HAL
open science

Caractérisation et optimisation d'une source plasma pour le traitement de semences dans le domaine agroalimentaire

Manon Soulier

To cite this version:

Manon Soulier. Caractérisation et optimisation d'une source plasma pour le traitement de semences dans le domaine agroalimentaire. Plasmas. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2020. Français. NNT : 2020TOU30278 . tel-03244964

HAL Id: tel-03244964

https://theses.hal.science/tel-03244964

Submitted on 1 Jun 2021

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.

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Manon SOULIER

Le 8 décembre 2020

Caractérisation et optimisation d'une source plasma pour le traitement de semences dans le domaine agroalimentaire

Ecole doctorale : **GEET - Génie Electrique Electronique et Télécommunications : du système au nanosystème**

Spécialité : **Ingénierie des Plasmas**

Unité de recherche :
DPHE - Diagnostics des Plasmas Hors Equilibre

Thèse dirigée par
Philippe GUILLOT et Juslan LO

Jury

M. Rémi DUSSART, Rapporteur
M. Thierry DUFOUR, Rapporteur
Mme Claire CAMPION, Examinatrice
M. Philippe TEULET, Examinateur
M. Philippe GUILLOT, Directeur de thèse
M. Juslan LO, Co-directeur de thèse

ALLOCATION DE RECHERCHE
SOUTIEN AUX DOCTORANTS 2017

Par la délibération de l'assemblée du Conseil Régional, une subvention régionale a été attribuée à l'INU Champollion dans le cadre de la politique régionale d'aide à la recherche (dossier numéro ALDOCT-000085-201700134). Cette mesure est destinée à soutenir la valorisation des connaissances et le transfert du savoir-faire au bénéfice notamment des laboratoires par la formation des jeunes doctorants.

L'objectif est de permettre à des étudiants préparant une thèse en Occitanie d'effectuer un travail de recherche dans un des établissements du site. Dans le cadre de cette thèse, le complément de financement a été apporté par l'INU Champollion.

Nous tenons à remercier la région Occitanie et l'INU Champollion de leur soutien dans le cadre de ce travail de recherche.

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier les membres du Jury, et plus particulièrement Rémi Dussart et Thierry Dufour qui ont accepté d'être rapporteurs. Je remercie également Claire Campion et Philippe Teulet qui ont examiné ce travail.

René Goscinny et Albert Uderzo ont écrit les aventures d'Astérix, guerrier d'un petit village d'irréductibles gaulois qui résistent encore et toujours à l'envahisseur romain, en l'image de César. Je dois vous avouer que j'ai baigné dans la marmite de potion magique toute petite ! Ma thèse peut être apparentée à une aventure du petit village DPHE et de ses alliés, prêts à tout tenter pour arriver à bout de ce réacteur, nommé César dès ma première année.

A la tête de ce petit village, Philippe Guillot, toujours à l'écoute des villageois ripailleurs et travailleurs. Philippe, tu m'as aiguillée et soutenue tout au long de cette aventure. Chaque manip mise en place a suscité ton intérêt. Curieux d'observer le plasma quand il n'y avait encore qu'un plateau de cuisine et un rouleau de papier pour faire tenir la grille des graines. Curieux, puis un peu écœuré, quand on a ouvert le papier de graines de pois chiche, moisies… Nos échanges, autour des posters, des présentations, ou des cookies, ont été enrichissants tant sur le plan scientifique, méthodologique qu'humain, merci ! Dans ce village, il n'y a pas un poissonnier et un forgeron qui se chamaillent sur la fraîcheur du produit mais des ingénieurs et des enseignants-chercheurs qui discutent des projets. Je vais d'abord remercier ceux qui ont contribué directement à cette aventure, Cristina Muja, Thomas Maho et Juslan Lo. Cristina, ta dextérité à couper une graine de tomate sur la tranche m'a scotchée tout autant que ta capacité à organiser des campagnes de manip efficaces et pertinentes. Manier la pipette comme Astérix fournit des châtaignes aux romains, couler de l'agar à foison dans des boîtes de Pétri sont les premières choses que tu m'as apprises, en stage. Pour toutes ces journées de manip et de réflexion, accompagnées de douce musique, merci ! Thomas, tu t'es démarqué par ta gentillesse, ta rigueur scientifique, ta volonté d'aider, ton investissement sans faille dans tout ce que tu entreprenais et ta joie de vivre. Comment ça, tu croyais que j'allais te comparer à Obélix, tombé dans la marmite du sport à la naissance ? Lui qui consomme non pas un sanglier mais un poulet par repas ?! ;-) Pour toutes les discussions que nous avons partagées, tels deux irréductibles à 7h du matin, merci ! Juslan, tu as commencé par me faire part de ton expérience dans la lutte contre César puis tu m'as laissée voler de mes propres ailes pour mener à bien les batailles suivantes, définir les caractérisations et les traitements de données à réaliser pour venir à bout des diagnostics mis en œuvre. Cela m'aura appris à passer outre des champs de menhirs, merci ! Viennent ensuite les irréductibles qu'on ne voit que dans certaines aventures. Ils ne sont pas au cœur de l'histoire, mais y contribuent : Florent Sainct, Bruno Caillier et Laurent Thérèse. Florent, le spectromètre m'aura donné du fil à retordre, tout autant que les L1 INFO. Faire les TD/TP avec toi m'a appris à relativiser, tout ne peut pas être parfait, ils n'ont pas compris U = RI au premier coup, tant pis, on reprendra ça la prochaine fois. Bruno et Laurent, dès la licence vous m'avez fait confiance et avez toujours répondu présents pour parler science, enseignement ou loisir. Pour tout ça, merci à vous !

Astérix ne serait rien sans ses joyeux camarades, rencontrés au fil des aventures, venus d'un pays lointain ou de la ville d'à côté. Je veux, bien-sûr, par ces quelques mots, remercier les doctorants qui ont partagé le bureau avec moi au fil des ans : Aboubakar Koné, Abderrahmane Kais, Laurent Invernizzi, Ludovic Sudrie, Fatima Haddou et Ibtissam Courti. Abou, il me faudrait une thèse pour écrire toutes les réparties qu'on a pu avoir, on s'est bien marré ;-), merci ! Abder, il me faudrait une thèse aussi, mais plutôt pour décrire la complicité que nous avons eu, dès mes premiers pas au laboratoire. Tu as été mon Panoramix, de la sonde de Langmuir jusqu'au moment où le ciel m'est tombé sur la tête, toujours prêt à dégainer une potion pour me sortir du pétrin avec les mots qu'il fallait pour me faire relativiser. Ta force ? Une sagesse infinie et un cœur en or ;-), merci pour tout ! Laurent, le mâchouilleur, "Manooooon, imagine la phrase… on met un *s* à … ?" qu'est-ce que je l'ai entendue celle-là pendant ta rédaction... Ton avidité à faire les choses au mieux que ce soit dans ta thèse ou dans tes échanges avec nous ont fait de toi un physicien protecteur, très attentif aux autres, prêt à rendre service même en biologie, ta passion… ;-), merci ! Ludo, avec toi, tous les sujets peuvent être abordés, de la physique des plasmas à la découverte du monde, de l'anatomie du cochon pour faire de la bonne charcuterie à la fenêtre que tu es prêt à barricader pour moi ;-), merci ! Fatima, tu m'as fait découvrir Oran, ta ville et ta culture, et je sais que tu n'oublieras pas ton parapluie ;-), merci ! Ibtissam, la biologiste qui débarque dans un bureau de physiciens. Comme tu as dû te sentir incomprise au début… et pourtant, tu as su nous apprivoiser et devenir l'une des nôtres par ta gentillesse et ta personnalité (tes ;-)), merci !

Il est des amis de passage dans les aventures d'Astérix, en ce sens je voudrais remercier mon hispanique préféré, Jaime Orejas. Ta joie de vivre et ta gentillesse sont tout aussi appréciables que les corbatas, merci ! Philippe Belenguer, travailler avec toi sur le maïs, les lentilles et sur le « camembert qui pique » a été un plaisir tout aussi agréable que ma première conférence, à laquelle tu étais présent, le Japon, quel beau pays, merci pour nos échanges ! Séverine Patry, Rachel Calvet, je vous ajoute dans la même marmite. Vous avez été toutes les deux très réactives dès que je vous ai parlé de mon projet de mesurer des angles de contact sur des graines. Merci de m'avoir accueillie dans votre laboratoire RAPSODEE à l'IMT, et de m'avoir consacré du temps, pour étudier la faisabilité du projet et pour me former sur l'appareil.

Les aventures d'Astérix ne seraient rien sans les rencontres entre gaulois, de Lutetia à Nicaea : les Laffont (Sylvie et Patrick), Jenny Moro, Francis Louman, Delphine Dos Santos, Valérie Fernandez et Karen Chevalier. Sylvie et Patrick, dès la licence vous avez cru en mes capacités, vous avez accentué mon goût pour les sciences, et vous m'avez appris à être méthodique et rigoureuse sans oublier la bonne humeur : « vers l'infini et au-delà » ;-) ! Patrick, « mon prof préféré », tu m'as confié les TD des L1 PC les yeux fermés et tu as veillé à ce que je sois toujours dans les meilleures conditions pour les enseigner. Sylvie, nos discussions m'ont toujours aiguillée, en science ou dans la vie, et jusqu'aux sommets des Pyrénées. Un immense merci à tous les deux ! Jenny, Delphine et Francis, toujours prêts à nous filer un coup de main dans la joie et la bonne humeur, merci ! Valérie et Karen, les reines du bon de commande, toujours disponibles et réactives à nos demandes, merci !

Des gaulois, je vais maintenant parler de la bande d'irréductibles doctorants avec qui j'ai tissé des liens d'amitié au fil des années. Des villages voisins de BTSB et de SCOTE, on aura bien rigolé et bien mangé, évidemment ! Valentine, on a eu de belles discussions, de beaux moments de partage : de la science à la recherche de tout, du passé à l'avenir en profitant du

présent (oui, dans cet ordre). Des fous rires aux pétages de câbles, tu es mon maître Yoda :-). Morgane, « Mama Buisson » à qui aucun fil ne résiste, ta zenitude et ta vision de la vie me font rêver, rdv en Bretagne :-). Lucie, tes passages « furtifs » au bureau ont apporté autant de sourires à nos journées qu'un rayon de soleil, tu viens bien du Grand Nord :-). Eugénie, ou comment comprendre notre dépendance à la technologie, simplement. 2h à faire tes tests, c'est bien parce que c'était pour toi ;-) Merci à toutes, vous êtes les bienvenues dans mon prochain village !

Avant même d'avoir mis les pieds dans le village du DPHE, il est des gaulois qui m'ont accompagnée et ne me lâchent jamais, les plus irréductibles de tous... Heureusement, ils ont conservé les casques des romains vaincus par la potion magique depuis tant d'années pour me supporter au cours de cette aventure ! Je ne vais pas vous chanter tout ce que je pense de bien de vous, je chante aussi juste qu'Assurancetourix, vous le savez… Amélie, tu as toujours été là pour m'épauler, me faire rire, rêver et m'aider à avancer malgré les menhirs sur le chemin de la forêt des Carnutes, merci ! Elise et Elodie, notre amitié est une potion plus magique que celle de Panoramix :-). Ensembles, on pourrait déplacer des montagnes et on a déjà commencé à les grimper ! Mélanie, on arrive encore à te surprendre avec Elo, quel régal ! Sarah, merci pour ces heures au téléphone ! Lynda, merci pour ta relecture ! MH Tagada, Douwapp, NJ, Salomé, Quentin, Simon, Bastien et Johnny, des bancs de l'école aux banquets, vous m'avez écoutée, soutenue, fait rire et bien plus encore, merciiiiiiiiiiiii !

Avant de clôturer cette aventure, je souhaite remercier ceux qui m'ont plongée dans la marmite de potion magique. Mes parents, « le plus fort, c'est mon père », « la maman des poissons, elle est bien gentille » :-). Je ne serais jamais devenue ce que je suis aujourd'hui si vous ne m'aviez pas élevée avec vos valeurs, votre gentillesse et votre amour. Laure, ma petite grande sœur, le premier tiers d'Einstein. Tu as toujours été un modèle, dans les délires comme dans l'apprentissage de la vie, tu m'as transmis ta bonne humeur, ton dynamisme et ton grand cœur. Thomas, mon grand frère, la force tranquille que tu représentes m'a toujours apaisée. Tu es toujours là pour moi, un peu trop tatillon sur les cuissons de mes gâteaux, mais je sais que ce sont tes préférés ! J'entends déjà Christy réclamer son tiramisu mangue ;-). Christy et Malek, toujours là pour se payer une barre de rire et partager de bons moments ! Le meilleur pour la fin, désolée pour les autres…, mon neveu. Aaron, tu es né avec ma thèse et tu es mon soleil depuis ce jour. De sourires en rires, tu découvres la vie avec envie et curiosité, de tes premiers pas à tes premiers mots, je suis fière de toi, « - Tatie, il y a de l'orage dehors… - C'est du plasma ! ». Merci de faire partie de ma vie, je vous aime !

Aucune aventure d'Astérix ne se termine sans banquet, nous n'avons pas pu partager celui-là tous ensemble mais nous en aurons d'autres, par Toutatis !

.

« En essayant continuellement on finit par réussir.

Donc : plus ça rate, plus on a de chance que ça marche. »

Jacques Rouxel, *Les Shadoks*

Résumé

La conservation des produits et l'optimisation des rendements sont au centre des préoccupations de l'industrie agroalimentaire afin d'assurer la sécurité alimentaire d'une population mondiale en expansion. Les techniques agricoles actuelles sont majoritairement appliquées sur les semences, à l'origine de tous les aliments, et les premières cibles des contaminants. L'utilisation intensive d'intrants chimiques se révèle nuisible pour la sécurité sanitaire de l'agriculteur et pour la biodiversité. Depuis les années 2010, les plasmas sont étudiés comme alternatives potentielles à ces méthodes pour leurs propriétés biocides, leurs actions dans la germination de semences et pour la dégradation de molécules.

Dans ce contexte, un procédé de plasma d'air à basse pression (1 pascal) est étudié et optimisé en vue d'une application au traitement de semences. Les graines sont disposées sur une grille connectée à la masse dans une enceinte sous vide de 80 litres. La source principale est un applicateur micro-ondes (MW) à structure coaxiale régie par le phénomène de résonance cyclotronique des électrons (RCE). L'étude des propriétés fondamentales (espèces excitées, densités et températures électroniques) de ces plasmas à différentes positions dans le réacteur a permis de définir deux régimes de fonctionnement dépendants de la puissance injectée. Une forte densité d'espèces est générée dans la zone de RCE puis diffusée dans l'enceinte. Cette distribution est volumique à basse puissance et dirigée vers les parois à partir de 100 W. Une source radiofréquence (RF) à couplage capacitif est ajoutée en complément. Une étude paramétrique est réalisée en faisant varier la puissance RF. Une puissance RF supérieure à la puissance MW entraîne une densité d'espèces réactives plus importante et plus uniforme en volume. Ces espèces sont susceptibles d'interagir avec les graines.

L'efficacité de ce procédé dans les problématiques agricoles est établie à travers deux études distinctes réalisées sur des graines certifiées non traitées par des pesticides.

- Les aliments sont susceptibles d'être contaminés par des moisissures causant une décomposition précoce des tissus organiques et la réduction, à termes, des réserves. La faculté de certaines moisissures à produire des mycotoxines, présente un risque sanitaire pour le consommateur (*e.g.* déoxynivalénol : DON, produit par *Fusarium spp*.). La flore native de grains de blé tendre panifiable (*Triticum aestivum* L.) est identifiée avant de quantifier l'efficacité fongicide du plasma sur celle-ci. La dégradation de la mycotoxine DON engendrée par la source MW est estimée sur un substrat de verre et sur les grains de blé. La conservation post-traitement du taux d'humidité et de la teneur en gluten dans la farine de blé, est vérifiée afin d'assurer son utilisation pour la panification. Le taux de germination de ces graines est également mesuré dans un souci d'agriculture raisonnée.
- Les semences paysannes sont des variétés récoltées, sélectionnées et partagées entre agriculteurs. Elles ne sont pas soumises aux règlementations des semenciers et présentent généralement des taux de germination inférieurs à 80%. Une étude paramétrique du taux et de la vitesse de germination des graines est réalisée afin de définir le potentiel d'action du plasma pour améliorer la germination de semences paysannes de poivron (*Capsicum annuum* L.). Le taux d'humidité, la teneur en antioxydants et les contaminations fongiques des graines sont évalués en complément.

Abstract

Agri-food industry issues concern food products storage, and yields increase. Since the 1950's, intensive agriculture, chemical pesticides based, and massive irrigation are means used to confront increasing population needs. However, these practices have shown adverse effects on biodiversity and farmers health. Several studies have shown relevant results on cold plasmas fungicidal properties, action on seed germination and on chemicals degradation.

A low-pressure air plasma (1 pascal) process was used and optimized for seed treatment. Seeds were placed onto a grounded grid inside an 80 liters reaction chamber exposed to two kinds of plasma. The main source was an electron cyclotron resonance microwave plasma applicator (MW-ECR). Plasma fundamental properties (emitted species, electron densities and temperatures) were measured to map the discharge. This characterization allowed to define two plasma regimes considering the injected power. High species density was generated inside the ECR area. At low-powers, species were diffused inside the plasma volume whereas by exceeding 100 W, they were carried towards the walls. The secondary source was a capacitively coupled radiofrequency plasma source (RF-CCP). The previous plasma parametric study was completed by varying the radiofrequency power. RF power greater than MW power results in higher reactive species density and a volume uniformization of plasma. These species are likely to interact with the seeds.

This process efficiency in the agricultural issues of fungal contamination and seed yield optimization was established through two separate studies carried out on seeds which have been certified chemical treatment free.

- Seeds represent the first step of the food production chain, constituting most of food products. Fungal contaminants have negative effects on seeds from field to consumer. They are crops spoilers, impacting production yields and food stocks. Molds, such as *Fusarium spp*. may produce mycotoxins during their metabolism process, responsible on health hazards (*e.g.* deoxynivalenol: DON or vomitoxin). Plasma discharges fungicidal properties were evaluated on bread wheat seeds (*Triticum aestivum* L.). Wheat seeds native fungal flora was identified before quantifying their inactivation by the plasma process. The microwave plasma process can face to the substrate matrix effect. This phenomenon was studied by comparing DON degradation onto plate glass carriers and wheat carriers. Post-treated seeds conformity for bread making was evaluated by physicochemical properties such as moisture and gluten contents. Germination yields were also evaluated in order to be consistent with a sustainable agriculture approach.
- In recent years, French farmers, acting on agroecology, are cooperating on 'peasant seeds' production. These seeds were not subjected to seed company rules and have shown germination yields lower than 80%. The study of plasma discharges on germination was conducted on bell pepper peasant seeds (*Capsicum annuum* L.). The plasma potential role on seed dormancy break-out and germination control was assessed by measuring germination yield and velocity. Some plasma agents were isolated and physicochemical analysis (moisture and antioxidant contents) were also performed in this aim.

Liste des publications

Conférences internationales

- C. Muja, **M. Soulier**, T. Maho, I. Courti, J. Lo and Ph. Guillot, "Bread wheat (*Triticum astivum*) fungal contamination control using a dual microwave-radiofrequency air plasma source", in *International Conference on Plasma Medicine*, Incheon, Korea (ICPM 2021) – poster*
- C. Muja, **M. Soulier**, Ph. Guillot and Ph. Belenguer, "Evaluation of a corona plasma source efficacy as Alfalfa (*Medicago sativa*) seed bacteriological decontamination process", in *International Conference on Plasma Medicine*, Incheon, Korea (ICPM 2021) – poster*
- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, Ph. Belenguer, J. Lo and Ph. Guillot, "Investigation of the efficacy of a dual microwave-radiofrequency low-pressure air plasma source on fungal and mycotoxin proliferation control", in *International Workshop On Plasma Agriculture*, visio (IWOPA 2021) – oral*
- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, Ph. Belenguer, J. Lo and Ph. Guillot, "A low-pressure air plasma improving bell pepper seed germination and vigor", in *International Workshop On Plasma Agriculture*, visio (IWOPA 2021) – poster*
- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, J. Lo and Ph. Guillot, "Germination rate and vigor studies of bell pepper seeds after low-pressure air microwave plasma treatment", in *International Conference On Plasma Sciences*, visio (ICOPS 2020) – poster*
- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, Ph. Belenguer, J. Lo and Ph. Guillot, "Spatial distribution of an ECR microwave plasma coupled with a CCP radiofrequency plasma acting on seed surface modification", in *International Conference on Renewable Energy and Energy Conversion*, Oran, Algeria (ICREEC 2019) – poster
- C. Muja, **M. Soulier**, Ph. Guillot and Ph. Belenguer, "A plasma source at atmospheric pressure for seed treatment and biological decontamination", in *International Conference on Renewable Energy and Energy Conversion*, Oran, Algeria (ICREEC 2019) – poster
- C. Muja, **M. Soulier**, J. Lo, Ph. Belenguer and Ph. Guillot, "Seeds treatment by low-pressure microwave plasma", in *International Conference on Renewable Energy and Energy Conversion*, Oran, Algeria (ICREEC 2019) – oral
- C. Muja, **M. Soulier**, Ph. Guillot and Ph. Belenguer, "An atmospheric plasma source for seed treatment and biological decontamination", in *International Conference on Plasma Physics and Applications*, Iasi, Romania (CPPA 2019) – poster
- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, J. Lo and Ph. Guillot, "Non-thermal electron cyclotron resonance (ECR) air plasmas characteristics and preliminary results in tomato seeds germination", in *International Symposium on Plasma Chemistry*, Naples, Italia (ISPC 2019) – poster
- **M. Soulier**, T. Maho, A. Kais, C. Muja, J. Lo and Ph. Guillot, "Characterization of a non-equilibrium low temperature plasma generated by an ECR plasma source", in *Symposium on Plasma Physics and Technology*, Prague, Czech Republic (SPPT 2018) – poster

*Reportée en raison de l'épidémie de Covid-19

- **M. Soulier**, A. Kais, C. Muja, J. Lo and Ph. Guillot, « Comparison between the sporocidal efficacy of two coaxial micro-waves plasma sources for spices decontamination », in *International Workshop On Plasma Agriculture*, Takayama, Japan (IWOPA 2018) – poster
- C. Muja, **M. Soulier**, J. Lo, Ph. Belenguer and Ph. Guillot, « Corn seeds treatment by coaxial microwave plasma source », in *International Workshop On Plasma Agriculture*, Takayama, Japan (IWOPA 2018) – poster

