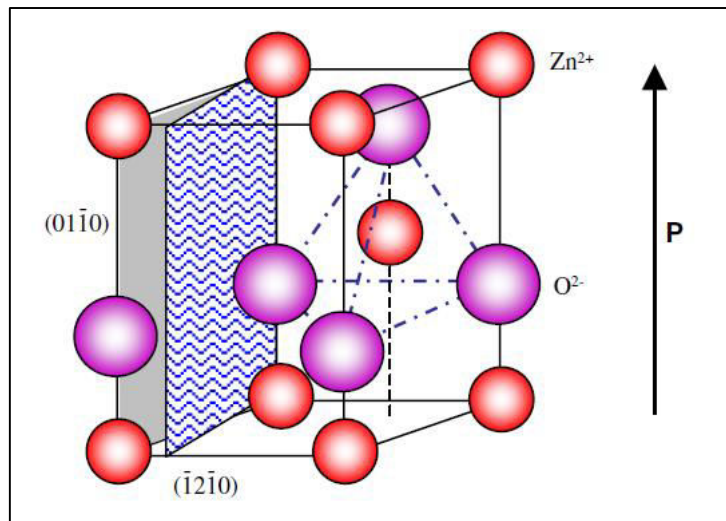


Fig. I.1 : Différentes formes et structures des nanoparticules de ZnO [L. Vayssieres, 2006].

### I.4.1 Structures unidimensionnelles (1D)

Au cours des dernières décennies, l'étude des structures unidimensionnelles de ZnO est devenue une thématique phare en nanoscience et en nanotechnologie. Avec la réduction de la taille, de nouvelles propriétés électriques, mécaniques, chimiques et optiques ont été découvertes et sont considérées comme résultant de la grande surface et de l'effet de confinement quantique. Les structures nanofils sont le système idéal pour étudier le processus de transport unidimensionnel dans les objets confinés, et permettent non seulement la compréhension des phénomènes fondamentaux dans les systèmes de faible dimension, mais aussi le développement d'une nouvelle génération de nano-dispositifs avec de hautes performances [Radzimska, Jesionowski, 2014].



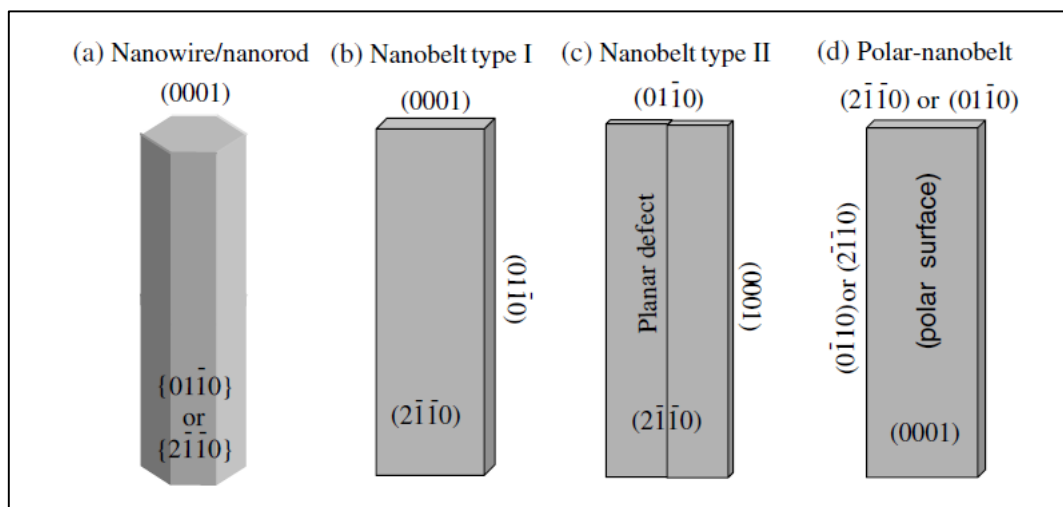
**Fig. I.2 :** Modèle de structure wurtzite de ZnO. Représentée la coordination tétraédrique de ZnO. [Zhong Lin Wang, 2004].

Selon Agnieszka Radzimska et Teofil Jesionowski, structurellement, ZnO possède trois directions de croissance rapide :

$(2^- 1^- 10)$  ( $\pm [2^- 1^- 10]$ ,  $\pm [^- 12^- 10]$ ,  $\pm [^- 1^- 120]$ );  $(01^- 10)$  ( $\pm [01^- 10]$ ,  $\pm [10^- 10]$ ,  $\pm [1^- 100]$ );  
et  $\pm [0001]$ .

Avec les surfaces polaires dues aux terminaisons atomiques, ZnO présente un large éventail de nouvelles structures qui peuvent être élaborées en régulant le taux de croissance le long de ces directions [Radzimska, Jesionowski, 2014].

L'un des facteurs le plus important déterminant la morphologie est la réactivité de surface relative des facettes dans des conditions données. Macroscopiquement, un cristal possède différents paramètres cinétiques pour ses divers plans cristallins, et qui dépendent des conditions de croissance. Ainsi, après une période initiale de nucléation, un cristallite va généralement se développer en un objet en trois dimensions bien défini. Les figures I.4a et I.4c montrent quelques morphologies typiques de croissance de nanostructures 1D de ZnO. Ces structures tendent à maximiser les zones des facettes  $\{2^{-1}1^{-}10\}$  et  $\{01^{-}10\}$  de plus faibles énergies. La morphologie présentée sur la Figure I.3d est dominée par les surfaces polaires qui peuvent être exaltées en introduisant des défauts planaires parallèles aux surfaces polaires [Ding Y, et al. 2004]. Les défauts planaires sont observés occasionnellement de manière parallèle au plan (0001), et les dislocations sont rarement observées.



**Fig. I.3 :** Morphologies typiques de croissance de nanostructures et les facettes de ZnO unidimensionnels correspondantes. [Zhong Lin Wang, 2004].

#### I.4.2 Structures bidimensionnelles (2D)

Parmi les différentes nanostructures, les nanostructures (2D) de ZnO possèdent des propriétés remarquables en raison de leur forte anisotropie et de leur faible épaisseur à l'échelle du

nanomètre [Jang et al, 2006, Deng et al, 2013]. Cette morphologie unique génère une surface spécifique très grande et un degré élevé de facettes actives de cristal, conduisant à de nouvelles propriétés physico-chimiques telles que l'amélioration de la capacité d'adsorption et l'activité catalytique [Lee et al, 2010, Liu et al, 2011]. D'autre part, les nanostructures 2D sont considérées comme le système idéal pour le phénomène de transport dimensionnellement confiné en raison de l'amélioration de la capture d'électrons [Tusche et al, 2007]. En particulier, les nanofeuilles 2D monocristallines permettent le transport à travers la structure des charges [Wang et al, 2007]. Comme la réaction photocatalytique se produit à l'interface entre les catalyseurs et les molécules organiques, la surface spécifique et la configuration atomique {0001} des facettes polaires de ZnO influencent fortement son activité photocatalytique [Li et al, 2010]. De plus, un réglage fin de l'orientation des facettes polaires {0001} à la surface du matériau conduit à l'amélioration de l'activité photocatalytique de nanostructures de ZnO [Jang et al, 2006, Liu et al, 2011 ; Wang et al, 2007]. Jusqu'à présent, la méthode classique pour la synthèse de nanofeuilles ZnO avec des facettes polaires de structure {0001} est la méthode physique. Par exemple, Tusche et *al.* ont rapporté un dépôt laser pulsé pour préparer d'épais films de ZnO (0001) sur Ag (111) [Tusche et al, 2007]. Cependant, cette méthode n'est pas efficace pour introduire de la porosité dans la structure 2D.

La méthode hydrothermale a été utilisée avec succès pour préparer des nanofeuilles de ZnO poreux par calcination de l'intermédiaire acétate-hydroxyle de zinc ou de l'hydroxyde carbonate de zinc [Zhang et al, 2009, Jing et al, 2008, Wang et al, 2011]. Des travaux récents ont démontré que des nanofeuillets ZnO avec des facettes polaires {0001} peuvent être générés en utilisant des polymères ou agents tensioactifs comme modificateurs de croissance [Zhang et al, 2009]. Les nanofeuillets ZnO obtenus avec des facettes polaires {001} sont généralement sans structure poreuse [Zhang et al, 2007]. Plus récemment, Crossland *et al.* ont décrit des poudres monocristallines de TiO<sub>2</sub> mésoporeux via un intermédiaire de SiO<sub>2</sub> colloïdale auto-assemblée [Crossland et al, 2013]. Mais cette méthode ne permet pas la préparation des nanofeuillets 2D. Par conséquent, la synthèse des nanofeuilles 2D de ZnO mésoporeux monocristallin avec exposition des facettes polaires {0001} est encore un défi via la méthode hydrothermale.

#### **I.4.3 Structures Tridimensionnelles (3D)**

La structure ZnO wurtzite peut être considérée comme composée de plans alternés empilés composés de Zn<sup>2+</sup> et ions O<sup>2-</sup> et cet empilement particulier conduit à différentes énergies de surface des plans cristallins permettant une croissance préférentielle selon la direction [0 0 1]



[Zhang et al, 2005 ; Masuda et al, 2009]. Le plan (0 0 2) polaire de ZnO est riche en atomes de Zn et O et sa surface est thermodynamiquement instable, ce qui permet une croissance plus marquée des cristaux pour réduire leur énergie de surface [Zhang et al, 2005 ; Masuda et al, 2009]. Pendant le traitement « step-growth », la forte attraction électrostatique favorise l'adsorption de l'unité ZnO sur le plan polaire (0 0 2), ce qui entraîne une croissance plus rapide le long de la direction [0 1 0] [Lee et al, 2011, Masuda et al, 2009].

Les structures 3D « en mousse » possèdent une très grande surface spécifique et peuvent être utilisées pour fabriquer de gros matériaux monolithiques [Chen et al, 2011]. Cette grande surface a fourni une plate-forme caractérisée par un poids léger, une porosité élevée, une grande stabilité mécanique, et une conductivité électrique, offrant ainsi de grandes promesses technologiques pour une variété d'applications durables telles que le stockage de l'énergie [Xu et al, 2010, 2013], l'adsorption [Nardecchia et al, 2013, Deshpande et al, 2011], et la catalyse [Lee et al, 2014]. Il est donc souhaitable, mais difficile, de préparer des structures de mousse d'oxyde métallique 3D [Babu et al, 2013 ; Lu et al, 2011].

### I.5 Utilisation

En raison de leurs propriétés optiques et électriques, les nanoparticules de ZnO ont été très utilisées dans différents domaines. Parmi les oxydes métalliques, les nanoparticules d'oxyde de zinc correspondent au troisième plus haut volume de la production mondiale après  $\text{TiO}_2$  et  $\text{SiO}_2$  [Piccinno et al., 2012]. La Figure I.4 montre la consommation mondiale de ZnO.

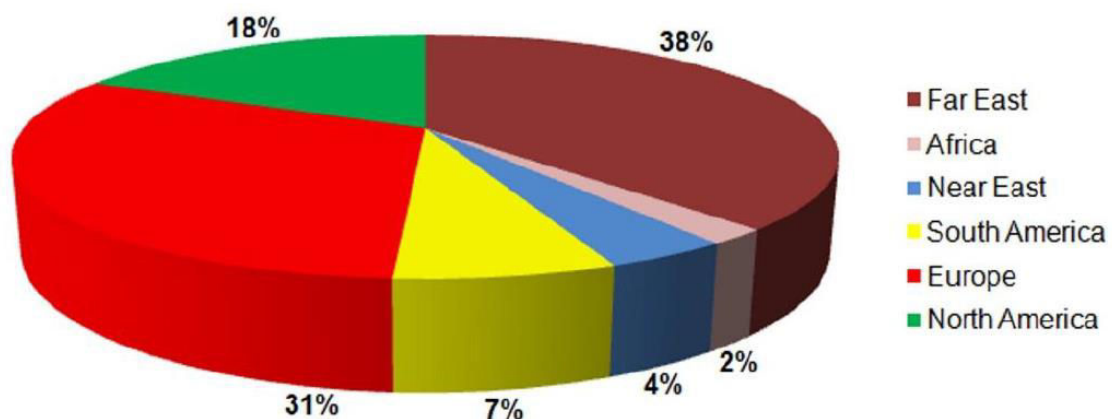


Fig. I.4 : Consommation mondiale d'oxyde de zinc [Radzimska, Jesionowski, 2014]

ZnO est utilisé dans différents domaines et applications [Li et al. 2007] : capteurs de gaz [Huang et al. 2010], marqueurs biologiques [Bruchez et al. 1998], biocapteurs [Cao et al. 2008], cellules électrochimiques [Weller et al. 1996], conversion de l'énergie solaire [Lee et al. 2011], varistances [Lauf et al. 1984], photodiodes UV [Jeong et al. 2003], appareils électriques et optiques [Feldmann. C. 2003, Wang et al. 2003], et dispositifs acoustiques (SDA) [Anisimkin et al. 1995]. ZnO est un matériau peu coûteux et est un semi-conducteur de type n. Sa structure est de type quartzite avec transparence optique dans le domaine du visible [Raoufi et al. 2009]. L'émission de lumière visible de ZnO est d'une grande importance pour les LEDs à lumière blanche [Peng et al. 2006].

## **I.5.1 Les Applications pharmaceutiques et cosmétiques**

### **I.5.1.1 Biocapteurs**

Dans ce domaine, les nanoparticules de ZnO sont utilisées comme un biosenseur. Fang *et al.* ont mis au point une nouvelle approche pour fabriquer un nouveau biocapteur d'hybridation d'ADN qui a été fabriqué à l'aide d'une structure en 3 dimensions ZnO en forme de fleur. Fang *et al.* ont aussi utilisé un nanocomposite biocompatible Au-ZnO pour fabriquer un capteur sensible pour la détection de la dopamine [Fang et al, 2014]. Différentes études dans ce domaine ont également décrit la fabrication de biocapteurs pour détecter l'acide urique [Kim et al, 2006 ; Xi et al, 2013], le glucose [Wang et al, 2010 ; Fang et al, 2016], des protéines [Llegbusi et al., 2010], ou d'autres molécules biologiques [Yang et al., 2009; Zhang et al., 2004]. Les nanoparticules de ZnO sont également utilisées comme biocapteur de cholestérol pour lutter contre le diabète et d'hyperlipidémie, ainsi que pour l'imagerie cellulaire [Wang et al, 2009 ; Dhobale et al, 2008].

### **I.5.1.2 Traitements des tumeurs**

Les nanoparticules de ZnO peuvent détruire les cellules cancéreuses humaines [Rasmussen et al, 2011]. Un intérêt considérable est porté à l'amélioration de la spécificité des nanoparticules et de leurs propriétés anti-cancéreuses par leur fonctionnalisation avec des anticorps ou avec d'autres ligands.

Rasmussen *et al.* ont montré que l'exposition aux nanoparticules de ZnO induit la production d'une variété de cytokines pro-inflammatoires, y compris le TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  et d'IL-12, dans des études *in vitro* et *in vivo* [Sayes et al, 2007 ; Hanley et al 2009 ; Gojova et al, 2007, Beyerle et

al, 2009]. Les nanoparticules ZnO utilisées à faible dose peuvent induire des cytokines pro-inflammatoires. Lorsqu'elles sont utilisées à des concentrations appropriées, les nanoparticules pourraient améliorer la destruction des cellules tumorales par la production de TNF- $\alpha$  (facteur de nécrose tumorale), une cytokine appelée pour sa puissante activité anti-tumorale [Croft, 2009].

Les Cytokines induite par les nanoparticules pourraient aussi faciliter l'efficacité des actions anti-cancer en suscitant un profil des cytokines crucial pour orienter le développement de l'immunité (lymphocyte Th1) [Lappin, 2000].

### **I.5.1.3 Thérapie génique**

Récemment, les nanoparticules ZnO de structure tétrapode ont été synthétisées en tant que nouveaux transporteurs pour l'administration de gènes. Ces tétrapodes fonctionnalisés, composés de ZnO enveloppé par des couches de silice et d'amine modifiés, sont en mesure de lier l'ADN plasmidique via des interactions électrostatiques et d'améliorer l'efficacité de transfection de cellules de mélanome humain (A375) [Nie et al, 2006 ; Nie et al, 2007]. Zhang et al. ont synthétisé des QDs de ZnO qui ont permis d'assurer le transfert de l'ADN dans des cellules COS-7 (lignées de fibroblastes: cellules de rein de singe), et simultanément, l'imagerie de fluorescence du transfert de gène [Zhang et al, 2010].

### **I.5.1.4 Administration de médicaments**

La dernière décennie a vu des avancées significatives dans le diagnostic et la thérapie biomédicale. Les nanoparticules luminescentes ou avec des propriétés magnétiques sont utilisés comme sondes de détection et des transporteurs de médicaments, à la fois *in vitro* et *in vivo*. Les nanoparticules de ZnO, en raison de leur bonne biocompatibilité et leur faible coût, ont un potentiel très prometteur en bio-imagerie et pour l'administration de molécules bioactives au sein du corps humain.

Xiong a montré que des nanocomposites à base de ZnO, injectés dans une souris via la veine de la queue, sont transférés à la tumeur. Les nanocomposites peuvent être des nanoparticules de ZnO chargés avec des médicaments ou des sphères creuses de ZnO contenant des médicaments et sont en mesure de pénétrer dans les cellules cancéreuses par une reconnaissance

ligand-récepteur spécifique ou des liaisons non spécifiques d'interactions hydrophobes ou de Coulomb. Les cellules tumorales et cancéreuses ayant des environnements acides, surtout dans les lysosomes et endosomes, les nanostructures de ZnO vont se décomposer et libérer les médicaments. Ce processus sera détectable par irradiation de lumière UV lorsque la tumeur est proche de la peau de la souris ou par imagerie de résonance magnétique (IRM) lorsque les nanoparticules de ZnO sont dopés [Huan-Ming Xiong, 2013].

Récemment, Cho et al. [Cho et al, 2011] ont synthétisé des nanoparticules Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ZnO pour délivrer des antigènes carcino-embryonnaires (ACE) dans des cellules dendritiques (CDs) et réaliser une immunothérapie anticancéreuse chez la souris. Ces matériaux agissent non seulement comme nano-transporteurs pour délivrer l'antigène, mais également comme un agent d'imagerie pour la détection *in vitro* en utilisant la microscopie confocale à balayage laser (CLSM) et la détection *in vivo* par IRM.

Wang et al. ont synthétisé avec succès un composé à base de ZnO/SiO<sub>2</sub> pour un multi-usage, la bio-imagerie et le transporteur de médicaments. Le matériau ZnO peut être efficacement dissous dans l'environnement acide des cellules cancéreuses et donc libérer efficacement les médicaments anticancéreux. Le déclenchement de la libération est pH-dépendant, ce qui va réduire les effets secondaires indésirables des médicaments. Cette nano-plateforme possède une plus grande cytotoxicité que les médicaments seuls, indiquant leur efficacité thérapeutique dans le traitement du cancer [Wang et al, 2014].

## **I.5.2 Les applications électronique et électrotechnique**

### **I.5.2.1 Capteurs de gaz**

L'urbanisation et l'industrialisation ont créé de graves problèmes de pollution. Plusieurs types de gaz, provenant de l'industrie et des véhicules, peuvent générer un grave problème pour la santé humaine. Par conséquent, il y a un vif intérêt dans l'élaboration de capteurs de gaz possédant une sensibilité de l'ordre du ppm. Récemment, de nombreux chercheurs ont concentré leurs efforts sur les semiconducteurs à base d'oxyde métallique pour développer des capteurs de gaz en raison de leurs multiples avantages, comme leur haute sensibilité, leur réponse rapide, leur faible coût et leur entretien facile. En raison de sa stabilité chimique et thermique, ZnO a été étudiée pour la fabrication de capteurs chimiques. Le premier capteur de gaz à base de ZnO a été fabriqué avec succès par Wan et al. [Wan et al, 2004]. Le mécanisme

des capteurs de gaz à base de ZnO est basé sur la variation de leur conductivité électrique en présence des gaz. À certaines températures, l'oxygène (sous la forme O<sup>-</sup>) adsorbé à la surface de ZnO provoque une extraction des électrons de la bande de conduction de ce dernier, ce qui conduit à une diminution de la conductivité [Yuan et al, 2009 ; Yamazaoe et al, 2008]. En présence de gaz réducteurs dans l'atmosphère, la concentration en ions O<sup>-</sup> diminue à la surface des cristaux de ZnO, ce qui améliore la conductivité de ZnO [Yuan et al, 2009 ; Yamazaoe et al, 2008b].

De nombreux travaux ont montré que ZnO a une très grande sensibilité, principalement envers l'éthanol et de l'acétone [Kim et al 2011 ; Luo et al 2014 ; Chen et al, 2013 ; Tarwal et al, 2013]. L'amélioration de la sensibilité de ZnO vis-à-vis de H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S, NO<sub>2</sub>,... reste un défi. Différents dopages de ZnO par des métaux nobles ont été tenté pour améliorer sa sensibilité [Guo et al, 2012 ; Ahn et al, 2009 ; Tarwal et al, 2013].

### **I.5.2.2 Cellules solaires**

Les cellules solaires à colorant (CSC) basées sur les semiconducteurs d'oxyde métalliques ont émergé comme une approche économique crédible et efficace pour la conversion de l'énergie solaire. ZnO, grâce à ses propriétés physiques, optiques et électroniques uniques est l'un des premiers oxyde semiconducteurs utilisé dans les cellules solaires [Wang, 2004 ; Masuda et al, 2006]. La nanostructure unidimensionnelle de ZnO utilisé peut assurer la collecte rapide des transporteurs et prévenir la recombinaison de charge. Cependant, la surface insuffisante des nanostructures unidimensionnelles est une limitation importante qui restreint l'efficacité de conversion.

Certains chercheurs, pour augmenter la capacité de collecte de lumière, ont utilisé des diffuseurs dans les films de photo-anode [Zhang et al, 2008]. Xu *et al.* ont utilisé ZnO en forme de micro-fleurs comme couche de diffusion pour les CSC à base de ZnO et ont obtenu un rendement de 3,20 % [Xu et al, 2014]. Lin *et al.* ont utilisé une structure sphérique de ZnO comme photo-anode, ce qui améliore le rendement de conversion à 4,13 % [Lin et al, 2015].

### **I.5.2.3 Dispositifs électriques (LEDs, stockages des données...)**

ZnO est un semi-conducteur avec de très bonnes propriétés optiques qui peuvent être valorisées dans différents domaines tels que les lasers de faibles longueurs d'onde, les diodes électroluminescentes bleues, et d'autres dispositifs électroniques.

Les diodes électroluminescentes (LEDs) à base de ZnO ont été considérées comme un candidat potentiel pour la prochaine génération de sources de lumière bleu/proche UV [Xu et al, 2010], et même comme sources de lumière blanche [Lichun et al, 2013 ; Bano et al, 2010] en raison de l'émission multi-couleur produite par des défauts de ce matériau qui couvrent la totalité du spectre visible [Willander et al, 2009].

Des efforts de recherche intensifs ont été axés sur les homo-jonctions de ZnO afin de remplacer le nitrure de gallium (GaN) [Willander et al, 2009 ; Sharma et al, 2009]. Cependant, la stabilité et la reproductibilité du dopage de type p de ZnO sont encore deux principaux défis non résolus. L'hétérojonction de dispositifs ZnO, généralement combinés avec GaN, sont largement utilisées comme une approche alternative pour les LEDs [Yang et al, 2011 ; Hu et al, 2012]. Toutefois, ces LEDs GaN/ZnO sont, pour la plupart, construites sur du saphir, ce qui rend cette approche complexe pour d'autres applications dans des dispositifs électroniques flexibles et faciles à transporter [Wang et al, 2015].

### **I.5.3 L'industrie textile**

L'utilisation de textiles antibactériens est dans la liste des mesures de prévention afin de réduire la charge microbienne dans les milieux hospitaliers et, par conséquent, pour diminuer le risque d'infections nosocomiales. Par conséquent, le traitement antibactérien est devenu une étape intégrée dans la production de textiles médicaux, tels que les pansements, les draps, les uniformes et les pyjamas chirurgicaux des patients [Amina et al, 2013]. Les deux principales nanoparticules utilisées dans ce type d'application sont celles de TiO<sub>2</sub> et de ZnO.

Les tissus avec effet antibactérien durable ont été obtenus dans un processus en deux étapes constitué d'un prétraitement à la cellulase suivie d'un revêtement avec ZnO [Perelshtein et al, 2012]. Les particules ont été générées *in situ* à partir de l'acétate de zinc dans des solutions alcalines eau/éthanol, puis déposées sur les tissus au moyen d'ultrasons de haute intensité. Les nanoparticules ZnO ont été choisies en raison de leur acceptation comme matériaux peu toxiques pour l'homme et leur absence de coloration [Stoimenov et al, 2002 ; Premanathan et al, 2011].

### **I.5.4 Produits cosmétiques**

Les rayons ultraviolets (UV) qui atteignent la terre peut être divisés en trois longueurs d'onde clés: UVC (32-280 nm), UVB (280-320 nm), et UVA (320-400 nm). Les UVA et UVB sont parmi les principaux agents du photo-vieillessement et du cancer de la peau [Fairhurst et al,

1997]. Par conséquent, la protection contre les rayons UVA et UVB est très importante. C'est pour cela que les industries utilisent des substances absorbant les UV dans les écrans solaires utilisés pour la protection de la peau. Les deux principales nanoparticules à base d'oxydes métalliques utilisés dans ce domaine sont  $\text{TiO}_2$  et  $\text{ZnO}$ .

L'oxyde de zinc ( $\text{ZnO}$ ) est un semi-conducteur avec une bande interdite de 3,37 eV, ce qui en fait un agent absorbant très efficace des UV. Ces nanomatériaux sont non seulement efficaces pour le blocage du rayonnement UV mais peuvent également être conditionnés dans une formulation transparente, agréable pour le consommateur [Wiesenthal et al, 2011 ; Lorenz et al, 2010].

### **I.5.5 Autres applications :**

L'oxyde de zinc est utilisé dans différentes autres domaines comme la fabrication du caoutchouc et des cigarettes (utilisé comme un filtre). Il est également utilisé dans de nombreuses crèmes et des onguents qui sont utilisés pour traiter des maladies de la peau.  $\text{ZnO}$  est également présent comme additif dans la fabrication du béton. L'industrie céramique est également un grand consommateur de la poudre d'oxyde de zinc [Wang et al, 2016].  $\text{ZnO}$  est également utilisé en tant qu'additif dans des produits alimentaires tels que les céréales pour petit déjeuner [Tayel et al, 2011]. Finalement, de nombreuses peintures utilisent l'oxyde de zinc en tant qu'agent de revêtement [Kamal et al, 2015].

## **I.6. Références**

- Aghababazadeh R, Mazinani B, Mirhabibi A, Tamizifar M. ZnO nanoparticles synthesised by mechanochemical processing. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 2006; 26: 312–314.
- Ahn M-W, Park K-S, Heo J-H, Kim D-W, Choi KJ, Park J-G. On-chip fabrication of ZnO-nanowire gas sensor with high gas sensitivity. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2009; 138 (1): 168-73.
- Amina M, Amna T, Hassan MS, Ibrahim TA, Khil M-S. Facile single mode electrospinning way for fabrication of natural product based silver decorated polyurethane nanofibrous membranes: Prospective medicated bandages. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013; 425: 115-21.
- Aneesh PM, Vanaja KA, Jayaraj MK. Synthesis of ZnO nanoparticles by hydrothermal method. In: *NanoScience+ Engineering, International Society for Optics and Photonics*; 2007; 66390 - 9.
- Anisimkin VI, Penza M, Valentini A, Quaranta F, Vasanelli L. Detection of combustible gases by means of a ZnO-on-Si surface acoustic wave (SAW) delay line. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 1995; 23 (2): 197-201.
- ASTM, Standard terminology Relating to Nanotechnology. 2006, Norme ASTM E2456-06, 4.
- Babu KS, Reddy AR, Sujatha C, Reddy KV, Mallika AN. Synthesis and optical characterization of porous ZnO. *Journal of Advanced Ceramics*. 2013; 2 (3): 260-5.
- Banerjee D, Lao JY, Wang DZ, Huang JY, Ren ZF, Steeves D, et al. Large-quantity free-standing ZnO nanowires. *Applied Physics Letters*. 2003; 83 (10): 2061-3.
- Bano N, Zaman S, Zainelabdin A, Hussain S, Hussain I, Nur O, et al. ZnO-organic hybrid white light emitting diodes grown on flexible plastic using low temperature aqueous chemical method. *Journal of Applied Physics*. 2010; 108 (4): 043103.
- Beyerle A, Schulz H, Kissel T, Stoeger T. Screening strategy to avoid toxicological hazards of inhaled nanoparticles for drug delivery: The use of a-quartz and nano zinc oxide particles as benchmark. *Journal of Physics: Conference Series*. 2009; 151: 9.
- Bitenc M, Orel ZC. Synthesis and characterization of crystalline hexagonal bipods of zinc oxide. *Materials research bulletin*. 2009; 44 (2): 381-7.
- Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*. 1998; 281 (5385): 2013-6.
- BSI, 2005. Vocabulary nanoparticles, British Standards, PAS 71: 2005, 26.
- Chen C, Liu P, Lu C. Synthesis and characterization of nano-sized ZnO powders by direct precipitation method. *Chemical Engineering Journal*. 2008; 144 (3): 509-13.



Chen Z, Ren W, Gao L, Liu B, Pei S, Cheng H-M. Three-dimensional flexible and conductive interconnected graphene networks grown by chemical vapour deposition. *Nature materials*. 2011; 10 (6): 424-8.

Chiu WS, Khiew PS, Cloke M, Isa D, Tan TK, Radiman S, et al. Photocatalytic study of two-dimensional ZnO nanopellets in the decomposition of methylene blue. *Chemical Engineering Journal*. 2010; 158 (2): 345-52.

Cho N-H, Cheong T-C, Min JH, Wu JH, Lee SJ, Kim D, et al. A multifunctional core-shell nanoparticle for dendritic cell-based cancer immunotherapy. *Nature nanotechnology*. 2011; 6(10): 675-82.

Croft M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9 (4): 271-85.

Crossland EJW, Noel N, Sivaram V, Leijtens T, Alexander-Webber JA, Snaith HJ. Mesoporous TiO<sub>2</sub> single crystals delivering enhanced mobility and optoelectronic device performance. *Nature*. 14 mars 2013; 495 (7440): 215-9.

Cui J. Zinc oxide nanowires. *Materials Characterization*. 2012; 64: 43-52.

Deng X, Yao K, Sun K, Li W-X, Lee J, Matranga C. Growth of Single- and Bilayer ZnO on Au(111) and Interaction with Copper. *J Phys Chem C*. 2013; 117 (21): 11211-8.

Deshpande PA, Poliseti S, Madras G. Rapid synthesis of ultrahigh adsorption capacity zirconia by a solution combustion technique. *Langmuir*. 2011; 27(7): 3578-87.

Dhobale S, Thite T, Laware SL, Rode CV, Koppikar SJ, Ghanekar R-K, et al. Zinc oxide nanoparticles as novel alpha-amylase inhibitors. *Journal of Applied Physics*. 2008; 104 (9): 094907.

Ding Y, Kong XY, Wang ZL. Doping and planar defects in the formation of single-crystal ZnO nanorings. *Phys Rev B*. 2004; 70 (23): 235408.

Dom R, Kim HG, Borse PH. Efficient hydrogen generation over (100)-oriented ZnO nanostructured photoanodes under solar light. *CrystEngComm*. 2014; 16 (12): 2432-9.

Fang L, Huang K, Zhang B, Liu B, Liu Y, Zhang Q. Nanosheet-based 3D hierarchical ZnO structure decorated with Au nanoparticles for enhanced electrochemical detection of dopamine. *RSC Advances*. 2014; 4 (90): 48986-93.

Fang L, Huang K, Zhang B, Liu Y, Zhang Q. A label-free electrochemistry biosensor based flower-like 3-dimensional ZnO superstructures for detection of DNA arrays. *New Journal of Chemistry*. 2014; 38 (12): 5918-24.

Fang L, Liu B, Liu L, Li Y, Huang K, Zhang Q. Direct electrochemistry of glucose oxidase immobilized on Au nanoparticles-functionalized 3D hierarchically ZnO nanostructures and its application to bioelectrochemical glucose sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016; 222: 1096-102.

Feldmann C. Polyol-Mediated Synthesis of Nanoscale Functional Materials. *Advanced*

Functional Materials. 2003; 13 (2): 101-7.

Frade T, Jorge MM, Gomes A. One-dimensional ZnO nanostructured films: Effect of oxide nanoparticles. Materials Letters. 2012; 82: 13-5.

Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AI. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: effect of particle composition. Environmental health perspectives. 2007; 403-9.

Guo W, Liu T, Zhang H, Sun R, Chen Y, Zeng W, et al. Gas-sensing performance enhancement in ZnO nanostructures by hierarchical morphology. Sensors and Actuators B: Chemical. 2012; 166: 492-9.

Hanley C, Thurber A, Hanna C, Punnoose A, Zhang J, Wingett DG. The influences of cell type and ZnO nanoparticle size on immune cell cytotoxicity and cytokine induction. Nanoscale research letters. 2009; 4 (12): 1409-20.

Hu Y, Zhang Y, Lin L, Ding Y, Zhu G, Wang ZL. Piezo-phototronic effect on electroluminescence properties of p-type GaN thin films. Nano letters. 2012; 12 (7): 3851-6.

Huang J, Wu Y, Gu C, Zhai M, Yu K, Yang M, et al. Large-scale synthesis of flowerlike ZnO nanostructure by a simple chemical solution route and its gas-sensing property. Sensors and Actuators B: Chemical. 2010; 146 (1): 206-12.

Huang Y, He J, Zhang Y, Dai Y, Gu Y, Wang S, et al. Morphology, structures and properties of ZnO nanobelts fabricated by Zn-powder evaporation without catalyst at lower temperature. Journal of materials science. 2006; 41(10): 3057-62.

ISO, 2008a. ISO/TS 27687 : 2008.

Jang ES, Won J-H, Hwang S-J, Choy J-H. Fine Tuning of the Face Orientation of ZnO Crystals to Optimize Their Photocatalytic Activity. Adv Mater. 2006; 18 (24): 3309-12.

Jing Z, Zhan J. Fabrication and Gas-Sensing Properties of Porous ZnO Nanoplates. Adv Mater. 2008; 20 (23): 4547-51.

Jose-Yacamán M, Gutierrez-Wing C, Miki M, Yang D-Q, Piyakis KN, Sacher E. Surface diffusion and coalescence of mobile metal nanoparticles. The Journal of Physical Chemistry B. 2005; 109(19): 9703-11.

Kamal HB, Antonious MS, Mekewi MA, Badawi AM, Gabr AM, El Baghdady K. Nano ZnO/amine composites antimicrobial additives to acrylic paints. Egyptian Journal of Petroleum. 2015. (IN PRESS).

Kim K-M, Kim H-R, Choi K-I, Kim H-J, Lee J-H. ZnO hierarchical nanostructures grown at room temperature and their C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH sensor applications. Sensors and Actuators B: Chemical. 2011; 155 (2): 745-51.

Kong XY, Ding Y, Yang R, Wang ZL. Single-crystal nanorings formed by epitaxial self-coiling of polar nanobelts. Science. 2004; 303 (5662): 1348-51.

Kumar KM, Mandal BK, Naidu EA, Sinha M, Kumar KS, Reddy PS. Synthesis and characterisation of flower shaped Zinc Oxide nanostructures and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013; 104: 171-4.

Kumar SS, Venkateswarlu P, Rao VR, Rao GN. Synthesis, characterization and optical properties of zinc oxide nanoparticles. *International Nano Letters*. 2013; 3(1): 30.

Lappin MB, Campbell JDM. The Th1-Th2 classification of cellular immune responses: concepts, current thinking and applications in haematological malignancy. *Blood reviews*. 2000; 14(4): 228-39.

Lauf RJ, Bond WD. Fabrication of high-field zinc oxide varistors by sol-gel processing. *Am Ceram Soc Bull*. 1984; 63(2).

Lee D, Bae WK, Park I, Yoon DY, Lee S, Lee C. Transparent electrode with ZnO nanoparticles in tandem organic solar cells. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 2011; 95 (1): 365-8.

Lee H-U, Ahn K, Lee S-J, Kim J-P, Kim H-G, Jeong S-Y, et al. ZnO nanobarbed fibers: Fabrication, sensing NO<sub>2</sub> gas, and their sensing mechanism. *Applied Physics Letters*. 2011; 98 (19): 193114.

Lee HU, Park SY, Lee SC, Seo JH, Son B, Kim H, et al. Highly photocatalytic performance of flexible 3 dimensional (3D) ZnO nanocomposite. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2014; 144: 83-9.

Lee K, Kim M, Kim H. Catalytic nanoparticles being facet-controlled. *J Mater Chem*. 2010; 20(19): 3791-8.

Li B, Wang Y. Facile Synthesis and Enhanced Photocatalytic Performance of Flower-like ZnO Hierarchical Microstructures. *J Phys Chem C*. 2010; 114 (2): 890-6.

Liewhiran C, Seraphin S, Phanichphant S. Synthesis of nano-sized ZnO powders by thermal decomposition of zinc acetate using *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent pulp as a dispersant. *Current Applied Physics*. 2006; 6 (3): 499-502.

Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 2007; 150 (2): 243-50.

Lin Y, Lin Y, Wu J, Tu Y, Zhang X, Fang B. Improved performance of quantum dots sensitized solar cells using ZnO hierarchical spheres as photoanodes. *Ceramics International*. 2015; 41 (10): 14501-7.

Liu B, Zeng HC. Hydrothermal synthesis of ZnO nanorods in the diameter regime of 50 nm. *Journal of the American Chemical Society*. 2003; 125 (15): 4430-1.

Liu J, Huang X, Duan J, Ai H, Tu P. A low-temperature synthesis of multiwhisker-based zinc oxide micron crystals. *Materials Letters*. 2005; 59 (28): 3710-4.

Liu T-Q, Sakurai O, Mizutani N, Kato M. Preparation of spherical fine ZnO particles by the spray pyrolysis method using ultrasonic atomization techniques. *Journal of Materials*

science. 1986; 21 (10): 3698-702.

Liu X, Lin P, Yan X, Kang Z, Zhao Y, Lei Y, et al. Enzyme-coated single ZnO nanowire FET biosensor for detection of uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2013; 176: 22-7.

Lorenz C, Tiede K, Tear S, Boxall A, Von Goetz N, Hungerbühler K. Imaging and characterization of engineered nanoparticles in sunscreens by electron microscopy, under wet and dry conditions. *International journal of occupational and environmental health*. 2010; 16 (4): 406-28.

Lu P, Xue D. Bubble-assisted nanofabrication of macroporous ZnO foams. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*. 2011; 3 (3): 394-9.

Luo J, Ma SY, Li FM, Li XB, Li WQ, Cheng L, et al. The mesoscopic structure of flower-like ZnO nanorods for acetone detection. *Materials Letters*. 2014; 121: 137-40.

Masuda Y, Kato K. Aqueous Synthesis of ZnO Rod Arrays for Molecular Sensor. *Crystal Growth & Design*. 1 juill 2009; 9 (7): 3083-8.

Masuda Y, Kinoshita N, Sato F, Koumoto K. Site-selective deposition and morphology control of UV-and visible-light-emitting ZnO crystals. *Crystal growth & design*. 2006; 6 (1):75-8.

Muccillo ENS, Tadokoro SK, Muccillo R. Physical Characteristics and Sintering Behavior of MgO-Doped ZrO<sub>2</sub>nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 2004; 6 (2): 301-5.

Nardecchia S, Carriazo D, Ferrer ML, Gutiérrez MC, del Monte F. Three dimensional macroporous architectures and aerogels built of carbon nanotubes and/or graphene: synthesis and applications. *Chemical Society Reviews*. 2013; 42 (2): 794-830.

Nie L, Gao L, Feng P, Zhang J, Fu X, Liu Y, et al. Three-Dimensional Functionalized Tetrapod-like ZnO Nanostructures for Plasmid DNA Delivery. *Small*. 2006; 2 (5): 621-5.

Nie L, Gao L, Yan X, Wang T. Functionalized tetrapod-like ZnO nanostructures for plasmid DNA purification, polymerase chain reaction and delivery. *Nanotechnology*. 2007; 18 (1): 015101.

Nikoobakht B, Wang X, Herzing A, Shi J. Scalable synthesis and device integration of self-registered one-dimensional zinc oxide nanostructures and related materials. *Chemical Society Reviews*. 2013; 42 (1): 342-65.

Pan ZW, Dai ZR, Wang ZL. Nanobelts of semiconducting oxides. *Science*. 2001; 291 (5510): 1947-9.

Peng WQ, Qu SC, Cong GW, Wang ZG. Structure and visible luminescence of ZnO nanoparticles. *Materials Science in Semiconductor Processing*. 2006; 9 (1-3): 156-9.

Perelshtein I, Ruderman Y, Perkas N, Traeger K, Tzanov T, Beddow J, et al. Enzymatic pre-treatment as a means of enhancing the antibacterial activity and stability of ZnO

nanoparticles sonochemically coated on cotton fabrics. *J Mater Chem.* 2012; 22(21): 10736-42.

Piccinno F, Gottschalk F, Seeger S, Nowack B. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research.* 2012; 14 (9): 1-11.

Polshettiwar V, Baruwati B, Varma RS. Self-assembly of metal oxides into three-dimensional nanostructures: synthesis and application in catalysis. *ACS nano.* 2009; 3 (3): 728-36.

Polsonkram D, Chamninok P, Pukird S, Chow L, Lupan O, Chai G, et al. Effect of synthesis conditions on the growth of ZnO nanorods via hydrothermal method. *Physica B: Condensed Matter.* 2008; 403 (19): 3713-7.

Premanathan M, Karthikeyan K, Jeyasubramanian K, Manivannan G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* 2011; 7 (2):184-92.

Raoufi D, Raoufi T. The effect of heat treatment on the physical properties of sol-gel derived ZnO thin films. *Applied Surface Science.* 2009; 255 (11): 5812-7.

Rataboul F, Nayral C, Casanove M-J, Maisonnat A, Chaudret B. Synthesis and characterization of monodisperse zinc and zinc oxide nanoparticles from the organometallic precursor [Zn (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)<sub>2</sub>]. *Journal of organometallic chemistry.* 2002; 643: 307-12.

Ristić M, Musić S, Ivanda M, Popović S. Sol-gel synthesis and characterization of nanocrystalline ZnO powders. *Journal of Alloys and Compounds.* 2005; 397(1): 1-4.

Roco MC. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Current opinion in biotechnology.* 2003; 14 (3): 337-46.

Sayes CM, Reed KL, Warheit DB. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicological Sciences.* 2007; 97 (1): 163-80.

Segovia M, Sotomayor C, González G, Benavente E. Zinc Oxide Nanostructures by Solvothermal Synthesis. *Molecular Crystals and Liquid Crystals.* 2012; 555 (1): 40-50.

Sepulveda-Guzman S, Reeja-Jayan B, de La Rosa E, Torres-Castro A, Gonzalez-Gonzalez V, Jose-Yacaman M. Synthesis of assembled ZnO structures by precipitation method in aqueous media. *Materials chemistry and physics.* 2009; 115 (1): 172-8.

Shaath NA. *Sunscreens: Development, Evaluation, and Regulatory Aspects*, ; Lowe, NJ, Shaath, NA, Pathat, MA, Eds. Marcel Dekker: New York, NY, USA; 1997.

Sharma BK, Khare N, Ahmad S. A ZnO/PEDOT: PSS based inorganic/organic heterojunction. *Solid State Communications.* 2009; 149 (19): 771-4.

Sharma V. Sol-Gel mediated facile synthesis of Zinc-Oxide nanoaggregates, their characterization and antibacterial activity. *J of Applied Chemistry*. 2012; 2: 52-5.

Schnieder T, Jansson A, Jensen KA, Kristjansson V, Luotamo M, Nygren O, Savolainen K, Skaug V, Thomassen Y, Tossavainen A, Tuomi T, Wallin H. Evaluation and control of occupational health risks from nanoparticles, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, TemaNord, 2007 : 581-96.

Singh P, Kumar A, Kaur D, others. ZnO nanocrystalline powder synthesized by ultrasonic mist-chemical vapour deposition. *Optical Materials*. 2008; 30 (8):1316-22.

Singh P, Nanda A. Antimicrobial and antifungal potential of zinc oxide nanoparticles in comparison to conventional zinc oxide particles. *Journal of Chemical & Pharmaceutical Research*. 2013; 5 (11).

Siqingaowa Z, Yao H, others. Preparation and characterization of nanocrystalline ZnO by direct precipitation method. *Frontiers of Chemistry in China*. 2006; 1(3): 277-80.

Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*. 2002; 18 (17): 6679-86.

Tarwal NL, Rajgure AV, Patil JY, Khandekar MS, Suryavanshi SS, Patil PS, et al. A selective ethanol gas sensor based on spray-derived Ag-ZnO thin films. *Journal of Materials Science*. 2013; 48 (20): 7274-82.

Tayel AA, El-Tras WF, Moussa S, El-Baz AF, Mahrous H, Salem MF, et al. Antibacterial Action of Zinc Oxide Nanoparticles Against Foodborne Pathogens. *Journal of Food Safety*. 2011; 31 (2): 211-8.

Tusche C, Meyerheim HL, Kirschner J. Observation of Depolarized ZnO (0001) Monolayers: Formation of Unreconstructed Planar Sheets. *Phys Rev Lett*. 2007; 99 (2): 026102.

Uthirakumar P, Karunagaran B, Nagarajan S, Suh E-K, Hong C-H. Nanocrystalline ZnO particles: Low-temperature solution approach from a single molecular precursor. *Journal of crystal growth*. 2007; 304 (1): 150-7.

Vayssieres L. Advanced semiconductor nanostructures. *Comptes Rendus Chimie*. 2006; 9 (5-6): 691-701.

Wahab R, Ansari SG, Kim Y-S, Seo H-K, Shin H-S. Room temperature synthesis of needle-shaped ZnO nanorods via sonochemical method. *Applied Surface Science*. 2007; 253 (18): 7622-6.

Wan Q, Li QH, Chen YJ, Wang TH, He XL, Li JP, et al. Fabrication and ethanol sensing characteristics of ZnO nanowire gas sensors. *Applied Physics Letters*. 2004; 84 (18): 3654-6.

Wang C, Bao R, Zhao K, Zhang T, Dong L, Pan C. Enhanced emission intensity of vertical aligned flexible ZnO nanowire/p-polymer hybridized LED array by piezophototronic effect. *Nano Energy*. *Nano Energy* 2015 (14), 364-371.

Wang H, Wingett D, Engelhard MH, Feris K, Reddy KM, Turner P, et al. Fluorescent dye encapsulated ZnO particles with cell-specific toxicity for potential use in biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2009; 20 (1): 11-22.

Wang L, Zheng Y, Li X, Dong W, Tang W, Chen B, et al. Nanostructured porous ZnO film with enhanced photocatalytic activity. *Thin Solid Films*. 2011; 519 (16): 5673-8.

Wang Y, Song S, Liu J, Liu D, Zhang H. ZnO-Functionalized Upconverting Nanotheranostic Agent: Multi-Modality Imaging-Guided Chemotherapy with On-Demand Drug Release Triggered by pH. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015; 54 (2): 536-40.

Wang Y, Zhang G, Liu P, Xu Y, Zeng Y, Jiang S. The clamp characteristics and DC aging behavior of ZnO-based varistor ceramics doped with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. *Ceramics International*. 2016; 42 (1, Part B): 2106-14.

Wang ZL. Nanostructures of zinc oxide. *Materials Today*. 2004; 7 (6): 26-33.

Wang ZL. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2004; 16 (25): R829.

Weller H. Quantized semiconductor particles: a novel state of matter for materials science. *Advanced Materials*. 1993; 5 (2): 88-95.

Wiesenthal A, Hunter L, Wang S, Wickliffe J, Wilkerson M. Nanoparticles: small and mighty. *Int J Dermatol*. 2011; 50 (3): 247-54.

Willander M, Nur O, Zhao QX, Yang LL, Lorenz M, Cao BQ, et al. Zinc oxide nanorod based photonic devices: recent progress in growth, light emitting diodes and lasers. *Nanotechnology*. 2009; 20 (33): 332001.

Wu J-J, Liu S-C, Wu C-T, Chen K-H, Chen L-C. Heterostructures of ZnO–Zn coaxial nanocables and ZnO nanotubes. *Applied Physics Letters*. 2002; 81(7): 1312-4.

Xia C, Wang N, Lidong L, Lin G. Synthesis and characterization of waxberry-like microstructures ZnO for biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2008; 129 (1): 268-73.