Conférences nationales

- **M. Soulier**, T. Maho, C. Muja, J. Lo et Ph. Guillot, « Interactions entre un plasma micro-ondes par résonance cyclo-électronique (RCE) et différentes semences du domaine agroalimentaire », au *GdR B2I HappyBIO*, Paris, France (B2I HappyBIO 2019) – poster
- **M. Soulier**, T. Maho, A. Kais, C. Muja, J. Lo et Ph. Guillot, « Caractérisation d'un plasma micro-ondes ECR en vue d'une application à la décontamination bactérienne en agriculture », au *Congrès de la Société Française de Physique – division Plasma*, Bordeaux, France (SFPP 2018) – oral

Lexique

ABA	Acide abscissique
ADN	Acide désoxyribonucléique
DF-CCP	A couplage capacitif double fréquence
DON	Déoxynivalénol
DBD	Décharge à barrières diélectriques
ELISA	Analyse immuno-enzymatique
FDE	Fonction de distribution en énergie
FDEE	Fonction de distribution en énergie des électrons
FPEE	Fonction de probabilité en énergie des électrons
GA	Acide gibbérellique ou gibbérelline
IMO	Interférométrie micro-ondes
MEB	Microscope électronique à balayage
MW	Micro-ondes
MW-ECR	Micro-ondes à la résonance cyclo-électronique
PAM	Milieu activé par plasma
RCE	Résonance cyclo-électronique
RNS	Espèce réactive de l'azote
RONS	Espèce réactive de l'oxygène et de l'azote
ROS	Espèce réactive de l'oxygène
RF	Radiofréquence
RF-CCP	Radiofréquence à couplage capacitif
RF-ICP	Radiofréquence à couplage inductif
SEO	Spectroscopie des émissions optiques
UHF	Ultra haute-fréquence
UV	Ultraviolet

Table des matières

LEXIQUE ..... **I**

INTRODUCTION **1**

CHAPITRE 1 TRAITEMENT DE SEMENCES PAR PLASMA HORS EQUILIBRE **4**

I. CONTAMINATION FONGIQUE DANS LES CEREALES 5

I.A. Céréale d'intérêt pour la consommation humaine **5**

I.B. Conservation et sécurité alimentaire **6**

I.B.1. Contaminations fongiques dans le blé 6

I.B.2. Sécurité alimentaire 11

I.C. Décontamination fongique **13**

I.C.1. Méthodes chimiques 14

I.C.2. Méthodes physiques 15

II. GERMINATION DES SEMENCES 16

II.A. Structure d'une graine **16**

II.B. Cycle de vie d'une graine **17**

II.B.1. Phase de développement 17

II.B.2. Phase de dormance 18

II.B.3. Phase de germination 18

II.C. Rendements agricoles **19**

II.C.1. Chaîne de production des semences 19

II.C.2. Méthodes d'optimisation de la production 20

II.C.3. Agricultures alternatives 21

III. GENERALITES SUR LES PLASMAS 24

III.A. Propriétés fondamentales **24**

III.A.1. Diversité des plasmas 24

III.A.2. Neutralité électrique d'un plasma 25

III.B. Plasmas à haute fréquence **27**

III.B.1. Sources micro-ondes 27

III.B.2. Sources radiofréquences 33

III.B.3. Plasmas à double fréquence 36

IV. ALTERNATIVES PLASMA DANS L'AGRICULTURE 38

IV.A. Interactions potentielles entre le plasma et les cellules **38**

IV.A.1. Effets engendrés par les conditions opératoires 38

IV.A.2. Effets engendrés par les espèces du plasma 39

IV.B. Exemples de procédés plasma étudiés pour l'agriculture **42**

IV.B.1. Décontamination fongique et détoxification des mycotoxines par plasma 42

IV.B.1. Germination de semences par plasma 45

V. CONCLUSIONS SUR LA PROBLEMATIQUE DU TRAITEMENT DES SEMENCES PAR PLASMA 48

CHAPITRE 2 PROCEDE PLASMA ET OUTILS DE DIAGNOSTIC POUR LE TRAITEMENT DE SEMENCES 50
I. CARACTERISATION PHYSIQUE DES PLASMAS GENERES 51
I.A. Dispositif expérimental 51
I.A.1. Enceinte sous vide et constituants 51
I.A.2. Sources plasmas et générateurs électriques 54
I.B. Analyse des émissions optiques des plasmas 61
I.B.1. Spectroscopie d'émission optique 61
I.B.1. Imagerie par caméra ICCD 69
I.C. Caractérisation des propriétés fondamentales des plasmas 73
I.C.1. Sonde de Langmuir 73
I.C.2. Interférométrie micro-ondes 81
I.D. Estimation de la température dans l'enceinte 83
I.D.1. Validité d'une mesure de température par un capteur électrique 84
I.D.2. Evaluation de la température mesurée par un thermocouple de type K 85
I.D.3. Evaluation de la température mesurée par une sonde Pt100 86
II. EFFICACITE FONGICIDE ET DETOXIFIANTE DU PLASMA 88
II.A. Graines sélectionnées 88
II.B. Etude de l'efficacité fongicide du plasma sur le blé 88
II.B.1. Evaluation des contaminations fongiques natives 88
II.B.2. Détermination des genres des moisissures natives 89
II.B.3. Evaluation de l'efficacité fongicide du plasma 90
II.C. Etude de l'efficacité détoxifiante du plasma 90
II.C.1. Analyse de la concentration en mycotoxine DON par la méthode ELISA compétitive 91
II.C.2. Détermination de la concentration initiale de DON sur le blé 93
II.C.3. Evaluation de la dégradation des molécules de DON par la source MW-ECR 93
II.D. Etude des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé 94
II.D.1. Evaluation du taux d'humidité 95
II.D.2. Evaluation de la concentration en gluten du blé 96
II.D.3. Détermination du taux de germination des grains de blé 97
III. EVALUATION DU PROCEDE PLASMA POUR LA GERMINATION DE SEMENCES 98
III.A. Semences sélectionnées 98
III.B. Etude des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du poivron 98
III.B.1. Etude des effets du plasma dans la germination 98
III.B.2. Evaluation des propriétés physico-chimiques 99
III.B.3. Evaluation des propriétés biochimiques 100
CHAPITRE 3 CARACTERISATION PHYSIQUE DU PLASMA 102
I. CARACTERISATION PHYSIQUE DU PLASMA MW 103
I.A. Espèces émissives du plasma 103
I.A.1. Identification des espèces 103
I.A.2. Espèces d'intérêt pour le traitement de semences 105
I.B. Régimes de fonctionnement de la décharge 105
I.B.1. Distribution de la décharge 105
I.B.2. Distribution de la densité électronique 107
I.B.3. Répartition des espèces dans l'enceinte 110
I.B.4. Conditions opératoires en fonction des régimes de décharge 115
I.C. Températures caractéristiques du plasma 117
I.C.1. Température dans l'enceinte 117
I.C.2. Température électronique 118
I.C.3. Température vibrationnelle 121
I.C.4. Température rotationnelle 122
I.C.5. Températures caractéristiques en fonction des régimes de décharge 123

I.D. Formation et perte des espèces dans la décharge 123
I.D.1. Fonction de distribution en énergie des électrons 124
I.D.2. Processus de création et de perte des espèces réactives 127
I.D.3. Caractéristiques des réactions en fonction des régimes de décharge 132
II. CARACTERISATION PHYSIQUE DU PLASMA MW+RF 133
II.A. Répartition du plasma dans l'enceinte 133
II.A.1. Distribution de la décharge 133
II.A.2. Répartition des espèces émissives 135
II.A.3. Processus de formation et de perte des espèces 138
II.B. Propriétés fondamentales du plasma 139
II.B.1. Température électronique 139
II.B.2. Densité électronique 142
II.B.3. Couplage du flux et de l'énergie des ions 145
III. CONCLUSIONS SUR LES CARACTERISTIQUES DU PLASMA POUR UNE OPTIMISATION DU TRAITEMENT DES SEMENCES 148

CHAPITRE 4 EVALUATION DE L'EFFICACITE DU PROCEDE PLASMA POUR LE TRAITEMENT DE SEMENCES 151
I. INFLUENCE DE LA PRESENCE DE GRAINES SUR LES PLASMAS 152
I.A. Evaluation des propriétés électroniques en présence de graines 152
I.B. Evaluation des espèces émissives en présence de graines 153
II. EFFETS DU PLASMA DANS LA DECONTAMINATION FONGIQUE DU BLE 155
II.A. Détermination de l'efficacité fongicide du plasma 155
II.A.1. Caractérisation des contaminations fongiques natives des grains de blé 155
II.A.2. Inactivation des moisissures natives du blé par le procédé plasma 157
II.B. Détermination de l'efficacité détoxifiante du plasma MW 161
II.B.1. Détermination des conditions opératoires 162
II.B.2. Evaluation de l'efficacité détoxifiante de la source MW-ECR 162
II.C. Détermination des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé 165
II.C.1. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés de panification 166
II.C.2. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés germinatives du blé 168
III. EFFETS DU PLASMA DANS LA GERMINATION DES SEMENCES DE POIVRON 170
III.A. Conditions de traitement des semences 170
III.B. Détermination de l'efficacité du plasma dans le processus de germination 171
III.B.1. Evaluation des effets du plasma sur la viabilité des semences 171
III.B.2. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés germinatives des semences 172
III.B.3. Evaluation des effets sur l'activité antioxydante des semences 178
IV. CONCLUSIONS SUR LES EFFETS DU PROCEDE PLASMA POUR LE TRAITEMENT DE SEMENCES 180

CONCLUSION 181

PERSPECTIVES 184

ANNEXES 186
I. FONCTIONS DE DISTRIBUTION EN ENERGIE 186
II. THEORIES DE COLLECTION DES IONS PAR SONDE DE LANGMUIR 188
III. IMAGERIE ICCD FILTREE EN PRESENCE DES DEUX SOURCES 189
IV. MESURES ET INCERTITUDES 191
V. SUBSTANCES CHIMIQUES 191
VI. MILIEUX DE CULTURE BIOLOGIQUE 193

RÉFÉRENCES 196

Introduction

Les plasmas hors équilibre thermodynamique sont étudiés depuis le XIXe siècle, en intégrant généralement l'évaluation de leurs propriétés fondamentales dépendantes du gaz, du mode de génération et de la géométrie de la décharge. Ces diverses configurations et la variété d'espèces qui composent les plasmas permettent leur utilisation dans de nombreux domaines d'application. Les propriétés émissives des plasmas ont d'abord été mises en avant pour des dispositifs d'éclairage. Leur réactivité chimique a ensuite été appliquée sur différents substrats pour la fabrication de composants de micro-électronique. Ces dernières années, les recherches se sont axées sur les interactions des plasmas avec des substrats biologiques : des bactéries, des cellules cancéreuses, des moisissures et des végétaux. Différents agents du plasma (photons UV, espèces réactives et espèces chargées) s'avèrent présents naturellement dans les mécanismes responsables du développement ou de l'inactivation des cellules biologiques. L'utilisation du plasma est étudiée dans les domaines médical et agroalimentaire pour accentuer ces processus.

Dans le domaine agroalimentaire, les pratiques agricoles mises en œuvre depuis la fin des années 1950 sont fondées sur une agriculture intensive des sols et une irrigation massive pour rentabiliser les cultures. Celles-ci ont entraîné des effets secondaires néfastes pour l'environnement, pour l'agriculteur et pour le consommateur. Les pratiques agricoles sont en train d'évoluer afin de limiter, voire d'éviter ces effets tout en permettant une production suffisante afin de nourrir la population mondiale croissante.

Les plasmas non-thermiques pourraient contribuer au développement de ces pratiques après une analyse approfondie des interactions entre leurs éléments constitutifs et les substrats biologiques ciblés. Les mécanismes entraînant les effets du plasma sur ces substrats sont encore mal connus et les procédés actuels reposent sur des dispositifs de laboratoire, de faibles dimensions en comparaison avec ceux utilisés dans l'industrie agroalimentaire.

Une étude de faisabilité d'un procédé de plasma d'air à basse pression pour le traitement de semences est réalisée dans cette thèse.

- Le chapitre 1 met en avant certaines grandes problématiques agricoles auxquelles le monde socio-économique est désormais confronté, ainsi que des notions de base sur les plasmas et des éléments démontrant leur intérêt potentiel dans le traitement de semences.
  - La conservation des céréales et la sécurité sanitaire du consommateur sont décrites à travers la contamination fongique de grains de blé, la céréale la plus consommée en France. Les moisissures se nourrissent des nutriments du blé dans un environnement favorable à leur développement, humide et tempéré, conduisant à la dégradation des grains et au gaspillage des réserves. Elles sont susceptibles de produire des mycotoxines, présentant un risque sanitaire pour le consommateur. Les méthodes actuelles permettant

de limiter la présence de ces contaminants sont introduites en présentant à la fois leurs avantages et leurs inconvénients.

- L'optimisation du rendement des cultures et la sécurité sanitaire de l'agriculteur sont abordées à partir d'une description du processus de germination des semences et des méthodes employées pour augmenter la production.

Les propriétés fondamentales et les caractéristiques principales des plasmas sont ensuite présentées avant de mettre en avant les interactions entre les agents du plasma (espèces chargées, photons UV et espèces réactives de l'oxygène et de l'azote) et les substrats biologiques (moisissures et graines) décrites dans la littérature pour répondre à ces problématiques agricoles.

- Le chapitre 2 décrit la démarche expérimentale mise en œuvre à travers la présentation du dispositif expérimental et des diagnostics physiques déployés pour caractériser les plasmas générés. Les méthodes utilisées pour évaluer les actions du plasma sur les graines dans le contexte applicatif précédent sont également présentées.

- Le chapitre 3 correspond à la caractérisation expérimentale des propriétés physiques des plasmas. Deux modes de génération du plasma sont utilisés.
  - Les caractéristiques fondamentales d'un plasma d'air généré par une source micro-ondes à résonance cyclo-électronique (MW-ECR) sont cartographiées en fonction de la puissance injectée dans la décharge. La distribution des électrons et des espèces réactives permet de mettre en avant les principales réactions mises en jeu entre les constituants du plasma.
  - Une étude paramétrique est ensuite réalisée en ajoutant une contribution de puissance radiofréquence. Celle-ci mène à la caractérisation d'un plasma généré par l'association de la source MW-ECR avec une source radiofréquence à couplage capacitif (RF-CCP).

  Les propriétés optiques du plasma sont évaluées par imagerie ICCD et par spectroscopie d'émission optique par le biais de la distribution spatiale des espèces émissives caractéristiques d'un plasma d'air et susceptibles d'interagir avec les semences. Les propriétés électriques sont déterminées par des mesures de sonde de Langmuir afin de décrire la distribution de la densité et de la température des électrons dans l'enceinte. Des mesures complémentaires sont réalisées par interférométrie micro-ondes et avec des capteurs électriques de température.

- Le chapitre 4 est consacré à la mise en application du procédé plasma, généré par la source MW-ECR seule puis en la couplant à la source RF-CCP, pour le traitement de semences.
  - Une étude préliminaire reprenant la caractérisation physique du plasma avec des graines dans le réacteur permet d'affirmer que les propriétés décrites dans le chapitre 3 peuvent être utilisées pour interpréter l'action du plasma sur les graines traitées.
  - L'efficacité fongicide du procédé plasma est évaluée dans le cadre de la décontamination fongique de grains de blé. Une analyse préliminaire s'intéresse aux genres des moisissures natives présents sur les grains et à leur provenance. La flore native totale est ensuite inactivée par le procédé plasma, en utilisant d'abord la source MW-ECR seule puis en la couplant avec la source RF-CCP. Les agents responsables de cette inactivation sont discutés à partir des travaux de la littérature.

- La capacité de dégradation de mycotoxines de la source MW-ECR est estimée sur le déoxynivalénol, une toxine responsable de dysfonctionnements du système digestif. L'influence du substrat dans l'efficacité du plasma est mise en évidence en comparant les résultats obtenus avec un substrat de verre et des grains de blé.
- Les effets du procédé plasma dans la germination de semences de poivron sont étudiés à partir de l'évaluation des propriétés germinatives des graines (le taux et la vitesse de germination), de leurs propriétés de surface (la perméabilisation) et de la présence d'une activité antioxydante dans la graine.

La conclusion comprend une synthèse des principaux résultats obtenus. Elle permet de discuter de la capacité du plasma à répondre à ces problématiques du traitement des semences et de présenter des perspectives associées à ce travail.

Chapitre 1
Traitement de semences par plasma hors équilibre

Ce chapitre présente un état de l'art de la problématique du traitement de semences par un procédé de plasma hors équilibre thermodynamique. Les principaux enjeux de l'agriculture sont la conservation des semences et l'optimisation du rendement des cultures, en garantissant la sécurité sanitaire de l'agriculteur au consommateur et en préservant la biodiversité. Le chapitre comprend deux axes principaux, compartimentés en deux sections. Celles-ci présentent les notions générales relatives à la compréhension des chapitres de caractérisation expérimentale du procédé plasma et de son potentiel d'action dans le traitement des semences.

Le premier axe introduit les problématiques majeures concernant les graines à travers la contamination fongique dans les céréales et la germination de semences paysannes. Les contaminations fongiques dans les céréales sont présentées pour comprendre leurs effets sur la préservation des graines et la sécurité alimentaire des consommateurs. Les processus de germination des semences paysannes sont définis pour appréhender les possibilités d'optimisation des rendements agricoles.

Le deuxième axe concerne le procédé plasma étudié et optimisé pour répondre à ces problématiques. La première section est consacrée aux propriétés fondamentales des plasmas et au mode de fonctionnement des plasmas à haute fréquence. L'alternative potentielle offerte par les plasmas hors équilibre pour le traitement des semences est explicitée en présentant les composantes du plasma capables d'interagir avec un substrat biologique à partir des premières applications étudiées dans le contexte agroalimentaire.

I. Contamination fongique dans les céréales

I.A. Céréale d'intérêt pour la consommation humaine

Les céréales représentent la base de l'alimentation animale et humaine, consommées brutes ou sous forme de produits transformés. Les productions céréalières se répartissent majoritairement en Chine, aux Etats-Unis et dans l'Union Européenne. Le riz, le maïs et le blé représentent les trois céréales les plus répandues. Au sein de l'Union Européenne, le blé domine le marché grâce à son adaptabilité (température, humidité, etc.) et à sa facilité de stockage et de transformation : du blé dur (*Triticum durum* L.), produit principalement en Italie pour réaliser des pâtes, au blé tendre (*Triticum aestivum* L.) dont la production est centralisée en France pour la fabrication de pains et de biscuits [1]. Les rétrospectives de 2019 montrent que la production de blé tendre constitue 30% du marché mondial [2] et 60% du marché français [3].

Le blé tendre est une source de nutriments essentielle dans l'alimentation humaine. Il est consommé pour sa forte teneur en glucides (70-80% par grain) et représente 20% de l'apport protéique moyen quotidien [4]. Ce blé est également constitué de fibres (10-15%), de lipides, de minéraux et de vitamines présents en moindre quantité. Un grain de blé contient une graine et un péricarpe qui l'enveloppe et la protège des agressions extérieures. Le péricarpe du grain de blé présente des aspérités et des creux dont un sillon dans lesquels se logent les contaminants. La graine est composée de plusieurs couches à la composition chimique différente qui lui confèrent ses propriétés nutritives pour le consommateur et germinatives pour le développement de la plante. Les couches principales sont schématisées sur la Figure I-1.

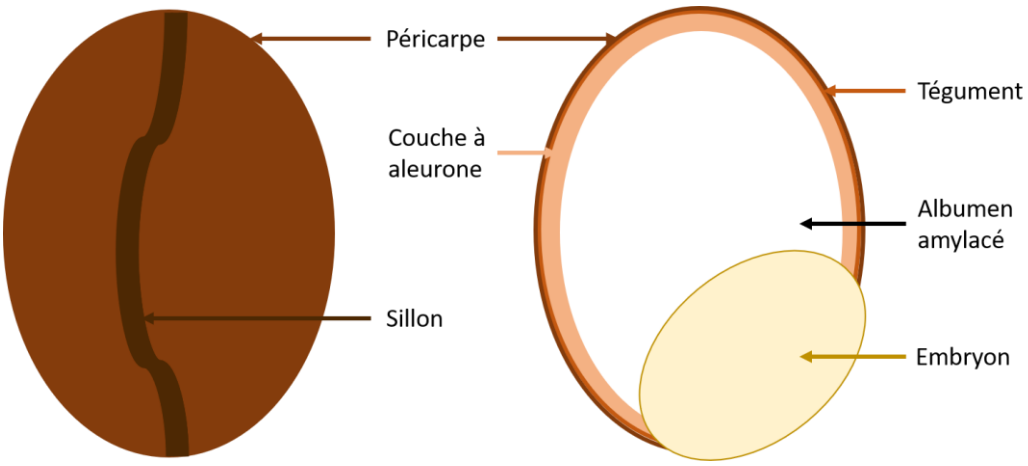


Figure I-1 Schéma en coupe longitudinale des constituants biologiques d'un grain de blé

Le tégument constitue une enveloppe protectrice de la graine, il contient un tissu de réserves nutritionnelles, nommé l'albumen, et l'embryon [5]. L'embryon est une structure vivante de la graine qui permet son développement au cours de la germination. Les enveloppes (péricarpe et tégument) sont majoritairement constituées de fibres de cellulose, *i.e.* de chaînes de polymères. Un grain de blé est composé à 10-15% de protéines, situées dans l'albumen (couche à aleurone et albumen amylacé) et dans l'embryon (ou le germe). Ce taux varie en fonction du milieu

environnant et de sa teneur en diazote. La couche à aleurone permet de stocker 20% des protéines, riches en acides aminés essentiels. Ces derniers garantissent les qualités nutritionnelles des protéines. Ils ne sont pas synthétisés par le métabolisme humain mais font partie des éléments nutritifs dont il a besoin. Cette couche est également constituée de micronutriments (*e.g.* vitamines, minéraux) transmis à l'embryon pour favoriser la germination. La farine blanche est produite à partir de l'albumen amylacé, contenant l'amidon (les glucides) et les protéines prolamines, nommées gliadines dans les céréales du genre *Triticum*. Ces protéines, sont principalement composées des acides aminés glutamine et proline, responsables de la production du gluten dans la farine de blé. Le gluten confère à la farine humidifiée ses propriétés de viscoélasticité qui assurent les qualités du pain : élasticité, levée de la pâte, conservation de la forme et sa texture après la cuisson [6].

Le blé tendre est majoritairement produit et consommé en France pour sa forte teneur en nutriments (glucides, protéines et fibres). La composition de l'albumen amylacé, qui représente 80% de la masse du grain, favorise la transformation en farine et la production de protéines de gluten qui facilitent la fabrication de pâtes viscoélastiques pour la panification.

I.B. Conservation et sécurité alimentaire

La préservation des graines des attaques extérieures (insectes, bactéries, moisissures) est une problématique centrale de l'agriculture à la fois pour l'optimisation des rendements et pour la sécurité sanitaire du consommateur. Les céréales, notamment le blé tendre, sont principalement impactées par des moisissures. Ces dernières sont responsables du gaspillage à grande échelle sur la chaîne de stockage et peuvent produire des mycotoxines toxiques pour le consommateur.

I.B.1. Contaminations fongiques dans le blé

Les moisissures sont des champignons microscopiques capables de se développer dans différents milieux, notamment dans les aliments, bruts ou transformés, et d'en altérer les propriétés. Leur prolifération dépend des conditions physico-chimiques de température, d'humidité et des nutriments du milieu.

I.B.1.a. Développement des moisissures

Les moisissures appartiennent au domaine des eucaryotes et font partie du règne des Mycètes (*Fungi*) selon la classification de Whittaker [7]. Dans une cellule eucaryote, le matériel génétique est contenu dans un noyau, *i.e.* une structure différenciée délimitée par une membrane. Les organites (noyau, vacuole et autres) flottent dans le cytoplasme, entourés par une membrane cellulaire. L'ensemble est enveloppé dans une paroi cellulaire constituée de cellulose ou de chitine.

Structure des moisissures – Les moisissures ont un appareil végétatif pluricellulaire, le **thalle**, pouvant être cloisonné ou non. Le thalle est constitué de filaments, les **hyphes**. Ces derniers correspondent à des chaînes de cellules eucaryotes végétales allongées, filamentaires, pouvant être ramifiées. Les hyphes possèdent des diamètres de l'ordre du micromètre et peuvent atteindre plusieurs centimètres de long. Leur enchevêtrement entraîne la formation du **mycélium** (*cf.* Figure I-2).

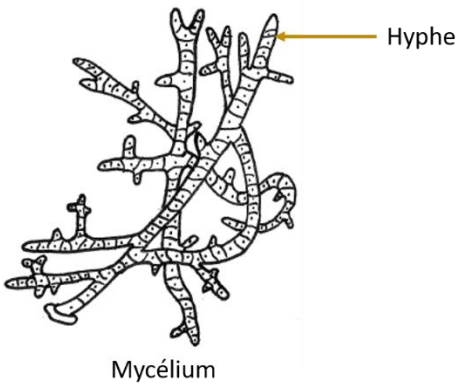


Figure I-2 Organisation des hyphes dans la formation du mycélium

Le mycélium est structuré en deux types de cellules aux fonctions différentes pour la moisissure. La partie principale constitue le **mycélium végétatif**. Celui-ci se propage à la surface du substrat contaminé afin d'y puiser les nutriments nécessaires à son développement. La seconde partie s'élève hors du mycélium végétatif pour former le **mycélium aérien**. La terminaison de ces hyphes contient les organes de fructification, les **spores**, correspondant aux structures reproductives de la moisissure.

Cycle de développement des moisissures – Le développement des moisissures est composé de deux phases interdépendantes, l'une assurant la croissance de la moisissure et l'autre sa reproduction.

- Dans la **phase de croissance**, assurée par le mycélium végétatif, le développement d'une moisissure est initié par la germination d'une spore lorsque les conditions environnementales y sont favorables. La moisissure colonise ainsi la surface du substrat, le digérant à l'aide d'enzymes afin d'obtenir les nutriments permettant d'assurer la propagation du mycélium.
- Dans la **phase de reproduction**, assurée par les organes de fructification aux extrémités du mycélium aérien, les moisissures produisent les spores. Celles-ci sont responsables de la dissémination de l'espèce dans l'air ambiant ou par contact entre deux surfaces. Toutes les moisissures possèdent la capacité de se reproduire de manière asexuée (végétative) et certaines d'entre elles peuvent avoir une forme de reproduction sexuée.

Conditions environnementales – Les moisissures sont hétérotrophes, elles se nourrissent de matières organiques, de glucides et d'eau présents dans leur environnement (substrat et air). En complément de ces nutriments, différentes caractéristiques physico-chimiques peuvent être favorables à leur croissance en fonction du genre voire de l'espèce de la moisissure [8].

- L'**humidité** du milieu est un des facteurs prépondérants dans le développement des moisissures. Dans le domaine agroalimentaire, il ne suffit pas de connaître l'humidité relative d'un aliment pour le caractériser, il est plus fréquent d'utiliser l'activité de l'eau a_w. Cette grandeur indique la quantité d'eau disponible dans l'aliment à travers les rapports entre la pression de la vapeur d'eau du produit et sa pression de vapeur saturante à une température donnée. Une moisissure xérophile est capable de germer dans un milieu à faible activité ($< 0{,}85\ a_w$). Le Tableau I-1 répertorie les activités de l'eau des quatre genres d'intérêt agroalimentaire. Des espèces xérophiles sont présentes parmi les genres *Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*. (*e.g. A. flavus*, *A. niger* et *P. citrinum* [9]).

Tableau I-1

Gamme des activités de l'eau des quatre principaux genres de moisissures identifiés sur des grains de blé [10]

Genre	Activité de l'eau
Fusarium spp.	0,86-0,91
Alternaria spp.	0,85-0,88
Aspergillus spp.	0,77-0,96
Penicillium spp.	0,78-0,88

- La **température** du milieu influe sur la vitesse de croissance des moisissures. Celles-ci sont majoritairement mésophiles, elles prolifèrent à la température ambiante (entre 20 et 30°C). Elles peuvent être thermotolérantes et se développer sur une large gamme de température (*e.g. Aspergillus flavus* et *A. niger* entre 8 et 45°C). Plusieurs genres de moisissures sont favorables à de faibles températures (*e.g. Fusarium spp*. et *Penicillium spp*. de -7 à 5°C). Les moisissures présentes dans les produits agroalimentaires sont rarement thermophiles, elles ne sont pas résistantes à des températures supérieures à 60°C (*e.g*. peu de moisissures survivent à la cuisson du pain).
- Le milieu doit contenir de l'**oxygène**, même en faible quantité (*e.g. Penicillium expansum* à 2,1%). Les moisissures filamenteuses sont aérobies, elles ont besoin d'oxygène pour vivre.
- L'**acidité** du milieu est estimée par le pH. Les moisissures ne sont que rarement affectées par celle-ci.

Les moisissures se développent grâce aux nutriments présents dans leur milieu environnant et prolifèrent dans ce dernier à partir de spores fongiques, plus résistantes aux conditions extrêmes du milieu et susceptibles de se transmettre par voie aérienne ou par contact entre deux surfaces. Elles existent sous différentes formes présentant des caractéristiques variées qui peuvent les rendre spécifiques à un environnement.

I.B.1.b. Caractéristiques des moisissures du blé

Les grains de blé peuvent être contaminés par des moisissures tout au long de la chaîne de production. Leur présence entraîne le plus souvent une diminution du rendement des cultures, si les contaminants prolifèrent dans le champ, et des réserves, lorsqu'un lot n'est pas conservé dans des conditions qui inhibent leur croissance [11].

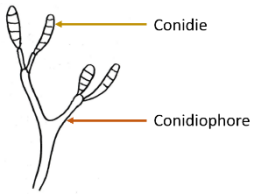
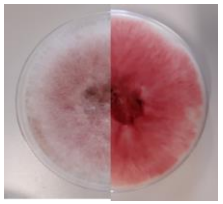
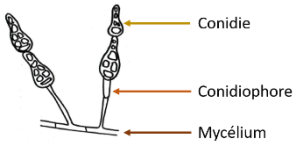
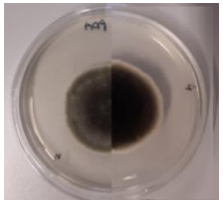
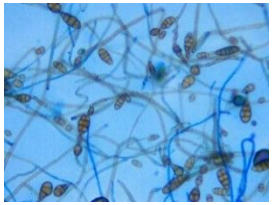
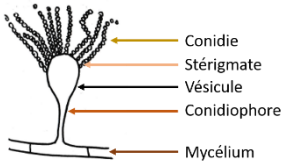
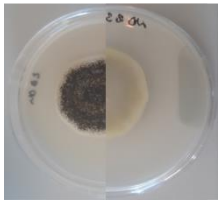
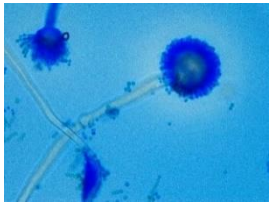
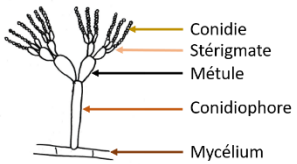
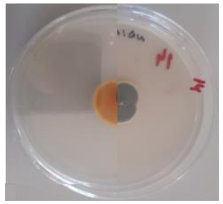
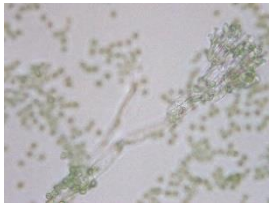
Contaminants des champs – Les principaux genres contaminant les grains de blé dans le champ sont *Fusarium spp*. et *Alternaria spp*. Ces moisissures participent à la décomposition des matières organiques mortes du sol. Lorsque l'humidité du sol est importante, elles peuvent générer des maladies, appelées fusarioses [12] (respectivement alternarioses [13]), sur les cultures, principalement sur le blé. Ces contaminants entraînent une pourriture des cultures, avec des épis décolorés (respectivement des feuilles brunies) et des grains moins vigoureux.

Contaminants des réserves – La qualité de conservation des grains après la récolte dépend des conditions de stockage. Un taux d'humidité et une température ambiante élevés ainsi que des aérations ou une ventilation mal contrôlée constituent un environnement favorable au développement des moisissures des genres *Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*. Ces contaminants se nourrissent des nutriments présents dans les semences et altèrent leurs propriétés nutritionnelles et germinatives [14].

Les caractéristiques morphologiques principales (couleur, forme du thalle et des conidies) de chaque genre sont répertoriées dans le Tableau I-2.

Les contaminations fongiques présentes dans le sol peuvent continuer de proliférer dans les chaînes de stockage, zones pour lesquelles d'autres moisissures se rajoutent et nuisent à la préservation des grains de blé. Il existe quatre genres prépondérants de moisissures susceptibles de contaminer les graines de blé.

Tableau I-2 Caractéristiques morphologiques principales représentatives des genres de moisissures présentes dans les grains de blé

Genre	Caractéristiques morphologiques [8]	Dessin d'observation [15]	Vue macroscopique (recto/verso)	Vue microscopique
Fusarium spp.	**Macroscopiques :** colonies à l'aspect cotonneux, blanches, avec le revers rose, violet ou jaune **Microscopiques :** conidies ovales ou en forme de croissant, attachées aux conidiophores ; spores unicellulaires ou pluricellulaires ; mycélium cloisonné			
Alternaria spp.	**Macroscopiques** : colonies gris-vertes ou noires avec les bords gris, mycélium aérien peu dense **Microscopiques :** conidies multicellulaires en forme de poire et attachées aux conidiophores individuels provenant du mycélium cloisonné			
Aspergillus spp.	**Macroscopiques** : colonies blanches qui deviennent vert-bleuâtres, noires ou marron à maturité **Microscopiques :** conidies unicellulaires formant des longues chaînes au bout d'une phialide provenant du tube terminal du conidiophore ; mycélium cloisonné			
Penicillium spp.	**Macroscopiques** : colonies à l'aspect poudreux, grises ou gris-bleuâtres et bords blancs à maturité **Microscopiques :** conidies unicellulaires formant des longues chaînes au bout d'une phialide provenant du métule du conidiophore ; mycélium cloisonné			

I.B.2. Sécurité alimentaire

Les moisissures se propagent d'un milieu à l'autre par des spores. Tant qu'elles n'entrent pas dans la phase de germination, celles-ci n'induisent pas la péremption des graines contaminées. Les spores, de forme sphérique et infiniment petites peuvent échapper aux systèmes actuels de décontamination fongique. Elles constituent alors un risque sanitaire pour le consommateur. Les moisissures n'ont pas seulement la faculté de proliférer sur des substrats organiques. Elles sont également susceptibles de produire des substances chimiques au cours de leur processus métabolique. Ces substances, appelées mycotoxines, peuvent être toxiques et pathogènes pour le consommateur.

I.B.2.a. Description des mycotoxines

Le métabolisme principal d'une moisissure englobe les réactions chimiques intrinsèques nécessaires à sa survie : sa reproduction et sa croissance. Ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques qui lui permettent de synthétiser les nutriments qu'elle puise dans son milieu environnant sous formes d'acides aminés, de lipides et de glucides. Des composés organiques sans intérêt nutritif peuvent également être métabolisés par le mycélium de certaines moisissures, il s'agit des métabolites secondaires dont font partie les mycotoxines [16]. Leur structure chimique les rend thermorésistantes aux procédés thermiques industriels de décontamination fongique. Ces substances sont alors susceptibles d'être toxiques pour le consommateur des céréales ou de leurs produits transformés. Elles se propagent dans son organisme par ingestion des aliments, par inhalation ou par voie cutanée [17].

Les genres de moisissure peuvent produire une ou plusieurs variétés de mycotoxines [18]. Les moisissures du genre *Aspergillus spp.*, par exemple, génèrent des toxines issues des familles des ochratoxines, des fumonisines et des aflatoxines. L'importance relative des effets des mycotoxines sur la santé du consommateur dépend de leur structure chimique selon qu'elle soit linéaire ou ramifiée, et selon le nombre d'insaturations (*cf.* Figure I-3).

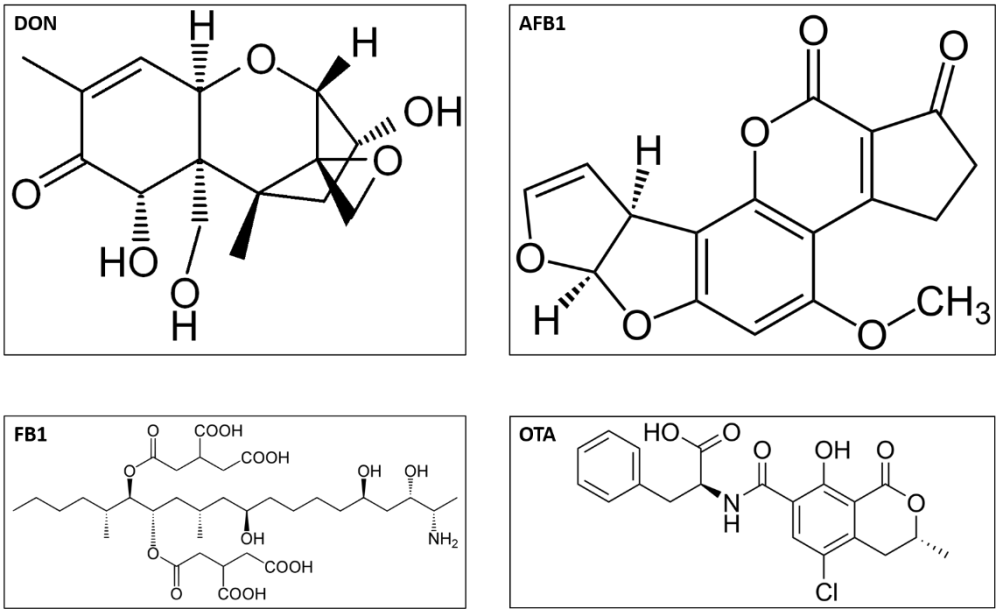


Figure I-3 Structures moléculaires de quatre mycotoxines appartenant aux familles identifiées sur les blés

Les principales mycotoxines produites par les moisissures présentes dans le blé appartiennent à quatre familles chimiques [19]. Leur solubilité en fonction des solvants conditionne leur rayon d'action sur le consommateur.

Trichothécènes – Ces mycotoxines sont produites dans les sols humides, par les moisissures du genre *Fusarium spp*. Celles-ci sont réparties en deux catégories A et B dépendant de leur solubilité et entraînant des actions différentes sur le consommateur. La toxine T-2 par exemple fait partie de la catégorie A, elle est soluble dans des solvants aprotiques. Le déoxynivalénol (DON), du groupe B, est soluble dans l'eau et dans les alcools.

Aflatoxines – Celles-ci sont majoritairement produites sur la chaîne de stockage par des moisissures du genre *Aspergillus spp*. Cette famille contient 18 substances, solubles en milieu polaire organique et classées en fonction de leur toxicité. Le métabolite AFB1 est le plus toxique pour le consommateur et pourtant le plus présent dans les céréales.

Fumonisines – Elles contaminent essentiellement les semences. Leur production est favorisée par une humidité relative importante lors de la germination des spores de moisissures du genre *Fusarium spp*. Elles sont de structures linéaires ramifiées, solubles dans l'eau. La fumonisine FB1 s'est avérée être la plus toxique pour le consommateur.

Ochratoxines – Ces toxines sont produites à la fois dans le champ et pendant la conservation des semences par des moisissures des genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*. L'OTA est la plus abondante dans les céréales et la plus toxique pour les consommateurs humains.

Les mycotoxines sont des substances chimiques participant au métabolisme secondaire des moisissures. Les grains de blé sont contaminés par quatre variétés de mycotoxines dont la toxicité pour le consommateur est déterminante de la structure chimique de la toxine.

I.B.2.b. Risques sanitaires pour les consommateurs

Les mycotoxines précédemment citées se sont avérées toxiques pour des consommateurs humains ou animaux [20]. Leurs principaux symptômes engendrés par leur consommation sont recensés dans le Tableau I-3. Au fil des années, différentes épidémies causées par ces mycotoxines ont été relevées dans le monde. Trois exemples historiques de contaminations humaine, animale et de travaux de recherche effectués sur les risques sanitaires de ces mycotoxines sont cités.

- En 1960, cent mille dindes sont mortes après avoir ingéré du tourteau d'arachide contaminé par des moisissures du genre *Aspergillus spp*. contenant des aflatoxines en Angleterre [21].
- En 1987, une contamination par des mycotoxines de la famille des trichothécènes sur du pain fabriqué à partir de blé contaminé par des moisissures de genre *Fusarium spp*. a engendré des intoxications alimentaires en Inde [22].
- En 1993, les effets cancérigènes des aflatoxines du groupe 1 et des fumonisines FB1 ont été vérifiés en laboratoire par l'agence internationale pour la recherche contre le cancer [23].

Tableau I-3

Principales mycotoxines retrouvées sur des grains de blé, effets potentiels pour le consommateur

Familles	Mycotoxines	Moisissures	Effets possibles sur le consommateur	Références
Trichothécène	DON, T-2	*Fusarium spp.*	Vomissements, diarrhée, refus de s'alimenter	[24], [25]
Aflatoxine	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2	*Aspergillus spp.*	Cancérigène, immunotoxique	[26], [27]
Fumonisine	FB1, FB2, FB3, FB4	*Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*	Cancérigène, œdème pulmonaire	[28], [29]
Ochratoxine	OTA, OTB, OTC	*Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*	Cancérigène, immunotoxique, néphrotoxique	[30], [31]

Les organismes régissant la législation à différentes échelles dans le monde restreignent les quantités de ces mycotoxines en fonction des risques sanitaires encourus. A titre d'exemples [32], l'US food and drug administration (FDA) et l'autorité européenne pour la sécurité alimentaire (EFSA) limitent les taux d'aflatoxine AFB1 à 20 ng/g (FDA) et de 2 à 12 ng/g (EFSA) sur du blé. La teneur tolérée en trichothécène DON dans les céréales et leurs produits transformés est de 1000 ng/g (FDA) et de 50 à 200 ng/g (EFSA).

Les mycotoxines sont susceptibles de présenter des risques sanitaires importants pour le consommateur. Ces effets dépendent de la toxine ingérée ou inhalée et du consommateur, humain ou animal. Un contrôle qualité et des normes limitant les quantités de ces mycotoxines dans les aliments en fonction de la toxicité de la toxine s'avère nécessaire pour préserver la sécurité du consommateur. Les méthodes de détection ainsi que celles de dégradation des toxines dans les produits contaminés sont au cœur des problématiques actuelles.

I.C. Décontamination fongique

Depuis l'industrialisation de l'agriculture, différentes techniques sont développées pour décontaminer les semences sur l'ensemble de la chaîne de production des graines : du champ à la zone de transformation du produit. Les méthodes industrielles de décontamination fongique des céréales peuvent être classées selon leur caractère chimique ou physique [19]. Les traitements chimiques, ou fongicides, sont les plus répandus et les plus efficaces, à la fois dans l'inactivation des moisissures et dans la dégradation des mycotoxines.

I.C.1. Méthodes chimiques

Les fongicides sont des composés chimiques massivement utilisés qui ciblent différents pathogènes, généralement un genre ou plusieurs espèces d'un même genre de moisissures [33]. Un premier traitement est réalisé à titre préventif sur la chaîne de conservation des semences afin d'éviter les contaminations fongiques de surface et internes à la graine. Un second traitement est appliqué à titre curatif pour inhiber la croissance des pathogènes en provenance du sol qui contaminent les semences pendant la germination et les récoltes. Leur principe d'action dépend à la fois du substrat à décontaminer (graine, fruit, feuille) et de la moisissure (spore ou mycélium).

Fongicide de contact – Ces fongicides sont appliqués en surface du substrat, uniquement à titre préventif [34], [35]. Ils agissent directement sur les enzymes responsables du métabolisme des cellules eucaryotes. Ces fongicides sont peu spécifiques à un genre de moisissure, généralement composés de métaux tels que le soufre, le mercure ou le cuivre (*e.g.* bouillie bordelaise). Enrobant le substrat en surface, leur action est limitée dans le temps par les conditions environnementales (*e.g.* rayonnement UV et pluie) et une application régulière peut être nécessaire.

Fongicide systémique – Cette catégorie regroupe les fongicides qui protègent l'intégralité du substrat en pénétrant dans son volume, à titre préventif ou curatif [36]–[38]. Ils sont spécifiques à une pathologie donnée et leur mode d'action en dépend. Les SDHI (succinate déshydrogénase) inhibent les fonctions respiratoires des moisissures. Les triazoles inhibent la synthèse des stérols (un lipide) et altèrent la membrane cellulaire fongique [36].

Plusieurs inconvénients sont à souligner concernant l'usage massif des fongicides dans le traitement des cultures [39].