Xiong H-M. ZnO nanoparticles applied to bioimaging and drug delivery. *Advanced Materials*. 2013; 25 (37): 5329-35.

Xu J, Fan K, Shi W, Li K, Peng T. Application of ZnO micro-flowers as scattering layer for ZnO-based dye-sensitized solar cells with enhanced conversion efficiency. *Solar Energy*. 2014;101:150-9.

Xu S, Xu C, Liu Y, Hu Y, Yang R, Yang Q, et al. Ordered Nanowire Array Blue/Near-UV Light Emitting Diodes. *Advanced materials*. 2010; 22 (42): 4749-53.

Xu T, Ji P, He M, Li J. Growth and structure of pure ZnO micro/nanocombs. *Journal of Nanomaterials*. 2012; 5.

Xu Y, Lin Z, Huang X, Liu Y, Huang Y, Duan X. Flexible solid-state supercapacitors

based on three-dimensional graphene hydrogel films. *ACS nano*. 2013; 7 (5): 4042-9.

Xu Y, Sheng K, Li C, Shi G. Self-assembled graphene hydrogel via a one-step hydrothermal process. *ACS nano*. 2010; 4 (7): 4324-30.

Yamazoe N, Shimano K. Roles of Shape and Size of Component Crystals in Semiconductor Gas Sensors I. Response to Oxygen. *J Electrochem Soc*. 2008; 155 (4): 85-92.

Yamazoe N, Shimano K. Theory of power laws for semiconductor gas sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2008; 128 (2): 566-73.

Yang Q, Wang W, Xu S, Wang ZL. Enhancing light emission of ZnO microwire-based diodes by piezo-phototronic effect. *Nano letters*. 2011; 11 (9): 4012-7.

Yiamsawas D, Boonpavanitchakul K, Kangwansupamonkon W. Preparation of ZnO nanostructures by solvothermal method. *J of Microscopy Society of Thailand*. 2009; 23: 75-8.

Yu W, Li X, Gao X. Catalytic synthesis and structural characteristics of high-quality tetrapod-like ZnO nanocrystals by a modified vapor transport process. *Crystal growth & design*. 2005; 5 (1): 151-5.

Yuan Q, Zhao Y-P, Li L, Wang T. Ab initio study of ZnO-based gas-sensing mechanisms: surface reconstruction and charge transfer. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009; 113 (15): 6107-13.

Zhang J, Liu H, Wang Z, Ming N, Li Z, Biris AS. Polyvinylpyrrolidone-Directed Crystallization of ZnO with Tunable Morphology and Bandgap. *Adv Funct Mater*. 2007; 17 (18): 3897-905.

Zhang J, Wang S, Xu M, Wang Y, Zhu B, Zhang S, et al. Hierarchically Porous ZnO Architectures for Gas Sensor Application. *Crystal Growth & Design*. 2009; 9 (8): 3532-7.

Zhang L, Li Q, Qu C, Zhang Z, Huang R, Zhao F. White electroluminescence from ZnO nanorods/p-GaN heterojunction light-emitting diodes under reverse bias. *Journal of Optics*. 2013; 15 (2): 025003.

Zhang P, Liu W. ZnO QD@ PMAA-co-PDMAEMA nonviral vector for plasmid DNA delivery and bioimaging. *Biomaterials*. 2010; 31 (11): 3087-94.

Zhang Q, Chou TP, Russo B, Jenekhe SA, Cao G. Aggregation of ZnO Nanocrystallites for High Conversion Efficiency in Dye-Sensitized Solar Cells. *Angewandte Chemie*. 2008; 120 (13): 2436-40.

Zhang XL, Qiao R, Qiu R, Kim JC, Kang YS. Fabrication of Hierarchical ZnO Nanostructures via a Surfactant-Directed Process. *Crystal Growth & Design*. 2009; 9 (6): 2906-10.

Zhang Z, Sun H, Shao X, Li D, Yu H, Han M. Three-Dimensionally Oriented Aggregation of a Few Hundred Nanoparticles into Monocrystalline Architectures. *Adv*



Mater. 2005; 17 (1): 42-7.

# **Chapitre II. Toxicité et Cytotoxicité des Nanoparticules ZnO**



### II.1 Généralités sur la toxicité de ZnO

L'augmentation rapide de l'utilisation de nanoparticules d'oxyde métalliques conduit à la libération incontrôlée de ces particules dans l'environnement. Aujourd'hui, certaines nanoparticules peuvent être détectées dans les écosystèmes aquatiques [Klaine et al, 2008; Scown et al, 2010]. Ces écosystèmes et les organismes qui composent la chaîne alimentaire aquatique deviennent vulnérables en raison des effets des nanoparticules libérées par les activités anthropiques [Gottschalk et al, 2013]. Cependant, la diversité des métaux et sels métalliques, ou de matériaux semiconducteurs, constituant les nanomatériaux rend difficile la compréhension des effets des nanoparticules. Il convient également de noter que les propriétés physiques et chimiques des nanoparticules libérées changent non seulement leur composition élémentaire mais également leur couverture de surface en fonction des conditions environnementales (pH, température, oxydation et exposition à la lumière) [Borm et al., 2006]. Par conséquent, les résultats des recherches sur les nanomatériaux dans l'environnement ne sont pas concluants et parfois même contradictoires [Hao et Chen, 2012]. Il est bien connu que les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, notamment la taille, la forme, la chimie de surface et la structure jouent des rôles importants dans la détermination de leur comportement à la fois *in vitro* et *in vivo*. La morphologie des particules a également une influence sur l'absorption cellulaire notamment chez les cellules eucaryotes, la biodistribution *in vivo*, [Decuzzi et al, 2010], l'écoulement et l'adhérence vasculaire,... [Doshi et al, 2010] [Chaudhuri et al, 2010]. Par exemple, les nanobâtonnets sont moins sujets à la phagocytose que les particules sphériques [Geng et al, 2007 ; Chauhan et al, 2011].

### II.2 Normes de l'OMS sur la toxicité de ZnO

Le zinc est un oligo-élément nécessaire à la vie d'un grand nombre d'organismes. Son métabolisme est équilibré chez les mammifères, quel que soit le niveau d'exposition. En conséquence, le potentiel de bioaccumulation du zinc est faible chez les mammifères. L'oxyde de zinc est généralement considéré comme un matériau sûr et biocompatible pour une utilisation chez les humains et les animaux [W. D. FDA ; 2014].

### **II.3. Voie d'exposition aux nanoparticules ZnO chez l'être humain**

Les voies respiratoires, intestinales et cutanées sont en contact direct avec l'environnement. Il faut également mentionner que les nanoparticules peuvent être « translocalisées » via différentes voies et mécanismes.

#### **II.3.1 Voie cutanée**

Les progrès dans les formulations nanotechnologiques ont vu l'incorporation de filtres UV inorganiques à base de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc dans les écrans solaires commerciaux à des quantités allant de 4 à 30% en masse. Ces écrans solaires couvrent la peau et jouent le rôle d'un film protecteur, principalement par réflexion et absorption de la lumière UV.

Plusieurs études n'ont trouvé aucun risque à l'exposition de la peau à des nanoparticules de ZnO [B. Gulson et al, 2010 ; Monteiro-Riviere et al, 2011]. Durant *et al.* ont montré que ZnO présente un niveau de pénétration cutanée bas après étude des différents produits cosmétiques [Durand et al, 2009].

Plusieurs commentaires [EWG, l'Environmental Working Group, 2009; Gonzalez, 2010; Monteiro-Riviere et Baroli, 2010; Nohynek et al, 2007, 2010; Schilling et al, 2010; TGA, 2009] et des enquêtes relativement récentes [Cross et al, 2007; Inman et al, 2010; Monteiro-Riviere et al, 2011; Roberts et al, 2008; Sadrieh et al, 2010; Zvyagin et al, 2008] ont conclu que les nanoparticules d'oxyde métalliques restaient localisées sur la peau, qu'elle n'étaient pas absorbées par la couche cornée, bien qu'elles pouvaient se loger dans les follicules pileux, les glandes sudoripares, ou les plis de la peau [Lademann et al, 1999 ; Nanoderm, 2007].

Hostynek a montré que les mécanismes qui régissent l'absorption du zinc par la peau ne sont pas bien compris et que les mesures de la vitesse de pénétration du zinc sont contradictoires. Apparemment, son absorption ne se fait pas par simple diffusion, mais semble être régulée par l'homéostasie, l'absorption étant inversement proportionnelle à la charge réelle du corps en métal. Gulson *et al.* ont également conclu que la dynamique de l'homéostasie est forte car il y a un échange rapide entre la peau et le Zn appliqué. L'approche des isotopes stables offre la possibilité de distinguer le zinc appliqué et la réserve endogène. Ces auteurs ont également montré après deux essais utilisant différentes formulations de protections solaires et différentes expositions UV que de petites quantités de Zn<sup>2+</sup> provenant des particules de ZnO sont absorbées par la peau chez des sujets sains et peuvent être détectées dans le sang et l'urine. Cependant, les

quantités de zinc détectées dans le sang sur une période de 5 jours sont minimales par rapport à la charge corporelle de zinc [Gulson et al, 2012].

### II.3.2 Voie Pulmonaire

Lorsque elles sont dans l'air, les nanoparticules sont facilement inhalées et peuvent se déposer dans les alvéoles pulmonaires à une fréquence beaucoup plus élevée que les particules de plus grandes dimensions du même matériau à l'état massif. Bien que la littérature mentionne les risques liés à l'inhalation de ZnO nano, les informations sur la toxicité pulmonaire sont encore limitées et les doses utilisées sont faibles.

Une cytotoxicité a été observée sur les cellules de lavage broncho-alvéolaire pulmonaire après une exposition aux nanoparticules de ZnO et a été attribuée à la dissolution de ZnO [Cho et al., 2011; Kao et al., 2012]. Il a également été montré que la taille nanométrique (50-70 nm) de certaines particules de ZnO provoquait une inflammation pulmonaire et une cytotoxicité a été observée chez le rat après inhalation et exposition intratrachéale [Sayes et al, 2007; Warheit et al., 2009]. D'autres études ont montré que les particules de ZnO avec des tailles de 35 et 250 nm provoquaient une inflammation pulmonaire et une cytotoxicité a été observée chez les rats Sprague-Dawley 24 h après inhalation et 6 h d'exposition [Ho et al., 2011]. Les résultats disponibles suggèrent que la dissolution du ZnO est un facteur important sur sa toxicité et son aptitude à provoquer une mort cellulaire [Landsiedel et al., 2014].

Les nanoparticules de ZnO sont plus toxiques que ZnO massif pour plusieurs raisons. Tout d'abord, les nanoparticules déposées dans les conduits alvéolaires ont une rétention prolongée. Jacobsen *et al.* ont montré qu'une exposition pulmonaire à une dose de 6 mg de nanoparticules de ZnO (soit 0,3 mg/kg de poids corporel de souris) conduisait à des signes sévères de toxicité en termes de réduction du poids corporel, une inflammation pulmonaire aiguë et une desquamation excessive des cellules épithéliales avec fuite concomitante de la barrière alvéolaire. En outre, l'histologie a révélé une prolifération accrue et une hypertrophie des cellules bronchioles épithéliales, ainsi que l'infiltration de cellules lymphoïdes et de l'œdème. Des doses plus élevées allant de 15 à 18 mg de ZnO ont provoqué des effets plus forts et une souffrance des animaux [Jacobsen et al, 2015]. Beckett *et al.* ont recommandé comme valeur limite d'exposition à ZnO dans le lieu de travail  $5 \text{ mg/m}^3$  [Beckett et al, 2005].

### II.4. Toxicité vis-à-vis de l'être humain

En l'absence d'irradiation ou de photo-activation, les nanoparticules de ZnO peuvent induire un stress oxydant chez les neutrophiles humains et les cellules épithéliales bronchiques [Lindahl et al, 1998]. D'après une étude de Lin *et al.* sur des cellules épithéliales de poumon humain, les nanoparticules de ZnO réduisent de manière significative la viabilité et causent des dommages oxydatifs à l'ADN de manière dose et temps dépendant dans les cellules A549 [Lin et al, 2009]. Ostrovsky *et al.* ont rapporté que les nanoparticules d'oxyde de zinc pouvaient induire la mort cellulaire dans des lignées de cancer du sein et de la prostate, mais n'avaient pas de grands effets cytotoxiques sur les cellules saines [Ostrovsky et al, 2009]. Selon Wiethoff *et al.*, les nanoparticules de ZnO montrent des effets néfastes potentiels sur les cellules des muqueuses nasales humaines, causant des dommages de l'ADN et une réponse inflammatoire importante [Wiethoff et al, 2003]. En outre, une diminution significative de la viabilité de la lignée cellulaire de neuroblastome humain (SH-SY5Y) est observée avec l'addition de nanoparticules ZnO [Taccola et al, 2011].

Lorsque les nanoparticules de ZnO entrent dans le corps humain, les organes pulmonaires sont les premiers attaqués suite à une inhalation. L'inhalation ou l'instillation des nanoparticules provoque une inflammation pulmonaire. Seker *et al.* ont étudié la toxicité de nanoparticules ZnO sur deux types de cellules fibroblastes primaires, à savoir les cellules des ligaments parodontaux de fibroblastes provenant de tissu de soutien des dents, et les cellules de fibroblastes dermiques provenant du tissu cutané. Les résultats indiquent que la cytotoxicité de ZnO (en termes de viabilité cellulaire, activité mitochondriale et altération de la membrane) était dépendante de la concentration et du temps. Ces auteurs ont également signalé que les nanoparticules ZnO ont un risque élevé de toxicité cellulaire à la dose de 50-100 ug/ml [Seker et al, 2014].

### II. 5. Toxicité vis-à-vis des virus

Diverses nano- et microstructures de ZnO imitent les cellules filopode et peuvent cibler la pathogénèse des virus herpès simplex (HSV-1) [Mishra et al, 2011]. Antoine *et al.* ont démontré que les structures tétrapode de ZnO synthétisées par un processus de combustion ont la capacité de bloquer l'entrée et la propagation du virus HSV-2 dans les cellules cibles [Antoine et al, 2012].

### II. 6. Toxicité tumorale

Wahab *et al.* ont montré que les nanoparticules ZnO présentait une activité contre les cellules cancéreuses HepG2 (cancer du foie) et les cellules MCF-7 (cancer du sein) de manière dose-dépendante. Les résultats de ces études démontrent que des traitements avec des nanoparticules ZnO sensibilisent les cellules cancéreuses au traitement. Le degré d'apoptose est renforcé par une augmentation de la concentration en nanoparticules et une concentration élevée en nanoparticules ZnO peut entraîner la mort dans les deux lignées cellulaires. L'importance de l'étude réside dans la possibilité d'utiliser les nanoparticules en tant qu'agents antiprolifératifs [Wahab *et al.*, 2014]. Taccola *et al.* ont observé que le seuil de concentration intracellulaire en nanoparticules ZnO nécessaire pour induire la mort dans les cellules en prolifération est de 0,4 mM. Cette dose est le seuil létal pour la prolifération des cellules souches mésenchymateuses (cellules souches des cellules squelettiques) pluripotentes mais les effets cytotoxiques sont négligeables sur des cellules souches mésenchymateuses différenciées ostéogéniques [Taccola *et al.*, 2011].

### II. 7. Toxicité vis-à-vis des plantes

Différentes études ont rapporté que les plantes peuvent accumuler des quantités élevées de métaux dans leurs tissus lorsqu'elles sont exposés aux nanoparticules métalliques [Lin and Xing, 2007; Zhao *et al.*, 2013; Rico *et al.*, 2014; Mukherjee *et al.*, 2014]. Cela a non seulement des répercussions sur leur réponse physiologique et biochimique mais peut entraîner des contaminations dans la chaîne alimentaire [Asli and Neumann, 2009; Dimkpa *et al.*, 2012]. Des rapports indiquent que les nanoparticules ZnO affectent négativement la croissance des plantes (pois verts, maïs, concombre, seigle, courgette, soja et blé) de manière dose-dépendante. Lin et Xing ont rapporté que les nanoparticules ZnO affectent l'allongement des racines du ray-grass (*Lolium perenne*), des radis (*Raphanus sativus*) et du colza (*Brassica napus*). La phytotoxicité rapporté était due à une perturbation des cycles des éléments nutritifs chez les plantes [Lin et Xing, 2007, 2008]. Kim *et al.* ont signalé des effets phytotoxiques de nano-ZnO sur le concombre (*Cucumis sativus*) causés par l'excès de bioaccumulation de zinc. López-Moreno *et al.* ont également rapporté des effets génotoxiques des nanoparticules ZnO sur le soja (*Glycine max*). Récemment, Mukherjee *et al.* ont montré que les nanoparticules ZnO avaient une toxicité plus élevée que ZnO massif sur les pois verts en raison de la forte production d'EROs dans les différents tissus végétaux [Kim *et al.*, 2011 ; López-Moreno *et al.*, 2010 ; Mukherjee *et al.*, 2014].



## **II. 8. Toxicité vis-à-vis des bactéries**

Les propriétés antimicrobiennes de ZnO ont été proposées pour servir de moyen de conservation des aliments emballés [De Azeredo et al, 2013; Espitia et al, 2013]. Les effets antibactériens rapportés pour les nanoparticules ZnO diffèrent d'une étude à une autre [Liu et al, 2009 ; Heinlaan et al, 2008, Brayner et al, 2006 ; Jiang et al, 2009, Reddy et al, 2007] et les concentrations d'inhibition sont généralement de plusieurs centaines de mg/L<sup>-1</sup>.

Différentes études montrent que les nanoparticules de ZnO sont efficaces pour inhiber les bactéries Gram + et Gram -, et même des spores résistantes à haute température et haute pression [Adam et al, 2006 ; Zhang et al, 2007 ; Brayner et al, 2006].

### **II. 8. 1 Cytotoxicité vis-à-vis de la bactérie *E. coli***

Les cellules de *E. coli* ont une morphologie en bâtonnet avec une longueur d'environ 1-3 µm et un diamètre de 0,5-1 µm. La cellule d'*E. coli* se compose d'une membrane interne (8 nm d'épaisseur), d'un périplasma contenant une fine couche de peptidoglycane (1-3 nm) et d'une membrane externe (7-8 nm d'épaisseur) (Fig.II.1). Les membranes internes ont une structure de bicouche lipidique. La couche externe de la bicouche membranaire externe (ME) est constituée principalement de lipopolysaccharides (LPS) alors que la couche interne est constituée de phospholipides. Le ME contient également des protéines telle que les porines qui agissent comme des canaux de diffusion passive pour les molécules hydrophiles. La membrane interne est constituée de 40% de phospholipides et 60% de protéines. Compte tenu de la structure de l'enveloppe cellulaire d'*E. coli*, Zhang et al. ont proposé les mécanismes suivants qui peuvent contribuer au comportement antibactérien des suspensions ZnO:

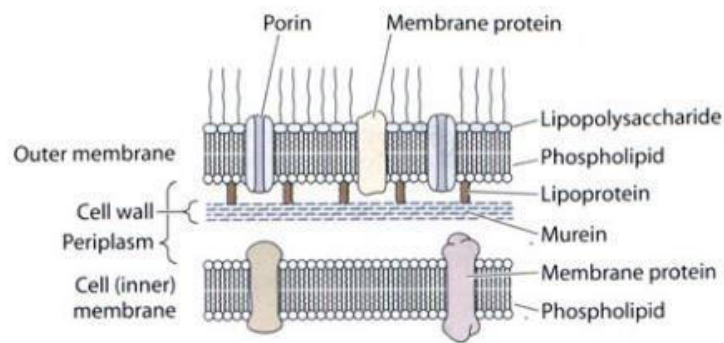


Figure II.1 : Structure de la paroi d'une bactérie Gram- (*E. coli*) [Schaechter et al., 2006].

Premièrement, des interactions chimiques ont lieu entre ZnO et les composants de l'enveloppe cellulaire (bicouche lipidique, protéines membranaires, peptidoglycanes, lipopolysaccharides), comme suit:

- interactions entre les composants de l'enveloppe des cellules et les ions  $Zn^{2+}$ .
- interactions entre les ions  $Zn^{2+}$  et les composants intracellulaires (ceci implique le transport des ions  $Zn^{2+}$  à l'intérieur de la cellule).
- réaction chimique entre les composants de l'enveloppe cellulaire et des espèces chimiques tels que le peroxyde d'hydrogène généré par les particules de ZnO.
- réaction chimique entre les espèces chimiques produites par ZnO et les composants de l'intérieur de la cellule (ceci implique le transport des espèces chimiques à l'intérieur de la cellule, puis les réactions).

Deuxièmement, des interactions physiques ont lieu entre les nanoparticules de ZnO et l'enveloppe cellulaire, comme suit:

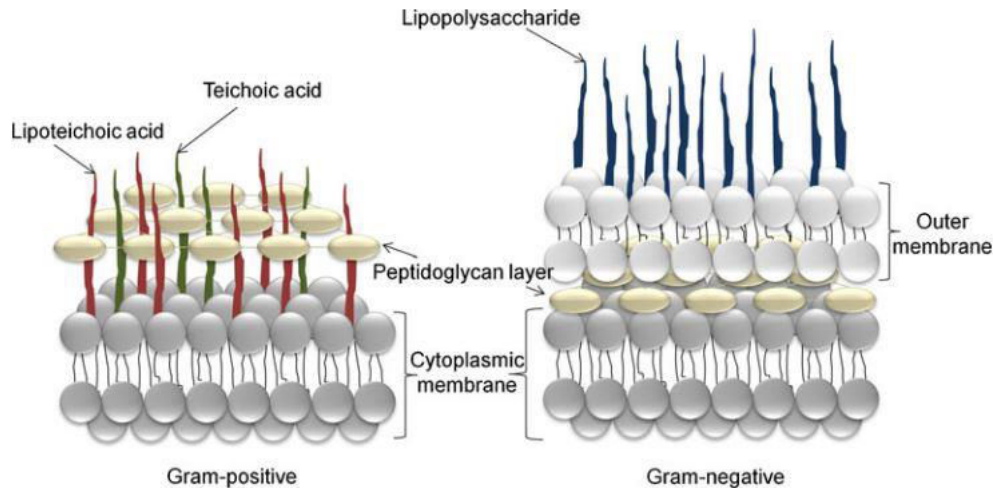
- interaction directe entre les nanoparticules de ZnO et les composants de l'enveloppe d'*E. coli* par effet électrostatique.
- blocage physique des canaux de transport des membranes par les nanoparticules.
- dégâts physiques à l'enveloppe membranaire par les nanoparticules en raison de l'abrasion.
- pénétration des nanoparticules de ZnO à travers l'enveloppe puis la membrane interne et interaction avec l'intérieur de la cellule.

Padmavathy et Vijayaraghavan indiquent que les suspensions de nanoparticules de ZnO à des concentrations faibles (0,01 à 1 mM) semblent avoir moins d'activité antimicrobienne contre *E. coli*. Alors que les métaux et les oxydes métalliques sont connus pour être toxiques, ZnO n'est pas toxique à de faibles concentrations car l'élément zinc est un cofacteur essentiel dans une variété de processus cellulaires [Padmavathy et Vijayaraghavan, 2008 ; Reddy et al, 2007]. Brayner et al. ont montré que, après l'interaction entre ZnO et *E. coli*, il y a une rupture de la paroi cellulaire, ce qui provoque l'internalisation des nanoparticules dans des cellules bactériennes. Les cellules de *E. coli* présentent alors des dégâts considérables, avec des parois cellulaires désorganisées, une morphologie altérée et des fuites du contenu intracellulaire [Brayner et al, 2006]. Finalement, Zhang et al. ont montré que les mécanismes dominants dans l'activité antibactérienne des nanoparticules ZnO sont la génération d'EROs et les dégâts provoqués par ces derniers sur la cellule. Des dommages physiques à l'enveloppe cellulaire peuvent également être induits par ZnO [Zhang et al, 2008].

### II. 8.2 Cytotoxicité vis-à-vis d'autres familles de bactéries

L'activité de nanoparticules de ZnO a également été testée contre des bactéries Gram + telles que *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, qui ont montré une sensibilité à ces nanoparticules [Adams et al, 2006; Gordon et al, 2011; Reddy et al, 2007]. ZnO a montré aussi comme ayant une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram - telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Campylobacter jejuni* [Brayner et al, 2006; Ohira et al, 2008; Premanathan et al, 2011; Sawai, 2003; Xie et al, 2011]. Les différentes études ont montré que les bactéries Gram + sont les plus sensibles aux nanoparticules de ZnO en raison de leur structure. Comme le montre la Figure 2, la membrane externe des bactéries à Gram négatif agit comme une barrière à la pénétration, de sorte que l'internalisation des NPs par la cellule est réduite [Russell, 2003].

L'augmentation de susceptibilité vis-à-vis de ZnO de *S. aureus* par rapport à *E. coli* pourrait également être due aux différences de polarité de la membrane cellulaire (la membrane de *S. aureus* a une charge négative inférieure à celle d'*E. coli* [Sonohara et al, 1995]. Selon Gordon et al., cela permettrait un taux de pénétration plus élevé des radicaux libres chargés négativement tels que les radicaux superoxyde et les anions peroxyde causant des dommages et la mort des cellules de *S. aureus* à des concentrations inférieures à celle requise pour provoquer le même effet chez *E. coli*. [Gordon et al, 2011].



**Figure II.2** : Caractéristiques structurales des membranes de bactérie à Gram + et à Gram - [Espitia et al, 2012].

Il y a des différences dans les processus métaboliques des ions  $Zn^{2+}$  qui dépendent des caractéristiques intrinsèques de chaque micro-organisme. Cela pourrait être l'une des raisons possibles pour les différences observées dans les seuils de toxicité de nanoparticules de ZnO. Reddy et al. ont étudié la toxicité des nanoparticules de ZnO sur *E. coli* et *S. aureus*. Leurs résultats ont montré une inhibition complète de la croissance d'*E. coli* à des concentrations  $\geq 3.4$  mM, tandis que la croissance de *S. aureus* a été complètement inhibée à des concentrations  $\geq 1$  mM. Reddy et al. ont également observé que sous certaines conditions, les cellules de *E. coli* présentent une meilleure croissance avec 1 mM de ZnO par rapport au témoin non amendé, en raison de la préférence de ce micro-organisme pour de faibles concentrations en  $Zn^{2+}$  dans le milieu de croissance. Inversement, *S. aureus* a montré un mécanisme d'efflux de  $Zn^{2+}$  lors de l'exposition à des nanoparticules de ZnO [Reddy et al, 2007].

## II. 9. Mécanismes de toxicité

Le mécanisme de la toxicité des nanoparticules ZnO est encore controversé. Cependant, l'activité antimicrobienne de ces nanoparticules est attribuée à plusieurs mécanismes (Fig. II.3) comprenant la libération d'ions antimicrobiens [Kasemets et al, 2009] et l'interaction des nanoparticules avec les microorganismes avec endommagement de l'intégrité de la cellule bactérienne. La génération des EROs était autrefois considérée comme la cause principale de la nanotoxicité [Brayner et al, 2006 ; Zhang et al, 2010] mais manquait des preuves solides. Des nombreuses études ont également montré que les ions zinc libérés par les nanoparticules ZnO étaient responsables de la nanotoxicité [Franklin et al, 2007, Aruoja et al, 2009 ; Blinova

et al, 2010 ; Lin et al, 2007 ; Wu et al, 2010]. Cette toxicité est en accord avec la concentration des ions libres hydratés  $Zn^{2+}$  ou des complexes de zinc labiles [Franklin et al, 2007]. D'autres études ont attribué la toxicité de nanoparticules ZnO à la fois aux ions zinc dissous et à la fixation de nanoparticules ou de leurs agrégats sur le microorganisme [Bai et al, 2010 ; Jiang et al, 2009]. Le mécanisme de la toxicité des nanoparticules ZnO peut également être différent selon le milieu parce que les propriétés physico-chimiques des nanoparticules et les espèces de zinc en solution peuvent être affectées par les composants du milieu.

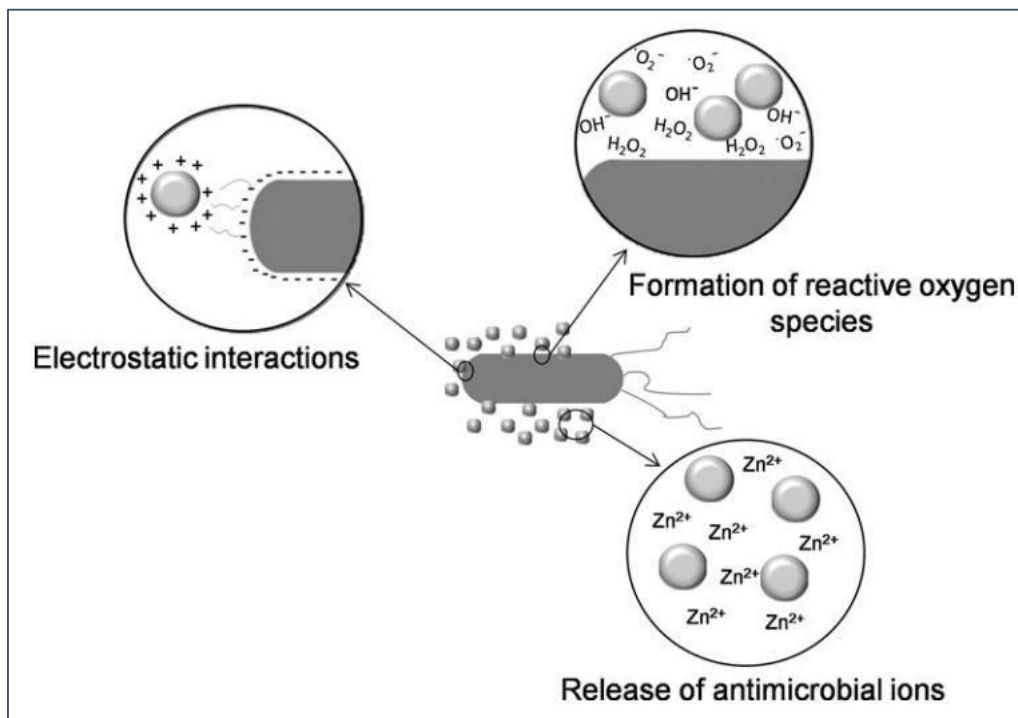


Figure II.3 : Mécanismes de l'activité antimicrobienne de nanoparticules ZnO [Espitia et al, 2012]

### II. 9.1 Production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs)

D'après plusieurs études, la génération d'EROs, comme le radical hydroxyle ( $OH\bullet$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le superoxyde ( $O_2\bullet^-$ ), est le résultat de l'activation des nanoparticules de ZnO par de la lumière UV. ZnO étant un matériau semi-conducteur, un rayonnement incident avec une énergie des photons supérieure à la valeur de sa largeur de bande interdite (3,3 eV) provoque un mouvement d'électrons de la bande de valence (BV) vers la bande de conduction (BC) de la nanoparticule. Le résultat de ce procédé est la formation d'un trou ( $h^+$ ) dans la bande de valence et d'un électron libre ( $e^-$ ) dans la bande de conduction [Seven et al, 2004]. Le trou ( $h^+$ ) réagit avec les molécules d'eau pour former  $\bullet OH$  et  $H^+$ . Les molécules

d'oxygène réagissent avec l'électron pour donner des radicaux superoxydes ( $O_2^{\bullet-}$ ), qui à leur tour réagissent avec les ions  $H^+$  pour générer ( $HO_2^{\bullet}$ ) [Gordon et al, 2011; Padmavathy et Vijayaraghavan, 2008] (Figure II.4).

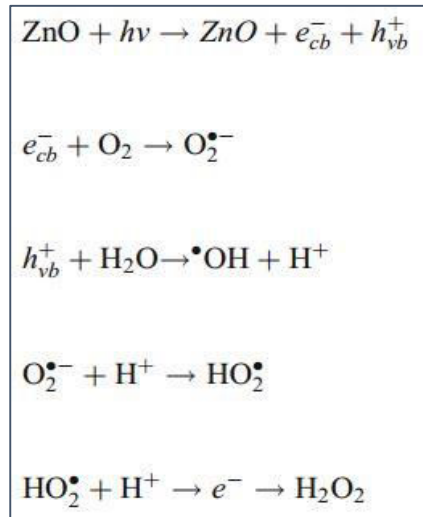


Fig II.4 : Mécanisme de formation des EROs

La génération d'EROs à la surface de nanoparticules de ZnO est cependant beaucoup plus complexe puisque certaines études ont montré une activité antimicrobienne de nanoparticules à l'obscurité [Moussa et al, 2016 ; Adams et al, 2006; Hirota et al, 2010; Zhang et al, 2007]. Hirota et al. ont mis en évidence une activité antibactérienne durable des nanoparticules de ZnO (30 nm) en l'absence de lumière contre *E. coli* sur gélose nutritive. Ces auteurs ont émis l'hypothèse que l'activité antibactérienne de ZnO à l'obscurité pourrait être due à la génération d'anions superoxyde bio-générés.

## II. 9.2 Libération d'ions $Zn^{2+}$

La libération d'ions  $Zn^{2+}$  à partir de ZnO a été proposée pour expliquer la toxicité de ce matériau vis-à-vis de *S. cerevisiae* [Kasemets et al, 2009]. Toutefois, la solubilité des oxydes métalliques tels que ZnO et  $Al_2O_3$  est fonction de leur concentration et du temps [Wang et al, 2009]. De plus, de faibles concentrations de  $Zn^{2+}$  peuvent déclencher une tolérance relativement élevée par le microorganisme. Dans le cas de la levure, le  $Zn^{2+}$  s'accumule dans les compartiments vésiculaires dynamiques (vacuoles et zincosomes), qui sont un système de défense cellulaire important à la fois pour l'excès de zinc et de carence [Devirgiliis et al, 2004].

Finally, there are differences in the metabolic processes of  $Zn^{2+}$  ions which depend on the intrinsic characteristics of each micro-organism. This could be one of the reasons for the differences observed in the toxicity thresholds vis-à-vis ZnO for various micro-organisms. This has been demonstrated by Reddy *et al.* in their comparative study of the toxicity of ZnO between *S. cerevisiae* and *E. coli* [Reddy *et al.*, 2007].

### II. 9.3 Interactions électrostatique avec la bactérie

According to Stoimenov *et al.*, the global charge of bacterial cells at biological pH is negative, due to the large number of carboxylate groups, which provide a negative charge to the surface of the cells [Stoimenov *et al.*, 2002]. Conversely, ZnO nanoparticles have a positive charge at these same pH (zeta potential of +24 mV) [Zhang *et al.*, 2008]. Consequently, the opposite charges of bacteria and nanoparticles will generate strong electrostatic interactions between the nanoparticles and the surface of the bacteria and, consequently, cause damage to the periphery of the cell. Brayner *et al.* showed that after interaction between ZnO and *E. coli*, there is a rupture of the cell wall, which causes the internalization of nanoparticles into the cells and leads to significant damage (disorganized cell walls, modification of morphology, leakage of intracellular content) [Brayner *et al.*, 2006]. Zhang *et al.* obtained similar results, and clearly show that the presence of ZnO nanoparticles caused the collapse of the bacterial membrane, due to the damage to its surface [Zhang *et al.*, 2007].

Xie *et al.* showed that the interactions between ZnO nanoparticles and *C. jejuni* lead to morphological changes leading to leakage of intracellular content and according to these authors, the substantial increase in the expression of oxidative stress genes in this micro-organism [Xie *et al.*, 2011]. These studies show that bacterial inactivation by ZnO is due to a direct interaction between the nanoparticles and the surface of the cells. According to the same authors, the permeability of the membrane allows the internalization of nanoparticles and the induction of oxidative stress in bacterial cells, which leads to the inhibition of growth.

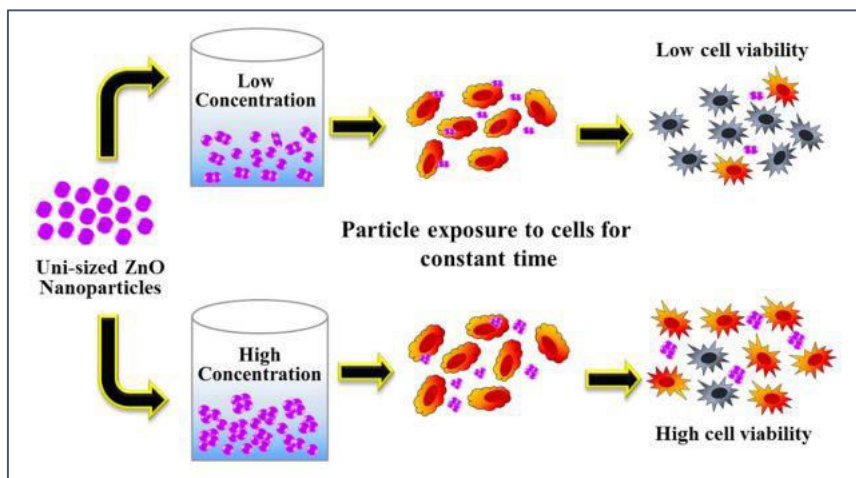
## II. 10. Facteurs influençant la toxicité

### II. 10.1 Concentration des nanoparticules

De nombreuses équipes ont montré que l'activité antimicrobienne des nanoparticules de ZnO est dépende de la concentration utilisée [Cepan et al, 2015 ; Reddy et al, 2007, Li et al, 2011 ; Tam et al, 2008 ; Liu et al, 2009 ; Zhang et al, 2012].

### II. 10.2 Agrégation des nanoparticules

L'agrégation des nanoparticules est un phénomène thermodynamique bien connu qui dépend de différents facteurs (durée, pH et force ionique). Dans ce contexte, Bai et al. ont rapporté que pour les trois types de matériaux étudiées (petits agrégats de nano-ZnO en suspension, ions  $Zn^{2+}$  dissouts, et grands agrégats de nano-ZnO déposés sur le fond du réacteur), une influence sur le système biologique était observée [Bai et al, 2010]. Pauluhn et al. ont étudié l'effet d'oxyhydroxydes d'aluminium agglomérés de taille micronique chez les rats mâles (Wistar) et ont suggéré que la réponse inflammatoire des poumons est principalement dépendante de l'agglomération plutôt que de taille primaire des particules [Pauluhn et al, 2009]. D'autres études soulignent que les nanoparticules de petites tailles sont capables d'entrer dans les mitochondries des cellules par diverses voies, induisant un stress oxydatif et la mort cellulaire par apoptose [Xia et al, 2010]. Tripathy et al. montrent que la concentration joue un rôle essentiel dans la modulation de l'agrégation des particules, et par la suite, sur la toxicité des nanoparticules ZnO (Fig. II.5), [Tripathy et al, 2014].



**Figure II.5 :** Effet de l'agrégation des nanoparticules de ZnO uni-taille dans les cellules macrophages murins RAW 264.7 [Tripathy et al, 2014].



### **II. 10.3 Dopage des nanoparticules**

Différentes études ont mentionné qu'un dopage avec le fer [Li et al, 2011 ; George et al, 2010], le cuivre [Moussa et al, 2016] ou l'aluminium [Fang et al, 2013] peut influencer la toxicité liée à la dissolution de ZnO et la génération d'EROs.

### **II. 10.4 Stabilisants des nanoparticules**

Pour la fabrication de nanoparticules de ZnO, il est très important d'obtenir des nanoparticules monodispersées et de contrôler la morphologie de ces dernières en utilisant un ligand ou un stabilisant. Mais ces ligands influent également sur la toxicité des nanoparticules ZnO. Plusieurs études ont suggéré que la modification de la surface des nanoparticules de ZnO permettait un ciblage efficace et la destruction des bactéries Gram+ et Gram- [Bellantone et al, 2002 ; Kell et al, 2008].

### **II.11 Références**

- Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Research*. 2006; 40 (19): 3527-32.
- Antoine TE, Mishra YK, Trigilio J, Tiwari V, Adelung R, Shukla D. Prophylactic, therapeutic and neutralizing effects of zinc oxide tetrapod structures against herpes simplex virus type-2 infection. *Antiviral research*. 2012; 96 (3): 363-75.
- Aruoja V, Dubourguier H-C, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment*. 2009; 407 (4):1461-8.
- Asli S, Neumann PM. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, cell & environment*. 2009; 32 (5):577-84.
- Bai W, Zhang Z, Tian W, He X, Ma Y, Zhao Y, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *Journal of Nanoparticle Research*. 2010; 12 (5): 1645-54.
- Bellantone M, Williams HD, Hench LL. Broad-spectrum bactericidal activity of Ag<sub>2</sub>O-doped bioactive glass. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002; 46 (6): 1940-5.
- Blinova I, Ivask A, Heinlaan M, Mortimer M, Kahru A. Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. *Environmental Pollution*. 2010;158 (1): 41-7.
- Borm P, Klaessig FC, Landry TD, Moudgil B, Pauluhn J, Thomas K, et al. Research

strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicological Sciences*. 2006; 90 (1): 23-32.

Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti MF, Fiévet F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Letters*. 2006; 6 (4): 866-70.

Čepin M, Hribar G, Caserman S, Orel ZC. Morphological impact of zinc oxide particles on the antibacterial activity and human epithelia toxicity. *Materials Science and Engineering: C*. 2015; 52: 204-11.

Chaudhuri P, Harfouche R, Soni S, Hentschel DM, Sengupta S. Shape effect of carbon nanovectors on angiogenesis. *Acs Nano*. 2009; 4 (1): 574-82.

Chauhan VP, Popović Z, Chen O, Cui J, Fukumura D, Bawendi MG, et al. Fluorescent Nanorods and Nanospheres for Real-Time In Vivo Probing of Nanoparticle Shape-Dependent Tumor Penetration. *Angewandte Chemie*. 2011; 123 (48): 11619-22.

Cho W-S, Duffin R, Howie SE, Scotton CJ, Wallace WA, MacNee W, et al. Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn<sup>2+</sup> dissolution inside lysosomes. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 8 (1): 27.

Cross SE, Innes B, Roberts MS, Tsuzuki T, Robertson TA, McCormick P. Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: in-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation. *Skin pharmacology and physiology*. 2007; 20 (3): 148-54.

De Azeredo HM. Antimicrobial nanostructures in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*. 2013; 30 (1): 56-69.

Decuzzi P, Godin B, Tanaka T, Lee S-Y, Chiappini C, Liu X, et al. Size and shape effects in the biodistribution of intravascularly injected particles. *Journal of Controlled Release*. 2010; 141 (3): 320-7.

Dimkpa CO, McLean JE, Britt DW, Anderson AJ. Bioactivity and biomodification of Ag, ZnO, and CuO nanoparticles with relevance to plant performance in agriculture. *Industrial Biotechnology*. 2012; 8 (6): 344-57.

Doshi N, Prabhakarandian B, Rea-Ramsey A, Pant K, Sundaram S, Mitragotri S. Flow and adhesion of drug carriers in blood vessels depend on their shape: a study using model synthetic microvascular networks. *Journal of Controlled Release*. 2010; 146 (2):196-200.

Durand L, Habran N, Henschel V, Amighi K. In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. *International journal of cosmetic science*. 2009; 31 (4): 279-92.

Espitia PJP, Soares N de FF, dos Reis Coimbra JS, de Andrade NJ, Cruz RS, Medeiros EAA. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food and Bioprocess Technology*. 2012; 5 (5): 1447-64.

Espitia PJP, Soares N de FF, Teófilo RF, Vitor DM, dos Reis Coimbra JS, de Andrade NJ, et al. Optimized dispersion of ZnO nanoparticles and antimicrobial activity against

foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *Journal of nanoparticle research*. 2013; 15 (1): 1-16.

Fang T, Watson J-L, Goodman J, Dimkpa CO, Martineau N, Das S, et al. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads? *Microbiological research*. 2013; 168 (2): 91-8.

Franklin NM, Rogers NJ, Apte SC, Batley GE, Gadd GE, Casey PS. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environmental Science & Technology*. 2007; 41 (24): 8484-90.

Geng Y, Dalhaimer P, Cai S, Tsai R, Tewari M, Minko T, et al. Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery. *Nature nanotechnology*. 2007; 2 (4): 249-55.

George S, Pokhrel S, Xia T, Gilbert B, Ji Z, Schowalter M, et al. Use of a rapid cytotoxicity screening approach to engineer a safer zinc oxide nanoparticle through iron doping. *Acs Nano*. 2009; 4 (1): 15-29.

Gonzalez H. Percutaneous absorption with emphasis on sunscreens. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2010; 9 (4):4 82-8.

Gordon T, Perlstein B, Houbara O, Felner I, Banin E, Margel S. Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011; 374 (1): 1-8.

Gottschalk F, Sun T, Nowack B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environmental Pollution*. 2013; 181: 287-300.

Gulson B, McCall M, Korsch M, Gomez L, Casey P, Oytam Y, et al. Small amounts of zinc from zinc oxide particles in sunscreens applied outdoors are absorbed through human skin. *Toxicological Sciences*. 2010; 243.

Gulson B, Wong H, Korsch M, Gomez L, Casey P, McCall M, et al. Comparison of dermal absorption of zinc from different sunscreen formulations and differing UV exposure based on stable isotope tracing. *Science of the total environment*. 2012; 420:313-8.

Hao L, Chen L. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2012; 80:103-10.

Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier H-C, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*. 2008; 71(7):1308-16.

Hirota K, Sugimoto M, Kato M, Tsukagoshi K, Tanigawa T, Sugimoto H. Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions.

Ceramics International. 2010; 36 (2):497-506.

Ho M, Wu K-Y, Chein H-M, Chen L-C, Cheng T-J. Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: mass and surface area as an exposure metric. *Inhalation toxicology*. 2011; 23 (14):947-56.

Hostynek JJ. Factors determining percutaneous metal absorption. *Food and Chemical Toxicology*. 2003; 41 (3):327-45.

Inman AO, Landsiedel R, Wiech K, Riviere JE, Schulte S, Monteiro-Riviere NA. Assessment of UVB-damaged skin in vivo with sunscreen formulations containing titanium and zinc nanoparticles. *Toxicologist*. 2010.

Jacobsen NR, Stoeger T, van den Brule S, Saber AT, Beyerle A, Vietti G, et al. Acute and subacute pulmonary toxicity and mortality in mice after intratracheal instillation of ZnO nanoparticles in three laboratories. *Food and Chemical Toxicology*. 2015: 1-12.

Jalal R, Goharshadi EK, Abareshi M, Moosavi M, Yousefi A, Nancarrow P. ZnO nanofluids: green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*. 2010; 121 (1): 198-201.

Jiang W, Mashayekhi H, Xing B. Bacterial toxicity comparison between nano-and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*. 2009; 157 (5):1619-25.

Kao Y-Y, Chen Y-C, Cheng T-J, Chiung Y-M, Liu P-S. Zinc oxide nanoparticles interfere with zinc ion homeostasis to cause cytotoxicity. *Toxicological Sciences*. 2012; 125 (2): 462-72.

Kasemets K, Ivask A, Dubourguier H-C, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology in vitro*. 2009; 23 (6): 1116-22.

Kell AJ, Stewart G, Ryan S, Peytavi R, Boissinot M, Huletsky A, et al. Vancomycin-modified nanoparticles for efficient targeting and preconcentration of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acs Nano*. 2008; 2 (9):1777-88.

Kim S, Kim J, Lee I. Effects of Zn and ZnO nanoparticles and Zn<sup>2+</sup> on soil enzyme activity and bioaccumulation of Zn in *Cucumis sativus*. *Chemistry and Ecology*. 2011; 27 (1):49-55.

Klaine SJ, Alvarez PJ, Batley GE, Fernandes TF, Handy RD, Lyon DY, et al. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008; 27 (9):1825-51.

Lademann J, Weigmann H-J, Rickmeyer C, Barthelmes H, Schaefer H, Mueller G, et al. Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice. *Skin Pharmacology and Physiology*. 1999; 12 (5):247-56.

Landsiedel R, Sauer UG, Ma-Hock L, Schnekenburger J, Wiemann M. Pulmonary toxicity of nanomaterials: a critical comparison of published in vitro assays and in vivo inhalation or instillation studies. *Nanomedicine*. 2014; 9 (16):2557-85.

Li M, Pokhrel S, Jin X, Mädler L, Damoiseaux R, Hoek EM. Stability, bioavailability, and bacterial toxicity of ZnO and iron-doped ZnO nanoparticles in aquatic media. *Environmental science & technology*. 2010; 45 (2):755-61.

Li M, Zhu L, Lin D. Toxicity of ZnO nanoparticles to *Escherichia coli*: mechanism and the influence of medium components. *Environmental science & technology*. 2011; 45 (5):1977-83.

Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 2007; 150 (2):243-50.

Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 2007; 150 (2):243-50.

Lin D, Xing B. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental science & technology*. 2008; 42 (15):5580-5.

Lin W, Xu Y, Huang C-C, Ma Y, Shannon KB, Chen D-R, et al. Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. *Journal of Nanoparticle Research*. 2009; 11 (1):25-39.

Lindahl M, Leanderson P, Tagesson C. Novel aspect on metal fume fever: zinc stimulates oxygen radical formation in human neutrophils. *Human & experimental toxicology*. 1998;17(2):105-10.

Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Applied Microbiology*. 2009; 107 (4):1193-201.

López-Moreno ML, de la Rosa G, Hernández-Viezcás JÁ, Castillo-Michel H, Botez CE, Peralta-Videa JR, et al. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO<sub>2</sub> nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental science & technology*. 2010; 44 (19):7315-20.

Mishra YK, Adelung R, Röhl C, Shukla D, Spors F, Tiwari V. Virostatic potential of micro-nano filopodia-like ZnO structures against herpes simplex virus-1. *Antiviral research*. 2011; 92 (2):305-12.

Monteiro-Riviere NA, Wiench K, Landsiedel R, Schulte S, Inman AO, Riviere JE. Safety evaluation of sunscreen formulations containing titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in UVB sunburned skin: an in vitro and in vivo study. *Toxicological Sciences*. 2011; 148.

Moussa H, Merlin C, Dezanet C, Balan L, Medjahdi G, Ben-Attia M, et al. Trace amounts of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots. *Journal of hazardous materials*. 2016; 304: 532-42.

Mukherjee A, Peralta-Videa JR, Bandyopadhyay S, Rico CM, Zhao L, Gardea-Torresdey JL. Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil. *Metallomics*. 2014; 6 (1):132-8.

Nohynek GJ, Lademann J, Ribaud C, Roberts MS. Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Critical reviews in toxicology*. 2007; 37 (3):251-77.

Ohira T, Yamamoto O, Iida Y, Nakagawa Z. Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2008; 19 (3):1407-12.

Ostrovsky S, Kazimirsky G, Gedanken A, Brodie C. Selective cytotoxic effect of ZnO nanoparticles on glioma cells. *Nano Research*. 2009; 2 (11): 882-90. r

Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2008; 9 (3): 035004.

Pauluhn J. Pulmonary Toxicity and Fate of Agglomerated 10 nm and 40 nm Aluminum Oxyhydroxides (AlOOH) following 4-week Inhalation Exposure of Rats: Toxic Effects are determined by agglomerated, not primary Particle Size. *Toxicological Sciences*. 2009; 046.

Premanathan M, Karthikeyan K, Jeyasubramanian K, Manivannan G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2011; 7 (2): 184-92.

Raffa V, Taccola L, Cristina Riggio, Vittorio O, Iorio MC, Pietrabissa A, et al. Zinc oxide nanoparticles as selective killers of proliferating cells. *International Journal of Nanomedicine*. 2011; 1129.

Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied physics letters*. 2007; 90 (21): 213902.

Rico CM, Lee SC, Rubenecia R, Mukherjee A, Hong J, Peralta-Videa JR, et al. Cerium oxide nanoparticles impact yield and modify nutritional parameters in wheat (*Triticum aestivum L.*). *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014; 62 (40): 9669-75.

Roberts MS, Roberts MJ, Robertson TA, Sanchez W, Thörling C, Zou Y, et al. In vitro and in vivo imaging of xenobiotic transport in human skin and in the rat liver. *Journal of biophotonics*. 2008; 1 (6): 478-93.

Russell AD. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52 (5): 750-63.

Sadrieh N, Wokovich AM, Gopee NV, Zheng J, Haines D, Parmiter D, et al. Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) from sunscreen formulations containing nano- and sub-micron-size TiO<sub>2</sub> particles. *Toxicological Sciences*. 2010; 041.

Sawai J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; 54 (2): 177-82.

Sayes CM, Reed KL, Warheit DB. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicological Sciences*. 2007; 97 (1): 163-80.

Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC (2006) *Microbe*. ASM Press, Washington, DC, 24.

Schilling K, Bradford B, Castelli D, Dufour E, Nash JF, Pape W, et al. Human safety review of « nano » titanium dioxide and zinc oxide. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2010; 9 (4): 495-509.

Scown TM, Santos EM, Johnston BD, Gaiser B, Baalousha M, Mitov S, et al. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicological Sciences*. 2010; 115 (2): 521-34.

Seven O, Dindar B, Aydemir S, Metin D, Ozinel MA, Icli S. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO<sub>2</sub>, ZnO and Sahara desert dust. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2004; 165 (1): 103-7.

Sonohara R, Muramatsu N, Ohshima H, Kondo T. Difference in surface properties between *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as revealed by electrophoretic mobility measurements. *Biophysical chemistry*. 1995; 55 (3): 273-7.

Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*. 2002; 18 (17): 6679-86.

Sükran Seker, A. Eser Elçin, Tug̃rul Yumak, Ali Sınag , Y. Murat Elçin, In vitro cytotoxicity of hydrothermally synthesized ZnO nanoparticles on human periodontal ligament fibroblast and mouse dermal fibroblast cells, *Toxicology in Vitro*. 2014; 28 1349–1358.

Taccola L, Raffa V, Riggio C, Vittorio O, Iorio MC, Vanacore R, et al. Zinc oxide nanoparticles as selective killers of proliferating cells. *Int J Nanomed*. 2011; 6: 1129-40.

Tam KH, Djurišić AB, Chan CMN, Xi YY, Tse CW, Leung YH, et al. Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method. *Thin solid films*. 2008; 516 (18): 6167-74.

TGA (Therapeutic Goods Administration), Australia. A review of the scientific literature on the safety of nanoparticulate titanium dioxide or zinc oxide in sunscreens. [www.tga.gov.au/npmc/sunscreens-zotd.htm](http://www.tga.gov.au/npmc/sunscreens/zotd.htm)2009.

Tripathy N, Hong T-K, Ha K-T, Jeong H-S, Hahn Y-B. Effect of ZnO nanoparticles aggregation on the toxicity in RAW 264.7 murine macrophage. *Journal of Hazardous Materials*. 2014; 270: 110-7.

Wahab R, Siddiqui MA, Saquib Q, Dwivedi S, Ahmad J, Musarrat J, et al. ZnO nanoparticles induced oxidative stress and apoptosis in HepG2 and MCF-7 cancer cells and their antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014; 117: 267-76.

Warheit DB, Sayes CM, Reed KL. Nanoscale and fine zinc oxide particles: can in vitro assays accurately forecast lung hazards following inhalation exposures? *Environmental science & technology*. 2009; 43 (20): 7939-45.

W. D. FDA, Part 182-substances Generally Recognized as Safe, Food and Drug Administration, USA, 2014. (Available at: <http://WWW.ACCESSDATA.FDA.GOV/SCRIPTS/CDRH/CFDOCS/CFCFR/CFRSEARCH.CFM?FR=182.8991>, Accessed 7 October 2014 [Online]).

Wiethoff AJ, Reed KL, Webb TR, Warheit DB. Assessing the role of neutrophil apoptosis in the resolution of particle-induced pulmonary inflammation. *Inhalation toxicology*. 2003; 15 (12): 1231-46.

Wu B, Wang Y, Lee Y-H, Horst A, Wang Z, Chen D-R, et al. Comparative eco-toxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes. *Environmental science & technology*. 2010; 44 (4): 1484-9.

Xia T, Kovoichich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters*. 2006; 6 (8): 1794-807.

Xie Y, He Y, Irwin PL, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and environmental microbiology*. 2011; 77 (7): 2325-31.

Zak AK, Majid WA, Mahmoudian MR, Darroudi M, Yousefi R. Starch-stabilized synthesis of ZnO nanopowders at low temperature and optical properties study. *Advanced Powder Technology*. 2013; 24 (3): 618-24.

Zhang L, Ding Y, Povey M, York D. ZnO nanofluids—A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science*. 2008; 18 (8): 939-44.

Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Daskalakis N, Jeuken L, Povey M, et al. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of Nanoparticle Research*. 2010; 12 (5): 1625-36.

Zhao L, Hernandez-Viezcas JA, Peralta-Videa JR, Bandyopadhyay S, Peng B, Munoz B, et al. ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate. *Environmental Science: Processes & Impacts*. 2013; 15 (1): 260-6.

Zvyagin AV, Zhao X, Gierden A, Sanchez W, Ross JA, Roberts MS. Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin in vitro and in vivo. *Journal of biomedical optics*. 2008; 13 (6): 064031-064031.





**Chapitre III. Trace amounts  
of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS  
production and cytotoxicity  
of ZnO quantum dots**



## **Introduction**

Au cours des dernières années, de très nombreuses études toxicologiques ont été consacrées à ZnO. Les résultats obtenus montrent que deux facteurs clés sont à l'origine de la toxicité de ce matériau : (1) la dissolution des (nano)particules, la libération d'ions Zn<sup>2+</sup> dans le milieu suivie de leur association avec les cellules et (2) la production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) par voie photo-induite si ZnO est exposé à un rayonnement UV ou solaire.

Notre équipe travaille depuis de nombreuses années sur les quantum dots (QDs), et notamment ZnO, ainsi que sur leur dispersion en milieu aqueux à l'aide du ligand 3-aminopropyltriméthoxysilane (APTMS). Nous souhaitons, dans un premier temps, évaluer la photo-production d'EROs par ces très petites nanoparticules de diamètre inférieur à 8 nm.

Si les QDs ZnO étaient accidentellement libérés dans l'environnement et s'associaient à des cations métalliques, la toxicité de ces nanomatériaux risque d'être profondément modifiée. Nous avons préparés des QDs ZnO@APTMS soit dopés par des ions Cu<sup>2+</sup> soit modifiés à leur périphérie avec des ces mêmes ions. Le cation Cu<sup>2+</sup> a été choisi comme représentatif des métaux susceptibles d'être rencontrés par les nanoparticules dans l'environnement. La production d'EROs (OH<sup>°</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>°-</sup>, et <sup>1</sup>O<sub>2</sub>) par les trois nanoparticules a été comparée ainsi que leur cytotoxicité vis-à-vis de la bactérie *E. coli*.



## **Trace amounts of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots**

### **Abstract**

3-Aminopropyltrimethoxysilane (APTMS) was used as ligand to prepare ZnO@APTMS, Cu<sup>2+</sup>-doped ZnO (ZnO:Cu@APTMS) and ZnO quantum dots (QDs) with chemisorbed Cu<sup>2+</sup> ions at their surface (ZnO@APTMS/Cu). The dots have a diameter of ca. 5 nm and their crystalline and phase purities and composition were established by X-ray diffraction, transmission electron microscopy, UV-visible and fluorescence spectroscopies and by X-ray photoelectron spectroscopy. The effect of Cu<sup>2+</sup> location on the ability of the QDs to generate reactive oxygen species (ROS) under light irradiation was investigated. Results obtained demonstrate that all dots are able to produce ROS (<sup>•</sup>OH, O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and <sup>1</sup>O<sub>2</sub>) and that ZnO@APTMS/Cu QDs generate more <sup>•</sup>OH and O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radicals and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> than ZnO@APTMS and ZnO:Cu@APTMS QDs probably via mechanisms associating photo-induced charge carriers and Fenton reactions. In cytotoxicity experiments conducted in the dark or under light exposure, ZnO@APTMS/Cu QDs appeared slightly more deleterious to *E. coli* cells than the two other QDs, therefore pointing out the importance of the presence of Cu<sup>2+</sup> ions at the periphery of the nanocrystals. On the other hand, with the lack of photo-induced toxicity, it can be inferred that ROS production cannot explain the cytotoxicity associated to the QDs. Our study demonstrates that both the production of ROS from ZnO QDs and their toxicity may be enhanced by chemisorbed Cu<sup>2+</sup> ions, which could be useful for medical or photocatalytic applications.

Keywords : zinc oxide quantum dots, reactive oxygen species, copper, *E. coli*, toxicity

### **III.1. Introduction**

The growing production and use of nanoparticles inevitably leads to their release into the environment but their impact remains largely unknown. Both *in vitro* and *in vivo* studies have demonstrated that engineered nanoparticles with sizes in the 1-100 nm range, comparable to the size of some biological structures [1], are potentially toxic to organisms [2,3].

Physicochemical parameters such as size, specific surface area, shape and surface ligand are potential factors influencing their interactions with cells, their cellular uptake and ultimately their toxicity [4-9].

Among currently engineered nanoparticles, metal oxide nanoparticles are receiving increasing attention in materials science and nanotechnology-based industries for a large variety of applications, including catalysis, sensors and environmental remediation, and as a consequence are increasingly incorporated into commercial products [10,11]. Among the metal oxide semiconductors, zinc oxide (ZnO) is one of the most promising materials for devices requiring good performances at room temperature because of its 3.37 eV direct wide band gap with a 60 meV high exciton binding energy. Therefore, ZnO nanoparticles are widely produced and technologically applied in light-emitting diodes, field-effective transistors, chemical sensors or fluorescent probes but also commonly used in sunscreen products, textiles, paints and industrial coatings [12-15].

Bulk ZnO particles are generally considered to be of very low toxicity and biosafe because of the relatively low toxicity of Zn<sup>2+</sup> ions compared to other trace metal elements. However, when reduced to the nanoscale, ZnO shows new aspects of toxicity [16]. ZnO nanoparticles have been demonstrated to cause toxicity to many mammal cells like osteoblast cancer cells, human bronchial epithelial cells, human kidney cells, and human alveolar adenocarcinoma cells, among others [17-21]. The ecological response to ZnO nanoparticles has far less been investigated despite the fact that their release into the environment is inevitable due to their high level of production. Recently, ZnO nanoparticles have been found to be toxic towards a wide range of bacterial species including *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Photobacterium phosphoreum*, *Staphylococcus aureus*, or *Bacillus atrophaeus* [22-31]. Leakage of free Zn<sup>2+</sup> ions or zinc hydroxides from ZnO nanoparticles has been proposed to explain their cytotoxicity [32, 33]. However, several reports pointed out that ZnO nanoparticles also generate oxidative stress through the production of reactive oxygen species (ROS), namely hydroxyl radicals (<sup>•</sup>OH), superoxide radical anions (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), and singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), and that these species may dominantly contribute to the antimicrobial activity of ZnO nanoparticles [32-38]. Actually, the relative contribution of metal leakage and ROS production in the toxicity of nanoparticles is often a subject of debate, and seems to depend on the structure of the particle as well as on the surrounding environmental conditions [39]. With this respect, it is worth mentioning that most toxicity studies on ROS generation from ZnO nanoparticles were conducted in deionized water. However, natural waters always contain cations which may

complicate the behavior of ZnO nanoparticles and their toxicity. Cu<sup>2+</sup> is an important representative of cations present in the natural environment and the consequences on toxicity of its interaction/association with ZnO nanoparticles have never been thoroughly evaluated.

The main objective of this research was to study the influence of Cu<sup>2+</sup> association on the photo-reactivity and the toxicity of ZnO QDs. Only three recent studies have addressed the influence of doping on the stability and toxicity of ZnO nanoparticles. When nanoparticles are used at high concentration (ca. 300 mg/L), iron-doping decreases the dissolution rate of the nanoparticles, and thus the Zn<sup>2+</sup> release-mediated toxicity [40]. At lower concentrations in nanoparticles, neither iron nor aluminium doping were found to influence ZnO particles toxicity [23, 24].

In this work, ZnO QDs were either doped with Cu<sup>2+</sup> ions in the crystal lattice or Cu<sup>2+</sup> ions chemisorbed at their surface and the photo-production of ROS evaluated. The results obtained demonstrate that under identical irradiation conditions, ZnO@APTMS/Cu QDs produce higher amounts of  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$  radicals and of  $\text{H}_2\text{O}_2$  than ZnO@APTMS and ZnO:Cu@APTMS QDs. This enhanced ROS production probably originates from photo-excited charge carriers combined with Fenton reactions. The toxicity of ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu dots towards *Escherichia coli* cells was compared with Cu-free ZnO QDs both in the dark and under light irradiation. ZnO@APTMS/Cu QDs were also found to exhibit the highest antibacterial activity. The antibacterial mechanism is more complex and probably originates from the combination of more than one phenomenon, e.g. ROS production, Zn<sup>2+</sup> release and presence of Cu<sup>2+</sup> ions at the periphery of the nanocrystals.

## **III.2. Experimental**

### ***III.2.1. Synthesis of oleate-capped ZnO QDs***

The full list of chemicals and of the equipment used in this work to characterize the dots is described in the Supplementary Information. Oleate capped ZnO QDs were prepared according to our previous reports [6, 14]. The full synthetic protocol is described in the Supporting Information.



### ***III.2.2. Synthesis of Cu-doped ZnO QDs (ZnO:Cu QDs)***

Cu-doped ZnO QDs (1% doping in Cu<sup>2+</sup>) were prepared using the synthetic protocol described for ZnO QDs except that 1.2 10<sup>-5</sup> mole of Zn(OAc)<sub>2</sub> were replaced by 1.2 10<sup>-5</sup> mole (2.39 mg) of Cu(OAc)<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O during the synthesis.

### ***III.2.3. Synthesis of APTMS-capped ZnO and ZnO:Cu QDs***

Surface functionalization of ZnO and ZnO:Cu QDs with APTMS was conducted according to our previous reports [6, 14]. Briefly, under a nitrogen atmosphere, the oleate-capped ZnO or ZnO:Cu QDs were dispersed in toluene (10 mL) and mixed with 2 mL of a 0.1 M APTMS solution in toluene. 2 mL of a 0.1 M solution of TMAH in ethanol were then added and the temperature was set at 85°C. After 15 min, the solution was allowed to cool and nanoparticles isolated by centrifugation (4000 rpm, 15 min). After removal of the supernatant, the precipitate was washed three times with toluene to remove the oleate ligand. The modified QDs were redispersed in toluene (10 mL) and 4 mL of 0.1 M TMAH solution were added. The reaction mixture was heated to 85°C for 30 min. The resulting APTMS-capped QDs were collected by centrifugation (4000 rpm, 15 min), washed 3 times with ethanol, and quickly dried at room temperature before use.

### ***III.2.4. Synthesis of ZnO QDs with Cu<sup>2+</sup> ions adsorbed at their surface (ZnO@APTMS/Cu)***

ZnO@APTMS QDs (50 mg) were first dispersed by magnetic stirring in 10 mL ultrapure water. To this solution were added 260 µL of a 50 µM aqueous solution of Cu(OAc)<sub>2</sub> and the mixture was stirred for 2 h at room temperature in the darkness. ZnO@APTMS/Cu QDs were then precipitated by the addition of 20 mL ethanol, recovered by centrifugation, and finally washed three times with ethanol.

### **III.2.5. DST assays**

The production of  $\cdot\text{OH}$  radicals by ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs was estimated using disodium terephthalate (DST), which turns into fluorescent 2-hydroxyterephthalate, 2-OH-DST ( $\lambda_{\text{em}} = 428 \text{ nm}$ ) upon reaction with  $\cdot\text{OH}$  radicals [41-43]. Briefly, the QDs were dispersed by magnetic stirring in water to obtain a solution with an optical density of 0.2 at 345 nm. 1 mL of this dispersion was mixed with 1 mL of DST (0.1 M in water) before being irradiated with a Hg-Xe lamp (light intensity =  $350 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) (see Fig. S1 for the spectrum of the Hg-Xe lamp). The mixture was treated with 1 mL of 1M NaOH and incubated for 50 min at r.t. before filtration on 0.2  $\mu\text{m}$  polyvinylidene fluoride Acrodisc Syringe Filter. The photoluminescence (PL) spectra were recorded to estimate 2-OH-DST formed ( $\lambda_{\text{ex}} = 300 \text{ nm}$ ). Control samples were (i) DST irradiated in the absence of particles and (ii) DST and particles but without light activation. PL intensities measured after these control experiments were subtracted from those measured when the dots were irradiated in the presence of DST. All results were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

### **III.2.6. NBT assays**

The production of superoxide  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radicals was estimated using the nitroblue tetrazolium (NBT) assay [44]. NBT assay is based on spectrophotometric measurements quantifying the reduction of yellowish NBT into purple formazan derivatives. The reduction into mono- and diformazan derivatives results in an increase of absorbance between 450 and 700 nm. Typically, ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs were dispersed by magnetic stirring in a 1:1 water/DMSO mixture saturated with oxygen to obtain a solution with an absorption of 0.2 at 345 nm. NBT (4 mg) was next added to the dots dispersion under light protection. The solution was next irradiated with a Hg-Xe lamp (light intensity =  $50 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) for various times (0, 15, 30, 45 and 60 min). The absorbance spectra were recorded to quantify formazan derivatives formed. Control samples were (i) NBT irradiated in the absence of particles and (ii) NBT and particles but without light activation. Absorption intensities measured after these control experiments were subtracted from those measured when the dots were irradiated in the presence of NBT. All results were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

### ***III.2.7. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> assays***

The production of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) by ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs was estimated using leuco crystal violet (LCV) which forms a violet cation absorbing at 596 nm in the presence of the enzyme horseradish peroxidase (HRP) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [45]. The HRP solution was prepared by dissolving 10 mg of HRP in 10 mL of distilled water. The LCV solution was prepared by dissolving 5 mg of LCV in 10 mL of 0.5% HCl solution. The acetate buffer solution was prepared by mixing equal volumes of sodium acetate (2 M) and acetic acid. The pH was adjusted to 4.5 with glacial acetic acid.

A dispersion of QDs with an absorption of ca. 0.2 at 345 nm solution was irradiated during 45 min with a Hg-Xe lamp (light intensity = 50 mW.cm<sup>-2</sup>). 200 μL of this dispersion were added to 9.8 mL of distilled water. Next, 1 mL of the LCV solution, 0.5 mL of the HRP solution and 5 mL of the acetate buffer were added. The mixture was stirred during 60 min in the dark at room temperature. The absorbance at 596 nm was next measured and compared to a calibration curve constructed with standard H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions to determine the concentration in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in QDs irradiated dispersions. All results were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

### ***III.2.8. Singlet oxygen detection***

The production of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> was estimated using the Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG) probe [46, 47]. A yellowish stock solution of SOSG (25 μM) was prepared by dissolution of 100 μg of SOSG into 6.6 mL of methanol. Separately, a dispersion of QDs with an absorption of ca. 0.2 at 345 nm solution was prepared in Milli-Q water previously saturated during one hour with oxygen. 2.5 mL of the ZnO QDs dispersion and 100 μL of the SOSG stock solution (final SOSG concentration of 1 μM) were introduced in a cuve and the mixture irradiated with a Hg-Xe lamp (light intensity = 50 mW.cm<sup>-2</sup>) during times varying between 0 to 15 min.

Control samples were (i) SOSG irradiated in the absence of particles and (ii) SOSG and particles but without light activation. PL emission intensities measured after these control experiments were subtracted from those measured when the dots were irradiated in the presence of NBT. All results were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

Histidine, a singlet oxygen scavenger, was used at a 10 mM concentration [48]. Histidine was dissolved in the aqueous solution of QDs before irradiation. The quenching of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> was evaluated by the decrease of the PL intensity at 525 nm.

### **III.2.9. Cytotoxicity assays**

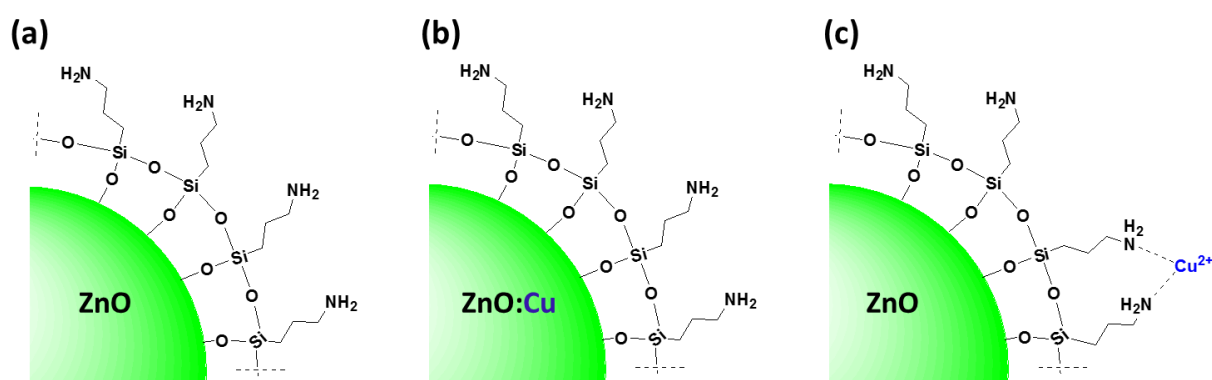
Because of its long standing history in laboratory studies, *Escherichia coli* MG1655 [49] appeared as an ideal model where a deep knowledge of its cell physiology/structure could serve a good understanding of the molecular mechanisms involved in QDs toxicity.

Growth inhibition tests were carried out in MOPS-buffered minimal medium (or RM medium [50] supplemented with Fe-citrate and trace elements as described by Mergeay *et al.* [51] for the 284 medium), and 0.2% gluconate as carbon source. All cultures were carried out in transparent 200 mL-polypropylene containers, at 30°C under agitation (160 rpm). Exponentially growing cultures of *E. coli* MG1655 (OD600 = 0.2) were five-fold diluted in pre-warmed culture medium supplemented with the desired concentration of QDs and the OD600 was measured at intervals. A growth control without QDs supplement was performed in parallel. Growth experiments were carried out either in the dark (containers wrapped in aluminium foil) or under the illumination (1250 lx) of a full spectrum neon lighting (T8 Solar Color, JBL). For each growth condition, the generation times of exponential growing cultures were calculated from the slope of an exponential trend curve. For cytotoxicity assays, a stock suspension of nanoparticles was obtained by dispersing ZnO QDs in MOPS-gluconate medium (concentration 0.8 mg/mL) followed by a 10 min sonication at 130 W in an ultrasound bath (TP 680/DH, Transsonic Digital, Elma®). QDs molar concentrations are provided as Zn equivalent (M<sub>Zneq</sub>) based on the metal elementary analyses of each nanoparticle provided by ICP-OES. The stability of the particles, with respect free Zn<sup>2+</sup> ions leaking, was assessed by ICP-OES following dialysis experiments as previously reported in [52]. Briefly, 1 mL of QDs stock suspension (6×10<sup>-3</sup> to 7×10<sup>-3</sup> M<sub>Zneq</sub>) was introduced in a 1 mL ready-to-use dialysis device with a molecular weight cut-off of 8–10 kD (Float-A-Lyzer G2; Spectra/Por). QDs dispersions were dialyzed for 7 h, in the dark, under stirring (160 rpm), and at 30°C against 24 mL of MOPS-gluconate medium. Dialysates and retentates were further analyzed for their Zn and Cu content by ICP-OES.

### III.3. Results and discussion

#### III.3.1. Synthesis and characterization of ZnO QDs

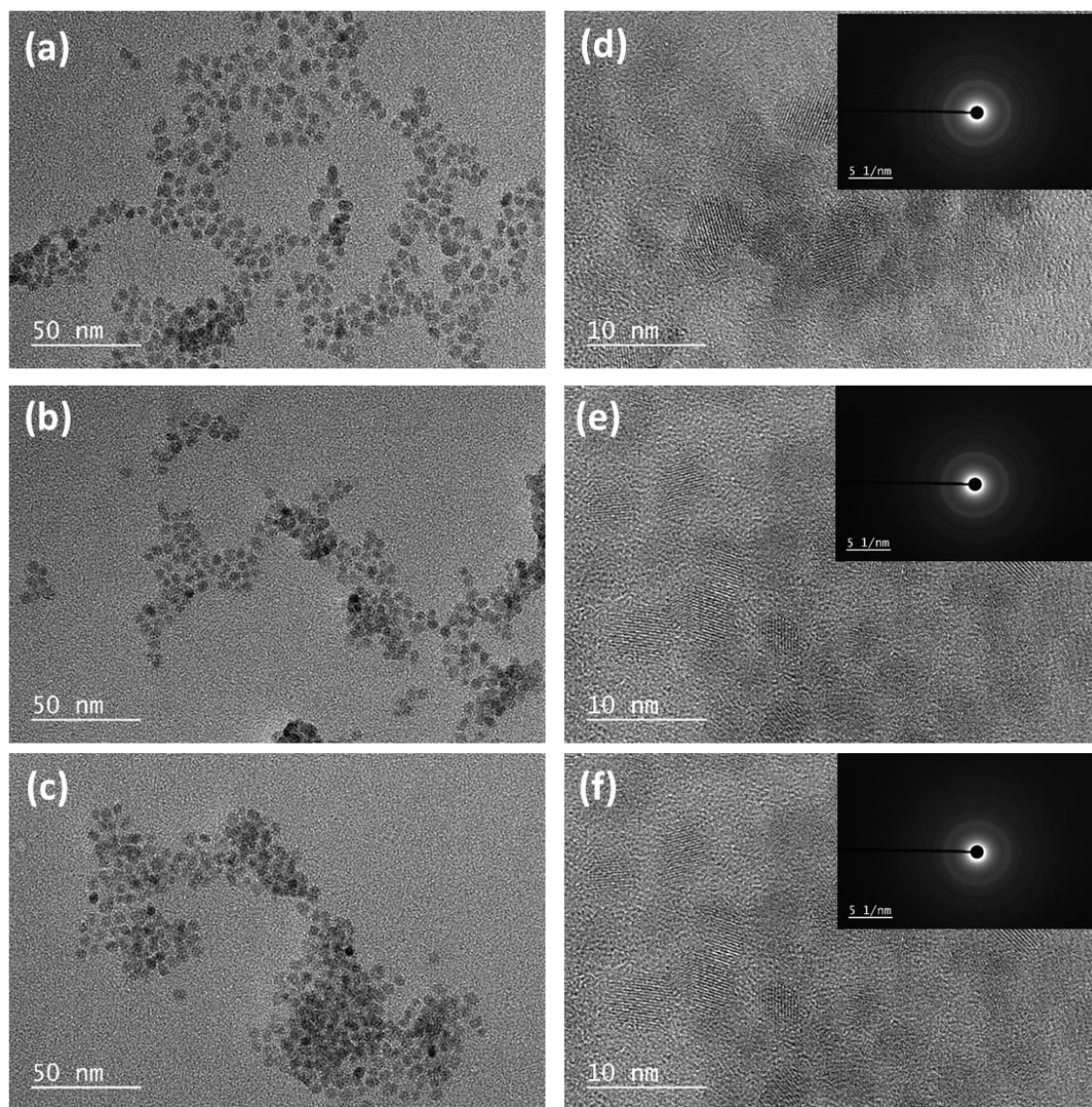
Colloidal ZnO and Cu-doped ZnO (ZnO:Cu) QDs were synthesized in a reaction between  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$  and  $\text{Zn}(\text{OAc})_2/\text{Cu}(\text{OAc})_2$ , respectively, and TMAH in refluxing ethanol [6, 53, 54]. During these sol-gel syntheses, oleic acid was used as capping ligand. Water dispersibility of the dots was achieved by surface functionalization of oleate-capped ZnO and ZnO:Cu QDs with APTMS [6]. To produce ZnO QDs with chemisorbed  $\text{Cu}^{2+}$  ions at their surface, freshly prepared ZnO@APTMS QDs were treated with an aqueous solution of  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ . At the end of the reaction, unbound  $\text{Cu}^{2+}$  ions were removed by ethanol precipitation and wash of the dots. The expected structures of the nanoparticles used in this study are shown in Fig. III.1.



**Fig. III.1.** Schematic representation of the ZnO-based QDs used in this study. (a) ZnO@APTMS, (b) ZnO:Cu@APTMS, and (c) ZnO@APTMS/Cu.

The TEM images depicted in Fig. III.2a-c show that all ZnO QDs displayed a same sphere-like shape, that nanocrystals have similar particle sizes ( $5.3 \pm 1.7$ ,  $4.7 \pm 1.0$ , and  $5.4 \pm 1.0$  for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu, respectively) and that their dispersion degrees don't differ significantly (see Fig. III.S2 for size distributions). The crystal size of ZnO:Cu@APTMS QDs is slightly smaller than that of the two other ZnO QDs, which may be attributed to the growth inhibition of the crystals due to the presence of  $\text{Cu}^{2+}$  ions in the reaction medium [55]. As can be observed in high-resolution TEM images (Fig. III.2d-f), the lattice fringes with a  $d$  spacing of 2.8 and 2.5 Å correspond to the (100) and (101) plane of hexagonal ZnO. The selected area electron diffraction (SAED) patterns of ZnO QDs (insets of

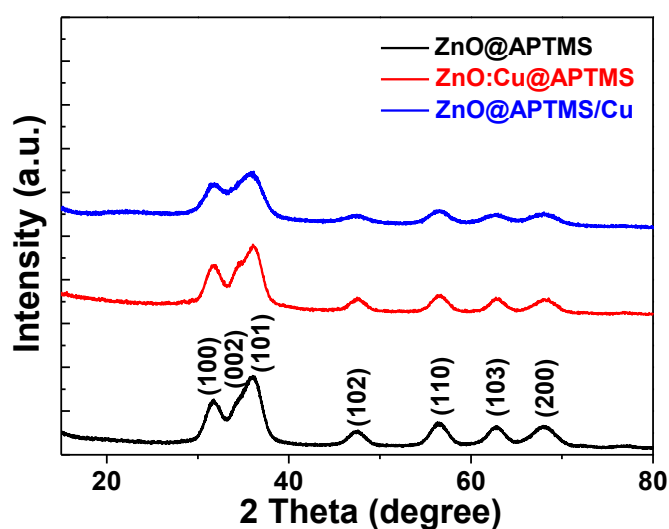
Fig. III.2d-f) reveal a set of concentric reflexes, further confirming the hexagonal structure of ZnO nanocrystals (JCPDS Card No 36-1451).



**Fig. III.2.** TEM, HR-TEM images and SAED patterns of (a)(d) ZnO@APTMS QDs, (b)(e) ZnO:Cu@APTMS, and (c)(f) ZnO@APTMS/Cu QDs.

The crystallinity of the three QDs was further studied by powder XRD (Fig. III.3). All observed peaks in the XRD patterns can be indexed to the hexagonal wurtzite structure of ZnO (JCPDS No 36-1451) and no peak characteristic of Cu oxides was found in the patterns of ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs. From the XRD patterns, the broadening of the diffraction peaks is obvious, which is characteristic of nanosized materials. The comparison of ZnO and ZnO:Cu patterns shows that the relative intensity of the peaks is not significantly

changed, thus indicating that Cu doping does not alter the crystallinity of the particles and that Cu<sup>2+</sup> is incorporated into the Zn<sup>2+</sup> lattice sites rather than interstitial ones. The average crystallite size, estimated by applying the Scherrer equation to the most intense (101) peak, was found to be 4.5 ± 1.0 nm for the three nanocrystals.



**Fig. III.3.** Powder XRD patterns for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs.

The UV-vis absorption spectra of the three samples (Fig. III.S3a) are in accordance with the TEM micrographs of Fig. III.2. The excitonic peaks are nearly located at the same position (ca. 345 nm), indicating that the QDs are approximately of same size. The bandgap  $E_g$  values, obtained from the different absorption edges of the particles using the Tauc relation, were found to be of ca. 3.40 eV for the three QDs. The value of  $E_g$  is higher than the bandgap of bulk ZnO (3.37 eV) and confirms the spatial confinement of the photo-generated charge carriers in the dots (Fig. III.S3c).

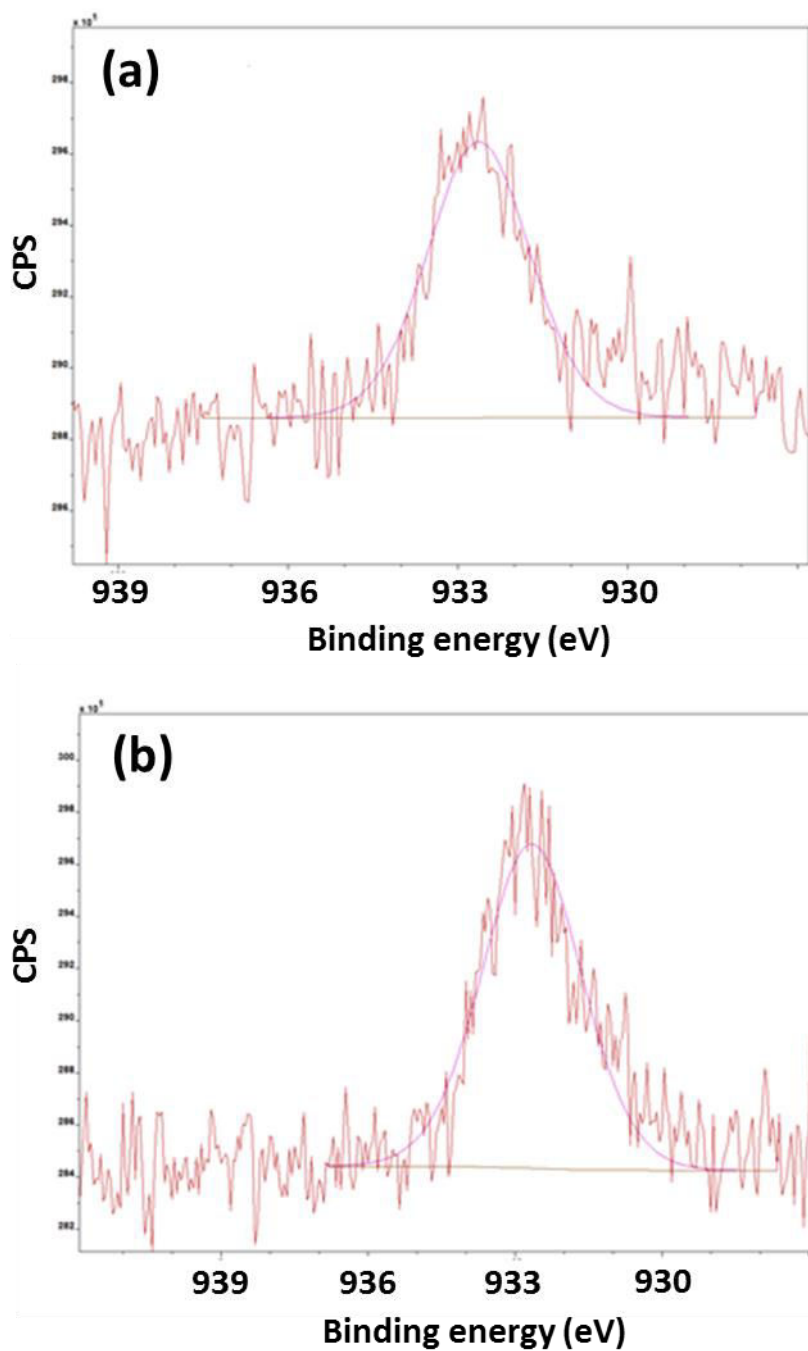
Using the experimental formula  $1240/\lambda_{1/2} = a + b/D^2 - c/D$  [56], where  $\lambda_{1/2}$  is the wavelength at which the absorption is 50% of that at the excitonic peak and  $a$ ,  $b$ , and  $c$  are parameters when the ZnO QDs diameter is within the 2.5-6.5 nm range, the diameters of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu were calculated to be 5.0, 4.9, and 5.2 nm, respectively, values in good accordance with TEM experiments.

The PL spectrum of ZnO@APTMS QDs dispersed in water is shown in Fig. III.S3b. The large Stokes shift of the PL band maximum relative to  $E_g$ , more than 1.1 eV, and the large FWHM

of the band (0.6 eV) are typical for the radiative electron-hole recombination involving charge traps on the surface of ZnO QDs with corresponding energy states residing in the bandgap [57, 58]. The PL QY of the visible emission was calculated to be 12% for ZnO@APTMS QDs. A strong decrease of the PL intensity and a redshift of the PL emission peak (571 nm) of ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu crystals were observed once Cu<sup>2+</sup> ions doped in ZnO QDs or adsorbed at their periphery. The quenching observed probably originates from non-radiative recombination pathways or electron transfer processes [59, 60] and to inner-filter effects [61] for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively.

Fig. III.S4-6 show the XPS spectra of the three ZnO QDs. All peaks are indexed in the survey spectra and confirm that the dots are not contaminated by impurities. The peaks at ca. 530.3 and 1020.7 eV can be assigned to the binding energy of O 1s and Zn 2p<sub>3/2</sub> core levels of ZnO, respectively. XPS studies of the Cu 2p region in the nanoparticles provide further information significant to the oxidation state of copper (Fig. III.4). The Cu 2p<sub>3/2</sub> peaks are centred at 932.62 and at 933.75 eV for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu, respectively, confirming that Cu ions exist primarily in the Cu(+2) oxidation state. The average atomic percentage of the Cu element are 0.18 and 0.24% for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu, respectively, values that are weaker than the starting mixture compositions. The concentrations of Cu<sup>2+</sup> ions present in the final materials were further estimated by ICP-OES. The results obtained confirmed that the Cu/Zn ratios for both samples are lower than Cu/Zn ratios used for the synthesis and equal to 0.0024 and 0.0029 for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively. These values that are consistent with XPS results.

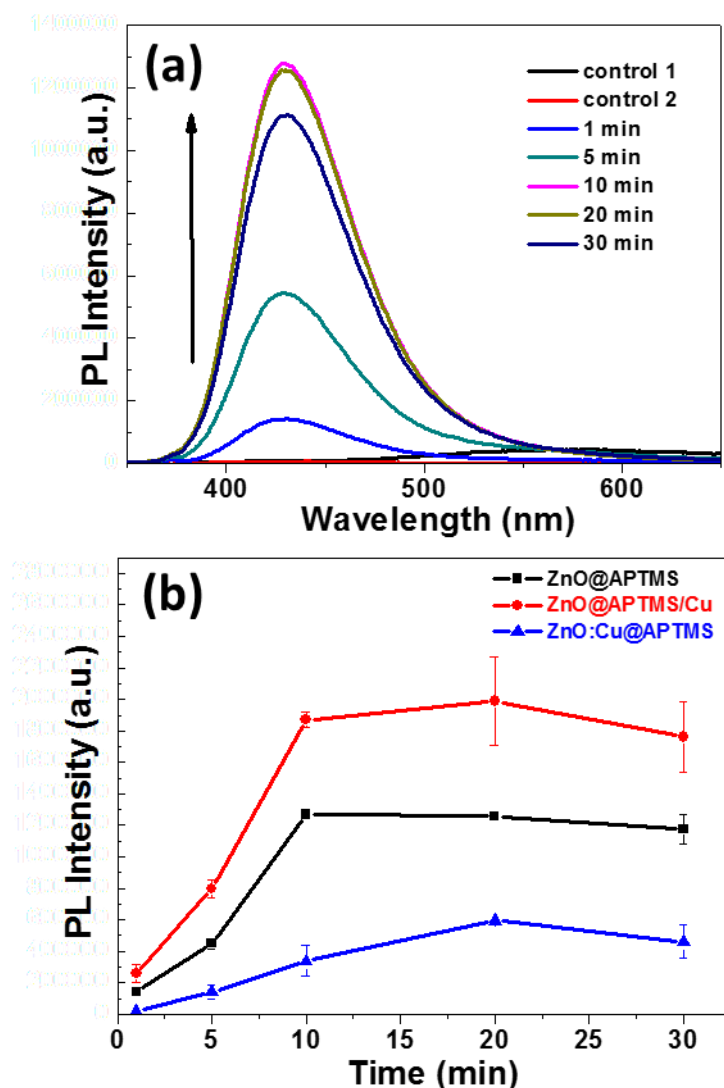




**Fig. III.4.** XPS spectra of Cu  $2p_{3/2}$  for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively.

### **III.3.2. ROS production from ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs**

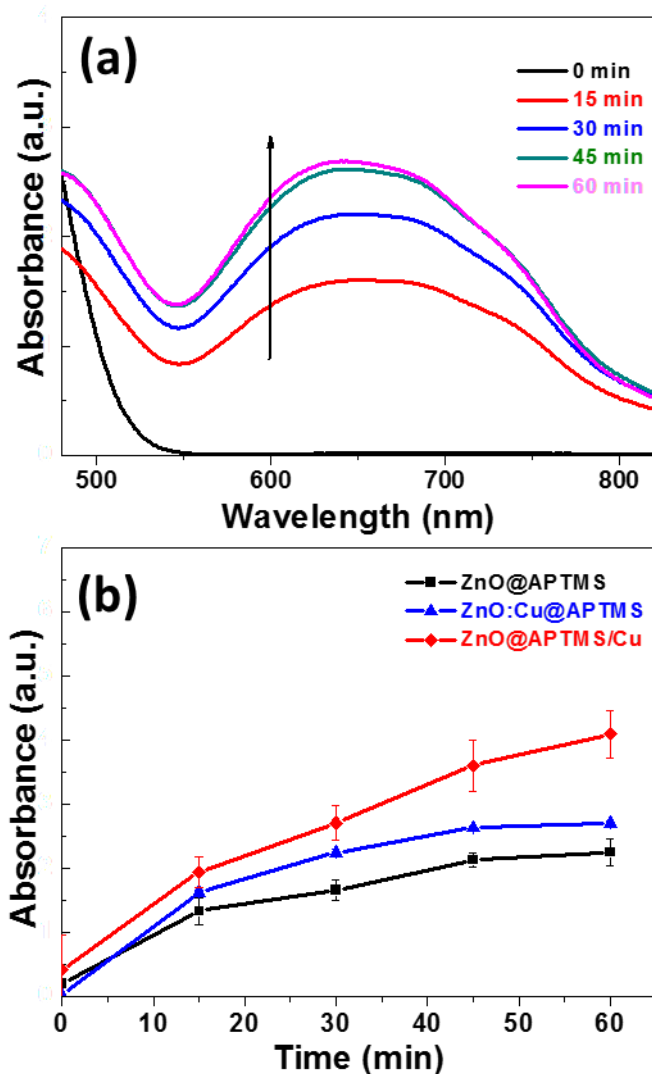
The formation of hydroxyl  $\cdot\text{OH}$  radicals by the QDs via photooxidation of surface hydroxyl groups and/or adsorbed water molecules was monitored by trapping the radicals with DST, a water-soluble and  $\cdot\text{OH}$  radical-specific probe [41-43]. In this assay, non-fluorescent DST reacts with  $\cdot\text{OH}$  radicals to form 2-OH-DST, which is a highly fluorescent anion emitting at ca. 430 nm upon excitation at 330 nm (see Fig. III.5a for PL spectra obtained after various irradiation times using ZnO@APTMS QDs). We first carried out studies where DST was incubated with QDs in the absence of light and with or without addition of NaOH to exclude the possibility of false positive due to dye interaction with the particles surface. In these control experiments (Fig. III.5a), the fluorescence observed at 430 nm was found to be negligible, thus showing that  $\cdot\text{OH}$  radicals production was photo-induced. For the three QDs, the 2-OH-DST PL increased steadily during the first ten minutes of irradiation and then reached a quasi-plateau. The intensity of the PL at 430 nm was next compared to a reference curve for which  $\cdot\text{OH}$  radicals were generated by a Fenton reaction between calibrated  $\text{H}_2\text{O}_2$  solutions and  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  (see Fig. III.S7). The concentrations of  $\cdot\text{OH}$  radicals produced by ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs after 30 min irradiation were calculated to be 3.90, 1.47, and 5.88 mM, respectively.



**Fig. III.5.** (a) PL emission spectra of 2-OH-DST (i.e.  $\text{OH}^\bullet$  formation) as a function of time upon irradiation of DST with ZnO@APTMS QDs ( $\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$ ), and (b) variations of the PL intensity at 430 nm of 2-OH-DST upon irradiation of DST with ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. Results (average of three experiments) were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

The production of superoxide  $\text{O}_2^{\bullet-}$  radicals via photoreduction of oxygen was next evaluated with a scavenging assay based on the reduction of NBT into dark blue formazan derivatives [44]. The reduction of NBT into mono-, and to a lesser extent into diformazan derivatives, results in an increase of the absorbance into the 450-850 nm range (Fig. III.6a). As previously observed during control experiments of DST assays, no signal of reduced NBT was observed

when the dots were mixed with NBT without light activation or when NBT was irradiated in the absence of QDs. Typical UV-visible absorption spectra upon irradiation of NBT with a dispersion of ZnO@APTMS QDs are provided in Fig. III.6a and a comparison of the results obtained with the three dots by varying the irradiation time is given in Fig. 6b. As can be seen, the signal of the O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radical sensor increased steadily during the 60 min of irradiation for ZnO@APTMS/Cu QDs while it levelled off to a quite constant value for the two other QDs. The concentrations of O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radicals after 60 min irradiation in O<sub>2</sub>-saturated solution were estimated using the molar extinction coefficient of monoformazan at 560 nm ( $\epsilon = 15000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) and found to be 150, 180, and 273  $\mu\text{M}$  for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively.