- Les fongicides constituent des molécules toxiques pour les moisissures mais également pour les végétaux, les animaux et les humains [40]. Un fongicide de contact peut être épandu dans un champ, des particules peuvent être inhalées par l'agriculteur et les insectes environnants. Leur présence sur les végétaux entraîne la dénaturation de leurs qualités organoleptiques et peut amener le consommateur à en ingérer. Ils nuisent à la santé humaine et à la biodiversité.
- Les moisissures développent une résistance aux fongicides [41] à force d'y être exposées de manière intensive depuis plusieurs années. Les organismes nationaux de sécurité sanitaire et d'agriculture (ANSES[1], INRAE[2] et Arvalis[3]) ont recensé les souches résistantes sur le blé et mettent en place des plans d'action en 2020 pour préserver l'efficacité des fongicides.

Les fongicides constituent un moyen efficace de décontamination des graines. De nouvelles pratiques doivent pourtant voir le jour à cause de leurs effets secondaires (impact environnemental, risques sanitaires) et de la résistance que développent les moisissures ciblées.

[1] ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
[2] INRAE : Institut national de la recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement
[3] Arvalis : Institut du végétal

I.C.2. Méthodes physiques

Les procédés physiques sont axés sur des principes mécaniques ou thermiques de décontamination de la surface des graines après la récolte [42]–[44]. Leur utilisation dépend de la transformation que la graine doit subir avant d'être consommée. Ils sont généralement efficaces dans l'inactivation des moisissures, moins dans la dégradation de mycotoxines et ont tendance à réduire les qualités organoleptiques des aliments.

Tri et décorticage – Le lavage et le tri des grains constituent les premières étapes de la chaîne. Les grains sont triés soit par leur masse, soit par des considérations esthétiques : leur géométrie, leur couleur. Ces méthodes permettent de réduire la prolifération des moisissures en retirant les grains déjà contaminés ou moins vigoureux qui présentent des risques plus importants. Le décorticage consiste à retirer l'enveloppe de la graine. La décontamination des moisissures est effective étant donné qu'elles sont concentrées en surface des graines [42].

Un grain de blé utilisé pour la panification est ensuite soumis aux techniques de broyage, lors de la préparation de la farine et de chauffage à la cuisson du pain.

Broyage – La teneur en mycotoxines et les contaminations fongiques ne sont pas réduites par le processus de broyage. Les moutures réalisées sans enveloppe présentent une plus faible contamination induite par le décorticage [42]–[44].

Chauffage – La cuisson du pain constitue généralement un moyen efficace pour assurer l'inactivation des moisissures, celles présentes dans le domaine agroalimentaire étant peu résistantes à de hautes températures. Seitz *et al.* [45] ont analysé la teneur en mycotoxine DON sur du pain issu de sept lots de blé. Les graines ont été préalablement lavées et broyées pour réaliser la farine. La concentration de DON présente dans le pain est réduite sur certains lots, en moyenne de 20% ou équivalente sur d'autres. La cuisson de la farine ne garantit pas la dégradation des mycotoxines.

Ces méthodes n'ont aucune action d'inactivation des moisissures ou de dégradation des mycotoxines. Les spores des moisissures peuvent se loger dans les aspérités du grain de blé et les mycotoxines sont thermorésistantes réduisant l'efficacité de ces procédés. Le décorticage et le chauffage entraînent également une diminution des apports nutritionnels du blé.

Les aspérités dans la surface des grains de blé réduisent l'efficacité fongicide des techniques industrielles et leur capacité de dégradation des toxines. Les moisissures et les mycotoxines présentes dans ces zones ne sont pas éliminées lors du broyage des grains en farine et se retrouvent dans les produits transformés [46].

La problématique de la contamination fongique des céréales est maintenant définie dans son ensemble : consommation et production mondiales ; compositions biologique et chimique (nutritive) ; contaminations fongiques et mycotoxines ; procédés de traitement dans le processus de panification.

La section suivante aborde la problématique du rendement des semences en décrivant le processus de germination d'une graine et les techniques actuelles d'optimisation.

II. Germination des semences

II.A. Structure d'une graine

L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (*Food and Agriculture Organization* – FAO) estime que la production alimentaire doit augmenter de 60% d'ici 2050 pour subvenir aux besoins de la population croissante [47]. Le rendement agricole dépend en premier lieu de l'optimisation des semences et de leur processus de germination. Ces dernières sont des graines sélectionnées pour être semées afin de reproduire une plante répondant aux critères définis par l'Homme (esthétiques, nutritionnels, etc.). Elles sont à l'origine de tous les aliments, bruts ou transformés pour la consommation humaine et animale.

Une semence est structurée par une enveloppe protectrice, un tissu de réserves nutritives et un embryon. L'embryon, également nommé « germe », est une forme miniaturisée de la plante adulte. L'appareil végétatif de l'embryon est composé d'une radicule, prolongée par une tigelle portant un ou plusieurs cotylédons. La radicule est la forme embryonnaire de la racine, émergeant en premier lors de la germination et s'enfonçant dans le sol. La tigelle émerge dans l'air pour former la tige de la plante. Les cotylédons constituent les premières feuilles de l'embryon ayant accumulé les réserves nutritives de la graine. La Figure II-1 représente une semence de poivron (*Capsicum annuum* L.).

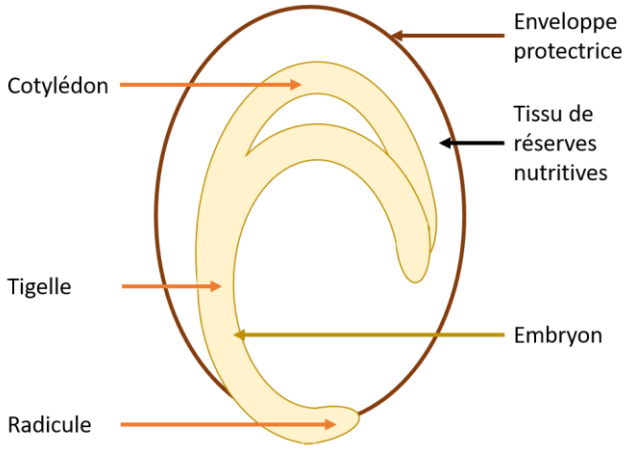


Figure II-1 Schéma en coupe longitudinale des constituants biologiques d'une semence de poivron

Une plante est constituée de cellules eucaryotes, pour lesquelles le matériel génétique (ADN : acide désoxyribonucléique) est enfermé dans un noyau. Ce dernier est entouré d'un cytoplasme contenant divers organites caractéristiques d'une cellule végétale : une grande vacuole ; des plasmodesmes, responsables des interactions entre cellules voisines et des plastes tels que les chloroplastes agissant sur les mécanismes de photosynthèse. L'ensemble est délimité par une paroi constituée de cellulose et de pectine qui contrôle les entrées et les sorties au sein de la cellule. La vacuole correspond à une cavité d'eau, d'ions et de molécules nutritives ou enzymatiques. L'eau pénètre dans la membrane semi-perméable de la vacuole pour équilibrer la pression osmotique dans la cellule. La vacuole, remplie d'eau, représente alors jusqu'à 90%

de l'espace cellulaire. Celle-ci exerce une pression, dite de turgescence, sur la paroi de la cellule qui confère de la rigidité aux éléments de la plante. Les nutriments tels que les glucides et les protéines sont stockés dans la vacuole. Les enzymes présentes peuvent être responsables de la protection de la cellule. Elles permettent entre autres la digestion des déchets organiques. Dans la graine, la vacuole est fragmentée par le manque d'eau. Les fragments contiennent les éléments essentiels pour mettre en route la germination lorsque les conditions extérieures seront propices au développement de la plante.

Les semences sont à l'origine de la production d'aliments pour les consommations humaines et animales. La composition des graines permet le développement des plantes en leur apportant les nutriments nécessaires à la germination. Les graines sont capables de résister à des conditions défavorables à la croissance des plantes telles que la dessiccation. En ralentissant leur métabolisme, elles assurent la préservation de l'espèce.

II.B. Cycle de vie d'une graine

La reproduction des plantes potagères est assurée par la dissémination des graines dans leur environnement. Une graine se forme à partir de la fécondation d'un ovule par un grain de pollen. Ce phénomène enclenche le cycle de vie de la graine depuis son développement jusqu'à sa germination permettant de former la plante. La Figure II-2 constitue une synthèse réalisée à partir de l'étude bibliographique pour illustrer le lien entre les différentes phases du cycle et le taux d'humidité dans la graine. Une phase de dormance peut intervenir entre les deux. Cette période, de durée variable, empêche la germination de démarrer malgré des conditions environnementales adéquates, un fort taux d'humidité notamment.

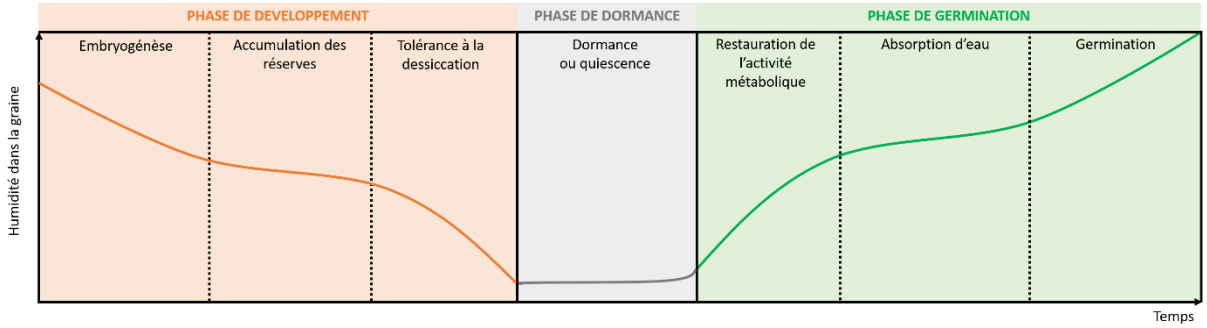


Figure II-2 Synthèse du cycle de vie d'une graine évoluant avec sa teneur en eau en fonction du temps

II.B.1. Phase de développement

Après la double fécondation de l'ovule, son enveloppe devient celle de la graine et deux noyaux se distinguent par leurs fonctions. Un premier noyau est assigné à la formation d'un embryon tandis que le second rassemble les réserves nutritives nécessaires à la germination. La tolérance à la dessiccation est mise en place en fin de maturation de la graine pour en assurer la conservation en attendant des conditions favorables à la germination [48], [49].

Embryogénèse – Lors de la fécondation de l'ovule, le taux d'humidité est très important (%H > 90%). Il diminue jusqu'à 70% pendant la formation de l'embryon par divisions cellulaires successives jusqu'au développement de la radicule, de la tigelle et des cotylédons.

Accumulation des réserves – Les réserves nutritives (lipides, protéines, glucides) de la graine sont principalement conservées dans le tissu entourant l'embryon. Une phytohormone, l'acide abscissique (ABA) [50], contrôle ce phénomène pour des taux d'humidité stables, compris entre 70 et 40%. Cette hormone entraîne l'activation des gènes impliqués dans le stockage des molécules et inhibe les gènes anabolisants, mobilisant les réserves pour la germination [51].

Tolérance à la dessiccation – La tolérance de la graine à la dessiccation conditionne sa capacité de conservation et sa résistance aux variations climatiques. La réduction en eau dans la cellule modifie ses propriétés physiques, notamment celles de la vacuole. Le métabolisme général de la graine est alors ralenti par la déshydratation de ses cellules. Ce phénomène engendre un stress oxydatif sur les cellules géré par des enzymes de détoxification et par la synthèse de molécules représentatives du pouvoir réducteur des cellules, capables de piéger les espèces réactives de l'oxygène [52]. L'hormone ABA est également responsable de la tolérance à la dessiccation des graines en induisant l'expression de protéines hydrophiles capables de stocker l'eau.

La phase de développement de la graine s'achève lorsque le taux d'humidité est faible, la teneur en hormone ABA est importante et le stockage des réserves est établi dans les tissus nutritifs.

II.B.2. Phase de dormance

Une fois la phase de développement achevée, les graines à faible taux d'humidité se trouvent au repos.

Phase quiescente – Les graines conservent un métabolisme ralenti tant que les conditions extérieures ne sont pas favorables à leur germination. L'augmentation du taux d'humidité lors de l'imbibition permet d'initier le processus de germination.

Phase dormante – Certaines graines n'entrent pas dans la phase de germination malgré une viabilité avérée et des conditions extérieures favorables telles qu'une imbibition prolongée [53], [54]. Elles sont dans une phase de dormance, un état latent pendant lequel elles nécessitent peu de nutriments et n'évoluent plus, la germination est retardée.

Lors de l'imbibition, le taux d'hormone ABA diminue que la graine soit en phase dormante ou quiescente ce qui devrait permettre de démarrer la germination. Ali-Rachedi *et al.* [55] ont observé qu'après trois jours d'imbibition, le taux d'hormone ABA remonte dans les graines dormantes. Cette hormone est alors responsable de la régulation du stress hydrique mis en place lors de la fragmentation des vacuoles afin de maintenir cet état dormant.

II.B.3. Phase de germination

Initiée par l'imbibition d'une graine en phase quiescente, la germination correspond à l'émergence de la radicule de l'enveloppe de la graine. L'absorption d'eau par la graine est réalisée en trois étapes [54].

Restauration de l'activité métabolique – Une absorption rapide de l'eau entraîne la synthèse des protéines, l'expression des gènes appuyée par les enzymes régulatrices stockées pendant l'accumulation des réserves de la phase de développement de la graine.

Absorption d'eau – La graine absorbe une quantité d'eau plus importante de manière progressive, la tolérance à la dessiccation étant encore présente dans la graine. Cette dernière peut rester en dormance ou germer en fonction du taux de l'hormone ABA.

Germination – Une régulation se met en place entre deux hormones : le taux d'acide abscissique (ABA) décroît tandis que celui de gibbérelline (GA) augmente. L'acide gibbérellique (ou gibbérelline) est une phytohormone responsable de la régulation de la croissance des cellules végétales. Accompagnée d'une forte absorption d'eau, la graine germe, *i.e.* la radicule émerge de son enveloppe pour former la plante.

L'imbibition des graines en phase dormante n'est pas suffisante pour les faire germer. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le monoxyde d'azote NO ont montré des résultats probants dans la levée de dormance, responsables de l'inhibition de l'hormone ABA [56].

Le cycle de vie d'une graine est constitué de trois phases permettant à la fois la structuration et l'apport en nutriments de la plante (pendant les phases de développement et de germination) ainsi que la préservation de la graine face à des conditions environnementales non favorables à la germination (pendant la phase de dormance). La levée de dormance constitue un élément essentiel à l'augmentation des rendements agricoles. Les espèces réactives de l'oxygène et le monoxyde d'azote s'avèrent être des agents inhibiteurs de l'acide abscissique (ABA), hormone responsable de la dormance des graines, empêchant leur germination.

II.C. Rendements agricoles

Avant l'industrialisation de l'agriculture dans les années 1950, les semences étaient sélectionnées par les agriculteurs d'une récolte à la suivante et consommées localement. Le développement du commerce international, des technologies agricoles et la croissance de la population mondiale ont totalement modifié ces pratiques. Les industries agroalimentaires segmentent la production en secteurs d'activité : production de semences, croissance des plantes et transformation des aliments.

II.C.1. Chaîne de production des semences

Chaque secteur de la production apporte un nouvel élément permettant :

- d'optimiser les capacités germinatives intrinsèques des semences afin de favoriser la germination de la graine et la croissance de la plante ;
- de les préserver des contaminants extérieurs à travers la conservation des semences, la protection des semis et des plantes en plein champ et leur préservation après récolte.

Production et conservation – Les semences sont produites par les industries de semenciers, associées à des agriculteurs-multiplicateurs pour leur optimisation. Les variétés de semences sont étudiées en laboratoire puis expérimentées en plein champ ou sous serre afin d'obtenir les semences les plus vigoureuses, résistantes aux agents extérieurs et présentant les meilleurs rendements en termes de germination. La sélection variétale conduit à la production d'hybrides biologiques et à l'utilisation d'intrants chimiques (pesticides) enrobant les semences.

Germination et récolte – Les agriculteurs-cultivateurs s'occupent de la germination de ces semences, de la production des plantes et de leur récolte. La mécanisation de l'agriculture, l'irrigation et souvent l'usage d'intrants chimiques (fertilisants et pesticides) permettent aux agriculteurs-cultivateurs d'augmenter les rendements.

II.C.2. Méthodes d'optimisation de la production

Les rendements sont améliorés à chaque stade de la chaîne de production par différents procédés, physiques (mécanisation pour les agriculteurs-cultivateurs et pour la transformation) ; chimiques (fertilisants et pesticides) ; biologiques (sélection variétale et hybridation génétique).

Mécanisation – La mécanisation de l'agriculture a conduit à l'augmentation des surfaces cultivables par un agriculteur-cultivateur et à un gain de temps dans les procédures de semis, de traitement, d'irrigation et de récolte. Les traitements post-récoltes mis en œuvre par les industries agroalimentaires pour conserver et transformer les aliments sont également optimisés par la mécanisation (*e.g.* tri, décorticage et broyage dans le processus de panification Chapitre 1 – I.C.2).

Intrants chimiques – Les fongicides pour la protection des semences sont présentés dans le Chapitre 1 – I.C.1. Le principe d'application est comparable pour les autres intrants. Les fertilisants sont utilisés pour améliorer les rendements des semences en plein champs : les engrais constituent un apport supplémentaire de nutriments et les amendements complémentent le sol.

Différents éléments s'avèrent être essentiels à la germination des graines et à la croissance des plantes.

- L'**eau** est nécessaire à la levée de dormance des graines en phase quiescente et à la turgescence des cellules végétales.
- Le **dioxygène** est utilisé pour la respiration cellulaire dans la graine et participe à la photosynthèse de la plante.
- Le **carbone** est l'élément nutritif primordial, structurant les cellules.
- Les minéraux dont les principaux sont l'azote et le potassium sont également importants.
  - L'**azote** fait partie de la composition de plusieurs protéines et des acides aminés présents dans les graines. Il est impliqué dans la germination des semences lors de l'accumulation des réserves nutritives. Ces mêmes nutriments sont ensuite nécessaires au développement de la tige et des feuilles par la croissance des cellules de la tigelle et des cotylédons [57].
  - Le **potassium** régule la turgescence et l'osmose des cellules par l'absorption des cations.

Les engrais enrichissent la graine ou la plante en minéraux. Le procédé Haber Bosch [58] est le premier procédé d'engrais industriel. Il est basé sur la synthèse de l'ammoniac par fixation du diazote atmosphérique. L'ammoniac est ensuite utilisé pour réaliser les engrais azotés nécessaires à l'amélioration des rendements.

L'utilisation massive d'intrants chimiques présente des effets secondaires nuisibles pour l'agriculteur, le consommateur et l'environnement [59]. Les résidus d'engrais, introduits en excès dans les champs s'accumulent dans les sols, sont drainés dans les nappes phréatiques utilisées pour l'irrigation, et par traces dans les aliments [60]. L'évolution des espèces biologiques soumises à un stress régulier entraîne également le développement d'une résistance aux produits, limitant leur action principale (*cf.* Chapitre 1 – I.C.1 : exemples).

Hybridation – La sélection variétale constitue la première étape dans le processus d'amélioration des rendements et d'optimisation des aliments. Les consommateurs et les industries de transformation prêtent attention aux propriétés nutritives, organoleptiques et à la facilité de transformation de la variété. Les semenciers s'intéressent à la capacité germinative intrinsèque de ces variétés : leur taux et leur vitesse de germination, leurs besoins en eau et en nutriments ainsi que leur résistance aux conditions climatiques.

Les variétés, autrefois sélectionnées de manière empirique sont maintenant croisées de façon artificielle. L'hybridation des espèces consiste à réaliser des croisements entre génotypes (variétés, sous-espèces ou genres) différents aux propriétés intéressantes afin de développer un hybride répondant au mieux à l'ensemble des critères de sélection. Ce procédé est répandu en France depuis les années 1950 avec l'hybridation de semences de maïs adaptées aux conditions climatiques, différentes de celles présentes en Amérique du Sud. L'hybridation empirique est limitée par trois facteurs : l'incompatibilité entre les variétés (absence de fécondation), la non-spécificité (présence de caractères indésirables) et la durée (10 ans en moyenne). Les techniques actuelles peuvent y remédier grâce à la connaissance du génome et de la diversité génétique des espèces.

Le développement massif de l'hybridation a pour conséquence la réduction de la diversité génétique. L'évolution de l'agriculture a conduit à délaisser des espèces anciennes, jugées moins performantes en fonction du critère de sélection du moment, qui auraient pu s'avérer intéressantes pour une autre fonction. Les graines hybrides peuvent être stériles. Celles-ci ne peuvent pas être ressemées après la récolte, leur stabilité génétique n'étant pas conservée d'une génération à la suivante [61]. Ces aspects augmentent également les coûts de production pour les agriculteurs-cultivateurs.

II.C.3. Agricultures alternatives

Une agriculture durable est en cours de développement à travers le monde afin d'assurer des rendements agricoles élevés à coût modéré tout en préservant la biodiversité et la santé humaine [62]. Les voies d'agriculture durable diffèrent selon les régions du monde axées vers une modernisation des pratiques (*e.g.* Agriculture en environnement contrôlé), ou au contraire, avec un retour aux techniques ancestrales (*e.g.* terres en jachère, production des semences par les agriculteurs, systèmes de distribution locaux).

Agriculture en environnement contrôlé – Ce type de dispositif est mis en œuvre pour répondre aux problématiques environnementales : la majorité des surfaces arables est utilisée, les réserves d'eau limitées et les conditions climatiques variables. La température, l'exposition lumineuse, l'humidité et la teneur en nutriments sont des facteurs qu'il est possible d'analyser et de commander dans cet objectif [63], [64]. Ce mode d'agriculture est favorable à un pays tel que le Japon pour lequel la superficie est limitée compte-tenu de sa population et le développement numérique important pour adapter les systèmes de production.

Semences paysannes – La sélectivité des semences et le monopole des semenciers dans leur production ont conduit les agriculteurs et les consommateurs européens à coopérer pour développer leurs propres réseaux de semences avec des variétés anciennes non soumises aux restrictions des semenciers : le « Red de Semillas », en Espagne, le « Rete Semi Rurali » en Italie et le « Réseau de Semences Paysannes » [65] en France. Une semence paysanne est issue

d'un lot de population sélectionné et multiplié sans modification génétique. Elles sont cultivées avec une pratique raisonnée et reproductibles par le cultivateur.

Certaines semences paysannes présentent encore des taux de rendement inférieurs à ceux existants avec l'agriculture intensive (> 80%). Les effets du plasma sur le taux et la vitesse de germination de semences paysannes de poivron sont étudiés dans cette thèse afin d'évaluer la possibilité d'optimiser la production de ces semences.

La production des semences est optimisée de manière intensive par des méthodes efficaces mais potentiellement nuisibles pour l'environnement et la santé des agriculteurs et des consommateurs. Ces constats ont entraîné la mise en œuvre de nouvelles techniques de production permettant le développement d'une agriculture durable.

La problématique du rendement des semences est maintenant définie dans son ensemble : la structure biologique et la composition chimique ; le cycle de vie de la graine avant la germination ; les procédés de traitement permettant d'augmenter les rendements agricoles, leurs risques pour l'environnement et la sécurité sanitaire ainsi que les pratiques émergentes.

Le Tableau II-1 récapitule les avantages et les inconvénients des différentes méthodes utilisées pour le traitement des graines, à la fois pour leur préservation à l'égard des contaminants extérieurs, notamment des moisissures, et pour l'augmentation des rendements des cultures. Les techniques actuelles ainsi que les deux méthodes en cours de développement dans le monde sont répertoriées dans ce tableau.

Tableau II-1

Avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour le traitement des semences

Méthode	Avantages (+) et inconvénients (-)
Mécanisation	(+) Culture à grande échelle : surfaces étendues, semis, traitements, récoltes
	(−) Appauvrissement des sols
	(−) Monoculture
	(−) Décontamination fongique incomplète
Intrant chimique	(+) Augmentation des rendements à grande échelle
	(−) Nocif pour l'agriculteur et le consommateur
	(−) Nuisible au développement de la biodiversité
Hybridation	(+) Sélectivité des graines en progrès
	(−) Diminution de la diversité génétique
Environnement contrôlé	(+) Conditions du milieu de culture optimisées
	(−) Réticence des consommateurs
Semence paysanne	(+) Hautes qualités nutritionnelles des aliments
	(+) Reproductibles par le cultivateur
	(−) Préservation contre les contaminants extérieurs
	(−) Rendements plus faibles

La section suivante est consacrée à la description générale du plasma. Cet état de la matière est une alternative potentielle aux méthodes actuelles de décontamination fongique et d'optimisation des rendements, moins nocive pour la santé humaine et plus respectueuse de l'environnement.

III. Généralités sur les plasmas

III.A. Propriétés fondamentales

Le terme « plasma » est introduit en 1928 par Langmuir pour décrire un gaz ionisé dont la charge électrique est macroscopiquement neutre. Les densités des particules de charges positives et négatives se compensent. Langmuir [66] fait l'analogie entre le transport des globules rouges et blancs dans le plasma sanguin et celui des particules chargées dans un gaz ionisé sous l'influence d'un champ électrique. Le plasma est constitué de nombreuses espèces : neutres (molécules, atomes, radicaux libres, photons) et chargées (électrons, anions et cations) régies par leurs températures. Leurs propriétés fondamentales permettent de classer les plasmas en différentes catégories et leur confèrent des caractéristiques représentatives de leur état physique.

III.A.1. Diversité des plasmas

III.A.1.a. Degré d'ionisation

Un gaz à l'état naturel est un isolant électrique. Un apport d'énergie suffisant entraîne une agitation thermique de ses particules. Un courant peut alors circuler et le gaz devient conducteur. Le degré d'ionisation δ caractérise la proportion en espèces chargées dans un gaz. Une valeur critique du degré d'ionisation, $\delta_c = 10^{-4}$, fait office de limite entre les plasmas fortement ionisés, dits chauds, et les plasmas faiblement ionisés, dits froids. Un plasma chaud ($\delta > \delta_c$) est dominé par les collisions électron-électron et électron-ion. Ils sont issus de la fusion nucléaire au cœur des étoiles comme le soleil. Le projet ITER[1] tente de reproduire ce phénomène en laboratoire. Un plasma froid ($\delta \leq \delta_c$) est régi par les collisions électron-neutre. La foudre et les aurores boréales sont des plasmas froids naturels. Ces derniers sont plus faciles à mettre en œuvre en laboratoire et sont appliqués dans divers domaines : la microélectronique, l'aéronautique, l'éclairage, l'analyse chimique, le biomédical, l'agroalimentaire, etc. [67].

III.A.1.b. Températures

Les plasmas froids sont répartis en deux catégories selon leur écart à l'équilibre thermodynamique. L'équilibre thermodynamique est un cas idéal, défini par un milieu : stationnaire, uniforme, isotrope et isotherme. Le mouvement des particules provient uniquement de leur agitation thermique moyenne dans le milieu, représentée par la température. Les plasmas thermiques, dits à l'équilibre thermodynamique, se rapprochent de cet état d'équilibre. Les températures des électrons T_e, des ions T_i et des éléments neutres T_g du plasma s'équilibrent autour de 10000 K. Les plasmas non-thermiques ou hors équilibre thermodynamique s'en éloignent. La température des électrons est de l'ordre de 10000 K tandis que celle des ions et celle des espèces neutres avoisinent la température ambiante.

Les plasmas mis en œuvre pour le traitement de semences dans le cadre de cette thèse sont hors équilibre thermodynamique. La plupart présentent une température électronique moyenne de 1 eV, soit environ 11600 K, et une température du gaz autour de 400 K.

[1] https://www.iter.org

III.A.2. Neutralité électrique d'un plasma

III.A.2.a. Fréquence de collision

Dès lors que deux particules sont présentes dans un environnement, elles peuvent interagir. Tant que leur mouvement est rectiligne, leur interaction est faible, le plasma est dilué. Lorsqu'elles se rapprochent, sous l'action d'un champ électrique, l'énergie d'interaction devient comparable à l'énergie cinétique, les particules entrent en collision. Si l'énergie cinétique totale est conservée pendant la collision, celle-ci est élastique. Sinon, l'énergie cinétique est convertie en énergie interne par l'un des éléments, il s'agit d'une collision inélastique. Les collisions sont primordiales pour assurer le maintien du plasma et la production des espèces réactives. La fréquence de collision ν_{AB} (*cf.* Equation 1) caractérise le processus de collision entre les éléments A et B. Celle-ci tient compte du type d'interaction mise en jeu, à travers la section efficace de collision σ_{AB}, de la vitesse de la particule la plus mobile $v_A(T_e)$ et de la densité de celle la plus lourde $N_B(p, T_g)$.

$$\nu_{AB} = v_A \, N_B \, \sigma_{AB} \qquad \text{Equation 1}$$

L'interaction entre deux particules peut être caractérisée par le libre parcours moyen λ_{AB}. C'est la distance moyenne parcourue par une particule B entre deux collisions : $\lambda_{AB} = \frac{1}{N_B \, \sigma_{AB}}$.

Dans un plasma d'air à une pression de 1 Pa, lors d'une collision électron-neutre, la vitesse thermique des électrons (particule A) est de l'ordre de 7.10^5 m.s^{-1} et la densité des neutres du diazote (particule B) est de 2.10^{20} m^{-3}. La section efficace de collision élastique utilisée, issue des travaux de Phelps et Pitchford [68], vaut 2.10^{-19} m^2. La fréquence de collision électron-diazote est de l'ordre de 2.10^7 s^{-1} et le libre parcours moyen est de 25 mm.

III.A.2.b. Longueur de Debye

La neutralité électrique d'un milieu ionisé est valable à l'échelle macroscopique. Au sein d'un gaz ionisé, les charges opposées s'attirent. Lorsqu'un cation est en présence d'électrons libres, ces derniers s'accumulent à sa périphérie. Une gaine électrostatique est générée autour de l'ion pour préserver la balance énergétique entre l'agitation thermique et les interactions coulombiennes. La longueur de Debye (*cf.* Equation 2) correspond à la longueur limite pour laquelle les électrons ont une influence sur le potentiel coulombien de l'ion. Elle est obtenue en égalant les énergies d'agitation thermique $\left(\frac{k_B T_e}{2}\right)$ et coulombienne $\left(\left|e \frac{n_e q_e}{2\varepsilon_0} \lambda_D^2\right|\right)$.

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\varepsilon_0 k_B T_e}{n_e e^2}} \qquad \text{Equation 2}$$

ε_0 est la permittivité diélectrique du vide ($8{,}85.10^{-12}$ S.I.), k_B la constante de Boltzmann ($1{,}38.10^{-23}$ J.K^{-1}), T_e la température électronique, e la charge électrique élémentaire ($1{,}60.10^{-19}$ C) et n_e la densité électronique.

A l'interface entre le plasma et son milieu environnant, la densité ionique chute alors que les électrons, plus mobiles, franchissent la frontière et créent une zone non neutre. L'agitation thermique électronique prend le dessus sur l'interaction coulombienne sur une distance de l'ordre de la longueur de Debye. La neutralité d'un gaz ionisé est respectée s'il y a un grand nombre de particules dans la sphère de Debye, de rayon λ_D et si la longueur de Debye est petite devant les dimensions caractéristiques du réacteur dans lequel le plasma est généré.

Dans cette étude, la densité plasma moyenne est de 10^{16} m^{-3}, la longueur de Debye est de 75 µm. Celle-ci est négligeable devant les longueurs caractéristiques de l'enceinte (> 1 cm).

III.A.2.c. Pulsation plasma

Lorsqu'un excès de charges (positives ou négatives) est produit localement dans un plasma, celui-ci cherche à retrouver la neutralité électrique pour conserver son état physique. Les électrons, de faible masse, sont plus mobiles que les ions. Chacun d'eux va évoluer à une vitesse différente pour atteindre cet équilibre. Les particules chargées vont alors osciller à une fréquence qui leur est propre, nommée fréquence plasma f_p (électronique ou ionique). La pulsation plasma ω_p est également utilisée. Son expression est définie dans l'Equation 3 à partir de la densité n_X et de la masse m_X d'une particule X, électron ou ion.

$$\omega_{pX} = \left(\frac{e^2\, n_X}{\varepsilon_0\, m_X}\right)^{\frac{1}{2}} = 2\pi f_{pX} \qquad \text{Equation 3}$$

La pulsation plasma totale est la somme des pulsations électronique et ionique. Elle permet de déterminer le comportement électrique du plasma en tant que milieu de propagation pour une onde électromagnétique. Tant que $\omega_{pX} > \omega$, les particules suivent les variations instantanées du champ électrique. Dans le cas contraire, elles ne voient que sa valeur moyenne. La densité critique n_c (*cf.* Equation 4) est définie lors de l'égalité entre les pulsations. Ce critère permet de distinguer les régimes de décharge à basse pression. Au-delà de cette valeur critique, le plasma se comporte comme un réflecteur et ne diffuse plus l'onde dans l'enceinte, celle-ci reste en surface.

$$n_c = \frac{\varepsilon_0\, m_e\, \omega^2}{e^2} \qquad \text{Equation 4}$$

Pour $n_{e,i} \approx 10^{16}\, m^{-3}$, f_{pe} est de l'ordre du gigahertz et f_{pi} du mégahertz. Lorsque le plasma est alimenté par une source dans le domaine des micro-ondes, à 2,45 GHz, les ions dépendent de la valeur moyenne du champ électrique et donc des phénomènes de diffusion. Les électrons oscillent à une fréquence proche de celle de l'onde électromagnétique. Ils peuvent alors se trouver dans l'une ou l'autre des configurations citées sachant que $n_c = 7{,}5.10^{16}$ m^{-3}.

III.B. Plasmas à haute fréquence

Un plasma froid est généré par une décharge électrique dans un gaz. Les phénomènes physico-chimiques constitutifs de la décharge entraînent un transfert d'énergie d'une source extérieure vers le gaz. Le plasma est conditionné par la géométrie de l'enceinte, le choix du gaz, et par le type de source électrique. Il est généré par un champ électrique continu ou alternatif, à basse (< 1 MHz) ou à haute fréquence, pouvant être combiné à un champ magnétique [69].

Les plasmas à haute fréquence sont issus de la propagation d'une onde électromagnétique dans le gaz. L'onde est émise par le générateur à une fréquence autorisée dans le domaine ISM (Industriel, Scientifique et Médical) : 13,56 MHz pour les radiofréquences, 2,45 GHz pour les micro-ondes et leurs multiples. Les plasmas à basse pression sont très utilisés en tant que procédés de surface dans l'industrie pour leur capacité à modifier la surface d'un substrat par gravure ou dépôt. Les sources micro-ondes et radiofréquences sont présentées en mettant l'accent sur le mode de génération et de maintien du plasma et sur leurs possibilités de couplage.

III.B.1. Sources micro-ondes

Les sources micro-ondes sont utilisées à la fois pour l'étude fondamentale du plasma [70] et pour son application dans plusieurs domaines : microélectronique, chimie analytique, aérospatial, environnement, biomédical, agroalimentaire, etc. [71], [72]. Elles permettent de générer des plasmas dans de larges gammes de pression (10^{-2} – 10^{5} Pa) et de puissance pour des volumes du cm^3 au m^3. Les plasmas micro-ondes sont générés à des fréquences suffisamment élevées pour éviter les interférences électromagnétiques. Les effets de charges aux parois sont minimisés lorsque les électrons ne considèrent plus qu'un champ électrique moyen. Leur potentiel est quasi-nul ce qui limite le bombardement ionique en surface.

Les sources sont constituées d'un applicateur de champ qui contrôle le passage du champ électromagnétique dans le gaz. L'absence d'électrode permet de s'affranchir des risques de contamination du plasma ou de pulvérisation, par érosion à leur surface. L'applicateur définit alors les paramètres extrinsèques au plasma, *i.e.* la pression, la fréquence et la puissance injectée pour obtenir ses paramètres intrinsèques, tels que les densités et les températures électroniques. Il est conçu pour convertir l'onde en un mode de propagation compatible avec la décharge.

III.B.1.a. Propagation des micro-ondes dans un plasma

Un des enjeux principaux des sources plasma à haute fréquence est de garantir un transfert optimal de l'onde électromagnétique entre le générateur et le plasma.

III.B.1.a.i. Permittivité diélectrique du plasma

L'onde générée à une fréquence donnée voit le plasma comme un milieu de propagation avec une permittivité diélectrique complexe $\underline{\varepsilon_p} = \varepsilon_0\, \underline{\varepsilon_r}$. ε_0 est la permittivité diélectrique du vide ($8{,}85.10^{-12}$ S.I.) et $\underline{\varepsilon_r}$ la permittivité relative du milieu (*cf.* Equation 5).

$$\underline{\varepsilon_r} = 1 - \frac{\left(\frac{\omega_{pe}}{\omega}\right)^2}{1 + \left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2} - j\,\frac{\frac{\nu}{\omega}\left(\frac{\omega_{pe}}{\omega}\right)^2}{1 + \left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2} \qquad \text{Equation 5}$$

Le comportement électrique du plasma vis-à-vis de l'onde incidente dépend de la nature et des propriétés physiques du plasma : pression, températures et densité électronique. Afin d'évaluer ce phénomène, la pulsation de l'onde ω est comparée à la pulsation plasma $\omega_{pe}(n_e)$ et à la fréquence de collision $\nu(p, T_e, T_g)$.

- L'évolution de la densité électronique en fonction des conditions expérimentales en pression et en puissance transmise au plasma permet de définir le caractère conducteur du plasma. Si $\omega_{pe} \gg \omega$, la partie réelle de la permittivité est négative. La densité électronique est supérieure à la densité critique ($7{,}5.10^{16}$ m^{-3} à 2,45 GHz) et l'onde est réfléchie par le plasma.
- Les pertes diélectriques sont évaluées à partir de la fréquence de collision. Une augmentation de la pression entraîne une augmentation de la fréquence de collision. Les pertes diélectriques sont négligeables tant que le plasma est considéré non-collisionnel ($\nu < \omega$). L'onde n'est pas atténuée à son passage à travers le plasma. Lorsque les collisions deviennent importantes ($\nu \gg \omega$), les pertes augmentent, l'onde est atténuée.

L'épaisseur de peau traduit la capacité de l'onde à pénétrer le plasma. Elle correspond à la distance que l'onde peut atteindre dans le plasma lorsque celui-ci est un milieu réflecteur (dense et fortement collisionnel).

La Figure III-1 illustre ces phénomènes à partir d'un calcul théorique de l'évolution de la permittivité du plasma ($\Re e(\underline{\varepsilon_r})$) et des pertes diélectriques ($\Im m(\underline{\varepsilon_r})$) en fonction du rapport entre la pulsation plasma et la pulsation de l'onde incidente. La pulsation plasma est calculée pour des densités électroniques comprises entre 10^{14} et 5.10^{17} m^{-3}. La fréquence de collision est établie à partir de l'Equation 1 dans les conditions proposées en exemple. Ces calculs sont présentés à trois pressions de la gamme d'étude : 0,25 ; 1 et 10 Pa afin de mettre en avant l'effet des collisions sur ces grandeurs. La permittivité du plasma (en vert) n'est pas influencée par la variation de pression, les trois courbes se superposent. Seule la densité électronique l'affecte, elle devient négative lorsque la pulsation plasma dépasse celle de l'onde. Les pertes diélectriques (en rouge) sont davantage perturbées par les variations du plasma. Négligeables à basse pression (≤ 1 Pa) et à faible densité ($n_e \leq n_c$), elles deviennent importantes au-delà.

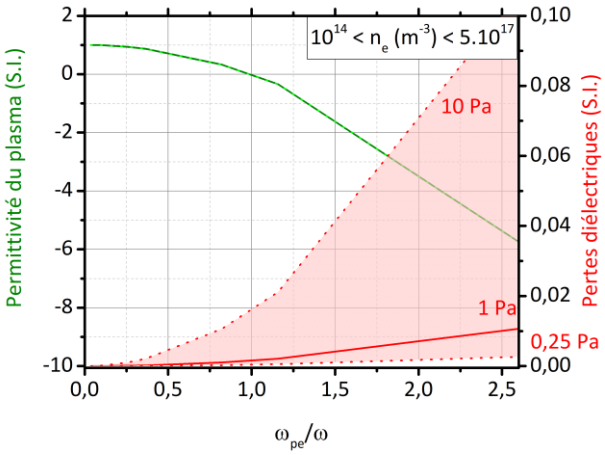


Figure III-1 Permittivité du plasma [$\Re e(\underline{\varepsilon_r})$] et pertes diélectriques [$\Im m(\underline{\varepsilon_r})$] en fonction du rapport de la pulsation plasma par la pulsation de l'onde (image de la densité électronique) à 0,25 ; 1 et 10 Pa

III.B.1.a.ii. Rendement en puissance transmise

La qualité d'un applicateur micro-ondes dépend de sa capacité à garantir un transfert maximal d'une onde électromagnétique d'un milieu d'incidence 1 vers un milieu 2 (plasma). Celui-ci est évalué par le coefficient de réflexion ($\underline{r} = \frac{\underline{Z_1}-\underline{Z_2}}{\underline{Z_1}+\underline{Z_2}} = \frac{\underline{n_1}-\underline{n_2}}{\underline{n_1}+\underline{n_2}}$) à l'interface des milieux à partir de leurs impédances caractéristiques $\underline{Z} = \sqrt{\frac{\underline{\mu}}{\underline{\varepsilon}}}$ ou de leurs indices de réfraction $\underline{n} = \sqrt{\underline{\varepsilon_r}}$.

Le rendement en puissance transmise η (*cf.* Equation 6) met en évidence l'effet des réflexions et l'intérêt de réaliser une adaptation d'impédance entre l'applicateur et le plasma.

$$\eta\ (\%) = \left(1 - \underline{r}^2\right) \times 100 \qquad \text{Equation 6}$$

Ce dernier dépend essentiellement de la fréquence de l'onde excitatrice et des conditions de génération du plasma (densité électronique et pression), à travers la pulsation plasma et la fréquence de collision.

Un exemple simplifié est représenté sur la Figure III-2 pour appréhender ce phénomène. Le plasma est supposé homogène et de dimensions supérieures à l'épaisseur de peau. La transmission de puissance entre le générateur et l'applicateur n'est pas prise en compte. Il s'avère que la fréquence de collision n'a pas d'influence sur le rendement dans la gamme de pression étudiée (0,1 – 10 Pa : $\nu \ll \omega$). Le transfert de puissance est réduit à mesure que la densité s'approche de la densité critique ($7{,}5.10^{16}$ m^{-3} à 2,45 GHz).

- Dans la Figure III-2a, l'applicateur possède une impédance fixe de 50 Ω, non adaptée au plasma. Le transfert de puissance est peu efficace (< 30%) compte tenu de la discontinuité de l'impédance entre l'applicateur et le plasma, les réflexions sont importantes.
- Dans la Figure III-2b, l'applicateur possède un système d'adaptation d'impédance intégré. L'impédance du vide, 377 Ω, est utilisée pour le milieu 1. Le transfert de puissance peut alors être optimisé jusqu'à 100% en fonction de la densité électronique.

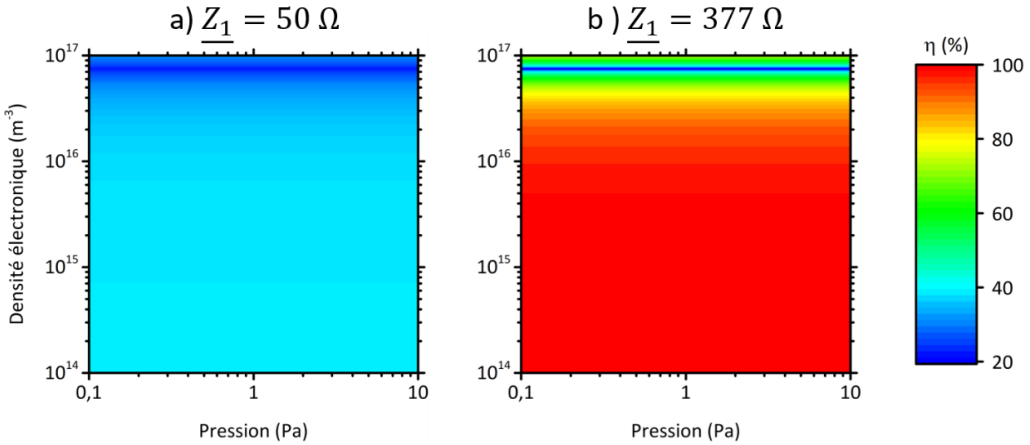


Figure III-2 Rendements en puissance transmise : a) Impédance $\underline{Z_1}$ de 50 Ω b) Impédance $\underline{Z_1}$ de 377 Ω (vide)

III.B.1.b. Source plasma à la résonance cyclo-électronique

Les principes physiques associés aux applicateurs lors de la génération de la décharge permettent de différencier les plasmas dans le domaine des micro-ondes [71].