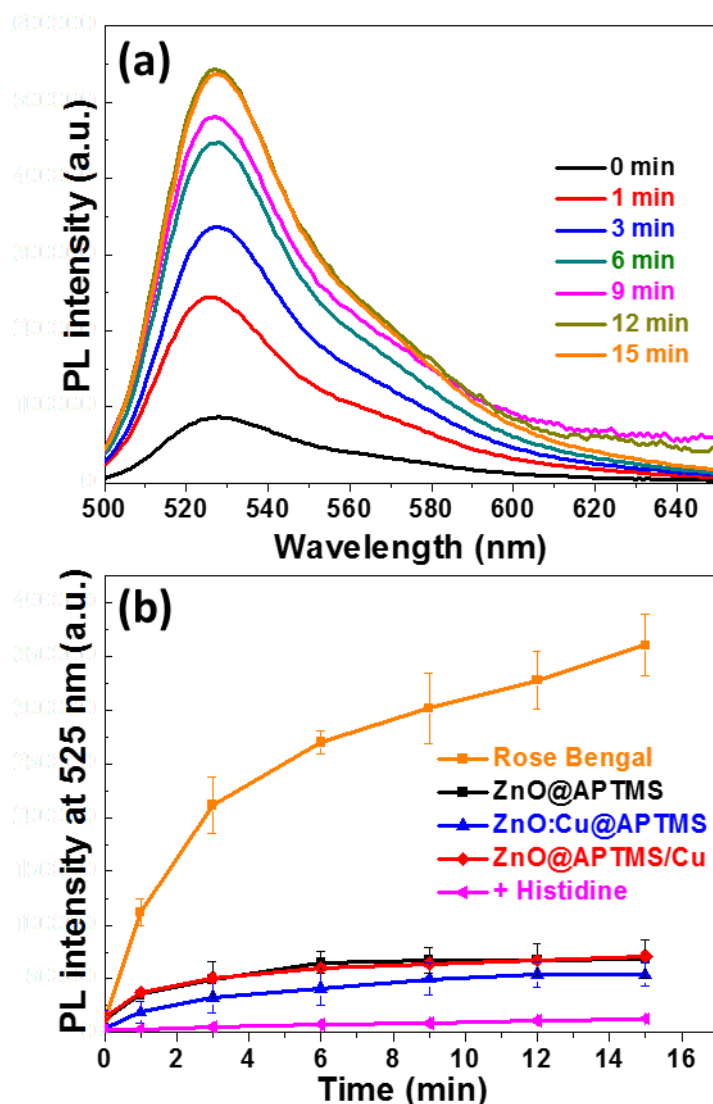


**Fig. III.6.** (a) Absorption spectra of mono- and diformazan (i.e.  $\text{O}_2^{\bullet-}$  formation) as a function of the irradiation time of NBT in  $\text{O}_2$ -purged solutions and in the presence of ZnO@APTMS QDs, and (b) variations of the absorption at 560 nm of NBT irradiated with ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. Results (average of three experiments) were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

$\text{H}_2\text{O}_2$  production was detected in irradiated aqueous dispersions of QDs using the HRP enzyme which catalyzes the transfer of electrons from  $\text{H}_2\text{O}_2$  to the LCV colorimetric indicator [45]. LCV is oxidized into  $\text{LCV}^+$  which strongly absorbs at 596 nm (see Fig. III.S8). The intensity of the absorption at this wavelength was next compared to a reference curve generated by standard  $\text{H}_2\text{O}_2$  solutions (Fig. III.S9). The concentrations of  $\text{H}_2\text{O}_2$  produced in aqueous

solutions after 45 min of irradiation were determined to be 1099, 947 and 1679  $\mu\text{M}$  for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively.

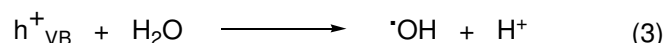
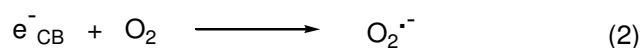
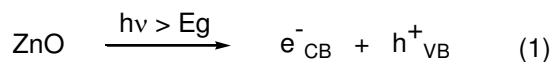
Finally, in order to study singlet oxygen  $^1\text{O}_2$  generation from ZnO QDs, the highly specific “singlet oxygen sensor green (SOSG)” fluorescent probe was used. SOSG is reported to respond very little to hydroxyl radicals or peroxides [46, 47].  $^1\text{O}_2$  reacts with SOSG to form SOSG-endoperoxide (SOSG-EP) through addition of  $^1\text{O}_2$  on the anthracene unit of SOSG. Upon irradiation of SOSG with ZnO particles, followed by excitation of SOSG-EP at 480 nm, a strong fluorescence centred at ca. 525 nm was observed indicating the production of  $^1\text{O}_2$  by the QDs (Fig. III.7a).  $^1\text{O}_2$  generation by the nanocrystals was confirmed by adding histidine, a well-known  $^1\text{O}_2$  quencher [48]. When histidine is added at a concentration of 10 mM, the production of SOSG-EP falls to 15% of the value obtained in the presence of the dots alone (Fig. III.7b). Kinetics of SOSG-EP formation were used for the determination of singlet oxygen quantum yield ( $\Phi^1\text{O}_2$ ) of QDs. Rose Bengal (RB) was used as a reference photosensitizer in these experiments ( $\Phi^1\text{O}_2$  (RB) = 75% in water) [62]. The plots  $\ln(\text{PL}_{525})$  of SOSG-EP versus elapsed time for RB and for ZnO nanocrystals show that the  $^1\text{O}_2$  production increases steadily over the first 1-3 min of irradiation, and then reached a quasi-steady state (Fig. III.S10). The  $\Phi^1\text{O}_2$  of ZnO particles was calculated using the equation:  $\Phi^1\text{O}_2$  (ZnO) =  $\Phi^1\text{O}_2$  (RB)  $\times$  ( $k_{\text{ZnO}}/k_{\text{RB}}$ ), where  $k_{\text{RB}}$  and  $k_{\text{ZnO}}$  were determined from the slopes of the PL increase of SOSG-EP over time, expressed as  $d(\ln(\text{PL}_0/\text{PL}_t))/d(t)$ , of RB and ZnO QDs, respectively. The  $\Phi^1\text{O}_2$  during the first 3 min of irradiation for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs were found to be 36, 19, and 32%, respectively.



**Fig. III.7.** (a) PL emission spectra of SOSG-EP as a function of the irradiation time using ZnO@APTMS QDs, and (b) PL intensity of SOSG-EP as a function of irradiation time in the presence of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, ZnO@APTMS/Cu QDs, and Rose Bengal (average of three experiments). The histidine quencher was used at a 10 mM concentration with ZnO@APTMS QDs.

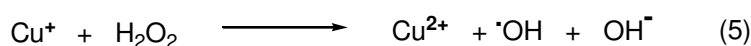
The four previously described experiments clearly demonstrate that ZnO QDs, associated or not to  $\text{Cu}^{2+}$  ions, are able to photo-generate ROS. This ability is related to their semiconductor properties. Upon light excitation (eq. 1), the photoelectrons in the conduction band (CB) can easily be captured by  $\text{O}_2$  molecules to produce  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radicals (eq. 2), whereas the photo-induced holes in the valence band (VB) can be trapped by electron donors like  $\text{H}_2\text{O}$  to generate  $\cdot\text{OH}$

radicals (eq. 3). These ROS produced by ZnO particles can be used for the photocatalytic oxidation of organic and inorganic pollutants, and for the photodestruction of cancer cells and bacteria through oxidative damage [16, 63-66].

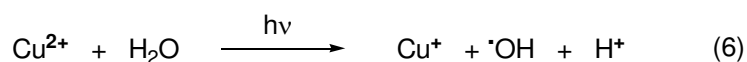


ZnO@APTMS/Cu QDs exhibit enhanced capabilities to generate ROS ( $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radicals and  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) than ZnO@APTMS and ZnO:Cu@APTMS nanocrystals. First, two mechanisms may be proposed to explain the increased  $\cdot\text{OH}$  radicals production from ZnO@APTMS/Cu QDs:

- (a) Upon photoactivation,  $\text{Cu}^{2+}$  ions adsorbed at the surface of the dots can be reduced by  $e^-_{\text{CB}}$  into  $\text{Cu}^+$  (eq. 4) followed by a Fenton reaction (eq. 5) which regenerates starting  $\text{Cu}^{2+}$  ions.



- (b)  $\text{Cu}^{2+}$  ions may also act as real photo-Fenton-like catalysts and primarily be reduced into  $\text{Cu}^+$  by light in the presence of water (eq. 6), followed by a Fenton reaction (eq. 5).



Next, if complexes such as  $\text{Cu-OOH}^+$  are formed between  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ , they could also give rise to the following reactions (eq. 7 and 8), which may explain the enhanced production of  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radicals by ZnO@APTMS/Cu QDs.





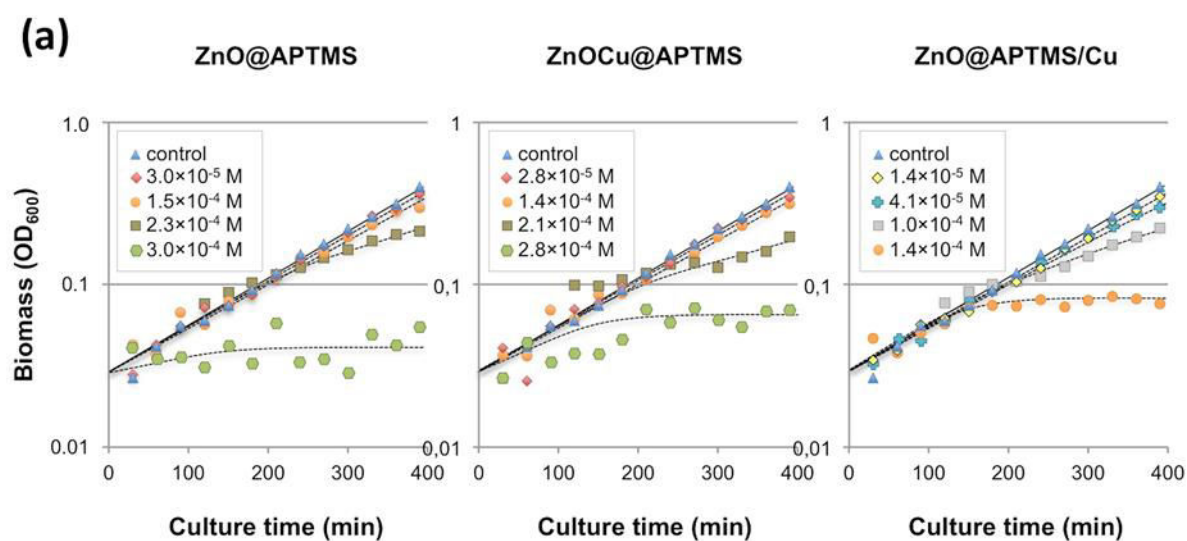
It is likely that reactions (5), (7) and (8) can only occur with Cu<sup>2+</sup> ions attached at the periphery or present at the surface of nanoparticles. Due to the low amount of Cu<sup>2+</sup> ions doped in ZnO:Cu@APTMS QDs (0.18% based on XPS results, *vide supra*), the number of Cu<sup>2+</sup> ions present at the surface of these nanocrystals is probably very weak. Thus, the lower responses observed with all ROS detection probes for ZnO:Cu@APTMS compared to ZnO@APTMS/Cu QDs probably originate from the low number of Cu<sup>2+</sup> ions able to catalyze Fenton or photo-Fenton reactions.

It is finally worth mentioning that Cu-doped ZnO particles are known to exhibit a higher photocatalytic activity than the corresponding undoped ones, which is attributed to the increased defects in the nanocrystals originating from Cu<sup>2+</sup> doping [67, 68]. As previously, we believe that the modest capacity of ZnO:Cu@APTMS QDs to generate <sup>•</sup>OH radicals is linked to the weak doping percentage in copper of these nanocrystals and thus to the weak disturbances in the crystal lattice of ZnO:Cu QDs generated by the doping.

### **III.3.3. Cytotoxicity towards *Escherichia coli* cells**

The cytotoxicity of the three QDs was next assessed by evaluating their effect on the growth kinetics of *E. coli* MG1655 in culture. Exponentially growing cultures of *E. coli* were independently exposed to various concentrations of each QDs, either under illumination or in the dark, and the growth kinetics were monitored spectrophotometrically at 600 nm. All QDs exhibited visible cytotoxic effects by a dose-dependent increase of the generation time within a narrow range of QDs concentrations. Growth kinetics experiments reported in Fig. III.8a show that ZnO@APTMS/Cu QDs appeared slightly more toxic than the two other nanocrystals. The cytotoxicity of ZnO@APTMS/Cu QDs became clearly visible at  $1.0 \times 10^{-4}$  M<sub>Zneq</sub> and a complete growth arrest was observed at  $1.4 \times 10^{-4}$  M<sub>Zneq</sub>, while at this later concentration the two other QDs only slightly affect the growth kinetics of *E. coli*. Surprisingly, the cytotoxic effects of the three QDs under illumination remain close to those observed in the dark, thus indicating that the photo-production of ROS by the nanoparticles was not the primary source of toxicity (Fig. III.8b, Fig III.S11). To gain further insight into the toxicity, we first subjected the

three QDs dispersions to dialysis experiments for 7 h in MOPS-gluconate medium according to ref. 59. ICP-OES analyses showed that for toxic concentrations ranging from  $2.5 \times 10^{-4}$  to  $2.9 \times 10^{-4} \text{ M}_{\text{Zneq}}$ , the concentration of  $\text{Cu}^{2+}$  released stayed below the detection limits (i.e.  $4 \times 10^{-7} \text{ M}$ ), which remains about 3 orders of magnitude below known Minimum Inhibitory Concentrations for *E. coli* [69]. Meanwhile, the concentrations of  $\text{Zn}^{2+}$  ions leaked by the dots were estimated to be  $3.9 \times 10^{-5}$ ,  $3.6 \times 10^{-5}$  and  $1.5 \times 10^{-4} \text{ M}$  for ZnO:Cu@APTMS, ZnO@APTMS/Cu, QDs ZnO@APTMS QDs, respectively, which are all falling within a range of  $\text{Zn}^{2+}$  concentrations previously shown to alter *E. coli* MG1655 cell physiology [52].



(b)

| [QD] ( $M_{\text{Zneq}}$ ) (dark) | no QD         | $1.4 \times 10^{-5}$ | $2.8 \times 10^{-5}$ | $3.0 \times 10^{-5}$ | $4.1 \times 10^{-5}$ | $6.9 \times 10^{-5}$ | $8.4 \times 10^{-5}$ | $9.1 \times 10^{-5}$ | $1.0 \times 10^{-4}$ | $1.4 \times 10^{-4}$ | $1.5 \times 10^{-4}$ | $2.1 \times 10^{-4}$ | $2.3 \times 10^{-4}$ | $2.8 \times 10^{-4}$ | $3.0 \times 10^{-4}$ |
|-----------------------------------|---------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| ZnO@APTMS                         | 100 $\pm 7^*$ |                      |                      | 112 $\pm 2$          |                      |                      |                      | 124 $\pm 0$          |                      |                      | 112                  |                      | 309 $\pm 128^*$      |                      | no growth            |
| ZnOCu@APTMS                       | 100 $\pm 7^*$ |                      | 118 $\pm 2$          |                      |                      |                      | 116 $\pm 9$          |                      |                      | 110                  |                      | 175 $\pm 33^*$       |                      |                      | no growth            |
| ZnO@APTMS/Cu                      | 100 $\pm 7^*$ | 109 $\pm 7$          |                      |                      | 124 $\pm 2$          | 117                  |                      |                      | 130 $\pm 14^*$       | no growth            |                      |                      |                      |                      |                      |

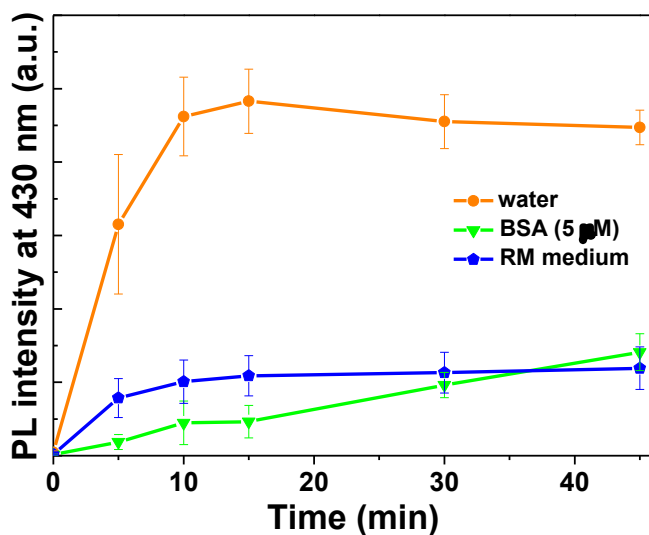
  

| [QD] ( $M_{\text{Zneq}}$ ) (illuminated) | no QD      | $1.4 \times 10^{-5}$ | $2.8 \times 10^{-5}$ | $3.0 \times 10^{-5}$ | $4.1 \times 10^{-5}$ | $6.9 \times 10^{-5}$ | $8.4 \times 10^{-5}$ | $9.1 \times 10^{-5}$ | $1.0 \times 10^{-4}$ | $1.4 \times 10^{-4}$ | $1.5 \times 10^{-4}$ | $2.1 \times 10^{-4}$ | $2.3 \times 10^{-4}$ | $2.8 \times 10^{-4}$ | $3.0 \times 10^{-4}$ |
|--|------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| ZnO@APTMS                                | 97 $\pm 6$ |                      |                      | 104 $\pm 1$          |                      |                      |                      | 113 $\pm 3$          |                      |                      | 103                  |                      | 203 $\pm 48^*$       |                      | no growth            |
| ZnOCu@APTMS                              | 97 $\pm 6$ |                      | 104 $\pm 1$          |                      |                      |                      | 113 $\pm 3$          |                      |                      | 105                  |                      | 196 $\pm 68^*$       |                      |                      | no growth            |
| ZnO@APTMS/Cu                             | 97 $\pm 6$ | 107 $\pm 1$          |                      |                      | 119 $\pm 5$          | 106                  |                      |                      | 120 $\pm 20$         | no growth            |                      |                      |                      |                      |                      |

**Fig. III.8.** Cytotoxic effects of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs. (a) Typical growth curves of *E. coli* MG1655 (in dark conditions) in absence (control) and in presence of the studied QDs. Duplicate experiments and/or experiments carried out under illumination gave similar results (Fig. III.S11). (b) Overview of the generation times calculated for growth kinetics of *E. coli* MG1655 under dark and illuminated conditions, in presence of the three studied QDs at various concentrations. Most tests were repeated several times, where the generation time appear as average values  $\pm$  the fluctuation between minimum and maximum values for duplicates, or  $\pm$  the standard deviation for triplicates (indicated by an asterisk). The

increased variability observed close to the toxic concentrations is indicative of the narrow range of concentrations at which the deleterious effects occurred.

Because the use of culture media can have a deep impact on the bio-availability of the ROS produced [38], we also re-evaluated the production of the highly oxidizing  $\cdot\text{OH}$  radicals in the RM medium used for *E. coli* growth experiment, and found that the concentration in radicals decreased by ca. 4.5-fold compared to the experiments conducted in water (Fig. III.9). A decrease of  $\cdot\text{OH}$  concentration is also observed when adding BSA at a 5  $\mu\text{M}$  concentration in the medium due to the probable consumption of  $\cdot\text{OH}$  radicals by the tyrosine residues followed by covalent crosslinking of the protein to form di-, tri-, or tetramers [70]. These experiments demonstrate that the culture medium and its carbon source content (gluconate) or proteins may trap/consume ROS photo-generated by ZnO QDs and protect cells from oxidative damage. It is finally worth to mention that the UV-visible absorption spectrum of the RM medium shows that it does not absorb above 230 nm, therefore ruling out any possible medium-associated decrease of light intensity as previously suggested in reference 46.



**Fig. III.9.** PL intensity at 430 nm of 2-OH-DST upon irradiation of DST with ZnO@APTMS QDs in water (black line), in the RM medium (blue line) and in the RM medium containing BSA at a concentration of 5  $\mu\text{M}$  (red line) (average of three experiments).

ROS production and metal release have frequently been described as the two possible sources of toxicity associated to nanoparticles like QDs [32-38]. Using a combination of toxicity tests

associated to dialysis and ICP-OES analyses, we recently showed that when using ZnO@APTMS QDs at low concentrations, their toxicity originates from Zn<sup>2+</sup> leakage [52]. In the present work, we could observe that for the three QDs and at concentrations promoting growth inhibition, the amounts of Zn<sup>2+</sup> released fall within a range of concentrations altering *E. coli* cell physiology [52]. ICP-OES data demonstrated that in the MOPS-gluconate medium, the ZnO@APTMS QDs were the less stable, with 57% of their Zn content released, while ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs appeared more robust with 20% and 17% of their Zn content liberated, respectively. Although differences between the toxic concentrations observed for the three QDs are relatively weak, the growth impairments are not related to the amount of Zn<sup>2+</sup> ions released. This suggests that the growth inhibitions described in Fig. III.8 probably combine various sources of toxicity. The highest ROS production associated with the surface adsorption of Cu<sup>2+</sup> ions support this hypothesis but the absence of specifically photo-induced growth impairments tends to rule out the photoactivity of the dots, and thus ROS-production as the major source of toxicity, at least in the experimental setting used in this study. At this stage, it is very tempting to speculate that a direct interaction between the nanoparticles and specific cellular component/functions could also contribute to the toxicity observed. With this respect, it should be mentioned that a recent work based on global *E. coli* genes profiling demonstrated that exposure to nano ZnO generates a response profile, (i) different from the one obtained using ZnCl<sub>2</sub>, and (ii) of which common oxidative stress response genes do not seem to be included [71]. Furthermore, global proteomic approaches carried out in *Cupriavidus necator* demonstrated that exposure to Zn(OAc)<sub>2</sub> or ZnO nanomaterial promoted distinctive proteomes, with a profile that was consistent with a cell membrane damage response in the case of the nanoparticles exposure [72].

#### **III.4. Conclusions**

Spherical ZnO QDs with a size of ca. 5 nm were synthesized by the sol-gel method using the APTMS capping ligand. These nanocrystals were either doped with Cu<sup>2+</sup> or associated with Cu<sup>2+</sup> ions by chemisorption. The results described in this work demonstrate that the photo-induced production of ROS (<sup>•</sup>OH, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) is markedly increased with ZnO@APTMS/Cu QDs probably via the interaction of photo-excited electrons and holes in ZnO QDs with O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O combined with Cu<sup>2+</sup>-mediated Fenton reactions. The mechanism involved in the cytotoxicity of the ZnO-based QDs is probably complex and likely to originate from the

association of more than one phenomenon, e.g. ROS production and presence of Cu<sup>2+</sup> ions at the periphery of the nanocrystals. Finally, the chemisorption of metal cations like Cu<sup>2+</sup> might have a marked influence on ROS production by photocatalytically active nanoparticles like ZnO QDs and thus to their cytotoxicity in case of accidental release in the environment.

### **Acknowledgements**

This work is supported by the Agence Nationale pour la Recherche (ANR CESA 2011, project NanoZnOTox). We also acknowledge the competitive cluster Hydreos for its support. We thank Hervé Marmier (LIEC, UMR CNRS 7360, Université de Lorraine) for ICP-OES measurements and Xavier Bellanger (LCPME, UMR CNRS 7564, Université de Lorraine) for helpful discussions.

### **III.5.References**

- [1] Scott. E, McNeil, Nanotechnology for the biologist, *J. Leukoc. Biol.* **2005**, 78, 585-594.
- [2] A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li, Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science* 2006, 311, 622-627.
- [3] H. Ma, P.L. Williams, S.A. Diamond, Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles – A review, *Environ. Pollut.* **2013**, 172, 76-85.
- [4] A. Hoshino, K. Fujioka, T. Oku, M. Suga, Y.F. Sasaki, T. Ohta, M. Yasuhara, K. Suzuki, K. Yamamoto, Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification, *Nano Lett.* **2004**, 4, 2163-2169.
- [5] Y. Tang, S. Han, H. Liu, X. Chen, L. Huang, X. Li, J. Zhang, The role of surface chemistry in determining in vivo biodistribution and toxicity of CdSe/ZnS core-shell quantum dots, *Biomaterials* **2013**, 34, 8741-8755.
- [6] A. Aboulaich, C.-M. Tilmaciu, C. Merlin, C. Mercier, H. Guilloteau, G. Medjahdi, R. Schneider, Physicochemical properties and cellular toxicity of (poly)aminoalkoxysilanes-functionalized ZnO quantum dots, *Nanotechnology* **2012**, 23, 335101 (9 pp).
- [7] A. Shiohara, A. Hoshino, K. Hanaki, K. Suzuki, K. Yamamoto, On the cyto-toxicity caused by quantum dots, *Microbiol. Immunol.* **2004**, 48, 669-675.
- [8] R. Schneider, C. Wolpert, H. Guilloteau, L. Balan, J. Lambert, C. Merlin, Exposure of bacteria to CdTe quantum dots: the importance of surface chemistry on cytotoxicity, *Nanotechnology* **2009**, 20, 225101 (10 pp).

- [9] F.A. Kauffer, C. Merlin, L. Balan, R. Schneider, Incidence of the core composition on the stability, the ROS production and the toxicity of CdSe quantum dots, *J. Hazard. Mater.* **2014**, 268, 246-255.
- [10] G. Oskam, Metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization and application, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2006**, 37, 161-164.
- [11] M. Fernandez-Garcia, J.A. Rodriguez, Metal oxide nanoparticles. In *Nanomaterials: Inorganic and Bioinorganic Perspectives*; C.M. Lukehart, R.A. Scott, Eds.; West Sussex, U.K., 2008.
- [12] A. Kolodziejczak-Radzimska, T. Jesionowski, Zinc oxide – From synthesis to applications: A review, *Materials* **2014**, 7, 2833-2881.
- [13] Z.L. Wang, Zinc oxide nanostructures: growth properties and applications, *J. Phys.: Condens. Matter.* **2004**, 16, R829-R858.
- [14] R.O. Moussodia, L. Balan, C. Merlin, C. Mustin, R. Schneider, Biocompatible and stable ZnO quantum dots generated by functionalization with siloxane-core PAMAM dendrons, *J. Mater. Chem.* **2010**, 20, 1147-1155.
- [15] R. Schneider, L. Balan, F. Aldeek, Synthesis, characterization, and biological applications of water soluble ZnO quantum dots, ed M M Rahman, 2011 (InTech open).
- [16] J.W. Rasmussen, E. Martinez, P. Couka, D.G. Wingett, Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications, *Expert. Opin. Drug Delivery* **2010**, 7, 1063-1077.
- [17] S. Nair, A. Sasidharan, V.V. Divya Rani, D. Menon, K. Manzoor, S. Raina, Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2009**, 20 (Suppl. 1), S235-S241.
- [18] B.C. Heng, X. Zhao, S. Xiong, K.W. Ng, F.Y. Boey, J.S. Loo, Cytotoxicity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles is influenced by cell density and culture format, *Arch. Toxicol.* **2011**, 85, 695-704.
- [19] I. Pujalte, I. Passagne, B. Brouillaud, M. Treguer, E. Durand, C. Ohayon-Courtes, B. L'Azou, Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells, *Part. Fibre Toxicol.* **2011**, 8, 10.
- [20] M. Ahamed, M.J. Akhtar, M. Raja, I. Ahmad, M.K. Siddiqui, M.S. Alsalhi, S.A. Alrokayan, ZnO nanorod-induced apoptosis in human alveolar adenocarcinoma cells via p53, survivin and bax/bcl-2 pathways: role of oxidative stress, *Nanomedicine* **2011**, 7, 904-913.

- [21] R. Guan, T. Kang, F. Lu, Z. Zhang, H. Shen, M. Liu, Cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity in human hepatocyte and embryonic kidney cells exposed to ZnO nanoparticles, *Nanoscale Res. Lett.* **2012**, 7, 602.
- [22] M. Li, D. Lin, L. Zhu, Effects of water chemistry on the dissolution of ZnO nanoparticles and their toxicity to *Escherichia coli*, *Environ. Pollution* **2013**, 173, 97-102.
- [23] M. Li, S. Pokhrel, X. Jin, L. Mädler, R. Damoiseaux, E.M.V. Hoek, Stability, bioavailability, and bacterial toxicity of ZnO and iron-doped ZnO nanoparticles in aquatic media, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45, 755-761.
- [24] T. Fang, J.-L. Watson, J. Goodman, C.O. Dimkpa, N. Martineau, S. Das, J.E. McLean, D.W. Britt, A.J. Anderson, Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads? *Microbiol. Res.* **2013**, 168, 91-98.
- [25] D. Wang, Y. Gao, Z. Lin, Z. Yao, W. Zhang, The joint effects on *Photobacterium phosphoreum* of metal oxide nanoparticles and their most likely coexisting chemicals in the environment, *Aquatic Toxicol.* **2014**, 154, 200-206.
- [26] Y.-W. Back, Y.-J. An, Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*, *Sci. Total Environ.* **2011**, 409, 1603-1608.
- [27] M. Ramani, S. Ponnusamy, C. Muthamizhchelvan, J. Cullen, S. Krishnamurthy, E. Marsili, Morphology-directed synthesis of ZnO nanostructures and their antibacterial activity, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* **2013**, 105, 24-30.
- [28] J.S. Mcquillan, A.M. Shaw, Whole-cell *Escherichia coli*-based bio-sensor assay for dual zinc oxide nanoparticle toxicity mechanisms, *Biosensors Bioelect.* **2014**, 51, 274-279.
- [29] T.P. Dasari, K. Pathakoti, H.-M. Hwang, Determination of the mechanism of photoinduced toxicity of selected metal oxide nanoparticles (ZnO, CuO, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and TiO<sub>2</sub>) to *E. coli* bacteria, *J. Environ. Sci.* **2013**, 25, 882-888.
- [30] S.W. Kim, Y.-J. An, Effect of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles preilluminated with UVA and UVB light on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 95, 243-253.
- [31] R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M.F. Benedetti, F. Fievet, Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium, *Nano Lett.* **2006**, 6, 866-870.
- [32] Z. Yang, C. Xie, Zn<sup>2+</sup> release from zinc and zinc oxide particles in simulated uterine solution, *Colloids Surf. B* **2006**, 47, 140-145.



- [33] T. Xia, M. Kovonich, M. Liong, L. Maddler, B. Gilbert, H. Shi, J.I. Yeh, J.I. Zink, A.E. Nel, Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties, *ACS Nano* **2008**, 2, 2121-2134.
- [34] K.R. Raghupathi, R.T. Koodali, A.C. Manna, Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles, *Langmuir* **2011**, 27, 4020-4028.
- [35] H. Yang, C. Liu, D. Yang, H. Zhang, Z. Zi, Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition, *J. Appl. Toxicol.* **2009**, 29, 69-78.
- [36] L. Zhang, Y. Jiang, Y. Ding, N. Daskalakis, L. Jeuken, M. Povey, A.J. O'Neill, D.W. York, Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*, *Nanopart. Res.* **2010**, 12, 1625-1636.
- [37] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, Y. Chen, Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles, *ACS Nano* **2012**, 26, 5164-5173.
- [38] Y. Li Y, J. Niu, W. Zhang, L. Zhang, E. Shang E, Influence of aqueous media on the ROS-mediated toxicity of ZnO nanoparticles toward green fluorescent protein-expressing *Escherichia coli* under UV-365 irradiation, *Langmuir* **2014**, 30, 2852-2862.
- [39] T.P. Cushnie, P.K. Robertson, S. Officer, P.M. Pollard, C. McCullagh, J.M. Robertson, Variables to be considered when assessing the photocatalytic destruction of bacterial pathogens, *Chemosphere* **2009**, 74, 1374-1378.
- [40] T. Xia, Y. Zhao, T. Sager, S. George, S. Pokhrel, N. Li, D. Schoenfeld, H. Meng, S. Lin, X. Wang, Z. Ji, J.I. Zink, L. Mädler, V. Castranova, S. Lin, A.E. Nel, Decreased dissolution of ZnO by iron doping yields nanoparticles with reduced toxicity in the rodent lung and zebrafish embryos, *ACS Nano* **2011**, 5, 1223-1235.
- [41] C. Bohne, K. Faulhaber, B. Giese, A. Hafner, A. Hofmann, H. Ihmels, A.-K. Kohler, S. Pera, F. Schneider, M.A.L. Sheepwash, Studies on the mechanism of the photo-induced DAN damage in the presence of acridizinium salts involvement of singlet oxygen and an unusual source for hydroxyl radicals, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 76-85.
- [42] Y. Iida, K. Yasui, T. Tuziuti, M. Sivakumar, Y. Endo, Ultrasonic cavitation in microspace, *Chem. Commun.* **2004**, 2280-2281.
- [43] H. Sies, Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Experimental Physiol.* **1997**, 82, 291-295.

- [44] A. Anas, H. Akita, H. Harashima, T. Itoh, M. Ishikawa, V. Biju, Photosensitized breakage and damage of DNA by CdSe-ZnS Quantum Dots, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 10005-10011.
- [45] C.A Cohn, A. Pak, D. Strongin, M.A. Schoonen, Quantifying hydrogen peroxide in iron-containing solutions using leuco crystal violet, *Geochem. Trans.* **2005**, *6*, 47-51.
- [46] C. Flors, M.J. Fryer, J. Waring, B. Reeder, U. Bechtold, P.M. Mullineaux, S. Nonell, M.T. Wilson, N.R. Baker, Imaging the production of singlet oxygen *in vivo* using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green, *J. Exp. Bot.* **2006**, *57*, 1725-1734.
- [47] A. Gollmer, J. Arnbjerg, F.H. Blaikie, B.W. Pedersen, T. Breitenbach, K. Daasberg, M. Glasius, P.R. Ogilby, Singlet Oxygen Sensor Green: photochemical behavior in solution and in a mammalian cell, *Photochem. Photobiol.* **2011**, *87*, 671-679.
- [48] A. Telfer, S.M. Bishop, D. Phillips, J. Barber. Isolated photosynthetic reaction center of photosystem II as a sensitizer for the formation of singlet oxygen. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 13244-13253.
- [49] F.R. Blattner, G 3<sup>rd</sup>. Plunkett, C.A. Bloch, N.T. Perna, V. Burland, M. Riley, J. Collado-Vides, J.D. Glasner, C.K. Rode, G.F. Mayhew, J. Gregor, N.W. Davis, H.A. Kirkpatrick, MA. Goeden, D.J. Rose, B. Mau, Y. Shao, The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12, *Science* **1997**, 1453-1462.
- [50] P. Corbisier, D. Van der Lelie, B. Borremans, A. Provoost, V. De Lorenzo, N. Brown, J. Lloyd, J. Hobman, E. Csöregi, G. Johansson, B. Mattiasson, Whole cell- and protein-based biosensors for the detection of bioavailable heavy metals in environmental samples, *Anal. Chim. Acta.* **1999**, *387*, 235-244.
- [51] M. Mergeay, D. Nies, HG. Schlegel, J. Gerits, P. Charles, F. Gijsegem, *Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistant to heavy metals, *J. Bacteriol.* **1985**, *162*, 328-334.
- [52] X. Bellanger, P. Billard, R. Schneider, L. Balan, C. Merlin, Stability and toxicity of ZnO quantum dots: Interplay between nanoparticles and bacteria, *J. Hazard. Mater.* **2015**, *283*, 110-116.
- [53] A. Schejn, M. Frégnaux, J.M. Commenge, L. Balan, L. Falk, R. Schneider, Size-controlled synthesis of ZnO quantum dots in microreactors, *Nanotechnology* **2014**, *25*, 145606.
- [54] R.-O. Moussodia, L. Balan, R. Schneider, Synthesis and characterization of water-soluble ZnO quantum dots prepared through PEG-siloxane coating, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 1388-1393.
- [55] M.I. Dar, N. Arora, N.P. Singh, S. Sampath, S.A. Shivashankar, Role of spectator ions in influencing the properties of dopant-free ZnO nanocrystals, *New J. Chem.* **2014**, *38*, 4783-4790.

- [56] E.A. Meulenkaamp, Synthesis and growth of ZnO nanoparticles, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 5566-5572.
- [57] P.V. Kamat, B. Patrick, Photoelectrochemistry in semiconductor particulate systems 17. Photosensitization of large-bandgap semiconductors - charge injection from triplet excited thionine into ZnO Colloids, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6829-6834.
- [58] A. Van Dijken, E.A. Meulenkaamp, D. Vanmaehelbergh, A. Meijerink, Identification of the transition responsible for the visible emission in ZnO using quantum size effects, *J. Lumin.* **2000**, *90*, 123-128.
- [59] Y. Chen, Z. Rosenzweig, Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5132-5138.
- [60] K.M. Gattas-Asfura, R.M. Leblanc, Peptide-coated CdS quantum dots for the optical detection of copper(II) and silver(I), *Chem. Commun.* **2003**, 2684-2685.
- [61] Y. Dong, R. Wang, G. Li, C. Chen, Y. Chi, G. Chen, Polyamine-functionalized carbon quantum dots as fluorescent probes for selective and sensitive detection of copper ions, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 6220-6224.
- [62] R.W. Redmond, J.N. Gamlin, A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules, *Photochem. Photobiol.* **1999**, *70*, 391-475.
- [63] Y. Kubota, T. Shuin, C. Kawasaki C, M. Hosaka, H. Kitamura, R. Cai, H. Sakai, K. Hashimoto, A. Fujishima, Photokilling of T-24 human bladder cancer cells with titanium dioxide, *Br. J. Cancer* **1994**, *70*, 1107-1111.
- [64] S. Nair, A. Sasidharan, V. Divya Rani, D. Menon, S. Nair, K. Manzoor, S. Raina, Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2009**, *20*, 235-241.
- [65] R. Cai, K. Hashimoto, Y. Itoh, Y. Kubota, A. Fujishima, Photokilling of malignant cells with ultrafine titanium dioxide powder, *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1991**, *64*, 1268-1273.
- [66] R. Cai, Y. Kubota, T. Shuin, H. Sakai, K. Hashimoto, A. Fujishima, Induction of cytotoxicity by photoexcited TiO<sub>2</sub> particles, *Cancer Res.* **1992**, *52*, 2346-2348.
- [67] K.G. Kanade, B.B. Kale, J.-O. Baeg, S.M. Lee, C.W. Lee, S.J. Moon, H. Chang, Self-assembled aligned Cu doped ZnO nanoparticles for photocatalytic hydrogen production under visible light irradiation, *Mater. Chem. Phys.* **2007**, *102*, 98-104.
- [68] R. Mohan, K. Karthikeyan, S.-J. Kim, Enhanced photocatalytic activity of Cu-doped ZnO nanorods, *Solid State Comm.* **2012**, *152*, 375-380.

[69] D.H. Nies, Heavy metal-resistant bacteria as extremophiles: molecular physiology and biotechnological use of *Ralstonia sp.* CH34. *Extremophiles* **2000**, 4, 77-82.

[70] K.J.A. Davies, M.E. Delsignore, Protein damage and degradation by oxygen radicals, *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 9908-9913.

[71] G. Su, X. Zhang, J.P. Giesy, J. Musarrat, Q. Saquib, A.A. Alkhedhairy, H. Yu, Comparison on the molecular response profiles between nano zinc oxide (ZnO) particles and free zinc ion using a genome-wide toxicogenomics approach. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2015**. doi:10.1007/s11356-015-4507-6

[72] A.L. Neal, N. Kabengi, A. Grider, P.M. Bertsch, Can the soil bacterium *Cupriavidus necator* sense ZnO nanomaterials and aqueous Zn<sup>2+</sup> differentially? *Nanotoxicology* **2012**, 6, 371-380.

### **III.6.SUPPORTING INFORMATION**

#### ***Reagents and Materials***

Anhydrous zinc acetate (99.999%, Aldrich), oleic acid (90%, Aldrich), tetramethylammonium hydroxide pentahydrate (TMAH) (> 97%, Aldrich), 3-aminopropyltrimethoxysilane (APTMS) (97%, Aldrich), copper acetate monohydrate (> 99%, Merck), disodium terephthalate (DST) (99+%, Alfa), nitrotetrazolium blue chloride (NBT) (> 98%, Sigma), leuco crystal violet (LCV) (99%, Sigma), enzyme horseradish peroxidase (type II, Sigma), singlet oxygen sensor green (SOSG) (Molecular Probes), Rose Bengal (95%, Sigma), anhydrous toluene and ethanol (HPLC grade) were used as received without additional purification. All aqueous solutions were prepared using Milli-Q water (18.2 MΩ.cm, Millipore).

#### ***Synthesis of oleate-capped ZnO QDs***

Zinc acetate (220 mg, 1.2 mmol) was dissolved in ethanol (20 mL) at a temperature below 50°C under vigorous stirring. Oleic acid (70 μL, 0.22 mmol) was then added and the mixture was heated to reflux. In a separate flask, tetramethylammonium hydroxide (360 mg, 1.99 mmol) was dissolved in refluxing ethanol (5 mL). This solution was then rapidly injected into the flask containing Zn(OAc)<sub>2</sub> and oleic acid, and the mixture was refluxed for 2 min. The mixture was then diluted with ethanol (50 mL) and cooled down to 0°C with an ice bath. The resulting turbid dispersion of ZnO nanoparticles was then centrifuged (15 min at 4000 rpm) with removal of the supernatant and washed several times with ethanol, in which they are insoluble. The collected precipitate was finally dispersed in 10 mL of toluene leading to a clear oleate-capped ZnO QDs dispersion.

#### ***Apparatus***

Transmission electron microscopy (TEM) images were taken by placing a drop of the particles dispersed in water onto a carbon film-supported copper grid. Samples were studied using a Philips CM20 instrument operating at 200 kV. The X-ray powder diffraction (XRD) data were collected from an X'Pert MPD diffractometer (Panalytical AXS) with a goniometer radius of 240 mm, fixed divergence slit module (1/2° divergence slit, 0.04 rd Sollers slits) and an X'Celerator as a detector.

The powder samples were placed on a silicon zero-background sample holder and the XRD patterns were recorded at room temperature using Cu K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.15418$  nm). The Debye-Scherrer formula  $D = K\lambda/\beta\cos(\Theta)$  where  $D$  is the average crystallite size,  $\lambda$  is the X-ray wavelength,  $\beta$  is the width at half-maximum of a Bragg reflection in radians, and  $\Theta$  is the diffraction angle, was used for the size determination of nanocrystals. A VARIAN 720-ES Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) was used for multi-elemental analyses. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analyses were performed on a Gamdata Scienta (Uppsala, Sweden) SES 200-2 spectrometer under ultra-high vacuum ( $P < 10^{-9}$  mbar). The measurements were performed at normal incidence (the sample plane is perpendicular to the emission angle). The spectrometer resolution at the Fermi level is about 0.4 eV. The depth analyzed extends up to about 8 nm. The monochromatized AlK $\alpha$  source (1486.6 eV) was operated at a power of 420 W (30 mA and 14 kV) and the spectra were acquired at a take-off angle of 90° (angle between the sample surface and photoemission direction). During acquisition, the pass energy was set to 500 eV for wide scans and to 100 eV for high-resolution spectra. CASAXPS software (Casa Software Ltd, Teignmouth, UK, www.casaxps.com) was used for all peak fitting procedures and the areas of each component were modified according to classical Scofield sensitivity factors.

All the optical measurements were performed at room temperature ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ) under ambient conditions. Absorption spectra were recorded on a Thermo Scientific Evolution 220 UV-visible spectrophotometer. Photoluminescence (PL) spectra were recorded on a Horiba Fluoromax-4 Jobin Yvon spectrofluorimeter. The quantum yield (QY) values were determined from the following equation:

$$QY(sample) = \left( \frac{F_{sample}}{F_{ref}} \right) \left( \frac{A_{ref}}{A_{sample}} \right) \left( \frac{n_{sample}^2}{n_{ref}^2} \right) QY_{(ref)}$$

where  $F$ ,  $A$  and  $n$  are the measured fluorescence (area under the emission peak), absorbance at the excitation wavelength and refractive index of the solvent respectively. PL spectra were spectrally corrected and PL QYs were determined relative to rhodamine 6G in ethanol (QY = 94%).

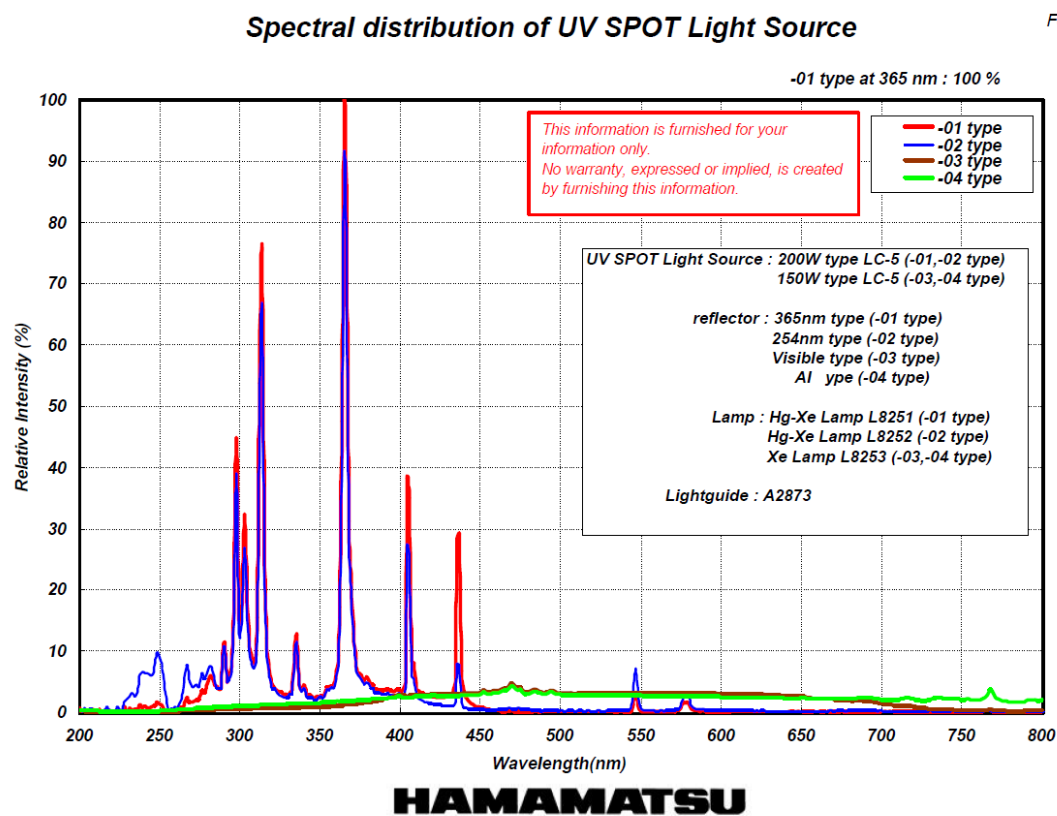
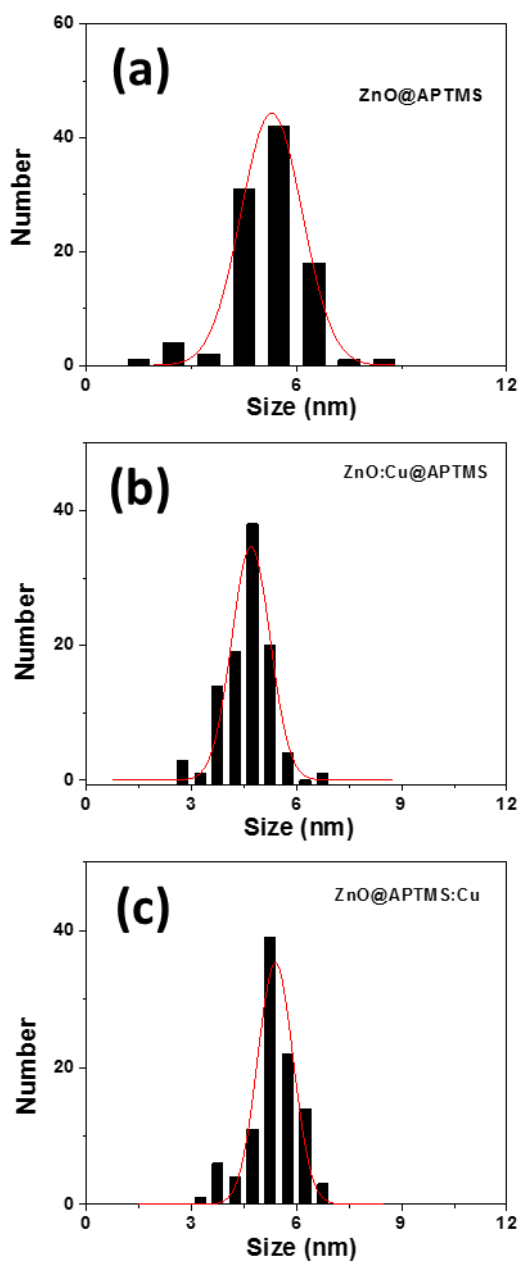
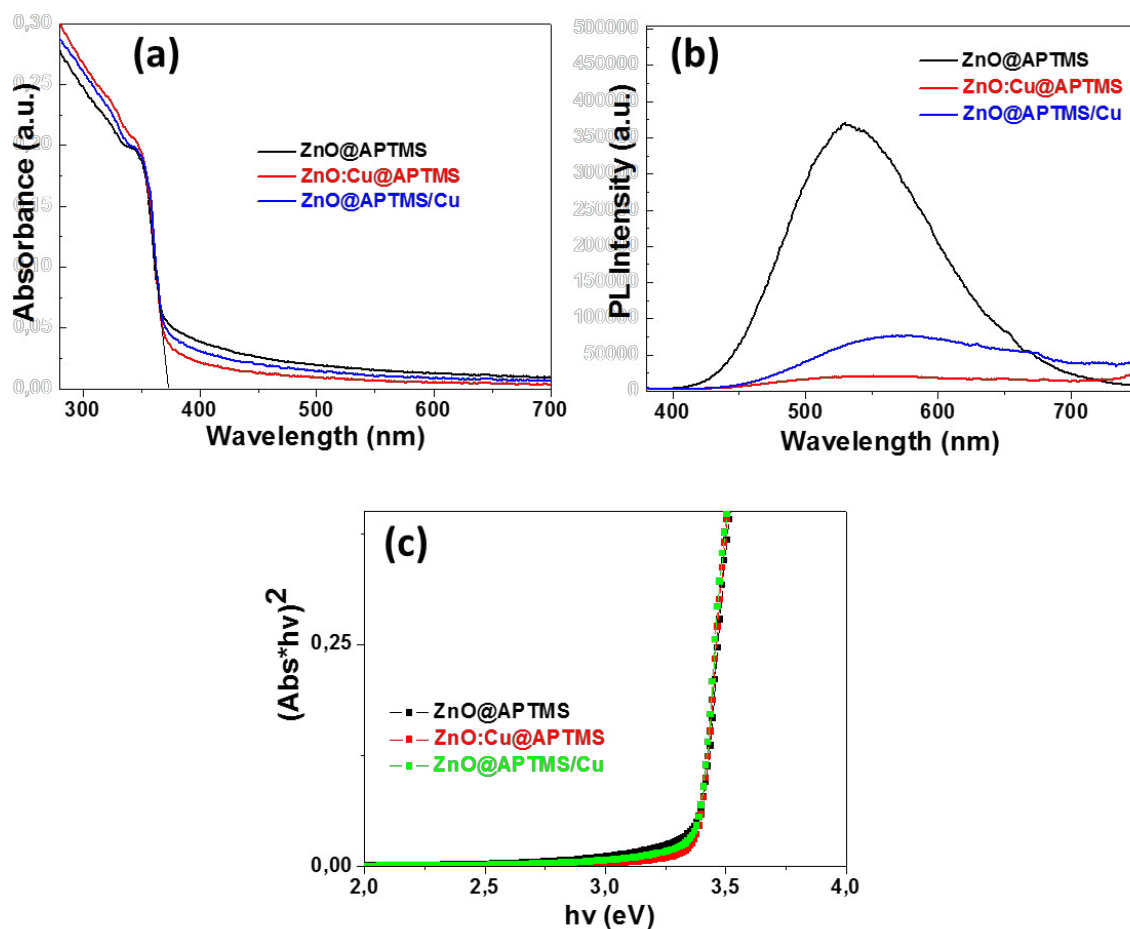


Fig. III.S1. Spectrum of the Hg-Xe lamp used in this work for all ROS generation experiments.