III.B.1.b.i. Applicateurs micro-ondes

Les sources peuvent être classées en fonction de leur capacité à absorber l'onde (étendue ou localisée), de la structure du réacteur (ouvert ou fermé) ou de la ligne de transmission de l'onde au plasma (en guide d'onde ou coaxiale). Lebedev a répertorié et a schématisé les types d'applicateurs micro-ondes existants [71]. La Figure III-3 reprend quelques-uns de ses schémas.

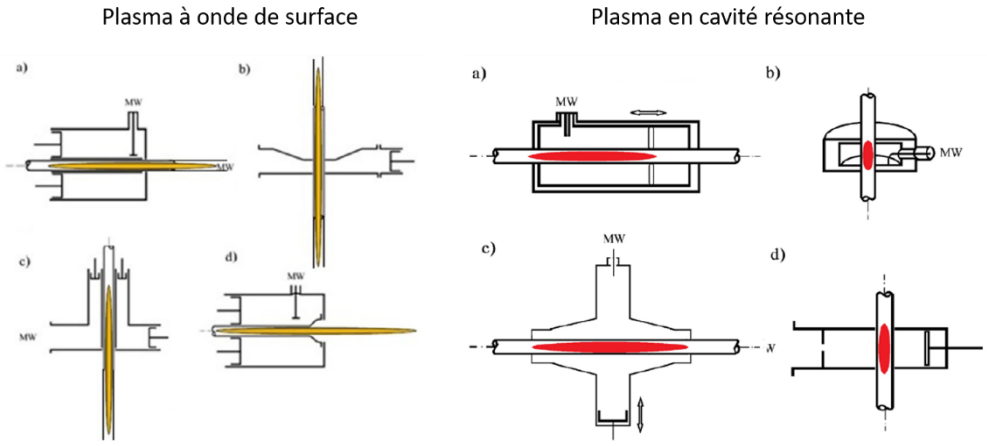


Figure III-3 Exemples d'applicateurs à ondes de surface et en cavité résonante réalisés par Lebedev [71]

Applicateur à absorption étendue – Il permet de générer des plasmas sur de grandes distances. Les **plasmas à ondes de surface**, développés dans les années 1970, sont issus de la propagation d'une onde à l'interface entre un tube diélectrique et le gaz qu'il contient [73], [74]. Le diélectrique permet de maintenir la colonne de plasma sur plusieurs mètres. A mesure que la pression augmente (10 -10^5 Pa), le diamètre du diélectrique diminue.

Applicateur à absorption localisée – Ce type d'applicateur réalise une absorption de la puissance micro-onde sur des distances inférieures à la longueur d'onde :

- Les **plasmas en cavité résonante**, conçus dès les années 1950, sont générés lorsque l'onde entre en résonance avec une cavité métallique qui entoure le tube de décharge [75], [76]. En configuration monomode (1 fréquence), ils sont de faible volume. Augmenter les dimensions de la cavité entraîne la génération de plusieurs modes de résonance, de fréquences rapprochées qui peuvent nuire au contrôle du champ électromagnétique.
- Dans les années 1980, des **plasmas à applicateurs distribués** sont générés en volume avec une absorption de puissance localisée [77], [78]. Ces derniers sont constitués d'applicateurs coaxiaux élémentaires répartis en réseau. La distribution de la puissance est alors dissociée de la longueur d'onde, ils sont indépendants d'un point de vue électromagnétique. Augmenter leur nombre permet de générer des plasmas homogènes en volume, à des densités électroniques importantes (10^{16}-10^{17} cm^{-3}) pour de faibles puissances injectées. Les

plasmas matriciels et multi-dipolaires développés par Lacoste, Latrasse *et al*. [78], [79] et commercialisés par SAIREM SAS [80], [81] sont repris dans la Figure III-4.

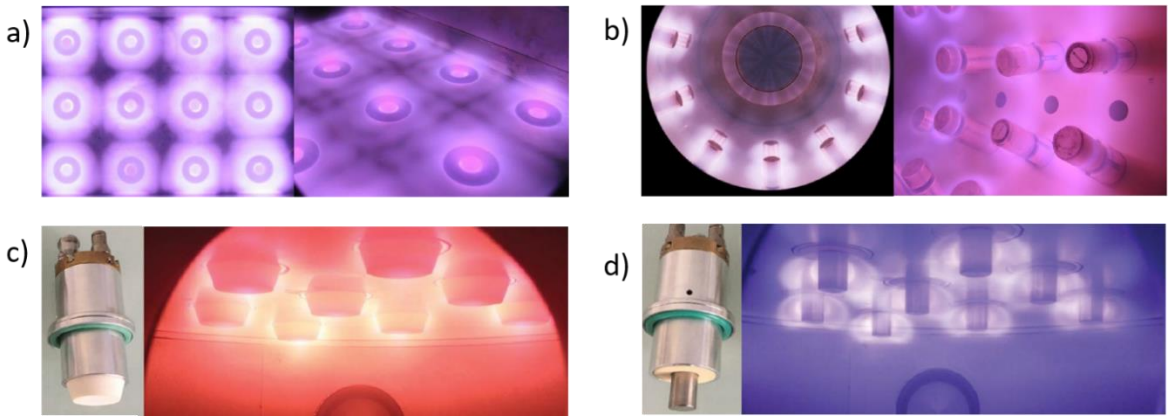


Figure III-4 Exemples d'applicateurs de plasmas distribués : a) Matriciel [82] b) Multi-dipolaire [83] c) Collisionnel (Hi-wave SAIREM SAS) [81] d) RCE (Aura-wave SAIREM SAS) [80]

III.B.1.b.ii. Chauffage électronique

Chauffage ohmique – Le champ électrique unidirectionnel ($\boldsymbol{E} = E_0\, \boldsymbol{e_x}$) met les électrons en mouvement [84]. La puissance moyenne de l'onde absorbée P_{abs} par les électrons dans le plasma est alors établie par l'Equation 7 [85].

$$P_{abs} = \frac{n_e\, e^2\, E_0^2}{2\, m_e\, \nu} \frac{\left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2}{1 + \left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2} \qquad \text{Equation 7}$$

La Figure III-5 la représente en fonction du ratio ν/ω. Celle-ci est maximale lors de l'égalité entre la fréquence de collision et la pulsation de l'onde ($\nu = \omega$). Le chauffage des électrons est initié par les collisions électrons-neutres. Cette puissance absorbée est réduite lorsque le plasma est fortement collisionnel ($\nu \gg \omega$). Elle diminue également à mesure que la fréquence de collision diminue, soit à basse pression ($\nu < \omega$).

Chauffage par résonance cyclo-électronique – A basse pression ($\nu < \omega$), le plasma peut être maintenu en ajoutant un aimant permanent. Celui-ci génère un champ magnétique statique externe $\boldsymbol{B}$ qui permet d'obtenir des plasmas denses (> 10^{16} m^{-3}), sans pertes aux parois. La force de Lorentz ($\boldsymbol{F} = e\boldsymbol{v} \wedge \boldsymbol{B}$) s'ajoute au champ électrique pour diriger le mouvement des électrons. Cette force est orthogonale à leur vitesse, ils entrent en précession autour des lignes de champ magnétique. La pulsation cyclotronique ω_{ce} caractérise cette rotation (*cf*. Equation 8).

$$\omega_{ce} = \frac{eB}{m_e} \qquad \text{Equation 8}$$

Ce phénomène permet de confiner les électrons en augmentant leur temps de résidence dans le plasma ce qui favorise les collisions ionisantes. Si le champ magnétique est perpendiculaire au champ électrique, ce dernier polarise l'onde en deux composantes circulaires : gauche et droite. Leurs fréquences de gyration autour du champ magnétique sont caractérisées par les pulsations $\omega_G = \omega + \omega_{ce}$ (circulaire gauche) et $\omega_D = \omega - \omega_{ce}$ (circulaire droite). La puissance moyenne absorbée par les électrons à partir de ces composantes est énoncée dans l'Equation 9 [85]. Elle correspond à la somme des puissances moyennes absorbées par chaque composante de l'onde.

$$P_{abs} = \frac{n_e\, e^2\, E_0^2}{4\, m_e\, \nu} \left[\frac{\left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2}{\left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2 + \left(\frac{\omega - \omega_{ce}}{\omega}\right)^2} + \frac{\left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2}{\left(\frac{\nu}{\omega}\right)^2 + \left(\frac{\omega + \omega_{ce}}{\omega}\right)^2} \right] \qquad \text{Equation 9}$$

La composante circulaire droite est caractéristique de la résonance cyclo-électronique (RCE) présentée sur la Figure III-5 en normalisant par rapport au carré du champ électrique. Le transfert de puissance est maximal lorsque le champ électromagnétique entre en résonance avec les électrons ($\omega = \omega_{ce}$). La puissance absorbée tend vers l'infini tant que $\nu < \omega$. Si $\nu \gg \omega$, l'effet résonant est diminué pour un champ magnétique fixé. La puissance absorbée est alors celle d'un plasma non magnétisé ($\omega_{ce} = 0$).

La RCE permet un chauffage efficace principalement à basse pression. A 2,45 GHz, elle correspond à un champ magnétique de 875 G (87,5 mT). Les plasmas à la RCE peuvent être générés dans les trois catégories précédentes [86] : à partir d'une onde de surface [87]–[90], dans une cavité résonante [91]–[94] ou distribués (*cf.* Figure III-4b et d) [77], [79], [95], [96].

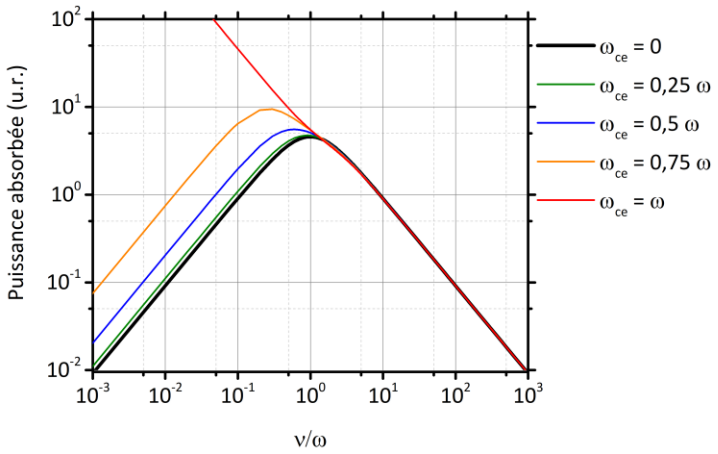


Figure III-5 Puissance moyenne absorbée par un électron : En présence d'un champ électrique unidirectionnel ($\omega_{ce} = 0$) et en y ajoutant un champ magnétique statique – RCE vérifiée pour $\omega = \omega_{ce}$ – reproduite à partir de [85]

Une source élémentaire micro-ondes à applicateur de champ coaxial à la RCE est utilisée [97]. Au lieu de multiplier le nombre d'applicateurs pour homogénéiser la décharge en volume comme cela a été réalisé par Latrasse *et al.* [80], elle est couplée à une source radiofréquence.

III.B.2. Sources radiofréquences

Les sources radiofréquences sont massivement utilisées dans l'industrie depuis l'avènement des transistors dans les années 1950 [98]. Elles présentent l'avantage de générer des plasmas à basse pression (< 10 Pa) et faibles tensions d'alimentation en comparaison avec les décharges continues. Le régime alternatif permet d'éviter l'accumulation des charges sur la surface des électrodes en présence d'un diélectrique. Un dépôt de couche mince ou une gravure des substrats sur des échelles nanoscopiques [99], [100] est alors possible. A 13,56 MHz, les ions répondent au champ électrique moyen alors que les électrons suivent ses variations instantanées ($\omega_{pi} < \omega < \omega_{pe}$). Les ions gèrent la diffusion du plasma vers les parois et les surfaces à traiter. Les électrons régissent les mécanismes de chauffage responsables du maintien de la décharge.

III.B.2.a. Neutralité électronique

Dans le cadre d'un plasma électropositif, la neutralité électronique est assurée si les flux d'ions Γ_i et d'électrons Γ_e s'équilibrent sur l'ensemble de la décharge, *i.e.* dans le cœur du plasma et au niveau des parois. Le flux incident de particules traversant une surface plane dépend du produit de leur densité par leur vitesse moyenne ($v = v\left(\frac{T_X}{m_X}\right)$; m_X, sa masse et T_X, sa température). Un champ électrique est induit à l'interface plasma-parois pour compenser leur écart ($\Gamma_e > \Gamma_i$). Il confine les électrons au centre et accélère les ions vers les parois.

III.B.2.a.i. Gaine électrostatique

Une zone de charge d'espace est créée pour garantir l'égalité des flux de particules. De manière plus générale, une gaine électrostatique est induite par la présence d'un objet conducteur dans le plasma : parois, électrodes, sonde de Langmuir, etc. Son épaisseur s (*cf.* Equation 10) est évaluée à partir de la longueur de Debye λ_D.

$$s \simeq \lambda_D \left(\frac{eV_s}{k_B T_e}\right)^{\frac{3}{4}} \qquad \text{Equation 10}$$

Elle caractérise la barrière de potentiel à franchir pour les particules en fonction de la tension appliquée. Le potentiel de gaine contrôle alors l'énergie des ions ε_i bombardant une surface. Si le potentiel ($V_s = V_{plasma} - V_{objet}$) est très négatif, l'énergie potentielle est prépondérante devant l'énergie thermique ($\varepsilon_i = eV_s$), la densité électronique chute au profit de la densité ionique. Dans le cas d'une gaine non-collisionnelle, la loi de Child-Langmuir permet de l'évaluer ($V_s = \frac{k_B T_e}{2e} + \frac{k_B T_e}{2e} \ln\left(\frac{m_i}{2\pi m_e}\right)$). Un ion susceptible de franchir cette barrière de potentiel a une vitesse moyenne en lisière de gaine supérieure à la vitesse de Bohm : $v_B = \left(\frac{k_B T_e}{m_i}\right)^{\frac{1}{2}}$ [101].

Le flux d'ions arrivant sur la gaine peut être estimé en considérant un cas idéal, plan, de surface A_s (*cf.* Equation 11). Lorsque le potentiel appliqué est très négatif, le courant ionique domine la cinétique dans la gaine. Il est établi à partir de la densité n_s et de la vitesse en lisière de gaine v_B. A l'entrée de gaine, n_s vaut n exp $(-\frac{1}{2})$ pour une tension de $\frac{k_B T_e}{2e}$.

$$\Gamma_i = \frac{I_i}{eA_s} = n_s v_B \simeq 0{,}6\, n\, v_B \qquad \text{Equation 11}$$

III.B.2.a.ii. Tension d'auto-polarisation

Le potentiel plasma doit toujours être supérieur au potentiel de l'objet pour garantir une tension positive dans la gaine. En alimentant le plasma par un générateur radiofréquence, V_s oscille en fonction de la fréquence d'excitation ($\omega = 2\pi f$) à une amplitude V_{RF}. Les électrons s'accumulent au niveau de l'électrode RF grâce à l'ajout d'une capacité de blocage. Une tension continue, tension d'auto-polarisation (V_{DC}), est générée à ses bornes pour équilibrer les flux de charges si le potentiel plasma est faible devant celui de l'électrode RF. La tension d'auto-polarisation accélère les ions en direction de l'électrode RF et ralentit le flux d'électrons sur un cycle RF pour les confiner au centre du plasma.

III.B.2.b. Décharge radiofréquence à couplage capacitif

Au même titre que dans un plasma micro-ondes, les propriétés d'un plasma radiofréquence dépendent essentiellement de la conception de l'applicateur [102].

III.B.2.b.i. Applicateurs radiofréquences

Le couplage de la puissance RF par les applicateurs peut être réalisé par trois voies :

Couplage inductif (RF-ICP) – Le mode inductif ou électromagnétique évanescent (H) est basé sur la circulation d'un courant alternatif dans une bobine ou dans une antenne extérieure. Celui-ci génère un champ magnétique axial et induit un champ électrique azimutal au plasma [103].

Couplage hélicon – En ajoutant un champ magnétique externe, des plasmas à haute densité et forts taux d'ionisation sont générés par des ondes hélicon à basse fréquence radio. Elles sont capables de se propager dans les métaux grâce à l'action d'un champ magnétique axial [104].

Couplage capacitif (RF-CCP) – Le mode capacitif, ou électrostatique (E) repose sur l'application d'une tension aux bornes de deux électrodes. Il est détaillé dans la suite de cette section.

Un applicateur RF-CCP est constitué de deux électrodes, symétriques ou asymétriques (*cf*. Figure III-6). L'électrode RF est portée à la haute tension, l'autre est reliée à la masse.

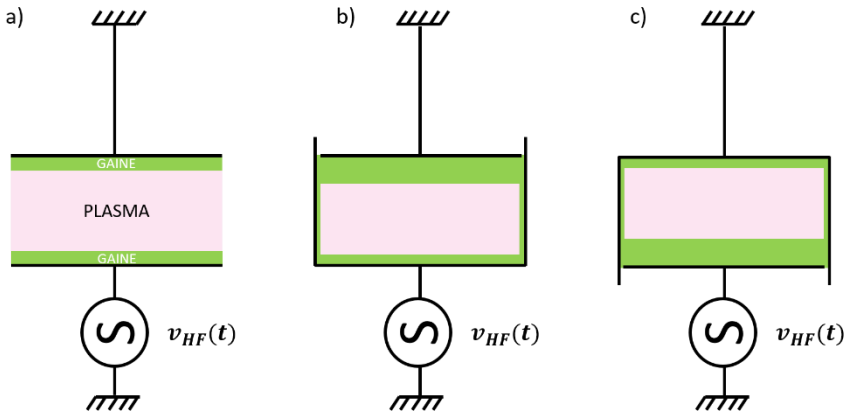


Figure III-6 Exemples de configurations des électrodes en RF-CCP : a) Symétrique b) Asymétrique $A_{RF} < A_0$ c) Asymétrique $A_{RF} > A_0$

Réacteur symétrique – Les électrodes, parallèles et de mêmes dimensions, possèdent des gaines ioniques d'égale épaisseur (Figure III-6a). L'énergie de bombardement ionique est répartie équitablement entre les deux gaines ($V_{DC} = \frac{-V_{RF}}{2}$).

Réacteur asymétrique – Soit l'électrode RF est grande devant la masse (*cf.* Figure III-6b), soit elle est petite et les parois constituent la masse (*cf.* Figure III-6c). Les épaisseurs de gaines varient et la tension d'auto-polarisation compense le bombardement ionique ($V_{DC} = -V_{RF}$).

III.B.2.b.ii. Chauffage électronique

La dynamique des gaines régit les mécanismes de chauffage électronique dans les plasmas RF-CCP [105], [106]. Les oscillations des gaines sont couplées au mouvement des électrons, donc aux variations du champ électrique.

Chauffage ohmique – Si la pression est élevée ($\nu \gg \omega$), le plasma et les gaines sont collisionnels. L'énergie gagnée par les électrons dans le champ électrique oscillant dans les gaines est transformée en énergie thermique par les collisions dans le plasma. La décharge est maintenue par un chauffage ohmique des électrons (*cf.* Equation 7).

Chauffage stochastique – A très basse pression, les interactions électrons-gaines sont favorisées par rapport aux collisions électron-neutre. Ce chauffage est non-collisionnel, les électrons gagnent de l'énergie lors de l'expansion des gaines et en perdent quand elles se rétractent. Le gain moyen observé est caractérisé par une fréquence de collision effective ($\nu_{eff} = \nu + \nu_{stoch}$). La puissance moyenne absorbée par les électrons est basée sur un modèle similaire au chauffage ohmique (*cf.* Equation 7 en remplaçant ν par ν_{eff}).

Chauffage hybride – A des pressions intermédiaires, le chauffage est hybride. Les collisions ne sont pas négligeables mais elles ne sont pas localisées. Le gain d'énergie lors de l'interaction électron-gaines est différent de la collision avec une particule neutre mais celle-ci est nécessaire au chauffage.

III.B.2.b.iii. Limitations en régime RF

Les réacteurs RF-CCP asymétriques présentent des limitations importantes pour être performants dans les traitements de surface. La puissance RF absorbée par les ions dépend à la fois de la densité électronique, image du flux ionique (*cf.* Equation 11), et de la tension d'auto-polarisation, dont dépend l'énergie ionique ($\varepsilon_i \simeq -eV_{DC}$). Ce phénomène est exprimé mathématiquement par : $P_{RF} = -I_i V_{DC} \propto n\, V_{DC}$. Les plasmas RF-CCP à 13,56 MHz présentent de faibles densités ($10^{15} - 10^{16}$ m^{-3}) et de fortes énergies ioniques (> 500 eV) susceptibles de dégrader le substrat. A l'opposé, les plasmas RF-ICP possèdent des densités importantes mais la gaine est fine. La tension de gaine, nécessaire à une énergie ionique suffisante pour casser les liaisons chimiques en surface, est quasi nulle.

L'effet de l'augmentation de la fréquence d'excitation sur ces deux grandeurs a été étudié par Surendra *et al.* [107] et Perret *et al.* [108]. Lorsqu'elle augmente en RF-CCP, l'énergie ionique diminue (< 100 eV) et leur flux augmente. Cela entraîne le problème inverse au cas d'un plasma RF-CCP à 13,56 MHz, l'énergie devient insuffisante à la réaction en surface du substrat. Un contrôle indépendant du flux et de l'énergie ionique semble nécessaire pour optimiser les traitements.

III.B.3. Plasmas à double fréquence

L'association de deux sources de fréquences différentes est alors envisagée pour permettre le traitement par plasma de surfaces de grandes dimensions (ex. écrans plats) dans les années 1990 [109]. L'idée est de générer un plasma stable, dense et homogène en contrôlant séparément les paramètres caractéristiques de chaque source. La haute fréquence ω_{HF} gouverne le flux ionique et la basse fréquence ω_{BF} gère leur énergie. Le champ électrique global définit des paramètres effectifs (fréquence, courant et tension) couplant ces composantes, caractéristiques des paramètres du plasma. Le flux et l'énergie des ions sont découplés si :

- le flux ionique dépend de la composante à haute fréquence si $\omega_{BF}^2|V_{HF}| \gg \omega_{HF}^2|V_{BF}|$,
- l'énergie ionique est contrôlée par le générateur à basse fréquence si $V_{BF} \gg V_{HF}$.

Ceci se traduit par l'expression $\frac{\omega_{HF}^2}{\omega_{BF}^2} \gg \frac{V_{BF}}{V_{HF}} \gg 1$ [110]–[112].