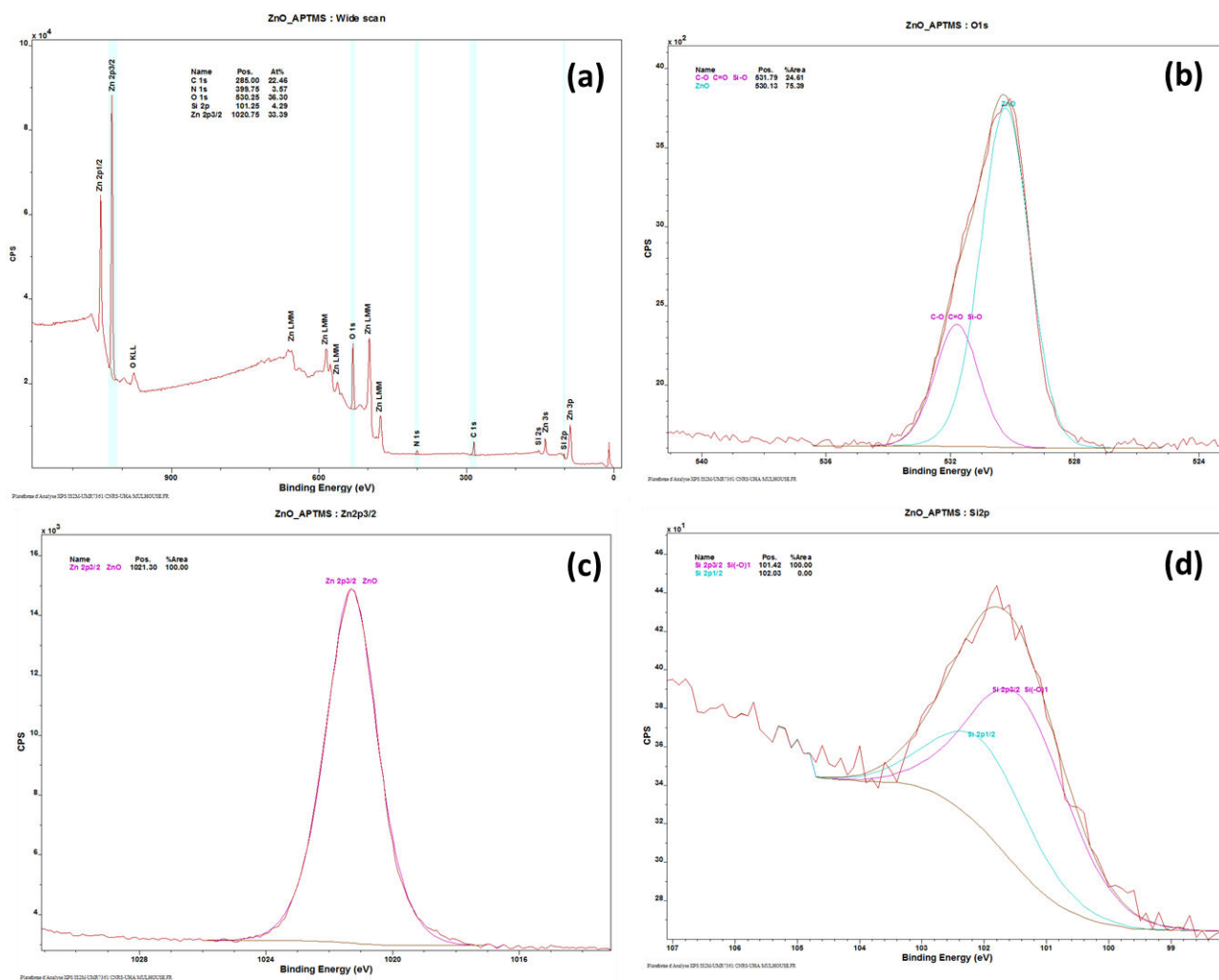
**Fig. III.S2.** Size distributions determined by TEM for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs.





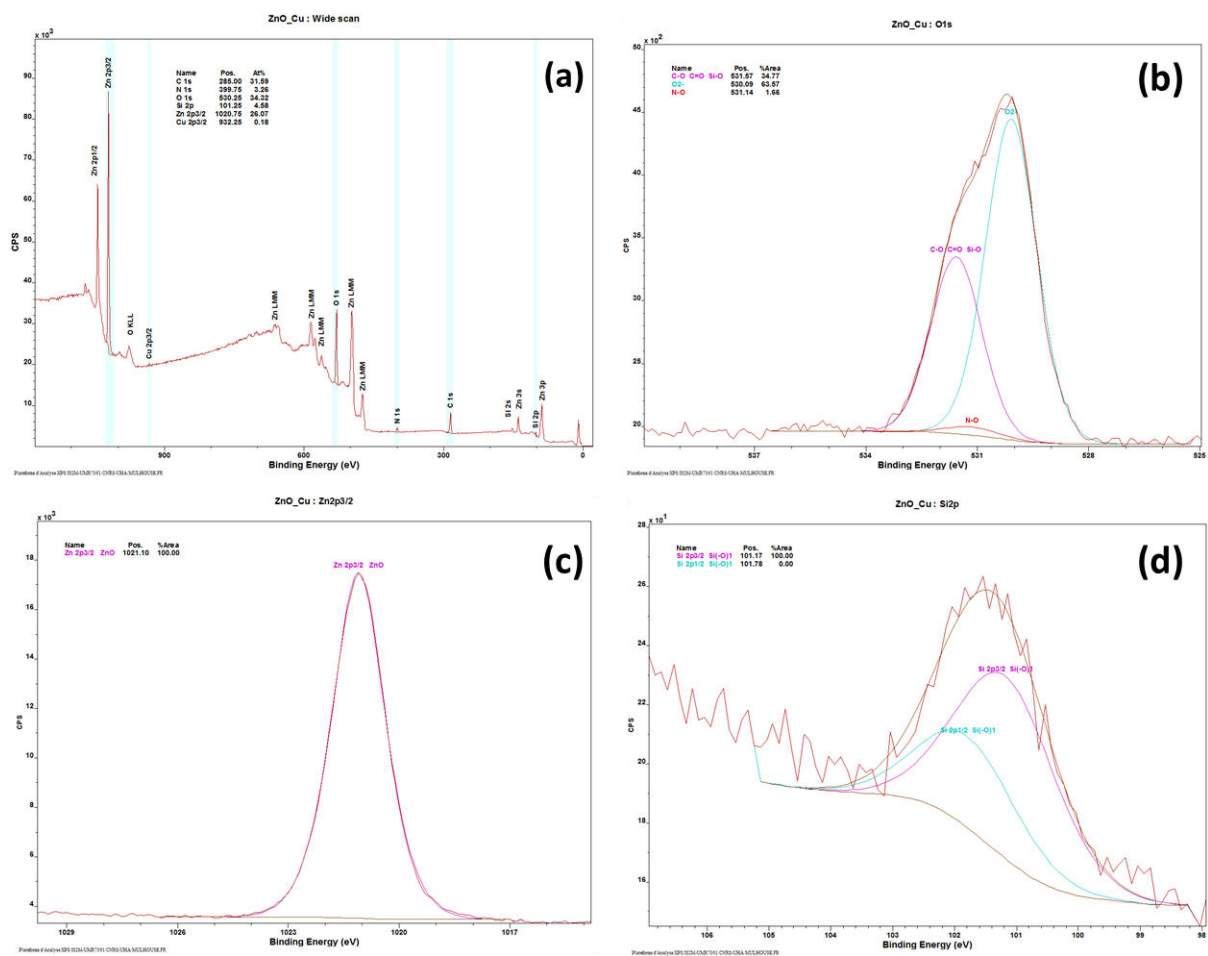
**Fig. III.S3.** (a) Absorption and (b) PL emission spectra ( $\lambda_{\text{ex}} = 330$  nm) of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. (c) Plots of  $(\text{Abs} \times h\nu)^2$  versus photon energy ( $h\nu$ ) for the three QDs.

**Chapitre III. Trace amounts of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots**



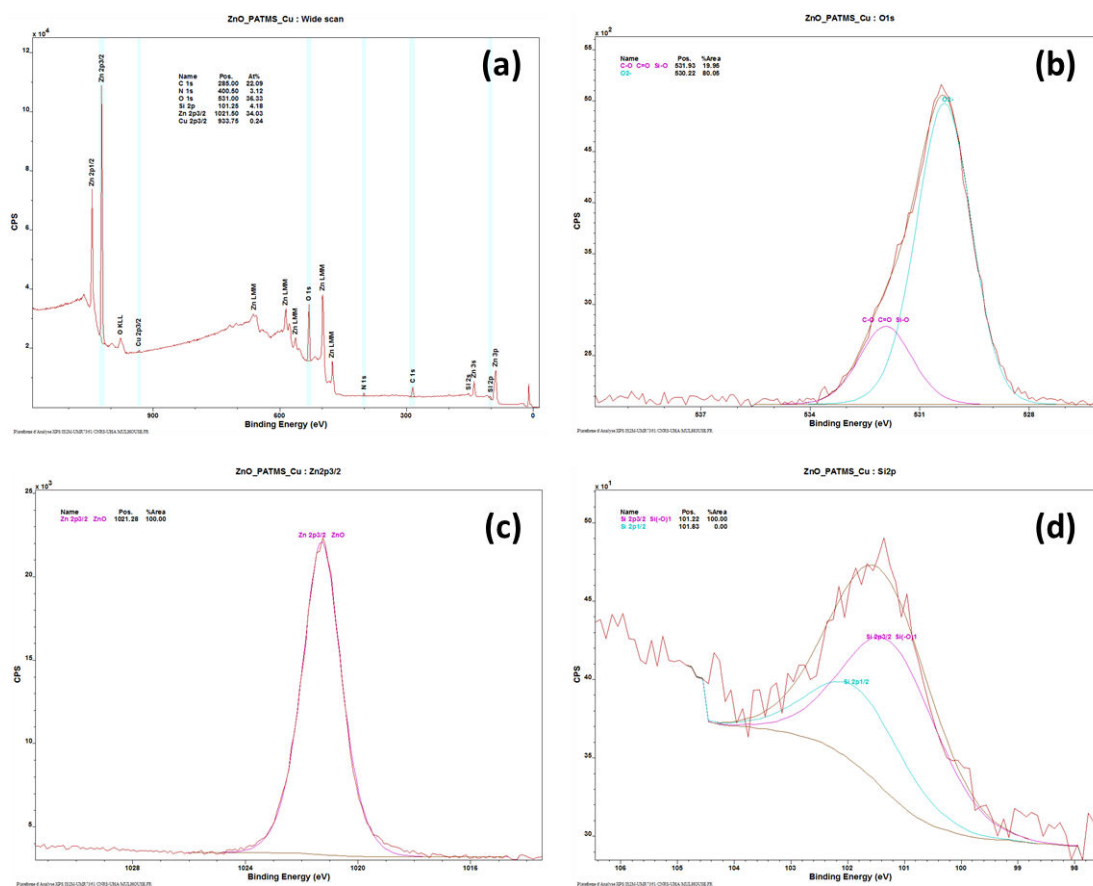
**Fig. III.S4.** XPS spectra of ZnO@APTMS QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

**Chapitre III. Trace amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots**



**Fig. III.S5.** XPS spectra of ZnO:Cu@APTMS QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

### Chapitre III. Trace amounts of Cu<sup>2+</sup> ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots

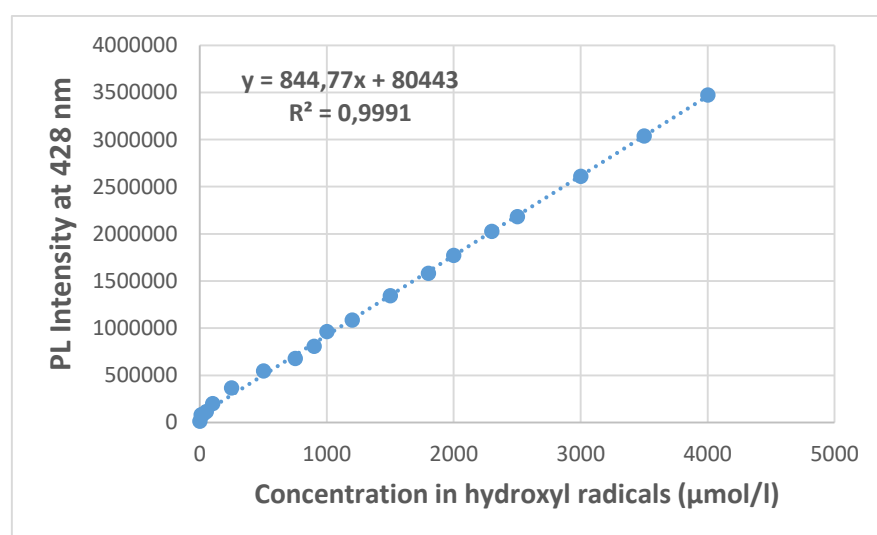


**Fig. III.S6.** XPS spectra of ZnO@APTMS/Cu QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-energy resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

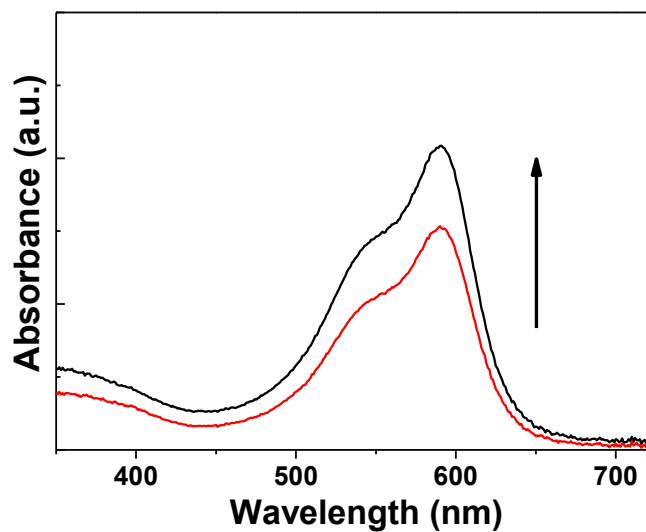
## Quantification of hydroxyl radicals produced by the dots

*J. Neurochemistry* **2008**, *105*, 738-749.

In a first step, 2-OH-DST was prepared by reacting DST with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O in water at neutral pH. Stock solutions of DST (3 mM), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM) and of the Mohr salt (1 mM) were used. To the stock solution of DST, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the Mohr salt were added at concentrations varying between 0 and 2300 μM. After 30 min stirring at room temperature, the PL intensity at 428 nm was measured. The PL intensity is proportional to the amount of <sup>•</sup>OH radicals generated by the Fenton reaction between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the Mohr salt. A calibration curve (see Fig. III.S2) was constructed and used to determine the concentration in <sup>•</sup>OH radicals generated during the irradiation of the dots with DST.



**Fig. III.S7.** Relationship between the concentration of <sup>•</sup>OH radicals and the PL intensity of 2-OH-DST at 428 nm.

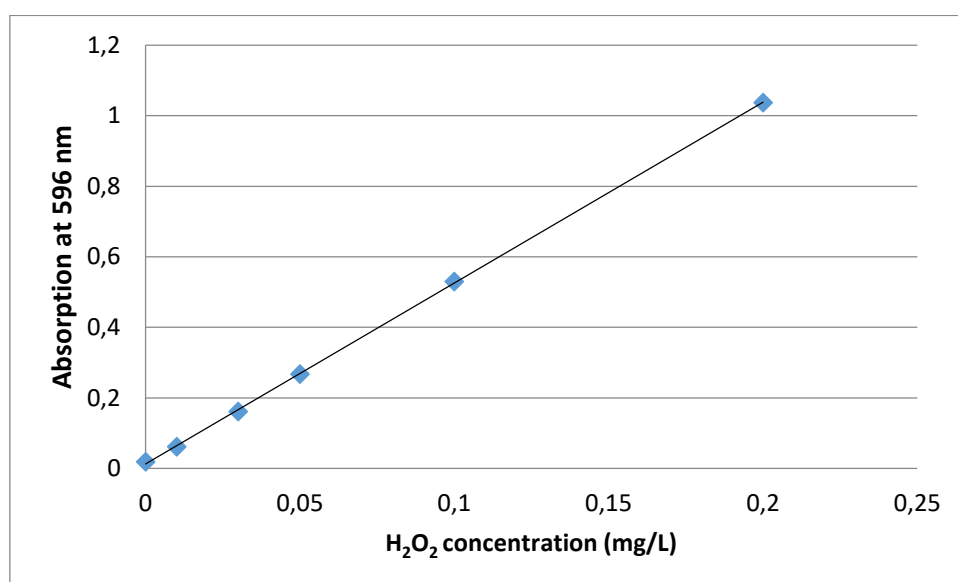


**Fig. III.S8.** Evolution of absorption spectra of LCV<sup>+</sup> produced by oxidation of LCV by HRP and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generated by ZnO@APTMS QDs irradiation. The red and black lines correspond to 30 and 45 min irradiation time, respectively.

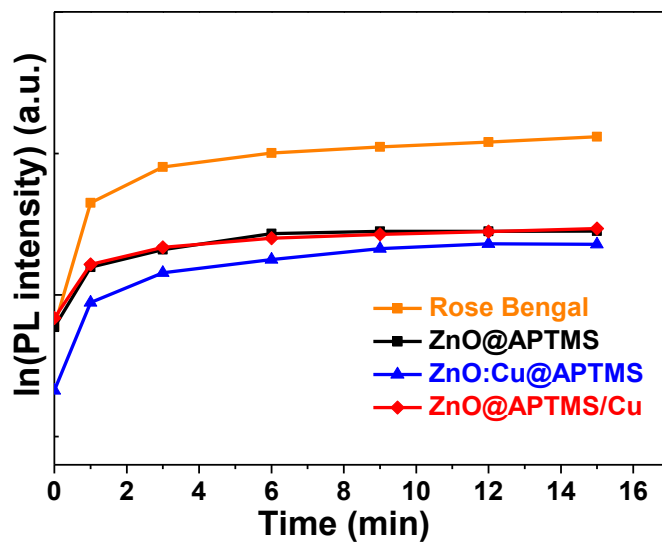
### Quantification of hydrogen peroxide H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produced by the dots

Standardization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions: A 0.1 N solution of KMnO<sub>4</sub> and a 20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution were prepared. 10 mL of an aqueous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution were mixed with 5 mL of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution followed by titration with the KMnO<sub>4</sub> solution.

Calibration curve: In a flask, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution and water were added, followed by the LCV solution, the HRP solution and finally the buffer. The mixture was stirred during 60 min in the dark at room temperature and the absorbance of LCV<sup>+</sup> at 596 nm was measured.



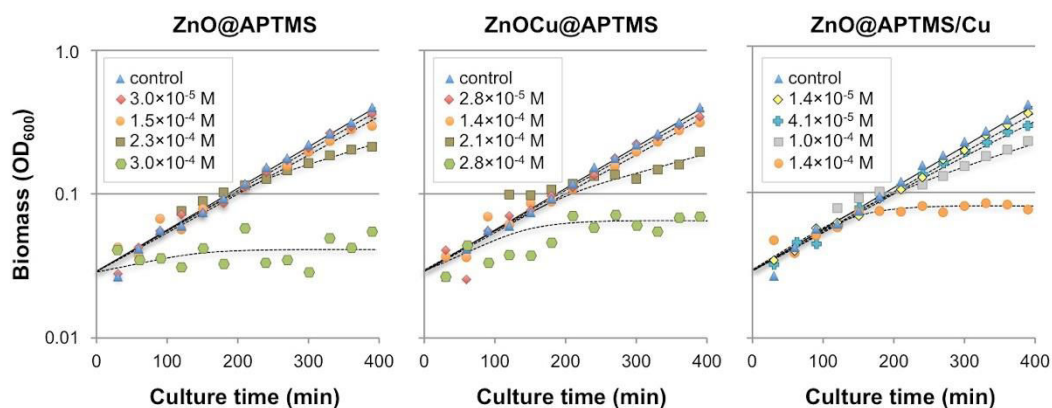
**Fig. III.S9.** Relationship between the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the absorption of LCV<sup>+</sup> at 596 nm.



**Fig. III.S10.** Linear fittings of the plots of  $\ln(\text{PL intensity})$  of SOSG-EP for Rose Bengal and ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs.



(a) - dark conditions



(b) - illuminated

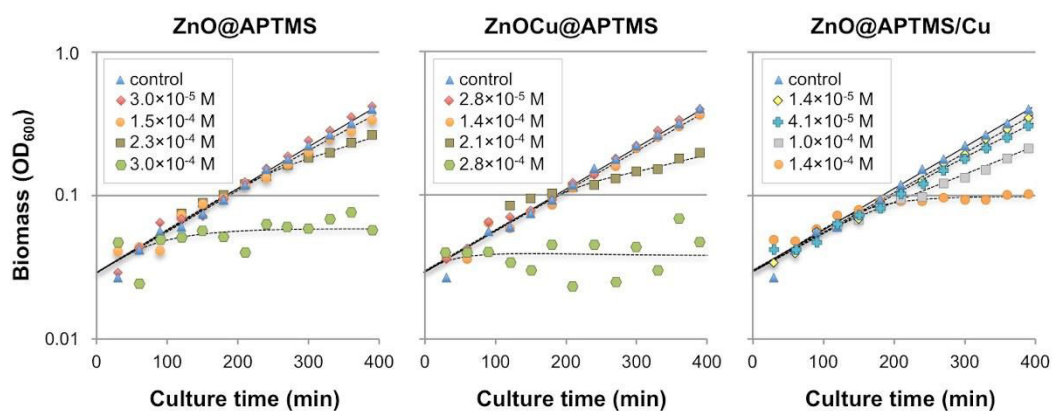


Fig. III.S11. Comparing the cytotoxic effects of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs on *E. coli* MG1655 in dark (a) and illuminated (b) conditions.





# **Chapitre IV. Photocatalyse**



## IV. Photocatalyse

### IV.1. Généralités

Depuis quelque décennies, les ressources énergétiques ont commencé à s'épuiser. En raison de la course mondiale pour l'énergie, une recherche forte se tourne vers d'autres sources alternatives d'énergies dites « vertes » comme l'énergie solaire, l'énergie éolienne et les ressources géothermales.

Parmi les diverses utilisations de ces ressources, nous pouvons citer la valorisation de l'énergie solaire pour la purification de l'air et des eaux usées via le procédé de photocatalyse. C'est au Japon que les premières réalisations utilisant la photocatalyse ont été développées dans les années 90. La photocatalyse repose sur l'activation d'un semi-conducteur par la lumière suivie de la génération d'espèces réactives de l'oxygène responsables de la photodégradation des polluants (Fig. IV.1).

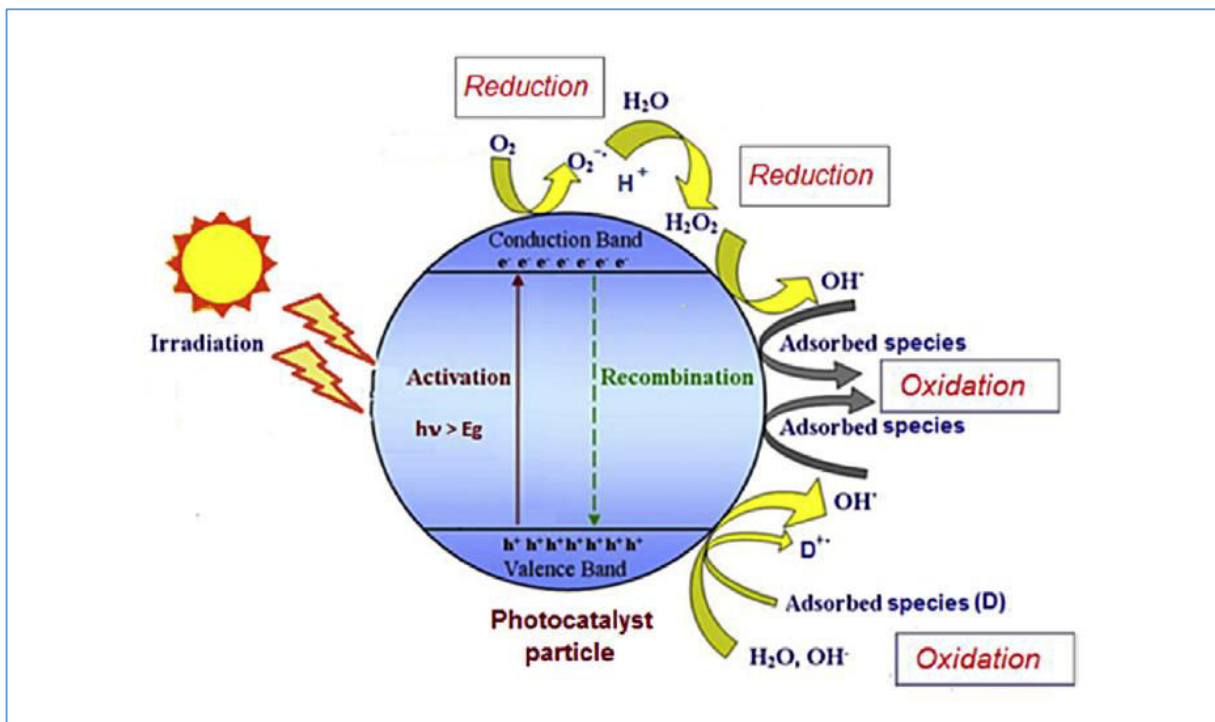


Fig. IV.1 : Illustration schématique du mécanisme du procédé de photocatalyse hétérogène solaire [Spasiano et al ; 2015].

Le principe de photocatalyse à l'aide d'un semi-conducteur peut se résumer à l'activation de ce dernier par une irradiation lumineuse avec une énergie supérieure ou égale à son énergie de gap ( $E_g$ ). Cette excitation va propulser un électron ( $e^-$ ) de la bande de valence (BV) vers la bande de conduction (BC) laissant un trou ( $h^+$ ) dans la BV. La paire électron-trou est appelée exciton. Les électrons et les trous vont respectivement réagir avec  $O_2$  et  $H_2O$  pour former des radicaux superoxide  $O_2^{\bullet-}$  et hydroxyle  $\bullet OH$  qui vont déclencher une chaîne de réactions d'oxydo-réduction permettant la minéralisation des polluants. De nombreux produits chimiques toxiques peuvent être dégradés par ce procédé. Notons finalement que l'activité photocatalytique est fortement dépendante de la durée de vie de ces porteurs de charge et donc de la vitesse de la recombinaison électron-trou.

### IV.2. Différents semi-conducteurs utilisés en photocatalyse.

Les semi-conducteurs à forte capacité d'absorption de la lumière ont attiré une énorme attention pour des applications photocatalytiques en raison de leur potentiel pour la dégradation des polluants environnementaux [Hoffman et al, 1995; Kisch et al, 2013]. Des catalyseurs tels que  $TiO_2$  [Kleiman et al, 2007],  $ZnO$  [Becker et al, 2011],  $ZnS$  [Zhao et al, 2004],  $Ag_2S$  [Cao et al, 2014],  $WO_3$ ,  $MoO_3$ ,  $ZrO_2$ ,  $SnO_2$ ,  $\alpha-Fe_2O_3$  [Spasiano et al; 2015] ont été énormément étudiés au cours des dernières années en raison de leur forte activité dans la photo-dégradation de colorants organiques sous irradiation UV ou visible. Parmi ces matériaux,  $TiO_2$  est le plus populaire en raison de son activité photocatalytique élevée, de sa bonne stabilité, de sa très faible toxicité, et de son très faible coût.  $TiO_2$ , comme la plupart des oxydes semi-conducteurs, a cependant un inconvénient majeur : son activité est limitée par sa très faible sensibilité à une irradiation dans le visible.

### IV.3. Facteurs influençant l'efficacité du photocatalyseur

Différents facteurs influent sur l'efficacité du photocatalyseur. Il est connu que le ralentissement de la recombinaison électron-trou photo-générés permet d'augmenter l'efficacité des catalyseurs [Kayaci et al, 2014 ; Zhang et al, 2013]. D'autre part, l'efficacité du catalyseur dépend de la phase cristalline du semiconducteur ainsi que sa croissance. La formation du radical  $\bullet OH$  [Izumi et al, 1980] dépend par exemple du plan cristallin au contact de l'eau. De nombreuses recherches sont également dirigées vers une augmentation de la surface du catalyseur par rapport à son volume et donc à une diminution de la taille des nanoparticules, ce qui va permettre d'augmenter le nombre de sites actifs à la surface du catalyseur [Kayaci et al, 2014 ; Hoffman et al, 1995].

Notons également que les performances d'un semi-conducteur en photocatalyse sont souvent renforcées par l'ajout d'un métal noble permettant de piéger les électrons [Liu et al, 2010 ; Chiou et al, 2011], par un dopage [Yu et al, 2010, Qin et al, 2011], et par l'incorporation de matériaux accepteurs d'électrons comme le graphène [Woan et al, 2009 ; Zhang et al, 2010]. Ces modifications permettent d'étendre la plage d'absorption de la lumière par le semi-conducteur et/ou de freiner la recombinaison électron-trou.

### IV.4. Oxyde de graphène

L'oxyde de graphène (GO) présente une haute conductivité, un énorme rapport surface/volume ainsi qu'une bonne biocompatibilité. Le graphène [Novoselov et coll., 2004] a notamment suscité un intérêt considérable pour la détection électrochimique [Dong et al., 2010; Lim et al., 2010]. Les avantages d'une électrode au graphène comprennent un vaste fenêtré de potentiels [Niwa et al., 2006], une grande inertie électrochimique [Novoselov et al., 2012] et une bonne électro-activité catalytique. Le GO, graphène décoré avec une distribution aléatoire de fonctions oxygénées (cétones, acides, alcools et époxydes) sur les deux côtés du plan, a également été largement utilisé comme matériau de biocapteurs [Bo et al., 2011; Davies et al., 2005; Dreyer et al., 2010; Liu et al., 2010]. Toutefois, ces zones oxydées créent des ruptures dans le réseau conjugué et donc dans le nuage d'électrons  $\pi$ , entraînant une dégradation de la conductivité [Zhao et al., 2010].

Un travail énorme, notamment électrochimique, a été réalisé pour développer des matériaux proche structurellement de GO mais possédant une conductivité élevée ainsi qu'une forte activité chimique/électrochimique [Dong et al., 2010a; Wu et al., 2013]. Parmi ces matériaux, l'oxyde de graphène réduite (rGO) est un des meilleurs candidats en raison du nombre de fonctions oxygénés réduit [Gao et al., 2009].

#### IV.4.1. Synthèse de l'oxyde de graphène

Le graphène est composée de feuillets planaires de carbone  $sp^2$  (organisation en nid d'abeille) (Fig. IV.2). En fonction du nombre de feuillets, on distingue trois types de graphène, le graphène mono-couche (SLG), le graphène bi-couche (BLG) et le graphène contenant quelques feuillets (FLG). SLG est défini comme un matériau à 2 dimensions (2D) ne comportant qu'un feuillet de carbone. BLG et FLG comportent respectivement 2 et de 3 à 10 couches de tels feuillets [Choi et al, 2010].



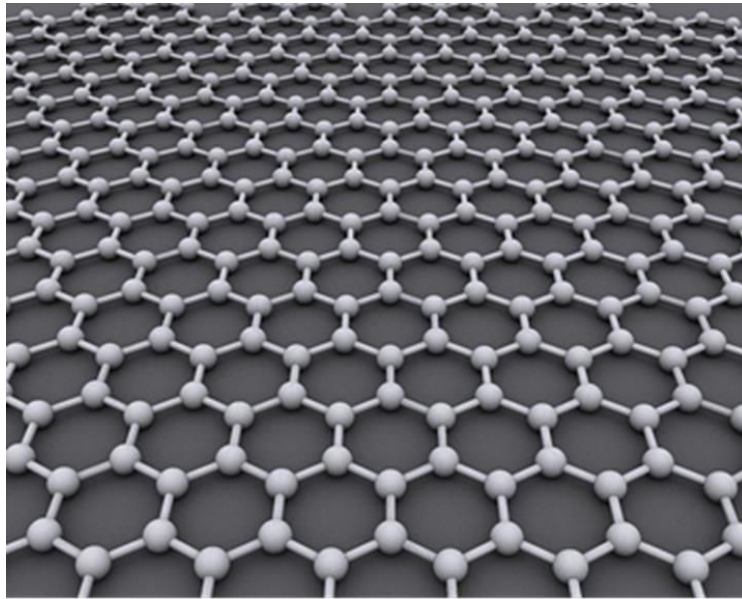


Fig. IV.2: Structure 3D idéale du graphène [Alexander AIUS]

Différentes approches ont été développées pour fabriquer ces différents types de graphène. On peut citer des procédés physiques et chimiques pour produire le graphène, tels que le dépôt chimique en phase vapeur [Hu et al, 2012], la réduction chimique de l'oxyde de graphite [Huang et al, 2012 ; Tung et al, 2009], la décomposition thermique de SiC [Huang et al, 2008], et en phase liquide, l'exfoliation du graphite [Lotya et al, 2010 ; Liu et al 2011]. La réduction chimique de GO est l'une des méthodes les plus couramment utilisées de production du graphène. Cependant, les traitements chimiques risquent d'endommager gravement la structure idéale hexagonale en raison de la présence des groupements oxygénés situés sur le plan basal et les bords. Bien que ces groupements puissent être retirés par des méthodes douces de réduction chimique ou thermique, la structure du produit réduit peut encore contenir des défauts importants, et donc posséder de piètres propriétés électroniques [Xu et al, 2011].

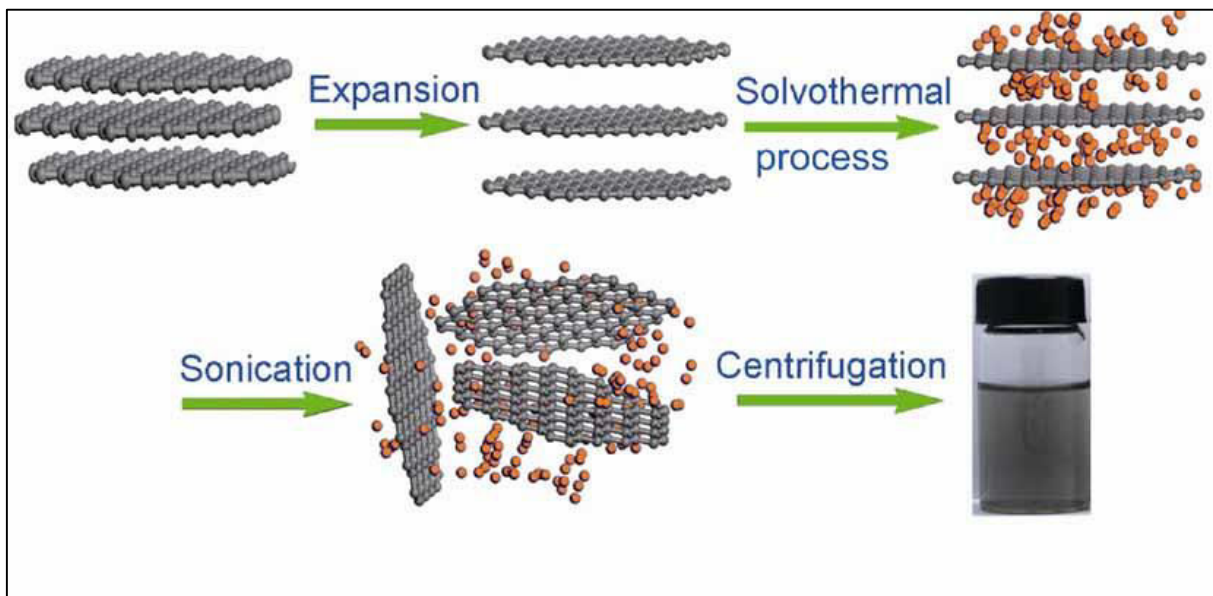
Afin d'éviter cette situation désavantageuse, les efforts de synthèse récents ont surtout porté sur l'exfoliation de graphite de structure pristine en phase liquide. Il s'agit d'une méthode simple, directe et en une étape pour produire le graphène par dispersion du graphite (généralement sous ultrasons) soit en liquide ionique [Nuvoli et al, 2011], soit dans des solutions de tensio-actifs [Lin et al, 2011 ; Guardia et al, 2011], soit dans des solvants organiques [Choi et al, 2011 ; Liu et al, 2011 ; O'Neill et al, 2011] ou des mélanges de solvants [Zhou et al, 2011]. Guardia et al., [Guardia et al, 2011] ont notamment rapporté qu'un large éventail d'agents de surface non ioniques est utilisable pour exfolier et disperser le graphène même à de fortes concentrations. Par exemple, Lotya et al., ont dispersé du graphite dans une

solution aqueuse de dodécylbenzènesulfonate de sodium à l'aide d'ultrasons pour obtenir une suspension de FLG, puis des films minces fabriqués par filtration sous vide [Lotya et al, 2009]. Toutefois, les résidus de tensio-actifs entraînent une baisse de la conductivité.

Khan et *al.*, ont préparé des dispersions de graphène stables dans la N-méthyl-2-pyrrolidone avec des concentrations élevées avec des tailles d'environ 1  $\mu\text{m}$  [Khan et al, 2010]. Zhu et *al.*, ont montré que ce processus était très lent et que l'énergie fournie par la sonication était insuffisante pour la préparation de grands feuillets de graphène. Les paramètres les plus importants pour obtenir à grande échelle du graphène sans défauts avec de bonnes performances électriques sont la sélection des matières premières et surtout la qualité du graphite, la solution de dispersion et la source d'ultrasons [Zhu et al, 2013].

#### IV.5. Oxyde de graphène réduit (rGO)

La figure 3 décrit un procédé proche de nos travaux pour la préparation de rGO et son association avec les bâtonnets de ZnO. [Moussa et al, 2015]



**Fig. IV.3 :** Illustration schématique de l'exfoliation de GO et de la croissance de ZnO à la surface des feuillets d'oxyde de graphène réduit. [Qian et al, 2009].

Le graphite a tout d'abord été oxydé en oxyde de graphite à l'aide d'un oxydant puissant,  $\text{KMnO}_4$ .  $\text{KMnO}_4$  permet de former des liaisons C-O simples et multiples sur chaque feuillet

pour les rendre plus facilement séparables les uns des autres. Ces fonctions oxygénées (époxyde, acide, cétone) ont une affinité pour les cations métalliques tels que les ions  $Zn^{2+}$  et vont donc permettre l'ancrage des particules de ZnO à la surface de rGO.

L'oxyde de graphite est ensuite exfolié par sonication dans l'eau (la dispersion est permise grâce aux fonctions oxygénées créées après l'oxydation avec le permanganate). Cette exfoliation détruit la structure tridimensionnelle du graphite, permet d'augmenter la surface spécifique et favorise donc l'ancrage de nanoparticules à la surface des feuillets individualisés. Durant ces deux premières étapes, on perd une partie des propriétés conductrices du graphite (inclusion d'oxygène sur la structure et la sonication qui brise les feuillets autant qu'elle les sépare).

Pour récupérer une partie de la conductivité, il faut retirer un maximum de fonctions oxygénées sur les feuillets obtenus. Pour cela, l'oxyde de graphite est partiellement réduit. Au cours de notre étude, nous avons utilisé l'acide ascorbique comme réducteur.

Le produit obtenu possède des propriétés proches de celles du graphène et améliorera les capacités catalytiques des tubes de ZnO auquel on l'associera via une délocalisation des électrons photogénérés. Les bâtonnets de ZnO ont été déposés à la surface de rGO via un procédé sol-gel suivi d'un traitement solvothermal dans l'éthanol à  $160^{\circ}C$  (Fig. IV.4).

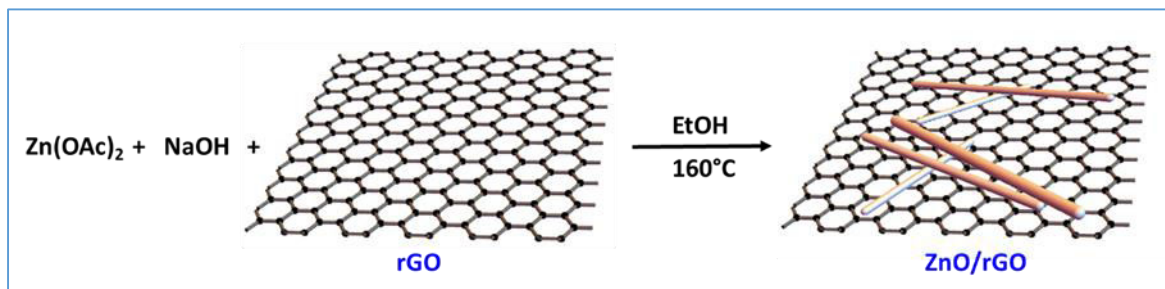


Fig. IV.4 : Illustration schématique de la synthèse de composite ZnO/rGO.

#### IV.6. ZnO et photocatalyse

ZnO, avec une énergie de gap égale à  $3,37\text{ eV}$  à température ambiante, est un des semi-conducteurs les plus importants et peut notamment être utilisé comme photocatalyseur hétérogène en raison de son faible coût, de sa facilité d'accès, de sa stabilité importante et sa photosensibilité élevée [Fang et al, 2006]. ZnO présente une efficacité photocatalytique

supérieure à celle de  $\text{TiO}_2$  pour la dégradation de certains colorants en milieu aqueux [Chatzitakis et al, 2008 ; Palominos et al, 2009]. Cependant, en raison de la recombinaison rapide de la paire électron-trou [Hoffman et al, 1995] et de son énergie de gap élevé, le semi-conducteur  $\text{ZnO}$  ne peut être excité efficacement qu'avec un rayonnement UV qui ne représente que 4% du spectre solaire [Linsebigler et al, 1995 ; Liao et al 2006]. En conséquence, le développement de nouveaux photocatalyseurs actifs en lumière visible est devenu une thématique en plein développement depuis quelques années.

Les chercheurs ont commencé à faire différents assemblages entre  $\text{ZnO}$  et d'autres nanoparticules pour améliorer l'activité photocatalytique de  $\text{ZnO}$ . Par exemple, Yu *et al.* ont montré que  $\text{ZnO}$  associé à des particules de « metal organic framework » de type ZIF-8 a une activité photocatalytique plus élevée que  $\text{ZnO}$  pour la dégradation de bleu de méthylène en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  [Yu et al, 2015].

Chen *et al.* ont synthétisé des particules 1D cœur/coquille  $\text{ZnO}/\text{ZnSe}$  via une méthode de dépôt par vapeur chimique. L'absorbance de ce composé est étendu de l'UV au visible et l'efficacité photocatalytique a été améliorée par rapport à  $\text{ZnO}$  [Chen et al, 2014].

Zou *et al.* ont amélioré l'activité photocatalytique de  $\text{ZnO}$  pour la dégradation de 2,6-dichlorophénol sous irradiation visible via la synthèse d'un composé hétérostructuré de type  $\text{ZnO}/\text{V}_2\text{O}_5$  core/shell [Zou et al, 2010].

Jung *et al.* ont synthétisé un composé hybride  $\text{CuO}-\text{ZnO}$ , de morphologie proche de celle de nanofils, et déposé sur une maille d'acier inoxydable. Cette maille possède une vaste surface et facilite un transfert efficace de masse. Le matériau  $\text{CuO}-\text{ZnO}$  présente une excellente activité photocatalytique pour la dégradation des colorants azoïques non biodégradables [Jung et al, 2011].

Zou *et al.* ont réussi à synthétiser un matériau  $\text{Cu}_2\text{O}/\text{ZnO}$  à l'aide d'une méthode hydrothermale suivie d'un processus d'électrodéposition. Les applications photocatalytiques sous lumière visible sont nettement améliorées par rapport à  $\text{Cu}_2\text{O}$  ou  $\text{ZnO}$  pris séparément. L'augmentation du temps d'électrodéposition de  $\text{Cu}_2\text{O}$  contribue à l'amélioration de l'activité photocatalytique du système jusqu'à ce que les nanoparticules de  $\text{Cu}_2\text{O}$  recouvrent la surface des nanotubes de  $\text{ZnO}$ . L'augmentation de l'activité photocatalytique est attribuée à une meilleure diffusion de la lumière pour  $\text{Cu}_2\text{O}/\text{ZnO}$ , de la séparation des transporteurs de charge et donc à l'hétérojonction entre  $\text{Cu}_2\text{O}$  et  $\text{ZnO}$  [Zou et al, 2014].

Pour décaler l'absorbance de ZnO vers le visible et donc son activité photocatalytique, les chercheurs ont également mené des travaux visant à doper ce matériau par des métaux comme Mn [Lu et al, 2012], Cu [Wu et al, 2012], Ag [Fageria et al, 2014 ; Han et al, 2012], Au [Georgiev et al, 2014; Misra et al, 2014], ou Co [Qiu et al, 2008].

### IV.7. Le graphène en photocatalyse

Le graphène, un allotrope 2D de carbone, est apparu dans beaucoup de recherches, dont la photocatalyse. Différentes stratégies sont apparues au fil des ans afin d'améliorer les performances photocatalytiques des semi-conducteurs via des modifications structurales [Liu et al, 2010; Li et al, 2003], un dopage [Wang et al, 2009 ; Ohno et al, 2003], une charge en métal noble [Sakthivel et al, 2004 ; Sakthivel et al, 2007] ou la formation de dispositifs associant des semi-conducteurs [Arai et al, 2007]. Récemment, une attention croissante a également été portée à certains nanomatériaux carbonés comme les nanotubes de carbone (NTC) et ou les fullerènes (notamment le C60) couplés à des semi-conducteurs pour produire des photocatalyseurs à haute performance. Ces matériaux permettent notamment d'améliorer l'absorption de la lumière ainsi que le transport des électrons.