Les premières solutions respectant ce critère consistent à polariser le substrat avec une basse fréquence dans un réacteur dont la densité plasma provient d'une source à haute fréquence (*cf.* Figure III-7a et b). Si le couplage à double fréquence est purement capacitif (DF-CCP), la puissance RF totale est appliquée sur une électrode et la seconde est à la masse (*cf.* Figure III-7a) [113]–[116]. Dans la Figure III-7b, chaque électrode est soumise à une tension RF de fréquence différente. Les sources RF-CCP et RF-ICP sont utilisées pour la haute fréquence [117]–[120]. L'utilisation d'une source MW à 2,45 GHz a également été étudiée dans cet objectif [121]–[128]. Dans les deux cas, seule la face exposée au plasma est traitée.

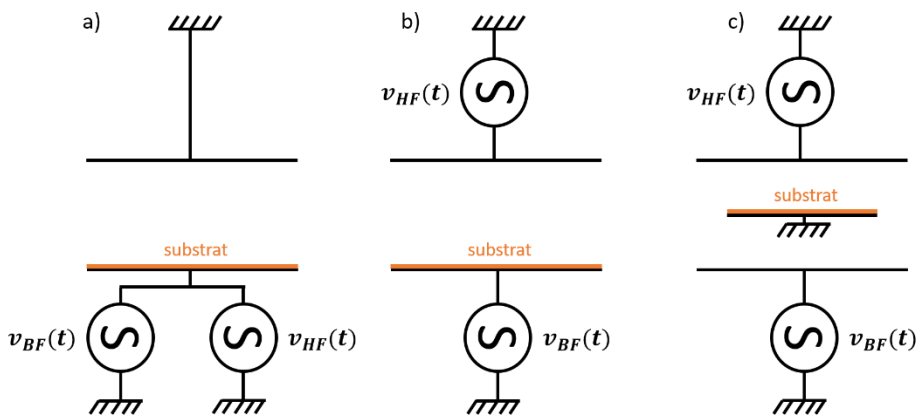


Figure III-7 Configurations de réacteurs à double fréquence (DF) : a) DF-CCP b) Polarisation du substrat à basse fréquence, haute fréquence en RF-CCP, RF-ICP ou MW c) Substrat à la masse – configuration choisie

L'approche sélectionnée consiste à améliorer les performances dans le traitement de semences par une source MW-ECR en lui associant une source RF-CCP (*cf.* Figure III-7c). Le substrat est porté sur une grille à la masse pour réaliser un traitement sur la surface totale des graines. Les sources MW-ECR présentent des plasmas isotropes mais peu homogènes pour de larges surfaces de traitement. L'objectif du procédé étant d'avoir une répartition uniforme du plasma en volume, une source RF-CCP est alors ajoutée au dispositif.

Les principes généraux des plasmas hors équilibre sont maintenant définis dans leur ensemble : propriétés fondamentales et particularités des plasmas générées par des sources micro-ondes et radiofréquence.

Le Tableau III-1 récapitule les avantages et les inconvénients liés aux deux modes de génération du plasma utilisés.

Tableau III-1

Avantages et inconvénients des sources plasma à haute fréquence

Source	Avantages (+) et inconvénients (-)
MW-ECR	(+) Forte densité électronique (> 10^{15} m^{-3})
2,45 GHz	(−) Faible température électronique (≃ 1 eV)
	(−) Plasma peu étendu en volume (≃ 20 cm)
RF-CCP	(+) Forte température électronique (> 3 eV)
13,56 MHz	(+) Plasma crée en volume
	(−) Faible densité électronique (< 10^{16} m^{-3})
	(−) Interdépendance des flux et énergie des ions

La section suivante décrit les possibilités d'action du plasma pour le traitement des semences, de la décontamination fongique à l'optimisation des rendements.

IV. Alternatives plasma dans l'agriculture

L'efficacité d'un plasma dans la décontamination fongique des céréales, son potentiel d'amélioration dans la germination des semences et sa capacité de modification des molécules chimiques (mycotoxines ou nutriments) peuvent avoir différentes origines. Dans tous les cas, il s'agit d'une interaction entre les espèces du plasma et les cellules, ou les molécules, composant le vivant (végétal ou fongique). Les espèces du plasma agissent de manière individuelle ou en synergie pour déclencher un processus biologique (ou chimique) dans les cellules.

IV.A. Interactions potentielles entre le plasma et les cellules

IV.A.1. Effets engendrés par les conditions opératoires

Les conditions nécessaires à la génération du plasma à partir des sources MW-ECR et RF-CCP utilisées sont établies par les paramètres expérimentaux.

Basse pression – La diminution de la pression consiste à réduire la présence de molécules dans un volume donné. Novikova *et al*. [129] ont montré que des spores de moisissures des genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*. ainsi que des graines déshydratées de différentes espèces végétales ont survécu 18 mois dans l'espace, au niveau de la thermosphère où la pression est inférieure au pascal. Des radiations peuvent également intervenir dans ces régions de l'espace, la basse pression ne semble pas constituer un agent d'inactivation des moisissures et ne dégrade pas les qualités germinatives des graines.

Lors du traitement plasma, la réduction de pression depuis la pression atmosphérique implique des réactions chimiques telles que la désorption, *i.e*. le détachement des éléments de surface, ou la déshydratation du substrat en volume. La déshydratation d'une graine peut retarder sa germination, en phase de dormance, elle reste viable mais ne germe pas (*cf*. Chapitre 1 – II.B.2).

Température – Le fonctionnement des cellules vivantes est influencé par les variations de température. Dans le contexte agroalimentaire, les contaminants fongiques sont peu résistants à des hautes températures. Gilbert *et al*. [130] ont traité des semences de blé contaminées par des moisissures du genre *Fusarium spp*. dans un four à différentes températures entre 30 et 90°C. A partir de 70°C, les moisissures sont totalement inactivées alors que la germination des graines et la croissance des plantes sont garanties. Une température de 90°C a révélé des taux de germination trop faibles pour évaluer la croissance du lot de plantes.

Les liaisons chimiques formant les molécules sont sensibles à la température et possèdent un seuil à partir duquel, la fonction de la molécule est compromise. Certaines molécules comme les enzymes par exemple, ne résistent pas à une augmentation de la température au contraire des mycotoxines qui supportent la cuisson au-delà de 180°C.

Lors du traitement plasma, plusieurs espèces et processus chimiques peuvent influencer les mesures de la température dans l'enceinte : les neutres du gaz, les rayonnements, les espèces chargées et leurs recombinaisons. Il est difficile d'associer la température d'une graine ou d'une moisissure à celle mesurée pour ces espèces, leurs éléments de constitution étant de nature variée. Les interactions thermiques dans le plasma sont différentes de celles entre le plasma et la surface des graines, ou leur volume.

IV.A.2. Effets engendrés par les espèces du plasma

Les effets des espèces réactives du plasma sur le vivant ont été massivement étudiés ces dernières années dans le cadre de la thématique « plasma-biologie » avec des bactéries ou des cellules eucaryotes (animales ou végétales) comme modèles biologiques.

La réactivité des plasmas d'air est particulièrement étudiée dans ce contexte. Leur constitution importante en espèces ionisées, UV et réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS : *Reactive Oxygen and Nitrogen Species*) permet d'accentuer des phénomènes déjà existants dans l'atmosphère terrestre, favorisant ou inhibant le développement des cellules. Les émissions UV agissent directement sur l'ADN lorsqu'elles arrivent à l'atteindre tandis que les ions et les RONS interagissent avec les surfaces des différentes cellules et dénaturent les nutriments.

Espèces chargées dans un champ électromagnétique – Un champ électromagnétique permet la circulation dirigée des espèces chargées, électrons et ions. Les cellules fongiques et végétales possèdent des minéraux (ions) localisés dans la vacuole. Elles sont protégées par une membrane semi-perméable qui gère les échanges ioniques avec le milieu extracellulaire en régulant la pression osmotique au sein de la cellule. En présence d'un champ électrique ou d'un champ magnétique externe, la membrane se charge en surface et des pores se forment entraînant sa perméabilisation [131], [132]. Le processus est réversible tant que l'électroporation est régulée et permet d'apporter les nutriments nécessaires au développement de la cellule. Lorsque la tension devient trop importante, une rupture de la membrane est observée. Cette dernière libère son contenu intracellulaire, la vacuole se déshydrate et conduit à une atrophie de la cellule qui n'est plus fonctionnelle. Moon *et al*. [133] ont observé une modification de la vitesse et des taux de germination de graines de tomates soumises à un champ électrique ou magnétique alternatif. Leur étude a mis en avant la présence d'un couple champ électromagnétique-temps d'exposition permettant d'accélérer la levée de dormance de manière optimale. Celle-ci est inhibée lorsque le champ dépasse une valeur seuil de tension ou de durée d'exposition.

Lors d'un traitement plasma, une électroporation des membranes cellulaires contrôlée par le champ électromagnétique incident peut alors être favorable à la germination ou engager le processus d'inactivation des cellules.

Ultraviolets (UV) – Les photons UV compris entre 100 et 320 nm (UV-C et UV-B) sont capables d'induire des réactions photochimiques aux molécules constitutives d'un substrat biologique [134]. Ces UV correspondent à la gamme d'absorption des protéines, de l'ARN et de l'ADN (maximale à 260±5 nm) présents dans les cellules. Leur capacité de pénétration dans la matière est faible, de quelques micromètres, leur efficacité germicide se retrouve alors plus facilement sur les microorganismes. Si les UV atteignent l'ADN des spores, ils réalisent des liaisons entre des acides nucléiques non complémentaires [135]. Ce processus conduit à réduire la prolifération de la moisissure, celle-ci ne pouvant plus se reproduire.

A pression atmosphérique, le rayonnement UV du plasma est négligeable devant les autres processus ayant un effet biocide. Les photons UV entrent en collision avec les molécules de dioxygène de l'air ambiant avant d'atteindre les substrats. Au contraire, les procédés de plasma à basse pression sont caractérisés par de fortes émissions dans l'UV. Moisan *et al*. [136] ont évalué la contribution des UV dans un traitement de spores bactériennes par une post-décharge de plasma d'azote-oxygène à basse pression. La cinétique d'inactivation des spores est décrite suivant trois phases présentées sur la Figure IV-1.

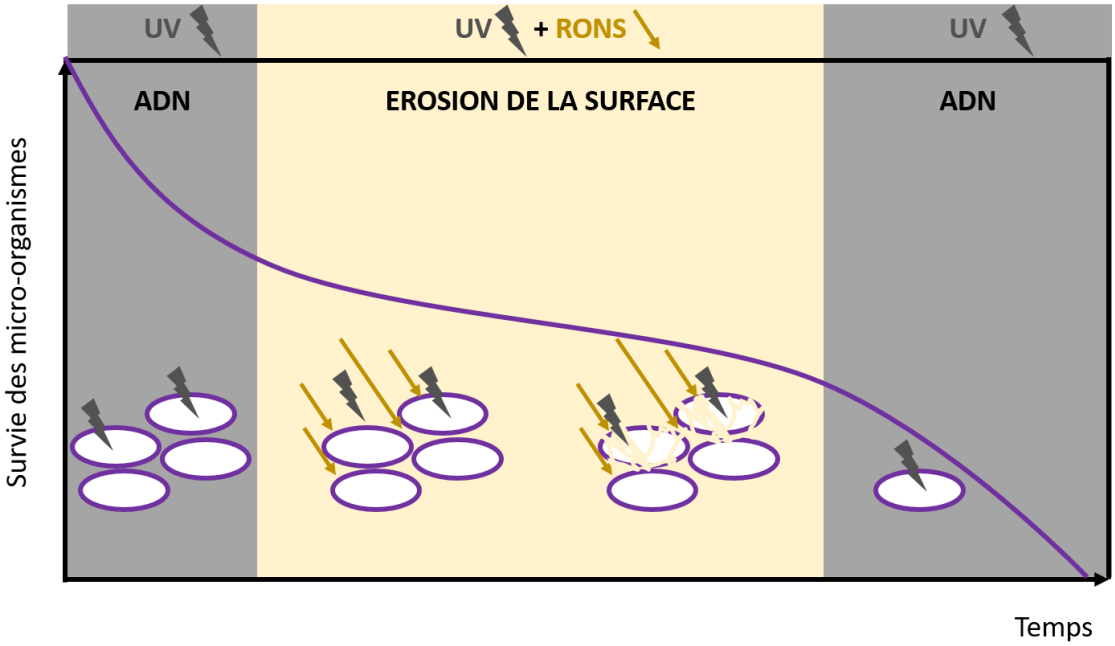


Figure IV-1 Processus d'inactivation des micro-organismes en trois phases mettant en jeu les UV et les RONS d'un plasma à basse pression reproduit à partir de Moisan et al. *[136]*

- La première étape est caractérisée par une forte implication des UV, responsables de lésions sur l'ADN des cellules directement exposées à la source.
- La seconde consiste en une synergie d'action entre les UV et les RONS. Elle est initiée par la photo-désorption des UV sur les cellules, entraînant l'érosion des membranes et la formation de composés volatiles carbonés provenant de la cellule. Les émissions d'un plasma d'air dans cette région UV du spectre électromagnétique permettent la formation de RONS (*e.g.* monoxyde d'azote, radicaux hydroxyle et oxygène atomique). En quantité suffisante, ces espèces, notamment l'oxygène atomique, participent à l'inactivation des cellules en érodant les membranes cellulaires. Les microorganismes étant agglomérés les uns sur les autres, les UV, dont la capacité de pénétration dans la matière est faible, ne peuvent pas atteindre l'ADN de toutes les cellules.
- L'érosion des composés organiques réalisée dans la deuxième phase permet aux UV de terminer le processus de décontamination dans la troisième phase en atteignant l'ADN.

Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) – Les cellules aérobies telles que celles constituant les graines et les moisissures ont besoin de dioxygène pour croître [137]. Le mécanisme de respiration cellulaire conduit majoritairement à la formation de molécules d'eau par réduction du dioxygène pour permettre son développement. Une partie des électrons entraîne la production de radicaux oxygénés (ROS). Ces derniers peuvent également être produits par les composants de la cellule en réponse à différents stress (la température, la sécheresse ou la salinité du sol, les particules métalliques, les agents biologiques extérieurs) [138], [139].

- Au sein des cellules, les RONS sont assimilables à des messagers. Ils transmettent des informations à la cellule favorisant ou inhibant sa croissance en fonction des agents extérieurs (environnementaux ou vivants). En quantité raisonnable dans la cellule, les RONS, notamment le monoxyde d'azote NO, sont capables d'activer la levée de dormance en inhibant l'hormone ABA [56], [140]. En excès dans la cellule, les ROS engendrent un

stress oxydatif, conduisant à la mort cellulaire. Les premiers ROS produits pendant la respiration cellulaire sont le radical superoxyde, le radical perhydroxyle ainsi que le peroxyde d'hydrogène (non radicalaire). Ces derniers produisent ensuite des espèces réactives cytotoxiques telles que le radical hydroxyle et le monoxyde d'azote. Le radical hydroxyle OH, très réactif, agit dans l'inactivation cellulaire à travers l'ensemble de ses constituants biochimiques (lipides, protéines, ADN) [141]. Par exemple, les lipides présents dans la membrane cellulaire peuvent être oxydés par les ROS, notamment OH. Cette peroxydation des lipides est causée par la rupture des liaisons chimiques et entraîne la perméabilisation de la membrane. OH, pouvant agir directement sur l'ADN, est considéré comme le ROS le plus toxique. Il peut alors causer des mutations génétiques et conduire à l'inactivation de la cellule [142].

- Un mécanisme de défense est alors mis en place dans la cellule pour équilibrer les actions positives et négatives des RONS. Ce mécanisme est basé sur la présence d'antioxydants, mis en jeu pour réguler la présence des RONS. Les antioxydants enzymatiques catalysent les réactions entre les ROS et les antioxydants non-enzymatiques. Chaque antioxydant non-enzymatique possède une fonction qui réagit de manière spécifique à une région cellulaire. Par exemple, les flavonoïdes éliminent les ROS dans la vacuole [138].

Les plasmas d'air produisent les espèces radicalaires OH et NO, détectables par spectroscopie d'émission optique. Après une exposition au plasma, l'analyse de la surface des graines présente des marqueurs de l'interaction entre les RONS et la surface. Gomez-Ramirez *et al.* [143] ont montré une oxydation de l'enveloppe et de la paroi de graines de quinoa et une libération des ions potassium, corrélées à une augmentation du taux de germination après une exposition au plasma. L'oxygène atomique O, formé par dissociation des molécules de dioxygène agit également sur la membrane cellulaire. En faible quantité dans l'environnement, il facilite la perméabilisation de la surface. En excès, il entraîne la gravure des parois cellulaires par désorption de la surface des cellules. Cette érosion en surface est irréversible [144].

Différents agents du plasma peuvent être responsables de modifications de substrats biologiques, positives ou négatives en fonction du taux présent. Le monoxyde d'azote NO favorise la levée de dormance permettant d'enclencher le processus de germination des semences. A l'inverse, la présence de RONS en grande quantité peut engendrer un stress oxydatif suffisant pour induire la mort cellulaire. Le radical hydroxyle OH peut notamment causer la peroxydation des lipides, l'oxydation des protéines et la dégradation de l'ADN. L'oxygène atomique O et les espèces chargées peuvent être responsables d'une perméabilisation membranaire. Ces espèces participent au développement des cellules ou entraînent la libération du contenu intracellulaire en fonction de la quantité et de la taille des pores. Les conditions opératoires sont décrites par les interactions thermiques entre le plasma et le substrat, difficiles à définir et par la basse pression, pouvant mettre les cellules en état de dormance et retarder la germination.

IV.B. Exemples de procédés plasma étudiés pour l'agriculture

Le traitement de graines par un procédé plasma constitue un sujet de recherche en progression depuis les années 2000. Les premières études concernent des plasmas à basse pression. Ce type de plasma permet un traitement industriel à grande échelle mais peut être estimé onéreux et énergivore. A partir des années 2010, le développement des plasmas à pression atmosphérique entraîne une deuxième voie d'étude concernant les interactions plasma-semences. Ces derniers sont également abordés sous un troisième axe avec l'activation des milieux liquides par plasma (PAM : Plasma Activated Media) à partir de 2015. Parmi eux, les plasmas pouvant être directement appliqués sur des graines sont majoritairement des décharges à barrières diélectriques (DBD) [145]–[147]. En comparaison avec les jets, celles-ci permettent d'augmenter les surfaces exposées même si le volume reste limité. Les jets sont plutôt étudiés pour le traitement indirect, à partir de PAM [148]–[151]. Misra *et al*. [152] ont réalisé un ouvrage retraçant les avancées dans le domaine des plasmas froids à pression atmosphérique pour l'alimentation et l'agriculture en 2016. Les caractéristiques de tous ces plasmas sont différentes (gaz, pression, géométrie du réacteur et mode de génération) et une grande variété de graines sont traitées (fruits, légumes, légumineuses et céréales), présentant des propriétés intrinsèques différentes. Les sections suivantes sont principalement axées sur les procédés plasma à basse pression, dont les interactions peuvent être plus facilement corrélées avec les plasmas mis en œuvre dans cette étude.

IV.B.1. Décontamination fongique et détoxification des mycotoxines par plasma

Le plasma peut avoir différentes actions dans un contexte de décontamination fongique de graines. Ces actions ont été étudiées successivement en commençant par vérifier l'efficacité de l'inactivation des moisissures par le plasma sur un substrat « idéal ». Celle-ci s'étant avérée performante, les études se sont axées sur une contamination contrôlée d'échantillons de graines afin de déterminer l'influence du substrat sur l'efficacité du plasma avant d'étudier les effets du plasma sur la flore native, pouvant être plus variée. Les effets complémentaires du plasma ont été évalués, suivant un même procédé pour la dégradation de mycotoxines, susceptibles d'être produites par les moisissures. La préservation des propriétés des graines liée à leur utilisation a été évaluée sur des graines exposées au plasma.

IV.B.1.a. Inactivation de moisissures par plasma

Substrat inerte – L'étude du plasma dans l'inactivation fongique au sein du secteur agroalimentaire a débuté par la décontamination de substrats inertes tels que des supports de verre inoculés. Les moisissures sélectionnées, de genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*., sont connues pour être présentes dans les aliments, en provenance de la chaîne de transformation ou de stockage. Park *et al*. [153] ont étudié en 2003 l'efficacité fongicide d'un procédé plasma d'argon induit par des micro-ondes à la pression atmosphérique (applicateur à guide d'onde à 2,45 GHz). Ils évaluent la survie de bactéries (*Bacillus spp*.) et de moisissures (*Aspergillus niger* et *Penicillium citrinum*) en fonction du temps d'exposition au plasma (maximum 60 secondes) à une puissance de 1 kW. Une décroissance de 6-log est observée pour les bactéries après 20 secondes de traitement. Les moisissures atteignent des taux équivalents après seulement 1 seconde d'exposition. Les effets des agents du plasma responsables de cette décroissance sont explorés par microscopie électronique à balayage (MEB). Les observations au MEB mettent en avant une interaction des RONS sur les parois cellulaires, avec une érosion en surface voire une réduction de la taille des micro-organismes traités par rapport aux témoins.

L'intensité des UV produits par le plasma à 254 nm est mesurée par photo-radiométrie, l'effet des micro-ondes est comparé et la température de surface du substrat est estimée entre 75 et 130°C. Les auteurs concluent sur une inactivation des micro-organismes induite à la fois par les UV, les RONS et la gravure des membranes cellulaires par un procédé plus rapide et moins toxique qu'une méthode classique.

Inoculation contrôlée sur des graines – Un des premiers procédés plasma évalué pour de la décontamination fongique de graines a été présenté en 2008 par Selcuk, Basaran *et al*. [154], [155]. Ils ont étudié l'efficacité d'un plasma à basse pression (500 mTorr ≡ 66,7 Pa) dans l'inactivation de moisissures, de genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*., inoculées sur des graines de variétés différentes : tomate, blé, pois chiche, soja, orge, etc. et des oléagineux. Le plasma est généré par une source RF-ICP à 1 kHz, 300 W dans de l'air synthétique ou de l'hexafluorure de soufre (SF_6).

Différentes caractéristiques pouvant agir sur l'efficacité fongicide du plasma de manière positive ou négative sont mises en avant dans leur étude.

- La **souche fongique** : le traitement réalisé présente une efficacité similaire quelle que soit la souche de la moisissure à inactiver.
- Le **gaz de procédé** : la cinétique d'inactivation des moisissures varie en fonction de la nature chimique du plasma. Les moisissures exposées au SF_6 présentent un palier dans la décroissance logarithmique au bout de 15 minutes alors que celui-ci n'est pas encore atteint après 20 minutes d'exposition au plasma d'air.
- La **nature du substrat** : la réduction de la contamination fongique observée sur des grains de blé est plus importante que celle déterminée sur des grains de riz (2-log d'écart).
- La **géométrie du substrat** : la complexité de sa structure réduit sa décontamination fongique. Une réduction de la contamination fongique de 5-log est obtenue en 1 seconde sur un substrat plan (Park *et al*. précédemment cités) tandis que 3-log sont obtenus en 20 minutes sur les graines, des substrats volumiques présentant des aspérités en surface.