Plus récemment, l'isolement de graphène par Novoselov et Geim [Novoselov et al, 2004], a révolutionné la chimie des matériaux carbonés en raison des nombreuses propriétés nouvelles de ce matériau qui trouvent leur origine dans sa structure électronique quasi unique. Une feuille de graphène idéal permet la conduction dans une gamme micrométrique, ce qui signifie que les électrons peuvent voyager avec une forte mobilité ( $15\ 000\ \text{cm}^2\ \text{V}^{-1}\ \text{s}^{-1}$ ) avec très peu de dispersion à température ambiante [Novoselov et al, 2005 ; Du et al, 2008]. Cela transforme le graphène en un candidat idéal comme dissipateur d'électrons ou comme support de transfert d'électrons. En outre, le caractère unique de sa structure planaire atomique permet une haute transparence [Nair et al, 2008, Kim et al, 2009] et offre une surface théorique de  $\sim 2600\ \text{m}^2\ \text{g}^{-1}$  [Peigney et al, 2001, McAllister et al, 2007], Cette grande surface spécifique permet également au graphène d'être un support quasi idéal pour la dispersion homogène de particules de semi-conducteurs. De plus, en raison de sa morphologie très adaptable et de sa possible modification, ses propriétés de surface peuvent également être favorablement ajustées par transformation chimique, permettant son utilisation pour la préparation de matériaux composites. Pour ces différentes raisons, il n'est pas étonnant que le graphène a connu un intérêt croissant en photocatalyse [Zhang et al, 2014 ; Gu et al, 2014].

Yuan *et al.* ont montré que l'oxyde de graphène réduit (rGO) associé avec  $\text{TiO}_2$  ( $\text{rGO@TiO}_2$ ) pouvait efficacement dégrader les polluants organiques via l'amélioration de la séparation des charges et la diminution du taux de recombinaison électron/trou. L'oxyde de graphène est un nanomatériau très efficace pour la dispersion des nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  après son exfoliation. Les particules de  $\text{TiO}_2$  restent intègres dans  $\text{rGO@TiO}_2$  et la morphologie poreuse de  $\text{TiO}_2$  permet d'augmenter la surface du catalyseur car les particules de  $\text{TiO}_2$  restent bien dispersées (Figure 5). La photodégradation à l'aide de  $\text{rGO@TiO}_2$  est nettement améliorée par rapport à  $\text{TiO}_2$  et le catalyseur est également recyclable [Yuan *et al.*, 2015].

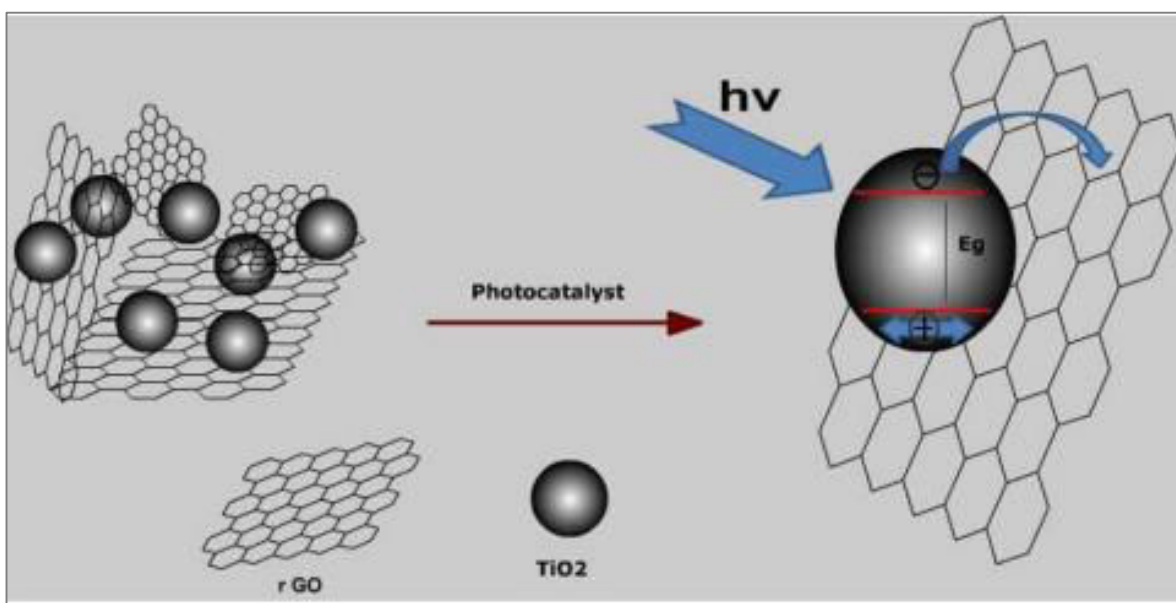


Fig. IV.5 : rGO associé au photocatalyseur  $\text{TiO}_2$  [Yuan *et al.*, 2015].

Zhang *et al.* ont montré que le composite graphène/P25  $\text{TiO}_2$  synthétisé dans des conditions hydrothermales présente une meilleure activité photocatalytique pour la dégradation de bleu de méthylène [Zhang *et al.*, 2010]. Finalement, notons que Zhu *et al.* ont utilisé des systèmes biphasiques eau/huile pour produire de l'oxyde de graphène GO associé à des composés  $\text{Ag/AgX}$  (X : Br, Cl). GO permet de stabiliser le photocatalyseur plasmonique à base de particules d'argent [Zhu *et al.*, 2011].

### IV.8. Activité photocatalytique de ZnO associé avec le graphène

La modification de la structure chimique du graphène par hybridation avec ZnO peut modifier la valeur de gap de ce dernier [Zhan et al, 2012 ; Bao et al, 2012]. Cela permettra le transfert efficace de charges entre ZnO et le graphène et ainsi améliorera la durée de vie des porteurs de charge photogénérés [Bai et al, 2013]. ZnO est un photocatalyseur actif en irradiation UV, mais l'hybridation avec le graphène permet également d'étendre la gamme d'absorption vers le visible [Li et al, 2012].

Kovitha *et al.* ont synthétisé un hybride ZnO/rGO par une méthode hydrothermale et ont observé que le « quenching » de fluorescence observé dans ZnO/rGO prouvait le transfert des électrons photogénérés entre ZnO et les feuillets de graphène. Ce processus de transfert de charge peut influencer positivement sur l'activité photocatalytique en réduisant la recombinaison de porteurs de charge. Ces auteurs ont également montré que la quantité de graphène réduit ajouté au ZnO jouait un rôle majeur dans l'efficacité photocatalytique [Kovitha et al, 2015].

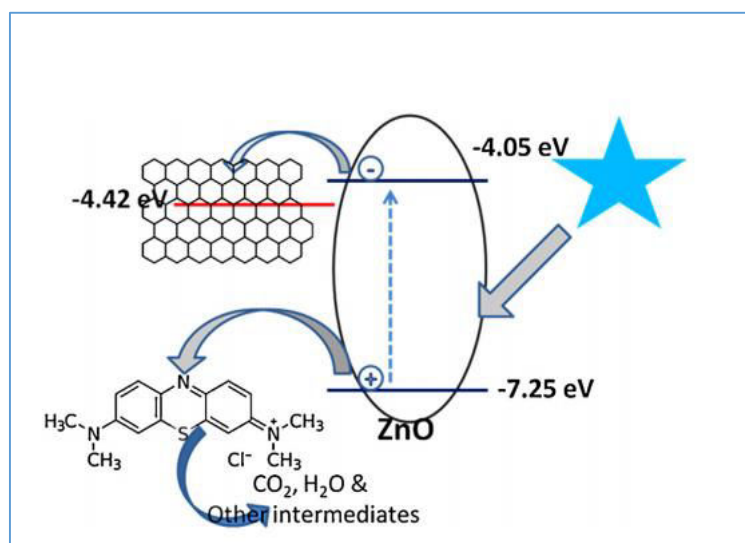


Fig. IV.6 : Mécanisme de dégradation photocatalytique du bleu de méthylène avec le catalyseur ZnO/rGO [Kovitha et al, 2015].

Des résultats très proches ont été obtenus par Liu *et al.* qui ont également mis en évidence l'importance du pourcentage de graphène réduit associé à ZnO sur l'amélioration de l'activité photocatalytique [Liu et al, 2012]. 1% massique de rGO par rapport à ZnO a permis d'obtenir les meilleurs résultats. L'association de ZnO avec rGO permet d'améliorer les réactions

d'oxydoréduction avec l'oxygène et l'eau, et donc d'optimiser la dégradation des molécules organiques ou la réduction d'ions métalliques toxiques absorbés à la surface du catalyseur [Li et al, 2011 ; Zhu et al, 2011] [Li et al, 2011 ; Xu et al, 2011].

#### **IV.9.Références**

AlexanderAIUS, Wikimedia Commons <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Graphen.jpg>

Alzari V, Nuvoli D, Sanna R, Scognamillo S, Piccinini M, Kenny JM, et al. In situ production of high filler content graphene-based polymer nanocomposites by reactive processing. *Journal of Materials Chemistry*. 2011; 21 (41): 16544-9.

Arai T, Yanagida M, Konishi Y, Iwasaki Y, Sugihara H, Sayama K. Efficient complete oxidation of acetaldehyde into CO<sub>2</sub> over CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/WO<sub>3</sub> composite photocatalyst under visible and UV light irradiation. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2007; 111(21): 7574-7.

Bai X, Wang L, Zong R, Lv Y, Sun Y, Zhu Y. Performance Enhancement of ZnO Photocatalyst via Synergic Effect of Surface Oxygen Defect and Graphene Hybridization. *Langmuir*. 2013; 29 (9): 3097-105.

Bao Q, Loh KP. Graphene Photonics, Plasmonics, and Broadband Optoelectronic Devices. *ACS Nano*. 2012; 6(5): 3677-94.

Becker J, Raghupathi KR, St. Pierre J, Zhao D, Koodali RT. Tuning of the crystallite and particle sizes of ZnO nanocrystalline materials in solvothermal synthesis and their photocatalytic activity for dye degradation. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2011; 115 (28): 13844-50.

Bo Y, Wang W, Qi J, Huang S. A DNA biosensor based on graphene paste electrode modified with Prussian blue and chitosan. *Analyst*. 2011; 136(9): 1946-51.

Cao Q, Che R, Chen N. Facile and rapid growth of Ag<sub>2</sub>S microrod arrays as efficient substrates for both SERS detection and photocatalytic degradation of organic dyes. *Chemical Communications*. 2014; 50 (38): 4931-3.

Cao Y-C, Fu Z, Wei W, Zou L, Mi T, He D, et al. Reduced graphene oxide supported titanium dioxide nanomaterials for the photocatalysis with long cycling life. *Applied Surface Science*. 2015; 355: 1289-94.

Chatzitakis A, Berberidou C, Paspaltsis I, Kyriakou G, Sklaviadis T, Poullos I. Photocatalytic degradation and drug activity reduction of chloramphenicol. *Water Research*. 2008; 42 (1): 386-94.

Chen W, Zhang N, Zhang MY, Zhang XT, Gao H, Wen J. Controllable growth of ZnO–ZnSe heterostructures for visible-light photocatalysis. *CrystEngComm*. 2014; 16 (6): 1201-6.



- Chiou JW, Ray SC, Tsai HM, Pao CW, Chien FZ, Pong WF, et al. Correlation between electronic structures and photocatalytic activities of nanocrystalline-(Au, Ag, and Pt) particles on the surface of ZnO nanorods. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2011; 115 (6): 2650-5.
- Choi E-Y, San Choi W, Lee YB, Noh Y-Y. Production of graphene by exfoliation of graphite in a volatile organic solvent. *Nanotechnology*. 2011; 22 (36): 365601.
- Choi W, Lahiri I, Seelaboyina R, Kang YS. Synthesis of graphene and its applications: a review. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. 2010; 35(1): 52-71.
- Davies TJ, Hyde ME, Compton RG. Nanotrench arrays reveal insight into graphite electrochemistry. *Angewandte Chemie*. 2005; 117 (32): 5251-6.
- Dong X, Shi Y, Huang W, Chen P, Li L-J. Electrical Detection of DNA Hybridization with Single-Base Specificity Using Transistors Based on CVD-Grown Graphene Sheets. *Advanced Materials*. 2010; 22 (14): 1649-53.
- Dreyer DR, Park S, Bielawski CW, Ruoff RS. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*. 2010; 39 (1): 228-40.
- Du X, Skachko I, Barker A, Andrei EY. Approaching ballistic transport in suspended graphene. *Nature nanotechnology*. 2008; 3 (8): 491-5.
- Fageria P, Gangopadhyay S, Pande S. Synthesis of ZnO/Au and ZnO/Ag nanoparticles and their photocatalytic application using UV and visible light. *RSC Advances*. 2014; 4 (48): 24962-72.
- Fang X, Zhang L. Controlled growth of one-dimensional oxide nanomaterials. *Materials Science & Technology*. 2006; 22 (1).
- Gao W, Alemany LB, Ci L, Ajayan PM. New insights into the structure and reduction of graphite oxide. *Nature chemistry*. 2009; 1(5): 403-8.
- Georgiev P, Kaneva N, Bojinova A, Papazova K, Mircheva K, Balashev K. Effect of gold nanoparticles on the photocatalytic efficiency of ZnO films. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014; 460: 240-7.
- Gu Y, Xing M, Zhang J. Synthesis and photocatalytic activity of graphene based doped TiO<sub>2</sub> nanocomposites. *Applied Surface Science*. 2014; 319: 8-15.
- Guardia L, Fernández-Merino MJ, Paredes JI, Solís-Fernández P, Villar-Rodil S, Martínez-Alonso A, et al. High-throughput production of pristine graphene in an aqueous dispersion assisted by non-ionic surfactants. *Carbon*. 2011; 49 (5): 1653-62.
- GuiáYang H, others. Nanosized anatase TiO<sub>2</sub> single crystals for enhanced photocatalytic activity. *Chemical Communications*. 2010; 46 (5): 755-7.
- Han Z, Ren L, Cui Z, Chen C, Pan H, Chen J. Ag/ZnO flower heterostructures as a visible-light driven photocatalyst via surface plasmon resonance. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2012; 126: 298-305.

Hoffmann MR, Martin ST, Choi W, Bahnemann DW. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical reviews*. 1995; 95 (1): 69-96.

Hu B, Ago H, Ito Y, Kawahara K, Tsuji M, Magome E, et al. Epitaxial growth of large-area single-layer graphene over Cu (111)/sapphire by atmospheric pressure CVD. *Carbon*. 2012; 50 (1): 57-65.

Huang H, Chen W, Chen S, Wee ATS. Bottom-up growth of epitaxial graphene on 6H-SiC (0001). *Acs Nano*. 2008; 2 (12): 2513-8.

Huang S, Ren L, Guo J, Zhu H, Zhang C, Liu T. The preparation of graphene hybrid films decorated with poly [2-methoxy-5-(2'-ethyl-hexyloxy)-1, 4-phenylene vinylene] particles prepared by non-solvent induced precipitation. *Carbon*. 2012; 50 (1): 216-24.

Izumi I, Dunn WW, Wilbourn KO, Fan F-RF, Bard AJ. Heterogeneous photocatalytic oxidation of hydrocarbons on platinized titanium dioxide powders. *The Journal of Physical Chemistry*. 1980; 84 (24): 3207-10.

Jung S, Yong K. Fabrication of CuO–ZnO nanowires on a stainless steel mesh for highly efficient photocatalytic applications. *Chemical Communications*. 2011; 47 (9): 2643-5.

Kavitha MK, Pillai SC, Gopinath P, John H. Hydrothermal synthesis of ZnO decorated reduced graphene oxide: Understanding the mechanism of photocatalysis. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2015; 3 (2): 1194-9.

Kayaci F, Vempati S, Donmez I, Biyikli N, Uyar T. Role of zinc interstitials and oxygen vacancies of ZnO in photocatalysis: a bottom-up approach to control defect density. *Nanoscale*. 2014; 6 (17): 10224-34.

Kayaci F, Vempati S, Ozgit-Akgun C, Donmez I, Biyikli N, Uyar T. Selective isolation of electron or hole in photocatalysis: ZnO-TiO<sub>2</sub>-ZnO Core-Shell Structured Heterojunction Nanofibers via Electrospinning and Atomic Layer Deposition. *Nanoscale*. 2014; 6: 5735-45.

Khan U, O'Neill A, Lotya M, De S, Coleman JN. High-Concentration Solvent Exfoliation of Graphene. *Small*. 2010; 6 (7): 864-71.

Kim KS, Zhao Y, Jang H, Lee SY, Kim JM, Kim KS, et al. Large-scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes. *Nature*. 2009; 457 (7230): 706-10.

Kisch H. Semiconductor photocatalysis—mechanistic and synthetic aspects. *Angewandte Chemie International Edition*. 2013; 52 (3): 812-47.

Kleiman A, Marquez A, Lamas DG. Anatase TiO<sub>2</sub> films obtained by cathodic arc deposition. *Surface and Coatings Technology*. 2007; 201 (14): 6358-62.

Li B, Cao H. ZnO@graphene composite with enhanced performance for the removal of dye from water. *J Mater Chem*. 2011; 21 (10): 3346-9.

Li B, Liu T, Wang Y, Wang Z. ZnO/graphene-oxide nanocomposite with remarkably enhanced visible-light-driven photocatalytic performance. *Journal of Colloid and*

Interface Science. 2012; 377 (1): 114-21.

Li C, Zhang J, Yang J, Wang T, Lv X, Tang Z. Methods to improve the photocatalytic activity of immobilized ZnO/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composite. *Applied Catalysis A: General*. 2011; 402 (1–2): 80-6.

Li D, Haneda H. Morphologies of zinc oxide particles and their effects on photocatalysis. *Chemosphere*. 2003; 51 (2): 129-37.

Li H, Bian Z, Zhu J, Huo Y, Li H, Lu Y. Mesoporous Au/TiO<sub>2</sub> nanocomposites with enhanced photocatalytic activity. *Journal of the American Chemical Society*. 2007; 129 (15): 4538-9.

Liao S-C, Lin H-F, Hung S-W, Hu C-T. dc thermal plasma synthesis and properties of zinc oxide nanorods. *Journal of Vacuum Science & Technology B*. 2006; 24 (3): 1322-6.

Lim CX, Hoh HY, Ang PK, Loh KP. Direct voltammetric detection of DNA and pH sensing on epitaxial graphene: an insight into the role of oxygenated defects. *Analytical chemistry*. 2010; 82 (17): 7387-93.

Lin S, Shih C-J, Strano MS, Blankschtein D. Molecular insights into the surface morphology, layering structure, and aggregation kinetics of surfactant-stabilized graphene dispersions. *Journal of the American Chemical Society*. 2011; 133 (32): 12810-23.

Linsebigler AL, Lu G, Yates Jr JT. Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> surfaces: principles, mechanisms, and selected results. *Chemical reviews*. 1995; 95 (3): 735-58.

Liu Y, Chen L, Hu J, Li J, Richards R. TiO<sub>2</sub> nanoflakes modified with gold nanoparticles as photocatalysts with high activity and durability under near UV irradiation. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010; 114 (3): 1641-5.

Lotya M, Hernandez Y, King PJ, Smith RJ, Nicolosi V, Karlsson LS, et al. Liquid phase production of graphene by exfoliation of graphite in surfactant/water solutions. *Journal of the American Chemical Society*. 2009; 131 (10): 3611-20.

Lotya M, King PJ, Khan U, De S, Coleman JN. High-concentration, surfactant-stabilized graphene dispersions. *ACS nano*. 2010; 4 (6): 3155-62.

McAllister MJ, Li J-L, Adamson DH, Schniepp HC, Abdala AA, Liu J, et al. Single sheet functionalized graphene by oxidation and thermal expansion of graphite. *Chemistry of Materials*. 2007; 19 (18): 4396-404.

Misra M, Kapur P, Nayak MK, Singla M. Synthesis and visible photocatalytic activities of a Au@ Ag@ ZnO triple layer core-shell nanostructure. *New Journal of Chemistry*. 2014; 38 (9): 4197-203.

Nair RR, Blake P, Grigorenko AN, Novoselov KS, Booth TJ, Stauber T, et al. Fine structure constant defines visual transparency of graphene. *Science*. 2008; 320 (5881): 1308-1308.

Niwa O, Jia J, Sato Y, Kato D, Kurita R, Maruyama K, et al. Electrochemical performance

of angstrom level flat sputtered carbon film consisting of sp<sup>2</sup> and sp<sup>3</sup> mixed bonds. *Journal of the American Chemical Society*. 2006; 128 (22): 7144-5.

Novoselov KS, Fal VI, Colombo L, Gellert PR, Schwab MG, Kim K, et al. A roadmap for graphene. *Nature*. 2012; 490 (7419): 192-200.

Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV, Jiang D, Zhang Y, Dubonos SV, et al. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*. 2004; 306 (5696): 666-9.

Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV, Jiang D, Zhang Y, Dubonos SV, et al. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*. 2004; 306 (5696): 666-9.

Novoselov KSA, Geim AK, Morozov Sv, Jiang D, Katsnelson Mi, Grigorieva Iv, et al. Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene. *Nature*. 2005; 438 (7065): 197-200.

O'Neill A, Khan U, Nirmalraj PN, Boland J, Coleman JN. Graphene dispersion and exfoliation in low boiling point solvents. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2011; 115 (13): 5422-8.

Ohno T, Mitsui T, Matsumura M. Photocatalytic Activity of S-doped TiO<sub>2</sub> Photocatalyst under Visible Light. *Chemistry Letters*. 2003; 32 (4): 364-5.

Palominos RA, Mondaca MA, Giraldo A, Peñuela G, Pérez-Moya M, Mansilla HD. Photocatalytic oxidation of the antibiotic tetracycline on TiO<sub>2</sub> and ZnO suspensions. *Catalysis Today*. 2009; 144 (1): 100-5.

Peigney A, Laurent C, Flahaut E, Bacsa RR, Rousset A. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon*. 2001; 39 (4): 507-14.

Qian W, Hao R, Hou Y, Tian Y, Shen C, Gao H, et al. Solvothermal-assisted exfoliation process to produce graphene with high yield and high quality. *Nano Research*. 2009; 2 (9): 706-12.

Qin H, Li W, Xia Y, He T. Photocatalytic activity of heterostructures based on ZnO and N-doped ZnO. *ACS applied materials & interfaces*. 2011; 3 (8): 3152-6.

Qiu X, Li G, Sun X, Li L, Fu X. Doping effects of Co<sup>2+</sup> ions on ZnO nanorods and their photocatalytic properties. *Nanotechnology*. 2008; 19 (21): 215703.

Sakthivel S, Shankar MV, Palanichamy M, Arabindoo B, Bahnemann DW, Murugesan V. Enhancement of photocatalytic activity by metal deposition: characterisation and photonic efficiency of Pt, Au and Pd deposited on TiO<sub>2</sub> catalyst. *Water Research*. 2004; 38 (13): 3001-8.

Tung VC, Allen MJ, Yang Y, Kaner RB. High-throughput solution processing of large-scale graphene. *Nature nanotechnology*. 2009; 4 (1): 25-9.

Wang J, Tafen DN, Lewis JP, Hong Z, Manivannan A, Zhi M, et al. Origin of photocatalytic activity of nitrogen-doped TiO<sub>2</sub> nanobelts. *Journal of the American Chemical Society*. 2009; 131 (34): 12290-7.

WeiáLiu W, NongáWang J. Direct exfoliation of graphene in organic solvents with addition of NaOH. *Chemical Communications*. 2011; 47 (24): 6888-90.

Woan K, Pyrgiotakis G, Sigmund W, others. Photocatalytic carbon-nanotube-TiO<sub>2</sub> composites. *Adv Mater*. 2009; 21 (21): 2233-9.

Wu C, Shen L, Yu H, Zhang Y-C, Huang Q. Solvothermal synthesis of Cu-doped ZnO nanowires with visible light-driven photocatalytic activity. *Materials Letters*. 2012; 74: 236-8.

Wu X, Chai Y, Yuan R, Su H, Han J. A novel label-free electrochemical microRNA biosensor using Pd nanoparticles as enhancer and linker. *Analyst*. 2013; 138 (4): 1060-6.

Xu H, Suslick KS. Sonochemical preparation of functionalized graphenes. *Journal of the American Chemical Society*. 2011; 133 (24): 9148-51.

Xu T, Zhang L, Cheng H, Zhu Y. Significantly enhanced photocatalytic performance of ZnO via graphene hybridization and the mechanism study. *Applied Catalysis B: Environmental*. 14 janv 2011; 101 (3–4): 382-7.

Yan C, Wei-Chang H, Wen-Xian L, Huai-Zhe X, Rui C, Shi-Xue D. The variation of Mn-dopant distribution state with x and its effect on the magnetic coupling mechanism in Zn 1– x Mn x O nanocrystals. *Chinese Phys B*. 2013; 22 (10): 107501.

Yu B, Wang F, Dong W, Hou J, Lu P, Gong J. Self-template synthesis of core–shell ZnO@ ZIF-8 nanospheres and the photocatalysis under UV irradiation. *Materials Letters*. 2015; 156: 50-3.

Yu L, Yuan S, Shi L, Zhao Y, Fang J. Synthesis of Cu 2+ doped mesoporous titania and investigation of its photocatalytic ability under visible light. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2010; 134 (1): 108-14.

Zhan Z, Zheng L, Pan Y, Sun G, Li L. Self-powered, visible-light photodetector based on thermally reduced graphene oxide–ZnO (rGO–ZnO) hybrid nanostructure. *Journal of Materials Chemistry*. 2012; 22 (6): 2589-95.

Zhang H, Lv X, Li Y, Wang Y, Li J. P25-graphene composite as a high performance photocatalyst. *ACS nano*. 2009; 4 (1): 380-6.

Zhang N, Xu Y-J. Aggregation-and leaching-resistant, reusable, and multifunctional Pd@ CeO<sub>2</sub> as a robust nanocatalyst achieved by a hollow core–shell strategy. *Chemistry of Materials*. 2013; 25 (9): 1979-88.

Zhang Y, Shen B, Huang H, He Y, Fei B, Lv F. BiPO<sub>4</sub>/reduced graphene oxide composites photocatalyst with high photocatalytic activity. *Applied Surface Science*. 2014; 319: 272-7.

Zhao J, Pei S, Ren W, Gao L, Cheng H-M. Efficient preparation of large-area graphene oxide sheets for transparent conductive films. *Acs Nano*. 2010; 4 (9): 5245-52.

Zhao Y, Zhang Y, Zhu H, Hadjipanayis GC, Xiao JQ. Low-temperature synthesis of

hexagonal (wurtzite) ZnS nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*. 2004; 126 (22): 6874-5.

Zhou K-G, Mao N-N, Wang H-X, Peng Y, Zhang H-L. A Mixed-Solvent Strategy for Efficient Exfoliation of Inorganic Graphene Analogues. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011; 50 (46): 10839-42.

Zhu H-Y, Xiao L, Jiang R, Zeng G-M, Liu L. Efficient decolorization of azo dye solution by visible light-induced photocatalytic process using SnO<sub>2</sub>/ZnO heterojunction immobilized in chitosan matrix. *Chemical Engineering Journal*. 15 août 2011; 172 (2-3): 746-53.

Zhu M, Chen P, Liu M. Graphene oxide enwrapped Ag/AgX (X= Br, Cl) nanocomposite as a highly efficient visible-light plasmonic photocatalyst. *ACS nano*. 2011; 5 (6): 4529-36.

Zou CW, Rao YF, Alyamani A, Chu W, Chen MJ, Patterson DA, et al. Heterogeneous lollipop-like V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ZnO array: A promising composite nanostructure for visible light photocatalysis. *Langmuir*. 2010; 26 (14): 11615-20.

Zou X, Fan H, Tian Y, Yan S. Synthesis of Cu<sub>2</sub>O/ZnO hetero-nanorod arrays with enhanced visible light-driven photocatalytic activity. *CrystEngComm*. 2014; 16 (6): 1149-56.



**Chapitre V. ZnO rods/reduced  
graphene oxide composites prepared  
via a solvothermal reaction for  
efficient sunlight-driven  
photocatalysis**





## **Introduction**

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que les QDs ZnO étaient capables de produire de fortes quantités d'EROs après excitation dans l'UV. Dans ce paragraphe, nous nous sommes intéressés aux propriétés photocatalytiques d'une famille de particules de morphologie bien particulière, les nanobâtonnets de ZnO. Ces nanoparticules, et tout particulièrement les nanobâtonnets de longueur inférieure à 250 nm, possèdent une excellente activité photocatalytique en raison de leur grande surface spécifique et de leur forte stabilité. Cependant, ZnO, comme la plupart des oxydes semiconducteurs utilisés en photocatalyse tels que TiO<sub>2</sub> ou ZrO<sub>2</sub>, souffre de deux inconvénients majeurs :

- Il ne peut être excité efficacement qu'avec un rayonnement UV en raison de son énergie de gap égale à 3,37 eV,
- La recombinaison des porteurs de charge (électrons et trous) est très rapide et le nombre de ces porteurs de charge réellement utile dans les réactions de photocatalyse est donc très faible.

Une des stratégies développées au cours des dernières années pour améliorer l'efficacité photocatalytique de ZnO est son association avec des matériaux carbonés tels que le graphite ou des nanotubes de carbone. En raison de leurs propriétés conductrices, ces matériaux vont « piéger » les électrons photo-générés après excitation lumineuse, fortement diminuer les recombinaisons électrons/trous et donc permettre une amélioration de l'efficacité photocatalytique.

Le chapitre suivant décrit la préparation par voie solvothermale de nanocomposites « ZnO/oxyde de graphène réduit (rGO) » et les propriétés photocatalytiques sous irradiation solaire ou visible des matériaux obtenus. Les résultats obtenus montrent que ZnO/rGO est un excellent photocatalyseur permettant la dégradation de colorants organiques tel que l'Orange II en des temps très courts. Le photocatalyseur est également très peu sensible aux variations de pH ainsi qu'à la présence de perturbateurs tels que des sels ou des sucres dans le milieu réactionnel et présente donc un grand intérêt pour la décontamination d'eaux résiduelles.



## **ZnO rods/reduced graphene oxide composites prepared via a solvothermal reaction for efficient sunlight-driven photocatalysis**

### **Abstract**

Small-sized ZnO rods with an average length of ca. 180 nm and a diameter of ca. 16 nm were successfully associated to reduced graphene oxide (rGO) via a solvothermal reaction conducted in ethanol. A set of characterization including TEM, SEM, XRD, BET, Raman spectroscopy and UV-visible absorption confirm that the ZnO/rGO composite is composed of highly dispersed ZnO rods bound to rGO nanosheets. The photocatalytic activity of the ZnO/rGO composite was investigated under solar light and under visible light irradiation using the Orange II dye in aqueous solution. Results indicate that the ZnO/rGO composite containing 10 wt% rGO used under solar light irradiation exhibit the highest photocatalytic activity and that the kinetic of reduction is of pseudo-first-order. The photocatalyst is only weakly sensitive to pH changes and to the presence of inorganic salts or to glucose in the reaction medium. In addition, the reusability of the ZnO/rGO composite was studied and the results demonstrate that the photocatalyst can be reused up to fifteen times with nearly negligible loss of activity. The high photocatalytic performances can be attributed to the high specific surface of ZnO rods, to the enhanced visible light absorption of the ZnO/rGO composite and to the strong decrease of charge carrier recombinations originating from the association of ZnO rods with rGO.

**Keywords:** ZnO rods, Reduced graphene oxide, Composite, Solvothermal synthesis, Photocatalysis, Solar light irradiation

### **V.1. Introduction**

Semiconductor mediated photocatalysis is an efficient method for environmental detoxification, which is able of converting toxic and nonbiodegradable organic compounds into carbon dioxide, water and inorganic salts [1-4]. Zinc oxide ZnO is one of the most promising

photocatalyst both for solar energy conversion and for the treatment of dyes and organic pollutants due to its weak toxicity, high abundance, chemical and optical stabilities and photocatalytic efficiency [5-9]. The photocatalytic activity of ZnO originates from the photo-generated electrons and holes which are strong reducing and oxidizing agents, respectively.

The design of ZnO particles with controlled morphology at the nanometer scale is an important parameter governing the photocatalytic activity. Indeed, the optical and electrical properties depend highly on the structure, size, shape, defect concentration,... In recent years, various ZnO nanostructures like hexagonal disks and rings [10], rods [11, 12], tubes [13], nanoflowers [14],... have easily been prepared via wet chemical synthesis routes. Among these nanostructures, ZnO rods have attracted a lot of attention for photocatalytic applications due to their high stability and large specific surface area [15-26].

However, the use of ZnO in visible light is limited due to its wide bandgap (3.27 eV) which limits its response to the UV light, leaving ca. 95-97% energy of the solar spectrum unusable. Moreover, the fast recombination of photo-generated charge carriers in ZnO decreases its photocatalytic performances. Therefore, the development of composite materials containing ZnO particles is of high interest to solve these problems.

Carbon-based nanostructures such as carbon nanotubes [27-29] or carbon nanofibers [30, 31] have successfully been associated to ZnO to form hybrid materials with new functionalities, valuable for example in photocatalysis. During photocatalysis experiments, these C-based nanostructures will act both as electron-acceptor and as electron-transport materials, will facilitate the migration of photo-generated electrons and hinder the charge recombination and thus extend the lifetime of electron-hole pairs and improve the photocatalytic efficiency [32, 33]. Graphene, and especially reduced graphene oxide (rGO), are also good candidates for photocatalytic applications due to their high electron mobility ( $> 15000 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) and to the flexible sheet nature [34]. In recent years, graphene, graphene oxide or rGO were successfully associated to ZnO nanostructures with spherical or pseudo-spherical, nanosheet, flower-like, hexagonal or nanowire morphologies to develop new photocatalysts, adsorbants, photodetectors, electron transfer systems or materials with enhanced mechanical properties [35-46]. Composite materials associating graphene or rGO to ZnO rods have also been developed [47-52]. However, due to the synthesis methods used (sol-gel process under microwave irradiation, hydrothermal conditions or annealing at high temperature), the rods produced were of huge size (up to 5  $\mu\text{m}$  in length and 200 nm in diameter). Small sized rods with weak aspect

ratio and high concentration of oxygen defects exhibit a higher photocatalytic activity than large sized ones [53, 54].

In this paper, we developed a new solvothermal method for associating small ZnO rods with a length of 180 nm and a diameter of 16 nm to rGO. The composition, morphology and microstructure on ZnO/rGO composites were characterized. The photocatalytic performances of the ZnO/rGO materials were evaluated in the degradation of the Orange II dye under solar light and visible irradiation and compared to ZnO rods. The effects of different parameters such as the amount of catalyst, the pH of the Orange II solution, and the influence of salts and a reducing sugar (glucose) were analyzed. Results obtained highlight that the association of small-sized ZnO rods with rGO affords photocatalysts with high activity. Finally, the ZnO/rGO catalyst could be reused up to 15 times without any loss of activity.

## **V.2. Experimental section**

### ***V.2.1. Materials***

Graphite powder (Merck),  $\text{KMnO}_4$  (> 99%, Sigma),  $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (> 98%, Sigma),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%, VWR Chemicals), potassium permanganate (> 99%, Sigma), sodium nitrate (> 99%, Sigma),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (reagent grade), L-ascorbic acid (reagent grade, Sigma), sodium hydroxide (> 97%, Sigma), and ethanol were used as received without further purification. All solutions were prepared using Milli-Q water (18.2  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ , Millipore) as solvent.

### ***V.2.2. Preparation of exfoliated graphene oxide***

Graphite oxide was prepared by oxidation and exfoliation of commercially available graphite by a modified Hummer's method [55]. Briefly, 2 g of graphite and 1 g of sodium nitrate were mixed together in a flask kept at  $0^\circ\text{C}$  using an ice bath. Then, 50 mL of concentrated  $\text{H}_2\text{SO}_4$  were slowly added to the flask and the mixture was stirred for 30 min. 0.3 g of  $\text{KMnO}_4$  was then added and the mixture further stirred for 30 min. Next, 7 g of  $\text{KMnO}_4$  were gradually added and stirred for 1 h (the temperature should not exceed  $20^\circ\text{C}$ ). The temperature was raised to  $35^\circ\text{C}$  and the solution was stirred for 2 h. Then, 90 mL of  $\text{H}_2\text{O}$  were slowly added (the temperature increased to  $70^\circ\text{C}$ ) and the mixture stirred for 15 min, followed by the addition of mixture of 7 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  and 55 mL of water to reduce the residual permanganate to soluble

manganese ions. The resulting suspension was filtered, washed by centrifugation with 5% HCl (2500 rpm, 10 min, 4 times) followed by water (4000 rpm, 10 min, 5 times) and finally dried at 60°C for 24 h to obtain a brownish graphite oxide powder.

The graphite oxide powder was dispersed in water (1 mg/mL) to obtain a suspension. Then, the suspension was ultra-sonicated for 1 h by probe sonication (amplitude 25%) to obtain a graphene oxide suspension. Finally, the suspension was centrifuged at 5000 rpm for 15 min to collect graphene oxide (GO) pellets. The GO pellets were dried at 60°C for 24 h before use.

### ***V.2.3. Reduction of GO***

The reduction of GO into rGO was conducted according to the procedure described by Zhang *et al.* [56] with slight modifications. Briefly, 15 mg of GO were dispersed in 50 mL water at room temperature. L-ascorbic acid (200 mg) was next added and the mixture stirred for 24 h under ambient conditions. rGO was recovered by centrifugation (4000 rpm for 15 min), washed with water, and dried overnight at 50°C.

### ***V.2.4. Solvothermal synthesis of ZnO rods and of ZnO/rGO composites***

ZnO rods were synthesized by a same solvothermal method based on the hydrolysis of Zn(OAc)<sub>2</sub>. Typically, in a three-necked flask equipped with a condenser and a dropping funnel, Zn(OAc)<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O (511 mg) was dissolved in 35 mL ethanol. To this solution, NaOH (466 mg) in 35 mL ethanol was added dropwise and the mixture stirred for 30 min at room temperature. Then, the solution was transferred into a 140 mL Teflon-sealed autoclave and was heated at 160°C for 24 h. After cooling to room temperature, the ZnO rods were collected by centrifugation, washed two times with water, two times with ethanol, and dried at 50°C for 15 h. Typically, this procedure affords 150 mg of ZnO rods.

Various ZnO/rGO composites were synthesized by varying the mass of rGO associated to ZnO rods. For the preparation of the ZnO/rGO composite with 10% weight loading in rGO, 15 mg of rGO were used for the synthesis. For the preparation of the composite, rGO was added to the mixture of Zn(OAc)<sub>2</sub> and NaOH after the 30 min of stirring. The mixture was sonicated at room temperature for 10 min before heating at 160°C for 24 h. The purification and drying procedures are similar to those previously described for ZnO rods

### ***V.2.5. Photocatalytic degradation of Orange II***

The photocatalytic activity was evaluated by the degradation of an aqueous solution of Orange II (10 mg/L) at room temperature under solar light irradiation. In a typical experiment, the ZnO/rGO composite (60 mg) was dispersed in 50 mL Orange II aqueous solution (10 mg/L) and the suspension was magnetically stirred under ambient conditions for 1 h in the dark to reach an adsorption-desorption equilibrium. Under stirring, the suspension was exposed to simulated solar light irradiation produced by Sylvania LuxLine FHO T5 neon tubes. The irradiation fluence was estimated to be 5 mW/cm<sup>2</sup>. At certain time intervals, 2 mL of the suspension were extracted and centrifuged (4000 rpm for 2 min) to remove the photocatalyst. The degradation process was monitored by measuring the absorption of Orange II at 485 nm using a UV-visible absorption spectrometer. The visible light irradiation was carried out using the neon tubes previously described and a polycarbonate film was used as the UV cutoff filter.

### ***V.2.6. Characterization***

Transmission electron microscopy (TEM) images were taken by placing a drop of the particles dispersed in methanol onto a carbon film-supported copper grid. Samples were studied using a Philips CM200 instrument operating at 200 kV. High-Resolution TEM (HR-TEM) imaging were performed with a JEOL ARM 200F - Cold FEG (point resolution 0.19 nm) fitted with a GIF Quatum ER. Electron energy loss spectroscopy (EELS) experiments were recorded in scanning transmission electron microscopy (STEM) mode. The spectrometer is set to an energy dispersion 0.05 eV/channel. The condenser aperture, spectrometer entrance, camera length were respectively 150 μm, 2.5 mm and 4 cm leading to collection half angle of 20 mrad and an energy resolution of 0.5 eV measured at full width at half maximum (FWHM) of zero loss peak. The energy-filtered images (EF-TEM) were also recorded in STEM mode. Scanning electron microscopy (SEM) pictures were prepared using JEOL Scanning Electron Microscope JSM-6490 LV. The X-ray powder diffraction (XRD) diagrams of all samples were measured using Panalytical X'Pert Pro MPD diffractometer using Cu Kα radiation. The X-ray powder diffraction data were collected from an X'Pert MPD diffractometer (Panalytical AXS) with a goniometer radius 240 mm, fixed divergence slit module (1/2° divergence slit, 0.04 rd Sollers slits) and an X'Celerator as a detector. The powder samples were placed on a silicon zero-background sample holder and the XRD patterns were recorded at room temperature using Cu



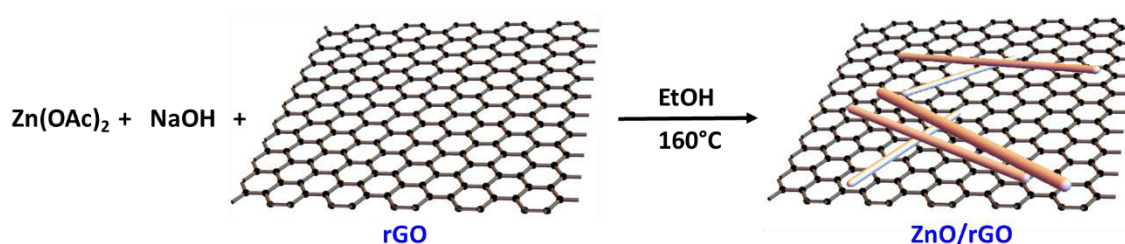
$K_{\alpha}$  radiation ( $\lambda = 0.15418$  nm). The textural properties of the materials were investigated with a Micromeritics 3Flex Surface Characterization Analyzer instrument using liquid nitrogen ( $-196$  °C). Prior to the analyses, the samples were out-gassed overnight under primary vacuum at  $40^{\circ}\text{C}$  on the ports of the Micromeritics VacPrep 061 degasser followed by 4 h out-gassing under high vacuum on the analyse ports. The resulting isotherms were analysed using the BET (Brunauer-Emmett-Teller) method while the micropore volume ( $V_{\text{micro}}$ ) was determined using the Horvath-Kawazoe (HK) equation. All the optical measurements were performed at room temperature ( $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) under ambient conditions. Absorption spectra of liquid samples were recorded on a Thermo Scientific Evolution 220 UV-visible spectrophotometer. The diffuse reflectance absorption spectra (DRS) were recorded on a Shimadzu 2600 UV-visible spectrophotometer.  $\text{BaSO}_4$  powder was used as a standard for baseline measurements and spectra were recorded in a range of 250-1400 nm. Raman spectra were recorded using a Xplora spectrometer from Horiba Scientific with 532 nm wavelength incident laser light.

### **V.3. Results and discussion**

#### ***V.3.1. Synthesis and characterization of ZnO/rGO composites***

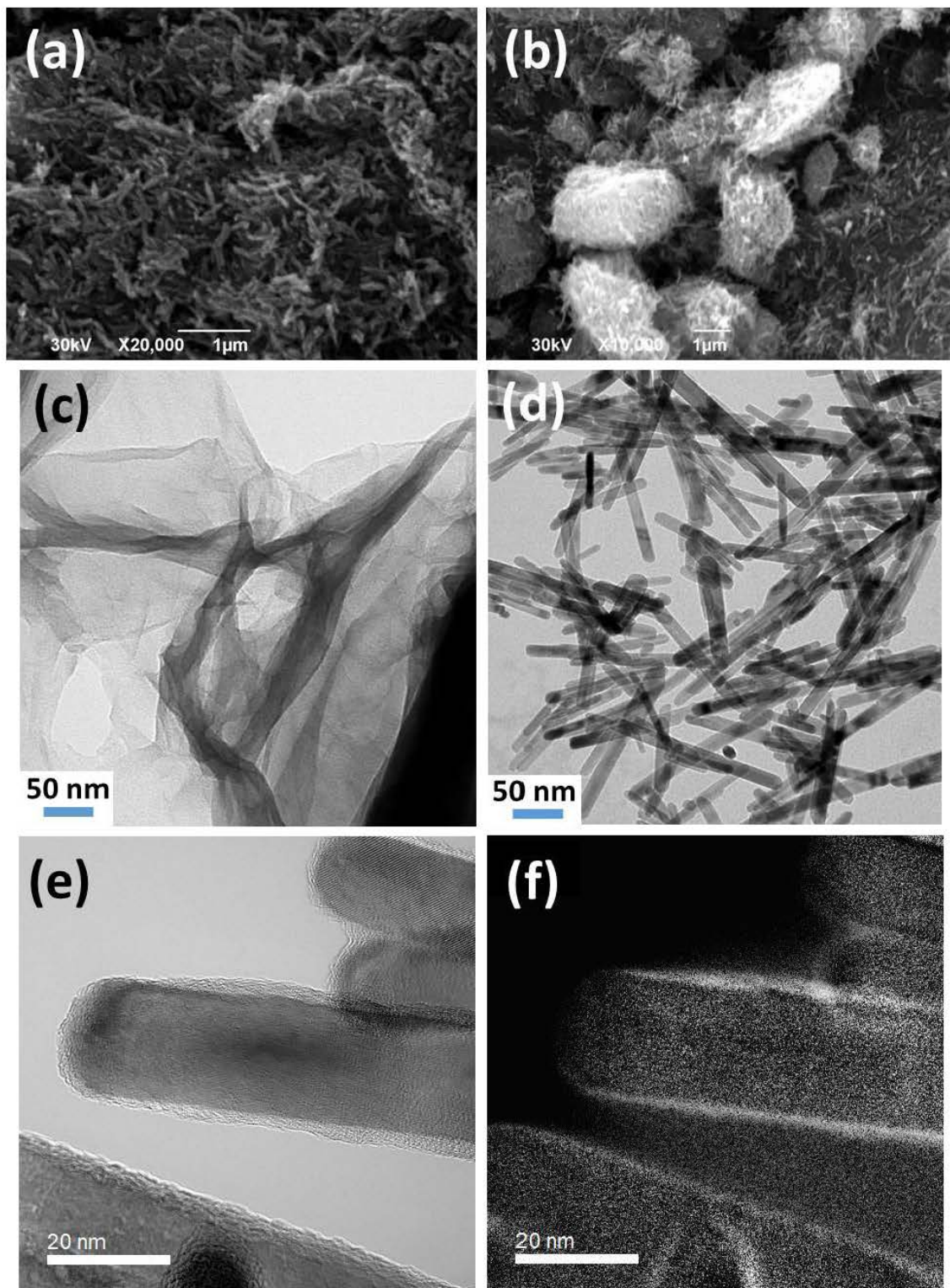
Fig. V.1 describes the process for the preparation of ZnO/rGO composites. Graphite was first oxidized into graphite oxide via a modified Hummers method [55], followed by an exfoliation to generate graphene oxide (GO). Next, GO was reduced into rGO under mild conditions using an aqueous solution of sodium ascorbate [56]. rGO was next added to a mixture of  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$  and NaOH in ethanol and the solution was sonicated 10 min to produce a homogeneous dispersion. The mixture was then transferred in a Teflon-sealed autoclave and heated at  $160^{\circ}\text{C}$  to associate the formed ZnO nanorods with rGO using the functional groups remaining on rGO. In preliminary experiments, we varied the amount of rGO associated to ZnO (10, 20 or 40 wt% relative to ZnO) and found that photocatalysts prepared with 20 or 40 wt% in rGO adsorb high amounts of the Orange II dye during the adsorption-desorption phase preceding photocatalysis experiments (up to ca. 30%). Moreover, these photocatalysts exhibit a modest activity (see Fig. V.S1 for a comparison between the photocatalysts prepared with 10 and 40 wt% rGO). It is likely that the black rGO sheets in the ZnO/rGO composite increase photoabsorption and

scattering leading to a decrease of the photocatalytic activity. Thus, a rGO loading of 10 wt% relative to ZnO was used in this study.



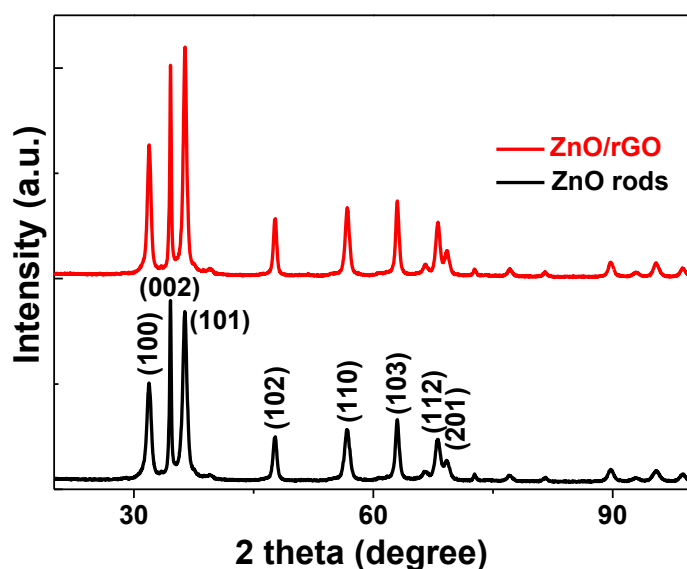
**Fig. V.1.** Schematic illustration of the synthesis of the ZnO/rGO composite.

SEM and TEM experiments were first conducted to investigate the surface morphology, the size and the structure of ZnO, rGO and ZnO/rGO samples. Fig. V.2a and b show SEM images of ZnO rods prepared in the absence of rGO and of the ZnO/rGO composite, respectively. As can be seen, ZnO rods were successfully associated to rGO during the solvothermal synthesis. The surface of rGO sheets seems to be covered by densely packed ZnO rods which were not removed by centrifugation and washing of the composite, thus indicating a strong association between these two materials. No obvious differences in size could be observed between ZnO rods prepared in the absence or in the presence of rGO. Important informations of the ZnO/rGO composite were provided by TEM and HR-TEM analyses. rGO exhibits a typical wrinkled texture and most of the sheets are curled and entangled together (Fig. V.2c). The ZnO rods associated to rGO have an average length of ca. 180 nm and a diameter of ca. 16 nm (Fig. V.2d). The associated EDS analysis proves that Zn, O and C are present in the composite (Fig. V.S2). The Zn/C molar ratio was found to be 4.51%. The HR-TEM image of the composite (Fig. V.2e) and the corresponding C-mapping (Fig. V.2f) conducted with Energy Filtered-TEM (EF-TEM) show the presence of a carbon layer with an average thickness of ca. 2 nm uniformly covering the ZnO rods and resulting in a sort of core/shell system.



**Fig. V.2.** SEM images of (a) ZnO rods and (b) the ZnO/rGO composite. TEM images of (c) rGO, and (d) ZnO rods associated to rGO. (e) HR-TEM image of the ZnO/rGO composite and (f) the corresponding C-mapping.

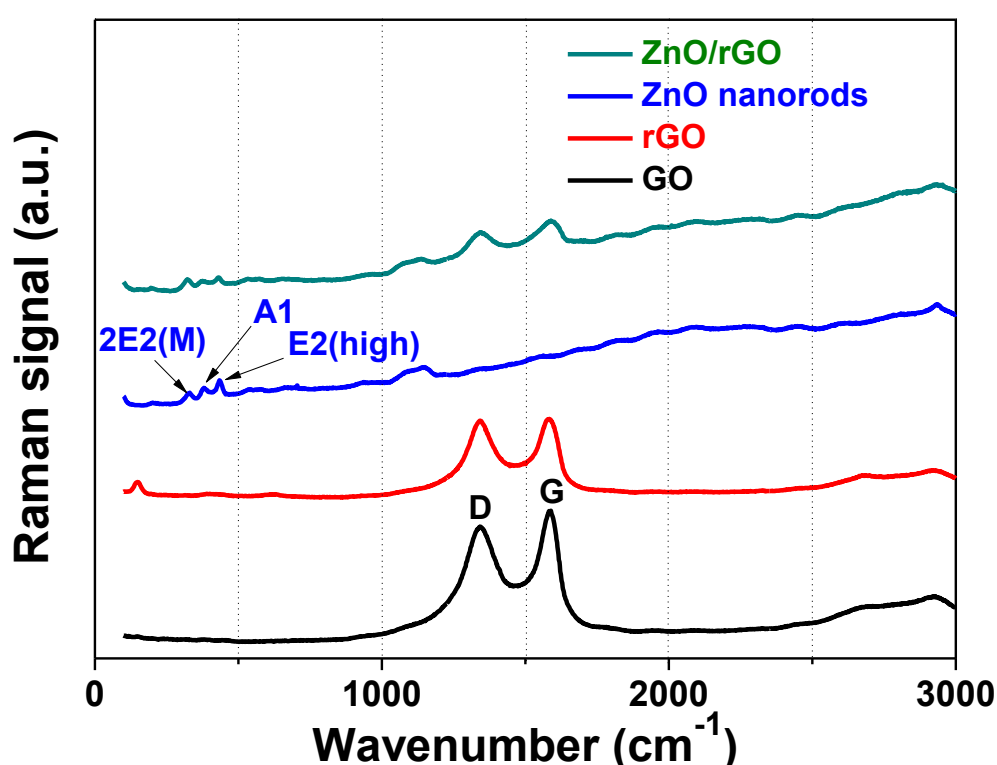
The powder XRD patterns of ZnO nanotubes and of the ZnO/rGO composite are shown in Fig. V.3a. rGO typically exhibits two broad and weak diffraction peaks at  $26^\circ$  and  $44.5^\circ$  corresponding to the (002) and (100) planes, respectively [57]. These peaks were not detected in the ZnO/rGO composite, which might be due to the low content of rGO in the composite (4.51 % based on EDS analysis) and/or to the low diffraction intensity of rGO compared to ZnO. The diffraction peaks at  $2\theta$  of  $31.9^\circ$ ,  $34.3^\circ$ ,  $36.2^\circ$ ,  $47.6^\circ$ ,  $56.6^\circ$ ,  $62.8^\circ$ ,  $67.8^\circ$  and  $69.2^\circ$  were respectively assigned to the (100), (002), (101), (102), (110), (103), (112) and (201) diffraction planes of hexagonal wurtzite structure ZnO (JCPDS No 36-1451). No diffraction peaks from other impurities were detected indicating that the ZnO/rGO composite was successfully prepared. It is also worth to mention that all diffraction peaks of ZnO in the ZnO/rGO composite did not shift to larger angles after their association with ZnO by heating at  $160^\circ\text{C}$  for 24 h, thus indicating that a carbon-doping either on Zn or O sites is low under the synthetic conditions developed in this work [43, 58, 59].



**Fig. V.3.** XRD patterns of ZnO nanorods and of the ZnO/rGO composite.

The presence of rGO was first confirmed by Raman spectroscopy. The Raman-scattering spectra of GO, rGO, ZnO rods and of the ZnO/rGO composite recorded using a 532 nm laser light as an excitation source are shown in Fig. V.4. The characteristic signals of D (vibration of defects states in graphene sheets) and G (bond stretching of  $sp^2$  carbon atoms) bands of GO appear at  $1335$  and  $1584\text{ cm}^{-1}$ , respectively, and the intensities ratio of these bands  $I_G/I_D$  is equal

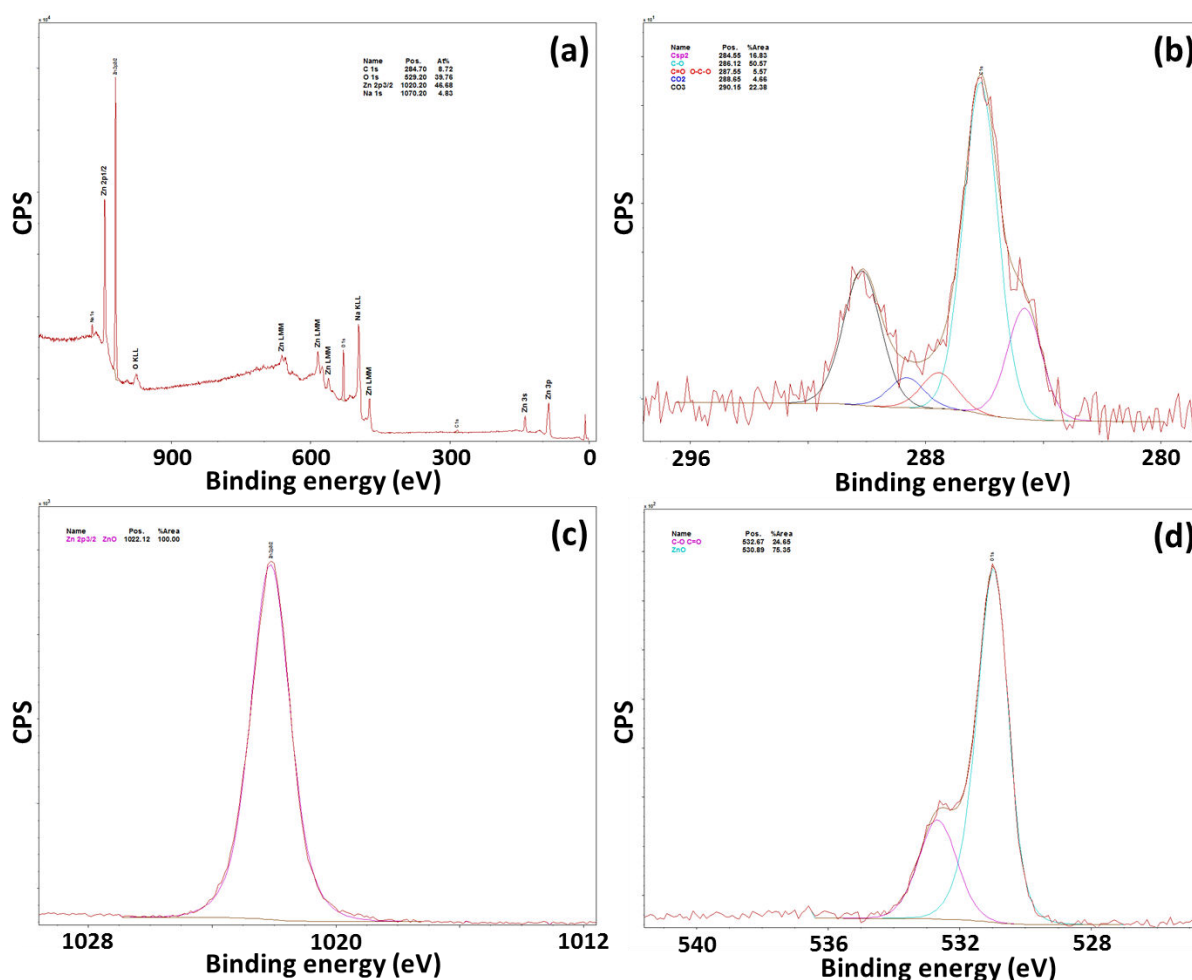
to 1.12. This ratio becomes close to 1 in rGO which indicates lower defects and disorders of the graphene structure and thus confirms the reduction of GO by ascorbic acid. For ZnO rods of wurtzite structure with  $P6_3mc$  symmetry, the peaks at 325, 380 and 434  $\text{cm}^{-1}$  can be assigned to  $2E_2(M)$ ,  $A_1(TO)$ , and  $E_2(\text{high})$  vibration modes of ZnO, respectively [60]. All Raman signals relative to rGO and ZnO could clearly be observed in the ZnO/rGO composite. Finally, binding of rGO with ZnO rods resulted in a slight blue-shift of both the D and G bands (1346 and 1589  $\text{cm}^{-1}$ , respectively) compared to rGO.



**Fig. V.4.** Raman spectra of GO, rGO, ZnO rods and of the ZnO/rGO composite.

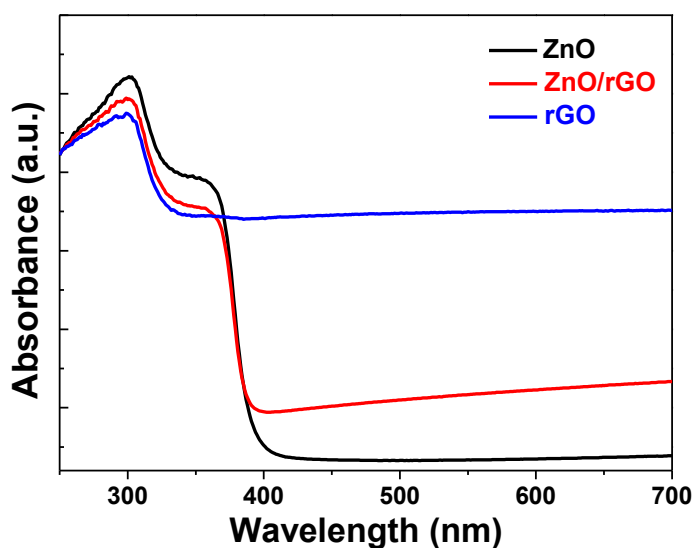
X-ray photoelectron spectra (XPS) of the ZnO/rGO composite was also recorded. From the full range spectrum of the composite (Fig. V.5a), three dominate elements (Zn, O and C) can be clearly observed, confirming the presence of ZnO and carbon in the sample. The C 1s XPS spectrum of the composite shows five main components corresponding to the various oxidation states of carbon in rGO: the C=C bonds non-linked to O (284.5 eV), the C-O bonds (epoxy and hydroxyl) (286.1 eV), the C=O at O-C-O bonds (287.5 eV), the carboxylate  $\text{CO}_2^-$  functions (288.6 eV) and finally at 290.1 eV, the  $\pi-\pi^*$  satellite peak of the aromatic conjugated domains

modified with carboxylate, hydroxyl, and epoxide groups [61, 62]. The latter signal confirms the existence of a partially modified  $\pi$  structure in the ZnO/rGO composite. Note that the intensities of peaks corresponding to C=O and CO<sub>2</sub><sup>-</sup> functions are weak and that C-O bonds dominated. These results indicate that the mild chemical reduction of GO with sodium ascorbate is efficient for partially removing ketones and carboxylate functions but that epoxides and alcohols remain unaffected by the reducing agent. The presence of O-C-O bonds in the ZnO/rGO composite indicates that the doping of ZnO rods originates from the substitution of Zn<sup>2+</sup> atoms, which is in good accordance with XRD results and recent reports [43, 59, 63]. Only one peak located at 1022.1 eV is detected in the Zn 2p region and corresponds to Zn 2p<sub>3/2</sub>. The negative shift in the binding energy of Zn 2p<sub>3/2</sub> in the ZnO/rGO compared to pure ZnO (1021.6 V) further confirms the association of ZnO with rGO. From the deconvolution of the O 1s region, two peaks were detected at 530.9 eV (Zn-O bonds) and 532.6 eV (C-O, C=O, and C-O-Zn bonds).



**Fig. V.5.** XPS spectra of the ZnO/rGO composite. (a) overview, (b), (c) and (d) are the high-resolution spectra of C 1s, Zn 2p, and O 1s, respectively.

Along with the migration of electrons and holes induced by light, the optical absorption of the material is one of the key factors controlling photocatalytic reactions. Fig. V.6 displays the UV-visible absorption spectra of ZnO rods, rGO and of the ZnO/rGO composite. For ZnO rods, a strong absorption located at ca. 360 nm originating from the intrinsic band-edge absorption of ZnO particles can be observed. This peak is slightly shifted in the ZnO/rGO composite due to a coupling effect originating from the interaction between ZnO rods and rGO [64, 65]. The absorption peak located at 264 nm is generally associated to the excitation of the  $\pi$ -plasmon of the graphitic structure, and can be observed in rGO and in the ZnO/rGO composite [35]. By comparing the absorptions of ZnO and ZnO/rGO, it can be seen that absorption at wavelengths longer than 400 nm was much stronger in the ZnO/rGO composite due to the presence of rGO. This increase of absorption in the visible range is in accordance with the color change of the sample from white to grey and should have implications in the photocatalytic capability of the composite, especially under solar light irradiation. The decrease of reflectance and transmittance from 380 to 1400 nm for the ZnO/rGO composite may originate from the interface scattering caused by the porous structure of both ZnO rods and rGO and results in the increase of the optical path length. This scattering, also called light-trapping effect [66, 67], can produce a longer path light inside the porous ZnO/rGO photocatalyst and thus increase its light absorption. This could also improve the photocatalytic efficiency of the ZnO/rGO composite (Fig. V.S3a-b). The diffuse reflectance spectra were used to estimate the bandgaps of ZnO and ZnO/rGO materials using the Kubelka-Munk function  $K/S = F_{KM}(R) = (1-R)^2/2R$  [68]. The materials  $E_g$  were estimated from the plot  $(F_{KM}(R).hv)^2$  versus  $hv$  using the Tauc relation. Because ZnO rods and rGO in the ZnO/rGO composite are different two phases, the bandgap energy of ZnO is not changed and was found to 3.3 eV for both materials (Fig. V.S3c-d) [39, 69].

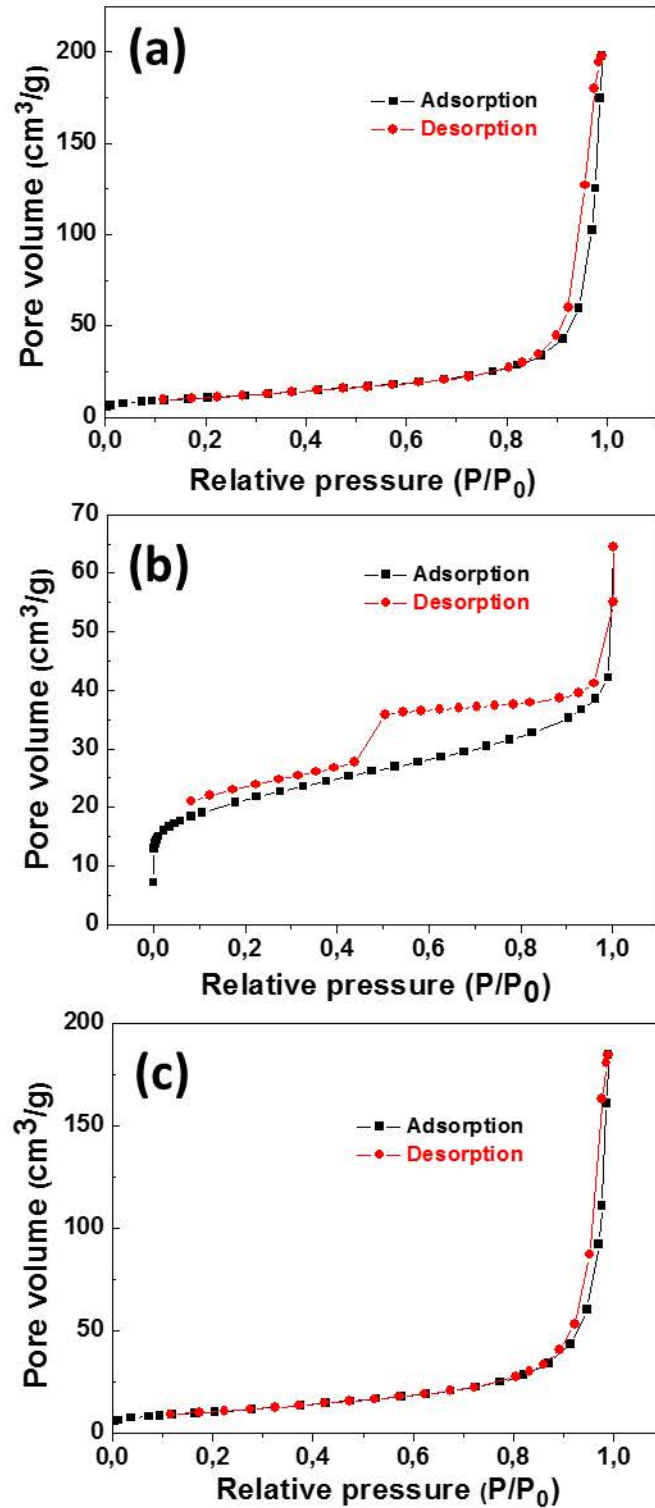


**Fig. V.6.** UV-visible diffuse reflectance spectra of ZnO rods, rGO, and of the ZnO/rGO composite.

The BET surface areas of pure ZnO rods, rGO, and of the ZnO/rGO composite were investigated using nitrogen adsorption-desorption experiments (Fig. V.7). The  $N_2$  adsorption-desorption isotherms are of type III for ZnO and ZnO/rGO, and of type II for rGO, according to the Brunauer-Dening-Dening-Teller (BDDT) classification [70], indicating the presence of macropores. For rGO, the isotherms exhibit H4 hysteresis loops stopping at  $P/P_0 = 0.42$ , indicating the presence of micropores associated with sheet-like particles, giving rise to slit-like pores [71]. The desorption branch does not reach the adsorption branch, indicating a kinetic problem due to the presence of micropores, and attesting the presence of a microporosity. ZnO and ZnO/rGO materials exhibit high adsorption at relative pressures  $P/P_0$  close to 1.0, suggesting the formation of large mesopores and macropores. This was further confirmed by the pore-size distribution of the samples which varied from 2 to 100 nm. The measured surface area of rGO is modest  $75.77 \pm 0.35 \text{ m}^2/\text{g}$  (the theoretical specific surface area of rGO is  $2600 \text{ m}^2/\text{g}$  [72]) likely due to the large amount of polar groups (hydroxyl, carbonyl,...) remaining on rGO after the mild reduction with ascorbic acid which caused tight hydrogen binding and strong sheet associations. The ZnO/rGO composite exhibits a similar surface area than ZnO rods ( $37.97 \pm 0.24$  and  $36.93 \pm 0.27 \text{ m}^2/\text{g}$  for ZnO and ZnO/rGO, respectively) probably due to the low amount of rGO in the composite. However, the large specific surface of ZnO/rGO



composite associated to its ability to transport charge carriers should be beneficial for enhancing the photocatalytic performances.



**Fig. V.7.** Nitrogen adsorption-desorption isotherms of (a) ZnO rods, (b) rGO and (c) the ZnO/rGO composite.

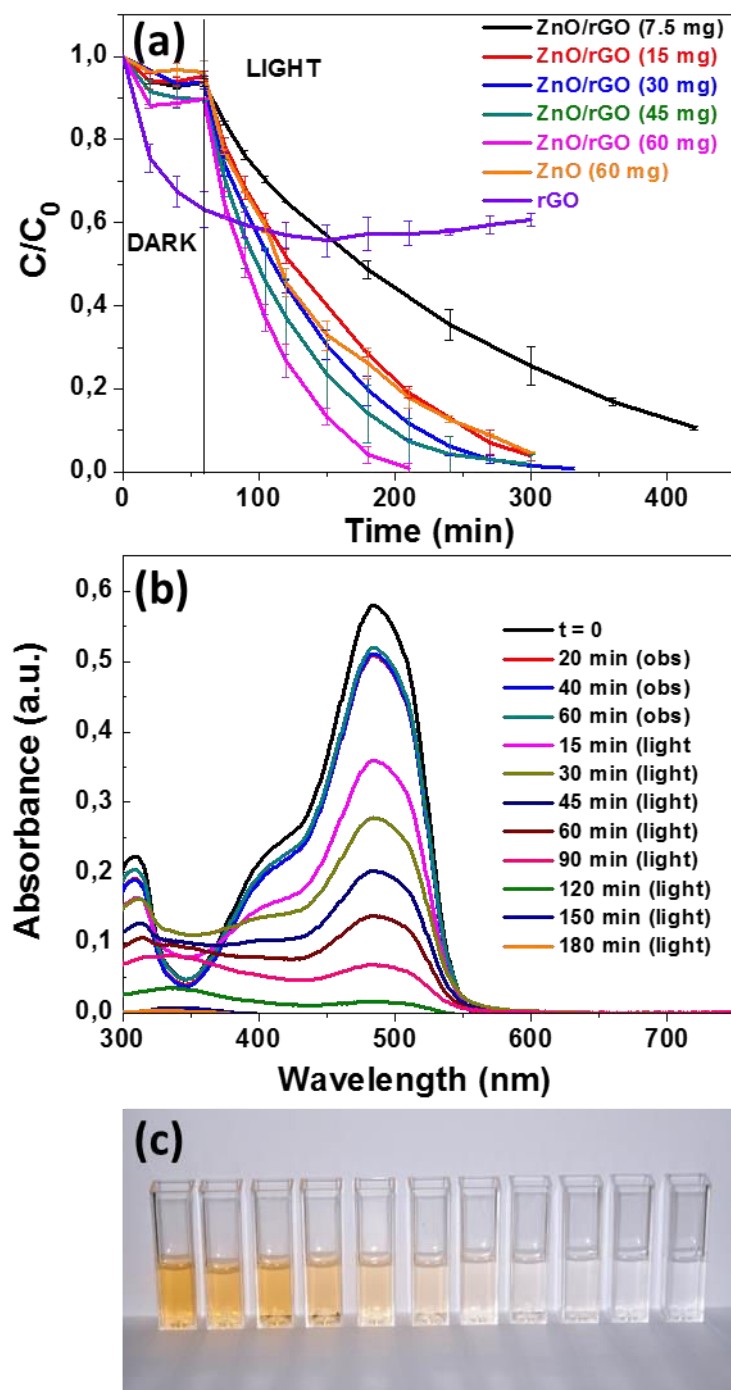
### **V.3.2. Photocatalytic experiments**

The photocatalytic degradation of Orange II under simulated solar light was conducted to evaluate the performances on the ZnO/rGO composite. Prior to photocatalytic experiments, the dye solution with the catalyst was kept in the dark for 60 min to attain the adsorption-desorption equilibrium of Orange II with the catalyst. In preliminary experiments, we determined that less of 1% of Orange II was decomposed via photolysis in the absence of catalyst after 2 h solar irradiation with a fluence of 5 mW/cm<sup>2</sup>. A control experiment with rGO showed also that a strong adsorption (ca. 40% of the dye) occurred during the 60 min in the dark and that the concentration of Orange II remained quite unchanged under solar light irradiation (Fig. V.8a).

#### **V.3.2.1. Influence of photocatalyst loading**

Because the photodegradation takes place on the surface of the catalyst, the degradation rate is expected to increase due to the increase of active sites. As can be seen from Fig. 8, with an increase of the ZnO/rGO composite loading from 7.5 to 60 mg in 50 mL of a 10 mg/L Orange II solution, the degradation kinetics gradually increased (*vide infra*) but the increase in catalyst loading did not significantly affect the percentage of Orange II degraded. Using 60 mg of the ZnO/rGO catalyst, the Orange II dye was nearly completely bleached after 150 min of solar light irradiation (Fig. V.8b and V.8c). In further experiments, 60 mg of the ZnO/rGO photocatalyst will be used. It is also worth to mention that the photocatalytic activity of the ZnO/rGO composite is markedly enhanced compared to ZnO rods (in both cases, 60 mg of catalyst in 50 mL of the Orange II solution). We also compared the photocatalytic efficiency of our ZnO/rGO to other catalysts associating rGO and ZnO rods previously described in the literature (note that methylene blue (MB) was used as dye in all these studies) [48, 50, 51]. Only under strong solar light irradiation, the complete photodegradation of MB could be achieved in short reaction times. In other reports, the conversion of MB never exceeded 88% even after prolonged reaction under UV light irradiation (up to 260 min). We attribute the high photocatalytic efficiency of our ZnO/rGO photocatalyst under mild (5 mW/cm<sup>2</sup>) solar light irradiation to the effective decrease of charge carrier recombinations in this composite (*vide infra*).

The photocatalytic degradation of Orange II can be considered a pseudo-first-order reaction. The efficiency of Orange II photodegradation by the ZnO/rGO composite was determined quantitatively using the pseudo-first-order model  $\ln(C/C_0) = -kt$ , where  $k$  is the apparent rate constant ( $\text{min}^{-1}$ ) and  $C_0$  and  $C$  are the concentrations of Orange II at time 0 and  $t$ , respectively. The rate constants  $k$  determined for the degradation of 50 mL of a 10 mg/L Orange II solution were found to be 0.0660, 0.0132, 0.0182, 0.0163, and 0.0292  $\text{min}^{-1}$  when 7.5, 15, 30, 45, and 60 mg of the ZnO/rGO photocatalyst were used, respectively (See Fig. V.S4 for the plots of  $\ln(C_0/C)$  vs reaction time).

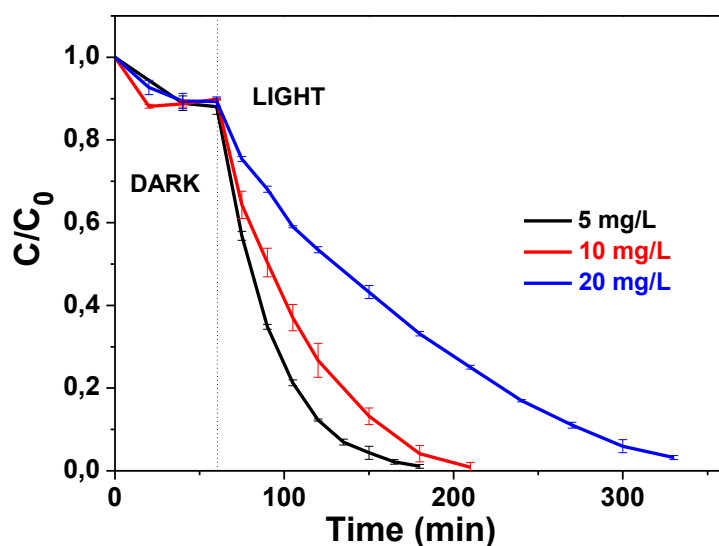


**Fig. V.8.** (a) Influence of the ZnO/rGO photocatalyst mass for the degradation of Orange II in aqueous solution ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L). (b) Variation of Orange II concentration as a function of irradiation time using 60 mg of photocatalyst. (c) Photographs of the Orange II solution during photocatalysis.

Finally, we also evaluated the photodegradation of Orange II under visible light irradiation using a light intensity of  $2 \text{ mW/cm}^2$  (Fig. V.S5). Data obtained showed that visible light can be used to bleach the dye but that the reaction requires a longer time compared to solar irradiation (ca. 40% of photodegradation after 4 h of visible irradiation) (Fig. V.S5).

### *V.3.2.3. Effect of dye concentration*

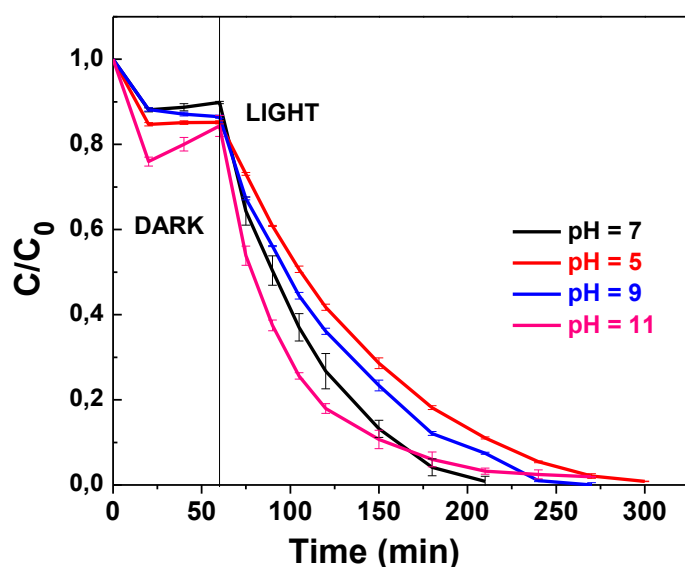
The effect of the initial concentration of Orange II (5, 10 or 20 mg/L) on its degradation under solar light was also investigated (Fig. V.9). Results obtained show that the decomposition rate of the dye depends on its initial concentration and that the efficiency of photodegradation decreases with the increase of the dye concentration ( $k = 0.0334, 0.0237$  and  $0.0104 \text{ min}^{-1}$  for Orange II concentrations of 5, 10, and 20 mg/L, respectively) (See Fig. V.S6 for the plots of  $\ln(C_0/C)$  vs reaction time). An increase of the initial Orange II concentration results in an increase of the amount of dye adsorbed on the catalyst surface, and thus to a decrease of the catalyst activity. The increase of the dye concentration can also generate a filter effect which decreases the amount of incident light wasted for the dye excitation rather than reactive oxygen species (ROS) production.



**Fig. V.9.** Influence of the Orange II concentration on the catalytic activity of the ZnO/rGO photocatalyst ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; mass of ZnO/rGO catalyst, 60 mg).

### *V.3.2.3 Influence of the pH*

The pH of the dye solution is an important factor in the reaction taking place on photocatalysts surfaces since it is related to the surface charge properties. The ZnO/rGO composite exhibits an excellent photocatalytic activity toward the bleaching of Orange II at a wide pH range varying from 5 to 11 (Fig. V.10). After 150 min of irradiation, the percentages of degradation were 99, 97, 93 and 89% when the ZnO/rGO catalyst was used at pH = 7, 11, 9, and 5, respectively. The kinetic of the degradation during the first 115 min of irradiation is increased at pH = 11. The enhancing effect of increasing pH probably originates from a more efficient formation of hydroxyl radical  $\cdot\text{OH}$  from  $\text{HO}^-$  than from  $\text{H}_2\text{O}$ .



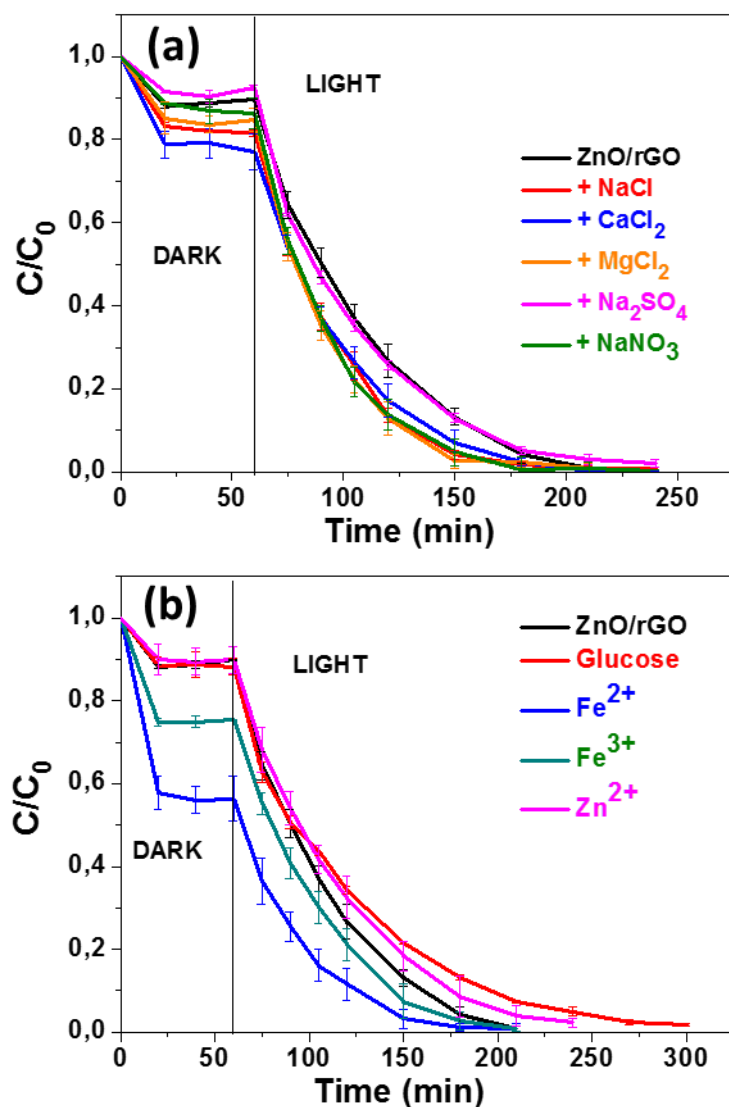
**Fig. V.10.** Influence of pH on the photodegradation of Orange II by the ZnO/rGO composite under solar light irradiation (Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; mass of catalyst, 60 mg).

### *V.3.2.4. Influence of ions and molecules on the photocatalytic efficiency*

Salts commonly present in wastewater may also strongly affect photocatalytic efficiency due to their competitive adsorption on the catalyst and due to their ability to trap ROS [73]. In a first set of experiments, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or NaNO<sub>3</sub> were added to the Orange II solution at a 10 mM concentration and at neutral pH before conducting photocatalytic experiments (Fig.

V.11a). As can be seen, the presence of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  had no influence on the ZnO/rGO catalyst activity, while NaCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  and  $\text{NaNO}_3$  increased the rate of the Orange II degradation. The amount of dye adsorbed by the photocatalyst is also slightly increased in the presence of  $\text{CaCl}_2$  probably due to electrostatic interactions between the negatively charged ZnO,  $\text{Ca}^{2+}$ , and the anionic Orange II dye.

This phenomenon is enhanced in the presence of  $\text{Fe}^{3+}$  and especially  $\text{Fe}^{2+}$  both used at a 100  $\mu\text{M}$  concentration (Fig. V.11b). Moreover, the kinetic of degradation increases markedly in the presence of  $\text{Fe}^{2+}$ . This may originate from the ability of  $\text{Fe}^{2+}$  to generate  $\cdot\text{OH}$  radicals from  $\text{H}_2\text{O}_2$  via a Fenton reaction [74]. Finally,  $\text{Zn}^{2+}$  ions (100  $\mu\text{M}$ ) and the reducing sugar glucose (50 mg/L) only slightly reduced the degradation rate.



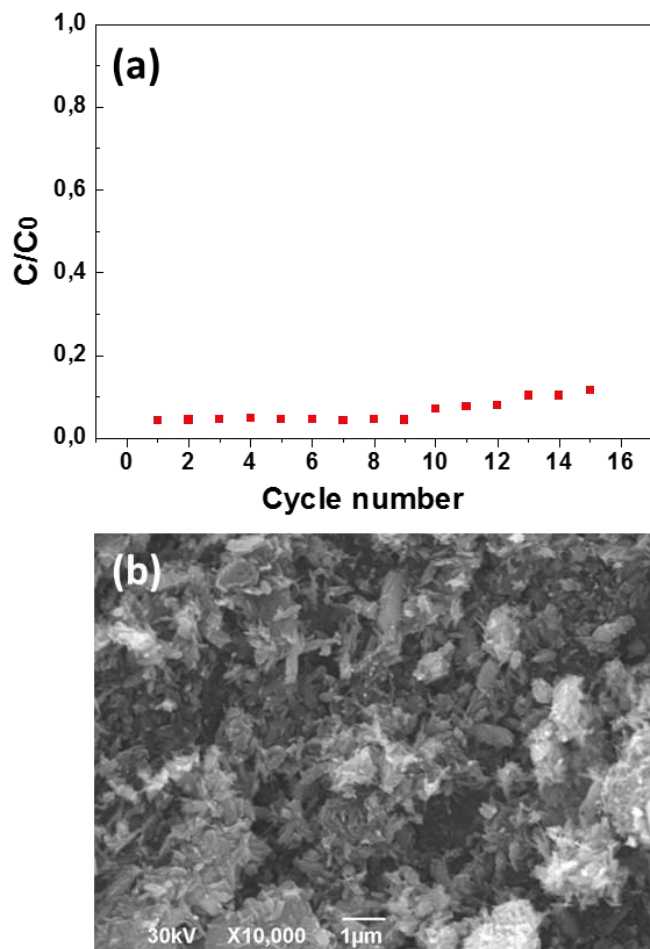
**Fig. V.11.** Effects of salts and of glucose on the photocatalytic efficiency of the ZnO/rGO composite used under solar light irradiation (Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; mass of catalyst, 60 mg).

### V.3.2.5. Recycling of the catalyst

In addition to photocatalytic activity, the stability of the photocatalyst is another important issue for its practical application. The catalytic test using the ZnO/rGO composite to investigate the recyclability and stability in repeated Orange II degradation experiments. After each reaction, the catalyst was collected by centrifugation, washed with water and subsequently dried at 60°C for 12 h before its reuse. As shown in Fig. V.12a, 95% of Orange II was photo-degraded in 2 h



after the first cycle. After 15 reuses, the photocatalytic activity only slightly decreased and ca. 89% of the dye were bleached after the same reaction time. The slight decrease of activity demonstrates that the photocatalyst has a high repeatability. A SEM image of the recycled catalyst is shown in Fig. 12b and obviously indicates that no aggregation of ZnO rods occurred during photocatalysis.



**Fig. V.12.** (a) Values of  $C/C_0$  during the recycling of the ZnO/rGO photocatalyst. (b) SEM image of the photocatalyst after 15 reuses.

### V.3.2.6. Photocatalytic mechanism

The formation of ROS such as hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}$ ) and superoxide ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) radicals under photocatalytic conditions and their role in the Orange II dye degradation process has been investigated indirectly with the use of appropriate quenchers of these species. In these experiments, a comparison is made between the degradation curve determined with the ZnO/rGO composite with those obtained after addition of quenchers in the initial solution under otherwise identical conditions. Compounds used for this purpose were *t*-BuOH, a  $\cdot\text{OH}$  radical scavenger, and benzoquinone, which is a  $\text{O}_2^{\cdot-}$  quencher [75]. In the presence of benzoquinone (5 mg in 50 mL of the Orange II solution), the transformation of Orange II is completely suppressed indicating that  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radicals anions play a key role in the photocatalytic degradation. Note that the absorption at 485 nm slightly increases during this experiment due to the polymerization of benzoquinone into oligohydroquinones which strongly absorb at this wavelength. When the photocatalysis was conducted in the presence of *t*-BuOH (300  $\mu\text{L}$  in 50 mL of the Orange II solution), the degradation rate obviously decreased but the photocatalytic activity was not suppressed (Fig. V.13). These results demonstrate that  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^{\cdot-}$  are major species in the Orange II degradation reactions.

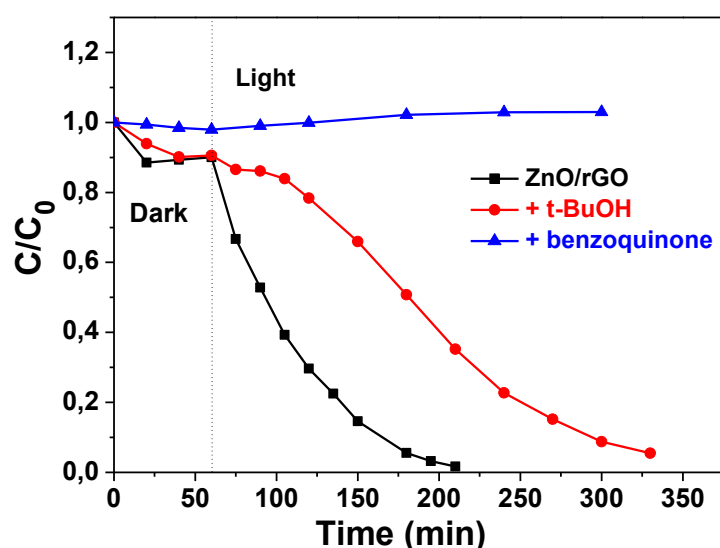
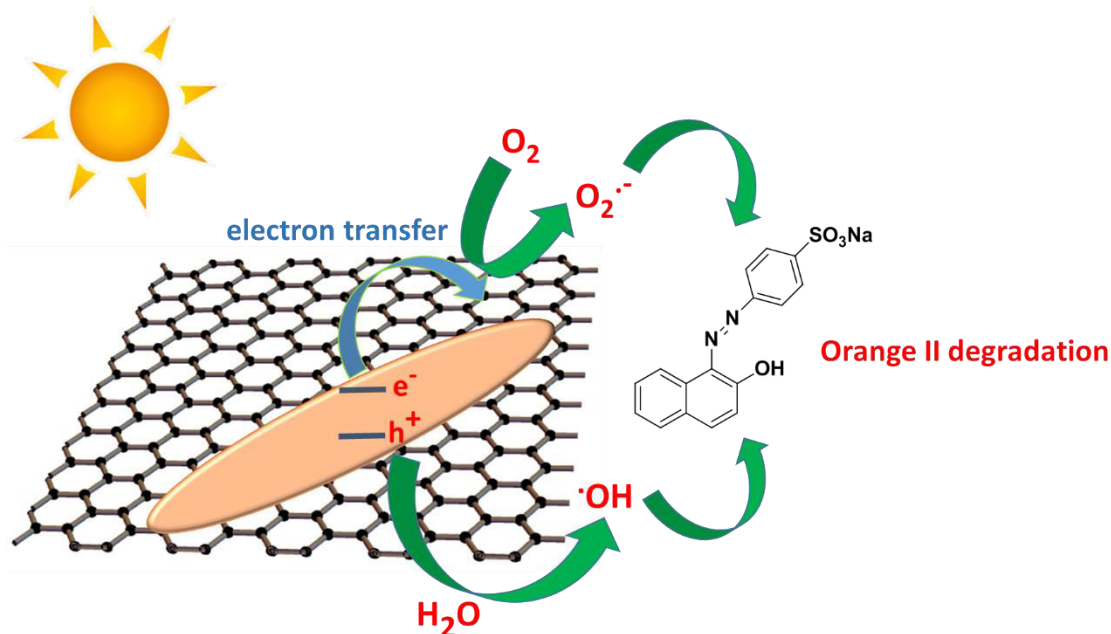


Fig. V.13. Influence of *t*-BuOH and benzoquinone used as  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^{\cdot-}$  scavengers, respectively, on the photocatalytic activity of the ZnO/rGO composite.

The proposed reaction mechanism for the ZnO/rGO photocatalyst is schematically illustrated in Fig. V.14. Upon simulated solar light irradiation, electrons ( $e^-$ ) are photo-generated from the valence band to the conduction band of ZnO rods. These  $e^-$  are next transferred to rGO which efficiently separates them and minimizes the charge recombination processes, thus enhancing the photocatalytic performances. The  $e^-$  captured by rGO reacted with  $O_2$  to form  $O_2^{\cdot-}$  while the holes in ZnO generate  $\cdot OH$  radicals. As highly reactive species,  $\cdot OH$  and  $O_2^{\cdot-}$  radicals oxidize the Orange II dye into water, carbon dioxide and inorganic salts.



**Fig. V.14.** Possible mechanism for the degradation of Orange II with the ZnO/rGO composite under solar light irradiation.

#### V.4. Conclusions

ZnO nanorods with an average length of ca. 180 nm and a diameter of ca. 16 nm and associated to rGO were synthesized using a solvothermal method. The photocatalytic performances were found to depend on the amount of rGO associated to ZnO. The ZnO/rGO composite with 10 wt% rGO was found to achieve the highest removal of Orange II (99% of degradation under solar light irradiation after 150 min). Moreover, the ZnO/rGO photocatalyst was found to be weakly sensitive to salts commonly present in wastewater and to pH changes and could be reused up to 15 times without significant loss of catalytic activity. The increased light absorption intensity and range and the reduced charge recombination generated by the association of ZnO rods with rGO are responsible for the highest catalytic activity of the

ZnO/rGO composite compared to ZnO rods. We hope that the solvothermal synthetic method developed in this work for the production of high quality ZnO rods associated to rGO is a promising technique for the preparation of efficient photocatalysts for the removal of pollutants.

### **Acknowledgements**

This work is supported by the Agence Nationale pour la Recherche (ANR CESA 2011, project NanoZnOTOx). We also acknowledge the competitive cluster Hydreos for its support. We thank Jaafar Ghanbaja (IJL, UMR CNRS 7198, Université de Lorraine) HR-TEM experiments.

### **V.5.References**

- [1] E.S. Jang, J.H. Won, S.J. Hwang, J.H. Choy, Fine Tuning of the Face Orientation of ZnO Crystals to Optimize Their Photocatalytic Activity. *Adv. Mater.* 18 (2006) 18, 3309-3312.
- [2] S. Chakrabarti, B.K. Dutta, Photocatalytic degradation of model textile dyes in wastewater using ZnO as semiconductor catalyst. *J. Hazard. Mater.* 112 (2004) 269-278.
- [3] N. Kislov, J. Lahiri, H. Varma, D.Y. Goswami, E. Stefanakos, M. Batzill, Photocatalytic degradation of methyl orange over single crystalline ZnO: orientation dependence of photoactivity and photostability of ZnO. *Langmuir* 25 (2009) 3310-3315.
- [4] H. Labiadh, T. Ben Chaabane, L. Balan, N. Becheick, S. Corbel, G. Medjahdi, R. Schneider, Preparation of Cu-doped ZnS QDs/TiO<sub>2</sub> nanocomposites with high photocatalytic activity. *Appl. Catal. B: Environ.* 144 (2014) 29-35.
- [5] L. Li, X. Liu, Y. Zhang, N.T. Nuhfer, K. Barmak, P.A. Salvador, G.S. Kohrer, Visible-Light Photochemical Activity of Heterostructured Core-Shell Materials Composed of Selected Ternary Titanates and Ferrites Coated by TiO<sub>2</sub>. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 5064-5071.
- [6] K. Navaveni, G. Silvalingam, M.S. Hedge, G. Madros, Photocatalytic degradation of organic compounds over combustion-synthesized nano-TiO<sub>2</sub>. *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 1600-1604.
- [7] A.L. Linsebriger, G. Lu, J.T. Yates, Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results. *Chem. Rev.* 95 (1995) 735-758.
- [8] F. Achouri, S. Corbel, A. Aboulaich, L. Balan, A. Ghrabi, M. Ben Said, R. Schneider, Aqueous synthesis and enhanced photocatalytic activity of ZnO/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> heterostructures. *J. Phys. Chem. Solids* 75 (2014) 1081-1087.
- [9] S. Dong, J. Feng, M. Fan, Y. Pi, L. Hu, X. Han, M. Liu, J. Sun, J. Sun, Recent developments in heterogeneous photocatalytic water treatment using visible light-responsive photocatalysts: a review. *RSC Advances* 5 (2015) 14610-14630.

- [10] F. Li, Y. Ding, P.X. Gao, X.Q. Xin, Z.L. Wang, Single-Crystal Hexagonal Disks and Rings of ZnO: Low-Temperature, Large-Scale Synthesis and Growth Mechanism. *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 5238-5242.
- [11] N. Sinha, G. Ray, S. Bhandari, S. Godara, B. Kumar, Synthesis and enhanced properties of cerium doped ZnO nanorods. *Ceramics Int.* 40 (2014) 12337-12342.
- [12] H. Yin, K. Yu, J. Hu, C. Song, B. Guo, Z. Wang, Z. Zhu, Novel photoluminescence properties and enhanced photocatalytic activities for V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-loaded ZnO nanorods. *Dalton Trans.* 44 (2015) 4671-4678.
- [13] Q. Jiang, Y. Liu, H. Kan, B. Yuan, H. Zhao, Microwave-assisted synthesis of hexagonal structure ZnO micro-tubes. *Mater. Lett.* 81 (2012) 198-201.
- [14] H. Zhang, D. Yang, Y. Ji, X. Ma, J. Xu, D. Que, Low Temperature Synthesis of Flowerlike ZnO Nanostructures by Cetyltrimethylammonium Bromide-Assisted Hydrothermal Process. *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 3955-3958.
- [15] S.-M. Lam, J.C. Sin, I. Satoshi, A.Z. Abdullah, A.R. Mohamed, Enhanced sunlight photocatalytic performance over Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ZnO nanorod composites and the mechanism study. *Appl. Catal. A: Gen.* 471 (2014) 126-135.
- [16] M.-H. Hsu, C.-J. Chang, Ag-doped ZnO nanorods coated metal wire meshes as hierarchical photocatalysts with high visible-light driven photoactivity and photostability. *J. Hazard. Mater.* 278 (2014) 444-453.
- [17] J. Fang, H. Fan, G. Dong, A Facile Way to Synthesize Cost-Effective ZnO Nanorods with Enhanced Photocatalytic Activity. *Mater. Lett.* 120 (2014) 147-150.
- [18] B.M. Rajbongshi, S.K. Samdarshi, ZnO and Co-ZnO nanorods-Complementary role of oxygen vacancy in photocatalytic activity of under UV and visible radiation flux. *Mater. Sci. Engineer. B* 182 (2014) 21-28.
- [19] S. Khanchandani, P.K. Srivastava, S. Kumar, S. Ghosh, A.K. Ganguli, Band Gap Engineering of ZnO using Core/Shell Morphology with Environmentally Benign Ag<sub>2</sub>S Sensitizer for Efficient Light Harvesting and Enhanced Visible-Light Photocatalysis. *Inorg. Chem.* 53 (2014) 8902-8912.
- [20] A. McLaren, T. Valdes-Solis, G. Li, S.C. Tsang, Shape and Size Effects of ZnO Nanocrystals on Photocatalytic Activity. *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 12540-12541.
- [21] Y. Zheng, C. Chen, Y. Zhan, X. Lin, Q. Zheng, K. Wei, J. Zhu, Y. Zhu, Yuanhui Zheng Luminescence and photocatalytic activity of ZnO nanocrystals: correlation between structure and property. *Inorg. Chem.* 46 (2007) 6675-6682.
- [22] D. Wu, W. Wang, F. Tan, F. Sun, H. Lu, X. Qiao, Fabrication of Pit-structured ZnO Nanorods and Their Enhanced Photocatalytic Performance. *RSC Adv.* 3 (2013) 20054-20059.
- [23] Y. Peng, S. Qin, W.-S. Wang, A.-W. Xu, Fabrication of porous Cd-doped ZnO nanorods with enhanced photocatalytic activity and stability. *CrystEngComm* 15 (2013) 6518-6525.
- [24] O. Akhavan, M. Mehrabian, K. Mirabbaszadeh, R. Azimirad, Hydrothermal synthesis of ZnO nanorod arrays for photocatalytic inactivation of bacteria. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 42 (2009) 225305.

- [25] S. Baruah, M. Abbas Mahmood, M.T. Zar Myint, T. Bora, J. Dutta, Beilstein Enhanced visible light photocatalysis through fast crystallization of zinc oxide nanorods. *J. Nanotechnol.* 1 (2010) 14-20.
- [26] X. Qiu, G. Li, X. Sun, L. Li, X. Fu, Doping effects of Co<sup>2+</sup> ions on ZnO nanorods and their photocatalytic properties. *Nanotechnology* 19 (2008) 215703.
- [27] L. Jiang, L. Gao, Fabrication and characterization of ZnO-coated multi-walled carbon nanotubes with enhanced photocatalytic activity. *Mater. Chem. Phys.* 91 (2005) 313-316.
- [28] X.J. Wang, S.W. Yao, X.B. Li, Sol-gel Preparation of CNT/ZnO Nanocomposite and Its Photocatalytic Property. *Chin. J. Chem.* 27 (2009) 1317-1320.
- [29] L.P. Zhu, G.H. Liao, W.Y. Huang, L.L. Ma, Y. Yang, Y.Yu, S.Y. Fu, Preparation, characterization and photocatalytic properties of ZnO-coated multi-walled carbon nanotubes. *Mater. Sci. Eng. B* 163 (2009) 194-198.
- [30] J. Mu, C. Shao, Z. Guo, Z. Zhang, M. Zhang, P. Zhang, B. Chen, Y. Liu, High Photocatalytic Activity of ZnO-Carbon Nanofiber Heteroarchitectures. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (2011) 590-596.
- [31] Y. Yan, T. Chang, P.C. Wei, S.Z. Kang, J. Mu, Photocatalytic Activity of Nanocomposites of ZnO and Multi-Walled Carbon Nanotubes for Dye Degradation. *J. Dispersion Sci. Technol.* 30 (2009) 198-203.
- [32] P. Wang, Y. Zhai, D. Wang, S. Dong, Synthesis of reduced graphene oxide-anatase TiO<sub>2</sub> nanocomposite and its improved photo-induced charge transfer properties. *Nanoscale* 3 (2011) 1640-1645.
- [33] C.-J. Chang, K.-W. Chu, M.-H. Hsu, C.-Y. Chen, Ni-doped ZnS decorated graphene composites with enhanced photocatalytic hydrogen-production Performance. *Int. J. Hydrogen Energy* 40 (2015) 14498-14506.
- [34] I.V. Lightcap, T.H. Kosel, P.V. Kamat, Anchoring Semiconductor and Metal Nanoparticles on a Two-Dimensional Catalyst Mat. Storing and Shuttling Electrons with Reduced Graphene Oxide. *Nano Lett.* 10 (2010) 577-583.
- [35] J. Wu, X. Shen, L. Jiang, K. Wang, K. Chen, Solvothermal synthesis and characterization of sandwich-like graphene/ZnO nanocomposites. *Appl. Surf. Sci.* 256 (2010) 2826-2830.
- [36] O. Akhavan, Photocatalytic reduction of graphene oxides hybridized by ZnO nanoparticles in ethanol. *Carbon* 49 (2011) 11-18.
- [37] X. Liu, L. Pan, T. Lv, T. Lu, G. Zhu, Z. Sun, C. Sun, Microwave-assisted synthesis of ZnO-graphene composite for photocatalytic reduction of Cr(VI). *Catal. Sci. Technol.* 1 (2011) 1189-1193.
- [38] H. Hayashi, I.V. Lightcap, M. Tsujimoto, M. Takano, T. Umeyama, P.V. Kamat, H. Imahori, Electron Transfer Cascade by Organic/Inorganic Ternary Composites of Porphyrin, Zinc Oxide Nanoparticles, and Reduced Graphene Oxide on a Tin Oxide Electrode that Exhibits Efficient Photocurrent Generation. *J. Am. Chem. Soc.* 133 (2011) 7684-7687.
- [39] T. Xu, L. Zhang, H. Cheng, Y. Zhu, Significantly enhanced photocatalytic performance of ZnO via graphene hybridization and the mechanism study. *Appl. Catal. B: Environ.* 101 (2011) 382-387.

- [40] B. Li, T. Liu, Y. Wang, Z. Wang, ZnO/graphene-oxide nanocomposite with remarkably enhanced visible-light-driven photocatalytic performance. *J. Colloid Interface Sci.* 377 (2012) 114-121.
- [41] X. Liu, L. Pan, Q. Zhao, T. Lv, G. Zhu, T. Chen, T. Lu, Z. Sun, C. Sun, UV-assisted photocatalytic synthesis of ZnO-reduced graphene oxide composites with enhanced photocatalytic activity in reduction of Cr(VI). *Chem. Engineer J.* 183 (2012) 238-243.
- [42] J. Wang, T. Tsuzuki, B. Tang, X. Hou, L. Sun, X. Wang, Reduced Graphene Oxide/ZnO Composite: Reusable Adsorbent for Pollutant Management. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 4 (2012) 3084-3090.
- [43] Z. Zhan, L. Zheng, Y. Pan, G. Sun, L. Li, Self-powered, visible-light photodetector based on thermally reduced graphene oxide-ZnO (rGO-ZnO) hybrid nanostructure. *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 2589-2595.
- [44] S. Liu, H. Sun, A. Suvorova, S. Wang, One-pot hydrothermal synthesis of ZnO-reduced graphene oxide composites using Zn powders for enhanced photocatalysis. *Chem. Engineer. J.* 229 (2013) 533-539.
- [45] Y. Wang, F. Wang, J. He, Controlled fabrication and photocatalytic properties of a three-dimensional ZnO nanowire/reduced graphene oxide/CdS heterostructure on carbon cloth. *Nanoscale* 5 (2013) 11291-11297.
- [46] Y. Cheng, Y. Fan, Y. Pei, M. Qiao, Graphene-supported metal/metal oxide nanohybrids: Synthesis and applications in heterogeneous catalysis. *Catal. Sci. Technol.* 5 (2015) 3903-3916.
- [47] O. Akhavan, Graphene Nanomesh by ZnO Nanorod Photocatalysts. *ACS Nano* 10 (2010) 4174-4180.
- [48] T. Lv, L. Pan, X. Liu, T. Lu, G. Zhu, Z. Sun, Enhanced photocatalytic degradation of methylene blue by ZnO-reduced graphene oxide composite synthesized via microwave-assisted reaction. *J. Alloys Compds* 509 (2011) 10086-10091.
- [49] T. Lv, L. Pan, X. Liu, Z. Sun, Enhanced photocatalytic degradation of methylene blue by ZnO-reduced graphene oxide-carbon nanotube composites synthesized via microwave-assisted reaction. *Catal. Sci. Technol.* 2 (2012) 2297-2301.
- [50] X. Zhou, T. Shi, H. Zhou, Hydrothermal preparation of ZnO-reduced graphene oxide hybrid with high performance in photocatalytic degradation. *Appl. Surf. Sci.* 258 (2012) 6204-6211.
- [51] H. Sun, S. Liu, S. Liu, S. Wang, A comparative study of reduced graphene oxide modified TiO<sub>2</sub>, ZnO and Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in visible light photocatalytic/photochemical oxidation of methylene blue. *Appl. Catal. B: Environ.* 146 (2014) 162-168.
- [52] R.C. Pawar, C.S. Lu, Single-step sensitization of reduced graphene oxide sheets and CdS nanoparticles on ZnO nanorods as visible-light photocatalysts. *Appl. Catal. B: Environ.* 144 (2014) 57-65.
- [53] Y. Zheng, C. Chen, Y. Zhan, X. Lin, Q. Zheng, K. Wei, J. Zhu, Y. Zhu, Luminescence and Photocatalytic Activity of ZnO Nanocrystals: Correlation between Structure and Property. *Inorg. Chem.* 46 (2007) 6675-6682.
- [54] M.Y. Guo, A.M. Ching Ng, F. Liu, A.B. Djurisic, W.K. Chan, H. Su, K.S. Wong, Effect of Native Defects on Photocatalytic Properties of ZnO. *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 11095-11101.

- [55] K. Wang, J. Ruan, H. Song, J. Zhang, Y. Wo, S. Guo, D. Cui, Biocompatibility of Graphene Oxide. *Nanoscale Res. Lett.* 6 (2011) 8.
- [56] J. Zhang, H. Yang, G. Shen, P. Cheng, J. Zhang, S. Guo, Reduction of graphene oxide via L-ascorbic acid. *Chem. Commun.* 46 (2010) 1112-1114.
- [57] L. Tang, Y. Wang, Y. Li, H. Feng, J. Lu, J. Li, Preparation, Structure, and Electrochemical Properties of Reduced Graphene Sheet Films. *Adv. Funct. Mater.* 19 (2009) 2782-2789.
- [58] S. Cho, J.W. Jang, J.S. Lee, K.H. Lee, Carbon-doped ZnO nanostructures synthesized using vitamin C for visible light photocatalysis. *CrystEngComm* 12 (2010) 3929-3935.
- [59] S. Akbar, S.K. Hasanain, M. Abbas, S. Ozcan, B. Ali, S.I. Shah, Defect induced ferromagnetism in carbon-doped ZnO thin films. *Solid State Commun.* 151 (2011) 17-20.
- [60] K.A. Alim, V.A. Fonoberov, M. Shamsa, A.A. Baladin, Micro-Raman investigation of optical phonons in ZnO nanocrystals. *J. Appl. Phys.* 97 (2005) 124313.
- [61] E.C. Onyiriuka, AM 2001 Lubricant Film on Canasite Glass-Ceramic Magnetic Memory Disk. *Chem. Mater.* 5 (1993) 798-801.
- [62] X.Z. Zhou, X. Huang, X.Y. Qi, S.X. Wu, C. Xue, F.Y.C. Boey, Q.Y. Yan, P. Chen, H. Zhang, In Situ Synthesis of Metal Nanoparticles on Single-Layer Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide Surfaces. *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 10842-10846.
- [63] S.T. Tan, X.W. Sun, Z.G. Yu, P. Wu, G.Q. Lo, D.L. Kwong, p-type conduction in unintentional carbon-doped ZnO thin films. *Appl. Phys. Lett.* 91 (2007) 072101.
- [64] R.C. Wang, Y.C. Chen, S.J. Chen, Y.M. Chang, Unusual functionalization of reduced graphene oxide for excellent chemical surface-enhanced Raman scattering by coupling with ZnO. *Carbon* 70 (2014) 215-233.
- [65] Y. Li, Z. Zeng, J. Zhu, S. Chen, X. Yuan, S. Liu, Graphene nanosheets decorated with ZnO nanoparticles: facile synthesis and promising application for enhancing the mechanical and gas barrier properties of rubber nanocomposites. *RSC Adv.* 5 (2015) 57771-57780.
- [66] C.-J. Chang, E.-H. Kuo, Light-trapping effects and dye adsorption of ZnO hemisphere-array surface containing growth-hindered nanorods. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 363 (2010) 22-29.
- [67] S.-T. Hung, C.-J. Chang, M.-H. Hsu, Improved photocatalytic performance of ZnO nanograss decorated pore-array films by surface texture modification and silver nanoparticle deposition. *J. Hazard. Mater.* 198 (2011) 307-316.
- [68] Y.P. Zhang, C.X. Pan, TiO<sub>2</sub>/graphene composite from thermal reaction of graphene oxide and its photocatalytic activity in visible light. *J. Mater. Sci.* 46 (2011) 2622-2626.
- [69] H. Zhang, X.J. Lv, Y.M. Li, Y. Wang, J.H. Li, P25-Graphene Composite as a High Performance Photocatalyst. *ACS Nano* 4 (2010) 380-386.
- [70] K. Singh, D. Everett, R. Haul, L. Moscou, R. Pierotti, J. Rouquerol, T. Siemieniowska, The kinetics of phenol decomposition under UV irradiation with and without H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on TiO<sub>2</sub>, Fe-TiO<sub>2</sub> and Fe-C-TiO<sub>2</sub> photocatalysts. *Pure Appl. Chem.* 57 (1985) 603-619.
- [71] X.X. Yu, J.G. Yu, B. Cheng, M. Jaroniec, Synthesis of Hierarchical Flower-like AlOOH and TiO<sub>2</sub>/AlOOH Superstructures and their Enhanced Photocatalytic Properties. *J. Phys. Chem. C* 2009, 113, 17527-17535.



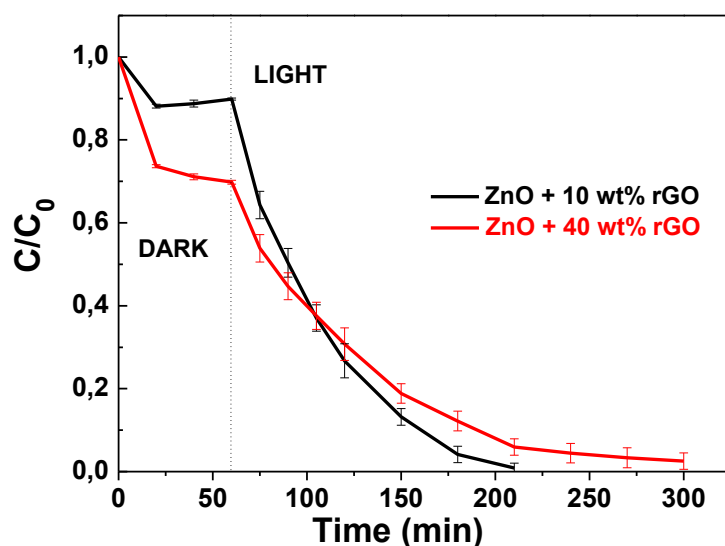
[72] O. Akhavan, E. Ghaderi, Photocatalytic Reduction of Graphene Oxide Nanosheets on TiO<sub>2</sub> Thin Film for Photoinactivation of Bacteria in Solar Light Irradiation. *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 20214-20220.

[73] A. Aguedach, S. Brosillon, J. Morvan, E.K. Lhadi, Influence of ionic strength in the adsorption and during photocatalysis of reactive black 5 azo dye on TiO<sub>2</sub> coated on non woven paper with SiO<sub>2</sub> as a binder. *J. Hazard. Mater.* 150 (2008) 250-256.

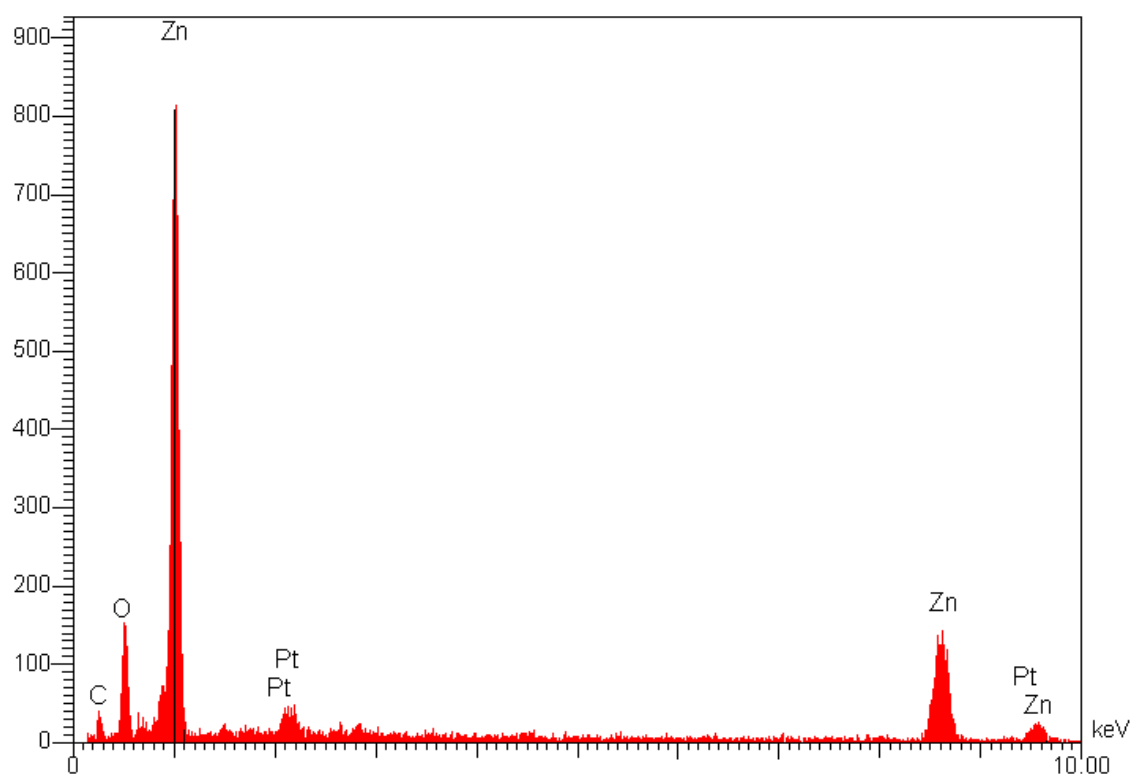
[74] B. Tryba, A.W. Morawski, M. Inagaki, M. Toyoda, The kinetics of phenol decomposition under UV irradiation with and without H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on TiO<sub>2</sub>, Fe-TiO<sub>2</sub> and Fe-C-TiO<sub>2</sub> photocatalysts. *Appl. Catal. B: Environ.* 63 (2006) 215-221.

[75] C. Hu, T. Peng, X. Hu, Y. Nie, X. Zhou, J. Qu, H. He. Plasmon-Induced Photodegradation of Toxic Pollutants with Ag-AgI/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> under Visible-Light Irradiation. *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2010) 857-862.

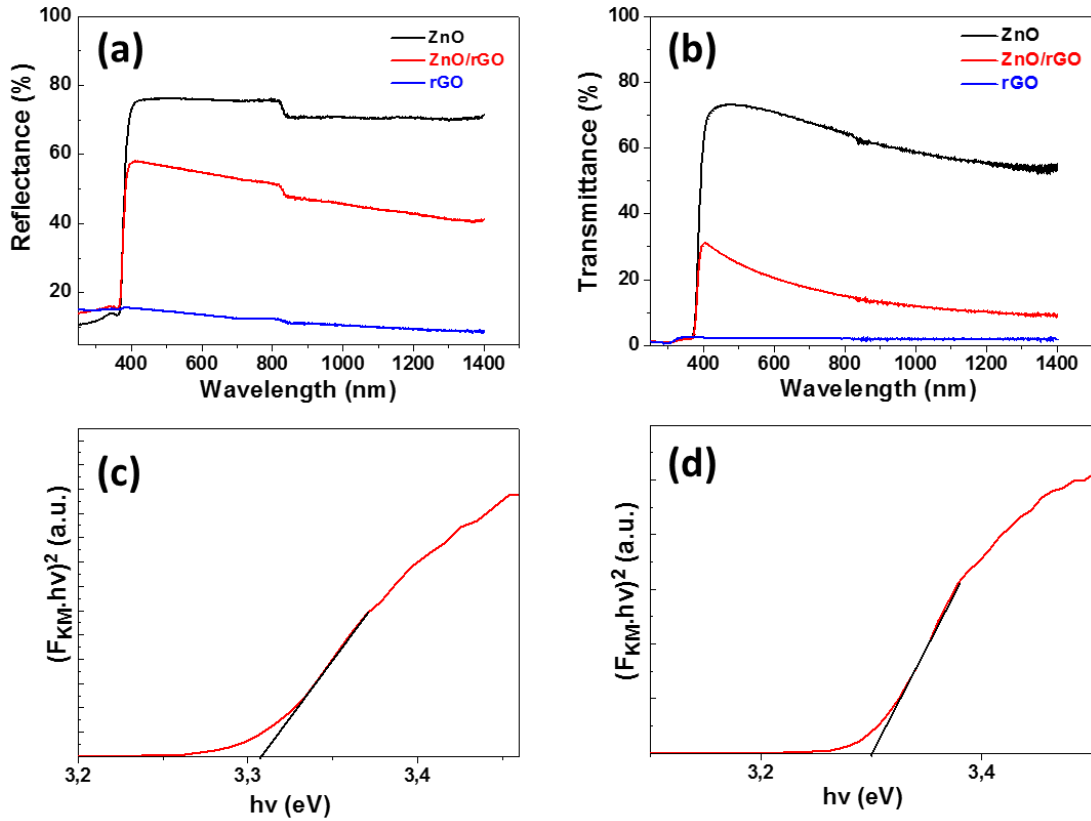
## V.6.SUPPORTING INFORMATION



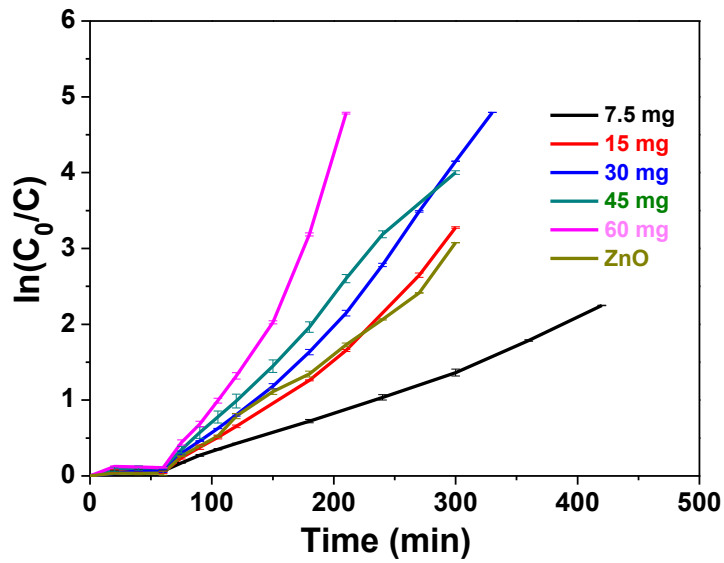
**Fig. V.S1.** Photocatalytic degradation of Orange II by ZnO/rGO (10%) and ZnO/rGO (40%) catalysts under solar light irradiation.



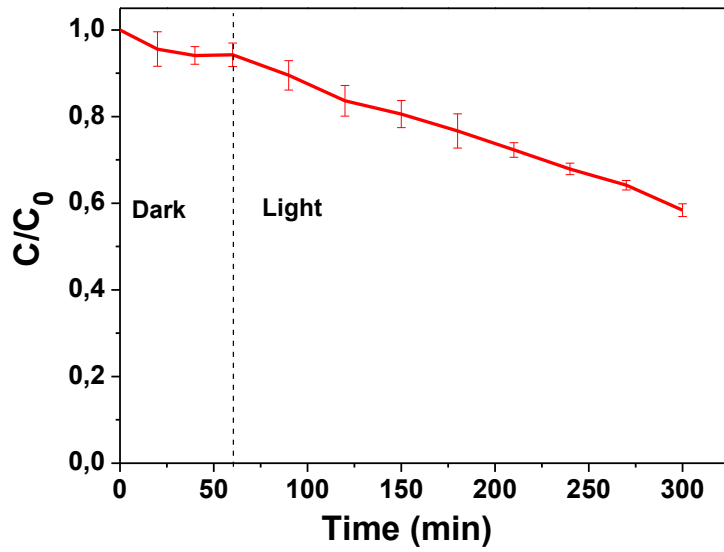
**Fig. V.S2.** EDS analysis of the ZnO/rGO composite.



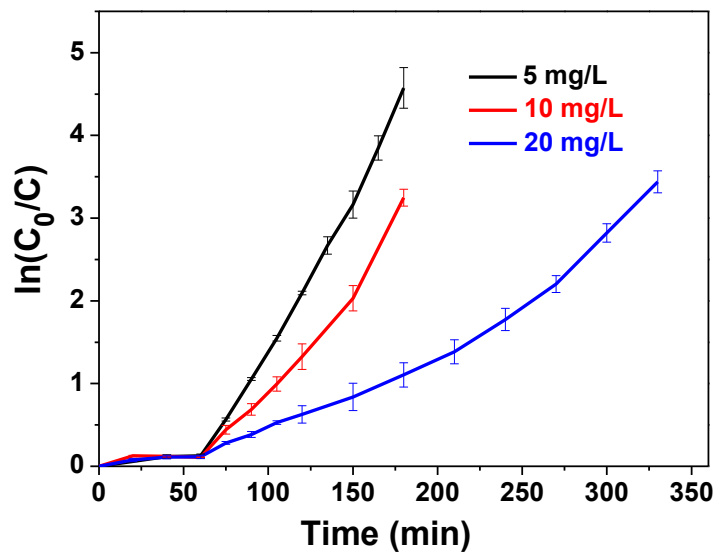
**Fig. V.S3.** (a) Reflectance and (b) transmittance spectra of ZnO rods, rGO, and of the ZnO/rGO composite, (c) and (d)  $(F_{KM} \cdot hv)^2$  versus  $hv$  for the determination of the bandgap energy of ZnO and ZnO/rGO, respectively.



**Fig. V.S4.** Plots of  $\ln(C_0/C)$  of Orange II versus reaction time using different amount of the ZnO/rGO photocatalyst (concentration of Orange II = 10 mg/L).



**Fig. V.S5.** Variations of  $C/C_0$  vs irradiation time in the presence of the ZnO/rGO catalyst ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; visible irradiation 2 mW/cm<sup>2</sup>).



**Fig. V.S6.** Plots of  $\ln(C_0/C)$  of Orange II versus reaction time using different concentrations of Orange II (mass of ZnO/rGO catalyst = 60 mg).



# Conclusion Générale et Perspectives

Dans cette thèse, nous avons d'abord essayé de mettre en évidence la cytotoxicité potentielle de QDs de ZnO et tout particulièrement leur aptitude à générer des espèces réactives de l'oxygène (EROs) sous irradiation UV.

Dans une première partie, nous avons étudié l'effet d'un dopage de ZnO ou de l'association de QDs ZnO avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  à la fois sur la production d'EROs ainsi que sur la toxicité des nanoparticules. Des QDs ZnO d'un diamètre moyen de 5 nm ont été synthétisés via un procédé sol-gel puis ces nanoparticules ont été silanisées par le ligand 3-aminopropyltriméthoxysilane (APTMS) afin de les rendre hydrodispersables pour les études biologiques. Les ions  $\text{Cu}^{2+}$  ont été introduits soit dans la maille cristalline de ZnO (dopage) soit à la périphérie des QDs (adsorption via interaction avec les fonctions amine du ligand APTMS). Des études photophysiques visant à évaluer la production d'EROs ( $\text{OH}^\circ$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\circ-}$ , et  $^1\text{O}_2$ ) après une excitation par un rayonnement UV ont montré que les QDs ZnO avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  adsorbés à la surface sont les plus producteurs d'EROs. Cette production exaltée d'EROs semble trouver son origine dans l'activité photocatalytique des nanoparticules combinée à des réactions de Fenton et de photo-Fenton catalysées par le cuivre.

Les trois QDs ont été incubés à l'obscurité ou sous irradiation lumineuse avec la bactérie *E. coli*. Les tests de croissance ont montré que les QDs ZnO modifiés avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  en périphérie sont environ deux fois plus toxiques que les deux autres QDs. Cette toxicité n'est cependant pas dépendante de l'irradiation lumineuse et donc des EROs photo-produits. Des études ICP ont également montré que les ions  $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$  libérés dans le milieu par dissolution des nanoparticules n'étaient pas à l'origine des ralentissements ou des arrêts de croissance observés avec les bactéries.

Les résultats obtenus ont clairement mis en évidence que la présence d'un métal (photo)catalytiquement actif tel que  $\text{Cu}^{2+}$  à la surface de nanoparticules comme les QDs ZnO augmentait leur toxicité. Les nanoparticules de ZnO étant de plus en plus utilisées dans notre vie quotidienne et leur libération accidentelle dans l'environnement très probable, nous pensons que ces résultats pourront être d'un grand intérêt dans des études environnementales en cas d'association de nanoparticules photoactives avec des cations métalliques.



Dans la seconde partie de ce mémoire, nous avons cherché à valoriser le potentiel photocatalytique de nanoparticules de ZnO, mis en évidence dans le premier chapitre. Nous avons choisi de ne pas travailler sur des QDs (car ces nanoparticules seraient très difficiles à récupérer après réaction en raison de leur faible taille) mais sur des nanobâtonnets de ZnO. Ces nanobâtonnets ont connu un intérêt croissant au cours des dernières années, notamment dans des applications photocatalytiques, en raison de leur stabilité, de leur important rapport surface/volume et de leur aptitude à générer des EROs sous excitation UV. Une des principales limitations des oxydes photocatalytiquement actifs, comme TiO<sub>2</sub> ou ZnO, est la très rapide recombinaison des porteurs de charges (électron et trou) et donc du faible rendement de porteurs de charges utiles dans les réactions de photodégradation. Une des pistes explorée au cours des dernières années est l'association de ZnO à des matériaux carbonés tels que l'oxyde de graphène réduit (rGO). rGO permet une délocalisation accrue des électrons photogénérés, et donc une réduction de la recombinaison des charges et une augmentation de l'activité photocatalytique. Nous avons tout d'abord développé une méthode solvothermale de préparation de nanocomposites ZnO/rGO. Ces derniers sont constitués de nanobâtonnets de ZnO d'une longueur de 180 nm et de diamètre égal à 16 nm enveloppés de feuillets de rGO. L'étude de l'activité photocatalytique de ces matériaux a montré que le composite ZnO/rGO contenant 10% en masse de rGO possédait la meilleure activité photocatalytique sous irradiation solaire. Ce photocatalyseur est peu sensible aux variations de pH ainsi qu'à la présence de perturbateurs (sels inorganiques, glucose,...) dans le milieu réactionnel. Les très bonnes performances photocatalytiques sont dues à la grande surface spécifique des nanotubes ZnO/rGO, à sa capacité à absorber plus de rayonnements visibles que ZnO, et à la diminution des recombinaisons de charges en raison de l'association entre ZnO et rGO.

Parmi les perspectives les plus directes à ce travail, nous pouvons citer :

- les études de production d'EROs à partir de QDs ZnO (ou d'autres nanoparticules de ZnO) associés avec d'autres métaux (tels que Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>,...),
- des travaux de microbiologie visant à mieux comprendre l'impact des métaux adsorbés à la surface des nanoparticules sur la cytotoxicité de ces dernières,
- l'association des composites ZnO/rGO à des métaux catalytiquement actifs dans les réactions de Fenton ou de photo-Fenton tels que Cu<sup>2+</sup> ou Fe<sup>2+</sup> afin de développer des photocatalyseurs très efficaces sous irradiation solaire ou visible, combinant les résultats obtenus lors des chapitres expérimentaux de ce mémoire.





---

## Liste des Figures

**Fig. I.1 :** Différentes formes et structures des nanoparticules de ZnO [L. Vayssieres, 2006].

**Fig. I.2 :** Modèle de structure wurtzite de ZnO. Représentée la coordination tétraédrique de ZnO. [Zhong Lin Wang, 2004].

**Fig. I.3 :** Morphologies typiques de croissance de nanostructures et les facettes de ZnO unidimensionnels correspondantes. [Zhong Lin Wang, 2004].

**Fig. I.4 :** Consommation mondiale d'oxyde de zinc [Radzimska, Jesionowski, 2014].

**Fig. II.1.** Structure de la paroi d'une bactérie Gram- (*E. coli*) [Schaechter et al. (2006)].

**Fig. II.2.** Caractéristiques structurales des membranes de bactérie à Gram + et à Gram - [Espitia et al, 2012].

**Fig. II.3.** Mécanismes de l'activité antimicrobienne de nanoparticules ZnO [Espitia et al, 2012]

**Fig. II.4.** Mécanisme de formation des EROs

**Fig. II.5.** Effet de l'agrégation des nanoparticules de ZnO uni-taille dans les cellules macrophages murins RAW 264.7 [Tripathy et al, 2014].

**Fig. III.1.** Schematic representation of the ZnO-based QDs used in this study. (a) ZnO@APTMS, (b) ZnO:Cu@APTMS, and (c) ZnO@APTMS/Cu.

**Fig. III.2.** TEM, HR-TEM images and SAED patterns of (a)(d) ZnO@APTMS QDs, (b)(e) ZnO:Cu@APTMS, and (c)(f) ZnO@APTMS/Cu QDs.

**Fig. III.3.** Powder XRD patterns for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs.

**Fig. III.4.** XPS spectra of Cu 2p<sub>3/2</sub> for ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs, respectively.

**Fig. III.5.** (a) PL emission spectra of 2-OH-DST (i.e. OH<sup>•</sup> formation) as a function of time upon irradiation of DST with ZnO@APTMS QDs ( $\lambda_{\text{ex}} = 365$  nm), and (b) variations of the PL intensity at 430 nm of 2-OH-DST upon irradiation of DST with ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. Results (average of three experiments) were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

---

**Fig. III.6.** (a) Absorption spectra of mono- and diformazan (i.e.  $O_2^{\bullet-}$  formation) as a function of the irradiation time of NBT in  $O_2$ -purged solutions and in the presence of ZnO@APTMS QDs, and (b) variations of the absorption at 560 nm of NBT irradiated with ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. Results (average of three experiments) were corrected relative to the Zn concentration of each sample determined by ICP-OES analyses.

**Fig. III.7.** (a) PL emission spectra of SOSG-EP as a function of the irradiation time using ZnO@APTMS QDs, and (b) PL intensity of SOSG-EP as a function of irradiation time in the presence of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, ZnO@APTMS/Cu QDs, and Rose Bengal (average of three experiments). The histidine quencher was used at a 10 mM concentration with ZnO@APTMS QDs.

**Fig. III.8.** Cytotoxic effects of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs. (a) Typical growth curves of *E. coli* MG1655 (in dark conditions) in absence (control) and in presence of the studied QDs. Duplicate experiments and/or experiments carried out under illumination gave similar results (Fig. III.S11). (b) Overview of the generation times calculated for growth kinetics of *E. coli* MG1655 under dark and illuminated conditions, in presence of the three studied QDs at various concentrations. Most tests were repeated several times, where the generation time appear as average values  $\pm$  the fluctuation between minimum and maximum values for duplicates, or  $\pm$  the standard deviation for triplicates (indicated by an asterisk). The increased variability observed close to the toxic concentrations is indicative of the narrow range of concentrations at which the deleterious effects occurred.

**Fig. III.9.** PL intensity at 430 nm of 2-OH-DST upon irradiation of DST with ZnO@APTMS QDs in water (black line), in the RM medium (blue line) and in the RM medium containing BSA at a concentration of 5  $\mu$ M (red line) (average of three experiments).

**Fig. III.S1.** Spectrum of the Hg-Xe lamp used in this work for all ROS generation experiments.

**Fig. III.S2.** Size distributions determined by TEM for ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs.

**Fig. III.S3.** (a) Absorption and (b) PL emission spectra ( $\lambda_{ex} = 330$  nm) of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS, and ZnO@APTMS/Cu QDs. (c) Plots of  $(Abs \times hv)^2$  versus photon energy ( $hv$ ) for the three QDs.

**Fig. III.S4.** XPS spectra of ZnO@APTMS QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-energy resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

---

**Fig. III.S5.** XPS spectra of ZnO:Cu@APTMS QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-energy resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

**Fig. III.S6.** XPS spectra of ZnO@APTMS/Cu QDs: (a) survey spectrum, (b), (c) and (d) are the high-energy resolution core-level spectra of O 1s, Zn 2p and S 2p, respectively.

**Fig. III.S7.** Relationship between the concentration of  $\cdot\text{OH}$  radicals and the PL intensity of 2-OH-DST at 428 nm.

**Fig. III.S8.** Evolution of absorption spectra of LCV<sup>+</sup> produced by oxidation of LCV by HRP and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generated by ZnO@APTMS QDs irradiation. The red and black lines correspond to 30 and 45 min irradiation time, respectively.

**Fig. III.S9.** Relationship between the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the absorption of LCV<sup>+</sup> at 596 nm.

**Fig. III.S10.** Linear fittings of the plots of ln(PL intensity) of SOSG-EP for Rose Bengal and ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs.

**Fig. III.S11.** Comparing the cytotoxic effects of ZnO@APTMS, ZnO:Cu@APTMS and ZnO@APTMS/Cu QDs on *E. coli* MG1655 in dark (a) and illuminated (b) conditions.

**Fig. IV.1.** Illustration schématique du mécanisme du procédé de photocatalyse hétérogène solaire [Spasiano et al ; 2015].

**Fig. IV.2.** Structure 3D idéale du graphène [Alexander AIUS]

**Fig. IV.3.** Illustration schématique de l'exfoliation de GO et de la croissance de ZnO à la surface des feuillets d'oxyde de graphène réduit. [Qian et al, 2009].

**Fig. IV.4.** Illustration schématique de la synthèse de composite ZnO/rGO.

**Fig. IV.5.** rGO associé au photocatalyseur TiO<sub>2</sub> [Yuan et al, 2015].

**Fig. IV.6.** Mécanisme de dégradation photocatalytique du bleu de méthylène avec le catalyseur ZnO/rGO [Kovitha et al, 2015].

**Fig. V.1.** Schematic illustration of the synthesis of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.2.** SEM images of (a) ZnO rods and (b) the ZnO/rGO composite. TEM images of (c) rGO, and (d) ZnO rods associated to rGO. (e) HR-TEM image of the ZnO/rGO composite and (f) the corresponding C-mapping.

---

**Fig. V.3.** XRD patterns of ZnO nanorods and of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.4.** Raman spectra of GO, rGO, ZnO rods and of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.5.** XPS spectra of the ZnO/rGO composite. (a) overview, (b), (c) and (d) are the high-resolution spectra of C 1s, Zn 2p, and O 1s, respectively.

**Fig. V.6.** UV-visible diffuse reflectance spectra of ZnO rods, rGO, and of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.7.** Nitrogen adsorption-desorption isotherms of (a) ZnO rods, (b) rGO and (c) the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.8.** (a) Influence of the ZnO/rGO photocatalyst mass for the degradation of Orange II in aqueous solution ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L). (b) Variation of Orange II concentration as a function of irradiation time using 60 mg of photocatalyst. (c) Photographs of the Orange II solution during photocatalysis.

**Fig. V.9.** Influence of the Orange II concentration of the catalytic activity of the ZnO/rGO photocatalyst ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; mass of ZnO/rGO catalyst, 60 mg).

**Fig. V.10.** Influence of pH on the photodegradation of Orange II by the ZnO/rGO composite under solar light irradiation (Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; mass of catalyst, 60 mg).

**Fig. V.11.** Effects of salts and of glucose on the photocatalytic efficiency of the ZnO/rGO composite used under solar light irradiation (Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; mass of catalyst, 60 mg).

**Fig. V.12.** (a) Values of  $C/C_0$  during the recycling of the ZnO/rGO photocatalyst. (b) SEM image of the photocatalyst after 15 reuses.

**Fig. V.13.** Influence of *t*-BuOH and benzoquinone used as  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^{\cdot-}$  scavengers, respectively, on the photocatalytic activity of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.14.** Possible mechanism for the degradation of Orange II with the ZnO/rGO composite under solar light irradiation.

---

**Fig. V.S1.** Photocatalytic degradation of Orange II by ZnO/rGO (10%) and ZnO/rGO (40%) catalysts under solar light irradiation.

**Fig. V.S2.** EDS analysis of the ZnO/rGO composite.

**Fig. V.S3.** (a) Reflectance and (b) transmittance spectra of ZnO rods, rGO, and of the ZnO/rGO composite, (c) and (d)  $(F_{KM}.hv)^2$  versus  $hv$  for the determination of the bandgap energy of ZnO and ZnO/rGO, respectively.

**Fig. V.S4.** Plots of  $\ln(C_0/C)$  of Orange II versus reaction time using different amount of the ZnO/rGO photocatalyst (concentration of Orange II = 10 mg/L).

**Fig. V.S5.** Variations of  $C/C_0$  vs irradiation time in the presence of the ZnO/rGO catalyst ( $C$  is the Orange II concentration at time  $t$ , and  $C_0$  is the concentration of the dye at  $t = 0$ ; Volume of solution, 50 mL; Orange II concentration, 10 mg/L; visible irradiation 2 mW/cm<sup>2</sup>).

**Fig. V.S6.** Plots of  $\ln(C_0/C)$  of Orange II versus reaction time using different concentrations of Orange II (mass of ZnO/rGO catalyst = 60 mg).

## Liste des Tableaux

**Tableau .I.1:** Synthèses et propriétés des nanoparticules de ZnO [Zhong Lin Wang, 2004].





---

## Résumé

---

« Influence de l'association de quantum dots ZnO avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  sur leur (photo)toxicité. Nouveaux matériaux ZnO/rGO pour la photocatalyse solaire. »

Ces dernières années, les énormes progrès réalisés en nanotechnologie ainsi qu'en science des matériaux ont conduit à la préparation de nombreuses nouvelles nanoparticules sans réellement connaître l'ensemble des propriétés associées à leurs dimensions. La première partie de notre travail vise à évaluer les risques et les problèmes associés aux nanomatériaux, en termes de toxicité, en utilisant des nanoparticules de ZnO. Nous avons tout d'abord étudié la capacité de ces nanoparticules à générer des espèces réactives d'oxygènes (EROs) sous irradiation UV en utilisant trois types des quantum dots (QDs) comme modèles, ZnO, ZnO dopé avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  et ZnO avec des ions  $\text{Cu}^{2+}$  adsorbés à sa surface. Les trois types des QDs ont montré une forte capacité à générer des EROs mais ceux modifiés par les ions  $\text{Cu}^{2+}$  en périphérie sont les plus producteurs. Ces QDs inhibent également le plus fortement la croissance de la bactérie *E. coli*. La toxicité n'est cependant pas dépendante des EROs photo-produits ni du zinc (+2) libéré par les QDs et montre qu'un mécanisme plus complexe doit être considéré.

Dans une second partie, nous avons tenté d'améliorer l'activité photocatalytique de nanobâtonnets de ZnO en les associant à de l'oxyde de graphène réduit (rGO). Des nanocomposites ZnO/rGO ont été préparés par voie solvothermale et utilisés pour la phototodégradation du colorant Orange II comme modèle de polluant. Les résultats obtenus montrent que le photocatalyseur ZnO/rGO est très efficace sous irradiation solaire ou visible et qu'il est peu sensible à des variations de pH ou à la présence de perturbateurs dans le milieu. Finalement, le photocatalyseur est très stable et peut être réutilisé plus de dix fois sans perte notable d'activité.

Mots clés : ZnO, QDs, EROs, (photo)toxicité, *E.coli*, photocatalyse, oxyde de graphène réduit.

---

## Abstract

---

« Influence of  $\text{Cu}^{2+}$  associated to ZnO quantum dots on their (photo)toxicity. New ZnO/rGO nanomaterials for solar driven photocatalysis.»

In recent years, tremendous advances in nanotechnology and materials science have led to the synthesis of many new nanoparticles without really knowing all the properties associated with their dimensions. The first part of our work aims to evaluate the risks and problems associated with nanomaterials, in terms of toxicity, using ZnO nanoparticles. We first studied the ability of these nanoparticles to produce reactive oxygen species (ROS) under UV irradiation using three ZnO-based quantum dots (QDs) as models, ZnO, ZnO doped with  $\text{Cu}^{2+}$  ions and ZnO with chemisorbed  $\text{Cu}^{2+}$  ions at their periphery. The three QDs have a strong capacity of generating ROS but those modified with  $\text{Cu}^{2+}$  at their surface were found to be the highest producers. These dots were also found to inhibit more markedly the growth of the *E. coli* bacteria. The toxicity does neither depend on the amount of photo-generated ROS nor on the amount of Zn(+2) leaked by the QDs, thus indicating that a more complex mechanism should be considered.

In a second part, we tried to improve the photocatalytic efficiency of ZnO nanorods by associating these nanomaterials with reduced graphene oxide (rGO). ZnO/rGO composites were prepared by a solvothermal method and applied for the photodegradation of Orange II used as model pollutant. Results obtained demonstrate that the ZnO/rGO photocatalyst is highly efficient under solar and under visible light irradiation and weakly sensitive to pH changes and to the presence of perturbators in the reaction medium. Finally, the photocatalyst is stable and can be reused up to ten times without significant loss of catalytic activity.

Keywords: ZnO, QDs, (photo)toxicity, ROS, *E. coli*, photocatalysis, reduced graphene oxide.