Des résultats similaires sont obtenus par Devi *et al*. [156] à l'aide d'une source RF-CCP symétrique générant un plasma d'air à basse pression (0,2 mbar ≡ 20 Pa) avec une puissance de 40 W ou de 60 W. Ce procédé est étudié pour l'inactivation de moisissures, du genre *Aspergillus spp*., inoculées sur des grains d'arachide. Ils mettent en évidence la nécessité de trouver un couple puissance injectée – temps de traitement permettant d'optimiser l'action du plasma sur la cible (moisissure).

Flore fongique native des graines – Filatova *et al*. [157] ont montré en 2012 que l'efficacité du plasma dépend à la fois de la souche fongique et de la nature du substrat, en comparant l'inactivation de moisissures sur différente graines : pois, orge, lupin. Les contaminants natifs détectés sur ces graines proviennent essentiellement du champ, et sont en proportions différentes selon les graines. Les contaminations des pois sont : *Alternaria spp*. (50%) et *Fusarium spp*. (20%), celles du lupin : *Fusarium spp*. (30%) et *Alternaria spp*. (10%). Une source RF-CCP à 5,28 MHz est utilisée pour générer un plasma d'air à 40 Pa. Les traitements sont réalisés entre 5 et 20 minutes sur les contaminants natifs des graines. La décroissance fongique sur les pois est rapide dans le cas du genre *Alternaria spp*., à partir de 5 minutes d'exposition au plasma, il ne reste que 30% de contaminants. L'efficacité du plasma sur le genre

Fusarium spp. est quasi-nulle. Le phénomène inverse est observé sur le lupin. La germination des graines est améliorée quelles que soient les conditions de traitement au plasma.

IV.B.1.b. Dégradation des mycotoxines par plasma

Deux des travaux cités précédemment ont également étudié les effets du plasma sur la concentration en aflatoxines. Basaran *et al*. [155] ont réalisé cette évaluation sur des noisettes. L'air permet, entre autres, de réduire la teneur totale en aflatoxine de 50%, contre 20% avec le SF_6. Devi *et al*. [156] ont révélé la présence d'un couple puissance injectée – temps de traitement optimal pour minimiser la teneur en aflatoxines sur des arachides. Plus récemment, l'efficacité du plasma dans la dégradation de différentes mycotoxines et les mécanismes conduisant à ce phénomène ont été évalués par Bosch *et al*. [158] et Hojnik *et al*. [159], [160].

- Les premiers évaluent l'efficacité du plasma en fonction de la structure de la mycotoxine, ramifiée ou linéaire, et en fonction de la nature du substrat, en verre ou sur des grains de riz. Ces deux paramètres influent sur la cinétique de dégradation des différentes mycotoxines traitées et montrent que le plasma dégrade plus facilement les molécules de structure linéaire présentes sur un substrat en verre, plan et inerte chimiquement.
- Les seconds comparent l'efficacité d'un traitement plasma avec des traitements UV et thermiques sur différentes mycotoxines. Ils observent une dégradation plus élevée et plus rapide avec le traitement au plasma, corrélée à la génération de RONS.

IV.B.1.c. Propriétés intrinsèques des graines

Les propriétés germinatives et les qualités organoleptiques des graines s'avèrent être conservées après l'exposition au plasma. Par exemple, Selcuk *et al*. [154] ont constaté que le taux de gluten déterminé pour la farine issue des grains de blé exposés au plasma est équivalent à celui des échantillons témoins (35,4 g/kg). Les effets du plasma sur les propriétés germinatives des graines sont présentés dans le Chapitre 1 – IV.B.1 qui suit.

Le Tableau IV-1 récapitule les facteurs pouvant influencer l'interaction entre un plasma et une graine ainsi que celle entre un plasma et un contaminant extérieur.

Tableau IV-1

Facteurs d'influence lors du traitement de graines par plasma

Paramètres potentiels de l'interaction plasma – graine / plasma - contaminant	
Plasma	Nature du gaz – Mode de génération – Pression – Puissance – Temps d'exposition
Substrat (graine)	Géométrie – Propriétés de la surface
Contaminant	Souche fongique – Teneur en mycotoxine

En complément de ces quelques exemples, plusieurs revues de la littérature permettent d'avoir une vision d'ensemble, plus exhaustive, des procédés plasmas et des mécanismes mis en jeu dans le contrôle de la prolifération des micro-organismes et de la production de mycotoxines présents dans le contexte agroalimentaire [161]–[164].

IV.B.1. Germination de semences par plasma

Le plasma peut avoir des effets opposés dans un contexte d'optimisation des rendements des cultures en fonction des conditions opératoires : gaz, puissance injectée et temps d'exposition. Les premières études se sont consacrées à l'efficacité du plasma dans la germination des semences. Les premiers mécanismes mis en avant concernent les interactions entre le plasma et la surface des graines. Les études les plus récentes s'intéressent aux interactions entre les agents du plasma et la composition biochimique des graines.

Efficacité du plasma pour la germination – L'étude des plasmas à basse pression pour la germination de semences a été initiée par les travaux de Volin *et al*. [165] et de Dubinov *et al*. [166] en 2000. Ils s'intéressent aux effets d'un plasma sur la germination des graines en mesurant le taux et la vitesse de germination pour différents gaz et diverses variétés de graines.

- Les premiers proposent de modifier la surface des semences par un procédé de plasma à basse pression en s'inspirant à la fois des techniques d'enrobage des graines par des intrants chimiques et de la synthèse de macromolécules suivie de leur dépôt en surface de substrats, utilisés en microélectronique. Le plasma est généré par une source RF-CCP à 13,56 MHz dans deux catégories de gaz moléculaires : fluoré ou azoté à 200-300 mTorr (25-40 Pa) et appliqué sur des cultures variées de radis, de pois, de soja entre 2 et 20 minutes. Ils mettent en avant les caractéristiques faisant varier les effets du plasma dans le traitement de semences : la composition chimique du gaz, la nature des graines et le temps d'exposition.
- Les seconds mettent en place un procédé de plasma pour améliorer les propriétés germinatives des semences de céréales (avoine et orge) et leur résistance aux pathogènes. Le plasma est généré dans de l'air à 10-30 Pa. Ils constatent une accélération de la germination de l'avoine ainsi qu'une augmentation du taux de germination final et de la longueur des pousses après un traitement au plasma.

Interactions plasma-surface des graines – Zivkovic *et al*. [167] ont étudié en 2004 un procédé de plasma RF-CCP à 13,56 MHz comme pré-traitement dans le cadre de la stimulation à la lumière rouge de la germination de semences de *Paulownia tomentosa*. Le plasma est généré dans de l'argon à 100 mTorr (13 Pa) ou dans de l'air à 200 mTorr (25 Pa), à une puissance de 50, 100 ou 200 W. Ces travaux mettent en évidence l'influence de la nature du gaz et du couple puissance injectée-temps de traitement sur le taux de germination. Les graines exposées au plasma d'air peuvent améliorer leur taux de germination de 40% avec une exposition de 5 minutes au plasma d'air alors qu'aucune variation n'est observée avec un plasma d'argon. En assimilant ces résultats à ceux obtenus lors du traitement de polymères et de textiles, les auteurs émettent l'hypothèse que l'efficacité du plasma d'air puisse être attribuée à une gravure, une fonctionnalisation et/ou un dépôt en surface des graines. Dans ces conditions, la gravure permettrait une meilleure imbibition des graines, favorisant alors l'absorption de l'eau pour initier la phase de germination. La fonctionnalisation de la surface pourrait améliorer la protection que constitue le péricarpe contre les agents contaminants extérieurs. Le dépôt rejoint les travaux de Volin *et al*. sur l'enrobage des graines, facilitant la germination par la présence des radicaux azotés et oxygénés de l'air.

Sera *et al*. [168] ont mis en corrélation la gravure de la surface de graines de *Chenopodium album* par un plasma avec une accélération de la germination. Le plasma est généré dans de l'argon-oxygène ou dans de l'argon-azote à l'aide d'un applicateur micro-ondes à ondes de

surface (40 mbar ≡ 4000 Pa). Les graines sont traitées entre 6 et 48 minutes puis observées au MEB pour déterminer l'érosion de surface. Les auteurs suggèrent que ce phénomène d'érosion est un des premiers acteurs de la levée de dormance des graines conduisant à la germination [169]. Ils complètent ces études en s'intéressant au métabolisme de grains de blé et d'avoine. Ils observent une modification de la composition chimique des tiges et des racines entre le témoin et un échantillon exposé au plasma. Ces résultats indiquent une propagation des espèces réactives du plasma à travers la surface érodée [170].

Dans la continuité, Bormashenko *et al*. ont évalué, en 2012, l'hydrophilisation de la surface de graines de rugosité différente : blé, lentilles et pois. Un plasma d'air est généré à $6{,}7.10^{-2}$ Pa par une source RF-ICP. Les auteurs observent la surface des graines au MEB et estiment sa mouillabilité par une mesure d'angle de contact. Toutes les graines sont hydrophilisées par le plasma dès 15 secondes de traitement. Ce phénomène est corrélé à un effet des RONS, issus du plasma, entraînant une oxydation de la surface et sa fonctionnalisation par l'azote, dont la présence est vérifiée par spectroscopie de masse.

Gomez-Ramirez *et al*. [143] ont déterminé en 2018 les agents du plasma responsables d'une amélioration de la germination de graines de quinoa. Un plasma d'air est généré soit par un applicateur RF-CCP (13,56 MHz ; 0,1 mbar ≡ 10 Pa) soit par une source DBD (500 mbar). Les analyses par spectroscopie à rayons X, MEB et l'imbibition des graines montrent qu'en complément de l'érosion de surface observée jusque-là, cette dernière est fonctionnalisée par les RONS provenant du plasma. Celle-ci est suivie par un accrochage en surface des ions potassium présents dans l'albumen de la graine sous l'influence du champ électrique. Une fois la graine imbibée, les espèces oxydantes et les ions potassium s'infiltrent dans la graine, amenant les nutriments essentiels au déclenchement de la germination. La source RF-CCP privilégie une forte concentration d'ions alors que la DBD favorise la production de RONS.

Interactions plasma-composition des graines – Rahman *et al*. [171] ont conforté ces observations en 2018 avec l'application d'un plasma d'argon-oxygène ou d'argon-air généré par une source DBD à basse pression sur des grains de blé. Leur étude comprend également une analyse des RONS présents dans les graines et dans les tiges et racines des plants en mesurant l'activité enzymatique des antioxydants. Les auteurs mettent en corrélation l'augmentation du taux de germination (plus importante en présence d'air) avec la quantité de peroxyde d'hydrogène, régulant la germination par la tolérance de la cellule au stress oxydatif.

A partir de 2019, des analyses moléculaires, réalisées sur différentes graines traitées par plasma RF-CCP mettent en avant l'augmentation du taux de nutriments présents dans les graines et dans les pousses [172] ainsi que l'évolution de la teneur en phytohormones [173], responsables du maintien et de la levée de dormance (*e.g*. ABA et GA).

L'étude du traitement de semences par plasma à basse pression a été complétée par le développement des plasmas à la pression atmosphérique [161]. Elle constitue tout de même un sujet d'étude non négligeable pour une utilisation industrielle. Les procédés à basse pression permettent d'exposer de grandes quantités de graines en volume. Les traitements peuvent alors être répartis de manière homogène à la surface de chaque graine. En atmosphère contrôlée, ils sont plus facilement reproductibles. Un plasma d'air à basse pression est notamment favorable à une inactivation efficace des contaminants, par synergie d'action entre les UV et les RONS.

Le monoxyde d'azote, acteur de la levée de dormance est émis principalement dans la gamme des UV, favorisant aussi la germination des graines.

Le Tableau IV-2 répertorie les effets potentiels des agents du plasma pouvant être responsables des variations sur les cellules vivantes lors de l'interaction plasma-semence.

Tableau IV-2

Effets potentiels des espèces du plasma sur les cellules végétales

Effets des agents potentiels de l'interaction plasma – semence	
Espèces chargées	*Perméabilisation de la surface par électroporation*
	(+) Apport de nutriments (minéraux) pour la germination
	(+) Rupture membranaire : inactivation des cellules fongiques
	(−) Rupture membranaire : inactivation des cellules végétales
UV	*Modification directe du matériel génétique*
	(+) Inactivation des cellules fongiques
	(−) Faible pénétration dans la matière
Oxygène atomique	*Erosion de la surface*
	(+) Perméabilisation de la membrane des semences
	(+) Accès facilité pour les UV
	(−) Rupture membranaire : inactivation des cellules végétales
Monoxyde d'azote	*Transmission d'information à la cellule*
	(+) Inhibition de l'hormone ABA : levée de dormance
	(+) Fonctionnalisation de la surface des graines
	(+) Stress oxydatif : inactivation des cellules fongiques
	(−) Stress oxydatif : inactivation des cellules végétales
Radical hydroxyle	*Transmission d'information à la cellule*
	(+) Inactivation cellulaire : ADN, protéines, lipides
	(+) Fonctionnalisation de la surface des graines : protection
	(+) Stress oxydatif : inactivation des cellules fongiques
	(−) Stress oxydatif : inactivation des cellules végétales

La section suivante constitue un bilan du Chapitre 1, reprenant les éléments essentiels à retenir pour avoir une vision d'ensemble de la problématique agricole et des caractéristiques principales des traitements plasma à basse pression.

V. Conclusions sur la problématique du traitement des semences par plasma

La partie I pose la problématique de la contamination fongique des céréales. Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) est sélectionné puisqu'il représente 60% du marché des céréales en France. Il est consommé cuit par l'Homme, à l'état brut ou après avoir été moulu en farine, entre autres, pour la panification. Le blé subit des contaminations fongiques qui peuvent nuire à la préservation des semences. Différentes espèces de moisissures sont responsables de la diminution des réserves. Elles proviennent directement du champ dans lequel elles sont semées (*Fusarium spp*. et *Alternaria spp*.) ou bien de la chaîne de stockage après récolte (*Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*.). Certaines ont également la capacité de produire des mycotoxines. Ces substances chimiques peuvent être toxiques pour le consommateur. Elles engendrent des intoxications alimentaires conduisant à la génération de cellules cancéreuses et au dysfonctionnement du système immunitaire (aflatoxine), néphrotique (ochratoxine), respiratoire (fumonisine) ou digestif (trichothécène). Les méthodes de décontamination fongique et de dégradation des toxines actuelles sont limitées. Les fongicides chimiques ont des effets secondaires importants sur l'environnement et la santé humaine. Les techniques physiques mises en œuvre sur la chaîne de transformation du produit ne garantissent pas toujours la dégradation des mycotoxines (tri et broyage), ne tiennent pas compte des aspérités du grain (décorticage) et peuvent endommager les propriétés nutritives ou organoleptiques des graines (chauffage).

La partie II discute l'optimisation de la germination des semences paysannes. Ce type de semences constitue une voie émergente vers une agriculture durable en réponse aux méthodes actuelles. L'agriculture intensive, pratiquée depuis les années 1950, est efficace en termes de rendements agricoles pour nourrir une population croissante mais présente des effets secondaires négatifs pour l'environnement (épuisement des surfaces arables et des ressources en eau, réduction de la biodiversité) ; pour l'agriculteur (intrants chimiques volatils) et pour le consommateur, animal ou humain (ingestion de substances toxiques). La démarche du « Réseau de Semences Paysannes » permet de rétablir la biodiversité et la place de l'agriculteur dans la production des semences mais les taux de germination atteints par celles-ci ne sont pas suffisants pour répondre aux besoins agricoles futurs.

La partie III aborde la définition de l'état plasma, les principes physiques qui régissent les plasmas à haute fréquence et leurs possibilités de couplage. La source élémentaire micro-ondes à résonance cyclo-électronique (MW-ECR) présente une densité électronique susceptible de générer un flux ionique important dans la décharge. La source radiofréquence à couplage capacitif (RF-CCP) permet d'uniformiser le traitement en volume et de contrôler l'énergie des ions.

La partie IV présente le potentiel d'action du plasma dans le domaine agroalimentaire à travers un état de l'art des travaux réalisés depuis les années 2000. Les plasmas hors équilibre thermodynamique constituent une alternative intéressante aux méthodes actuelles et un possible complément à celles en cours de développement vers une agriculture durable. La variété d'espèces présentes dans le plasma est susceptible de réagir avec le vivant. Ce constat est d'autant plus vrai dans un plasma d'air pour lequel plusieurs espèces sont naturellement présentes dans la cellule et responsables des divers processus de son développement. Les

espèces chargées impactent les membranes cellulaires au même titre que l'oxygène atomique. Les UV, inférieurs à 320 nm, sont absorbés directement par l'ADN et les espèces radicalaires RONS peuvent agir sur les différents composants de la cellule, modifiant également les nutriments (protéines, lipides) des cellules. Ces espèces peuvent être considérées comme des messagers cellulaires. A faible dose, ces éléments ont un effet favorable sur le développement des cellules. En excès, elles conduisent à l'inactivation cellulaire, la plaçant en état de dormance pour se protéger des conditions environnementales ou causant sa mort par déshydratation ou apoptose.

Cette thèse consiste dans un premier temps à étudier les caractéristiques physiques d'un plasma généré par un applicateur MW-ECR et par son couplage à une source RF-CCP. Dans un second temps, elle est axée sur l'étude de leurs effets dans le contexte agricole. Les deux problématiques mises en avant dans ce premier chapitre sont traitées de manière dissociée. Une première étude met en évidence l'efficacité de la source MW-ECR et de l'association de celle-ci avec la source RF-CCP pour l'inactivation des moisissures natives du blé et sur la dégradation de mycotoxines. La deuxième étude consiste à évaluer le potentiel du procédé plasma MW et MW+RF dans la germination de semences paysannes de poivron afin d'améliorer leurs rendements.

Chapitre 2
Procédé plasma et outils de diagnostic pour le traitement de semences

Ce chapitre est divisé en trois parties répertoriant les diagnostics utilisés et les méthodes mises en œuvre pour réaliser une caractérisation physique des plasmas ainsi que pour déterminer les modifications physico-chimiques et biologiques engendrées sur les graines exposées au plasma.

Le banc de mesure est présenté à travers le dispositif expérimental, les sources, leurs caractéristiques électriques et les diagnostics physiques mis en œuvre pour réaliser une étude paramétrique du plasma.

Les méthodes d'analyse physico-chimiques et biologiques puis les conditions d'exposition mises en place pour étudier les capacités d'action du procédé plasma appliqué au traitement de semences sont explicitées.

I. Caractérisation physique des plasmas générés

I.A. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé pour le traitement de semences est un réacteur sous vide dans lequel différentes sources de type micro-ondes ou radiofréquence peuvent être disposées afin de générer des plasmas à basse pression (*cf.* Figure I-1). Initialement prévu pour étudier la décontamination moléculaire par plasma de FOUPs (*Front Opening Unified Pod* – containers de wafers pour la microélectronique), ce banc expérimental a été conçu par la société *Alliance Concept*. L'enceinte, le système de circulation du gaz, les générateurs associés aux sources plasma et l'interface homme-machine sont décrits dans l'idée de donner une vision globale du procédé. Un circuit d'eau tempérée entre 15°C et 20°C (HYFRA Sygma 5-S) refroidit le tout.

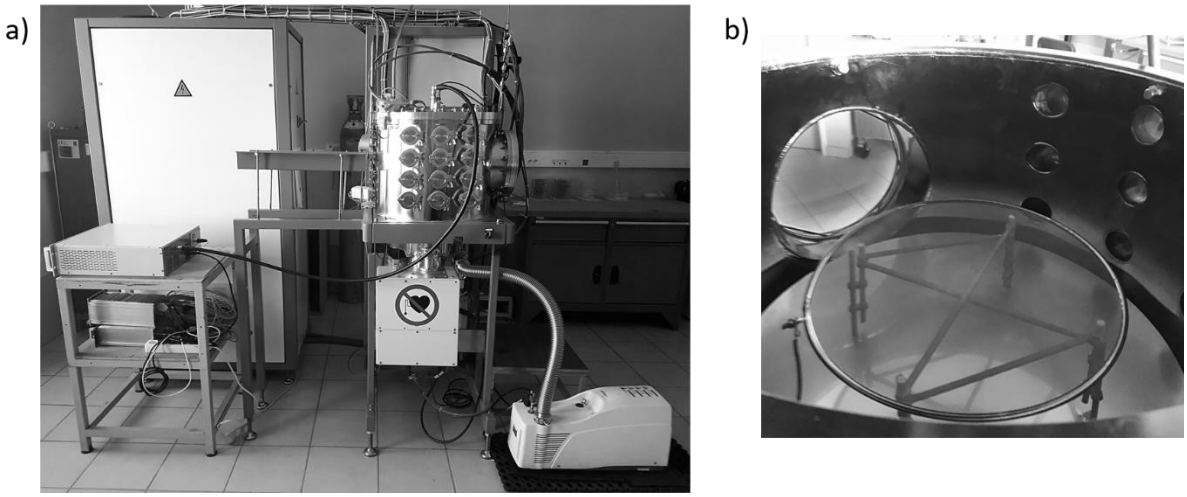


Figure I-1 Dispositif expérimental : a) Vue d'ensemble b) Intérieur du réacteur

I.A.1. Enceinte sous vide et constituants

I.A.1.a. Banc de mesure

Le réacteur est composé d'une chambre à vide cylindrique en acier inoxydable de 50,5 cm de diamètre interne pour une hauteur de 40 cm, soit un volume de l'ordre de 80 litres (*cf.* Figure I-2). Deux hublots de diamètres 21 cm et 15 cm et seize raccords KF de diamètre 4 cm sont répartis sur la surface latérale de manière à pouvoir observer le plasma et insérer des appareils de mesure. La platine supérieure en acier inoxydable est amovible à partir d'un vérin électrique afin de disposer les éléments à traiter dans l'enceinte. Ce couvercle est constitué de neuf raccords KF de diamètre 4 cm ainsi que de trois raccords KF de diamètre 5 cm.

Deux sources sont disposées dans le réacteur (*cf.* Figure I-3). La source micro-ondes (MW-ECR) est insérée au raccord KF central du couvercle. La source radiofréquence (RF-CCP) est en configuration asymétrique. L'électrode RF, connectée à la haute tension, est un disque en acier inoxydable de diamètre 46 cm positionné dans la partie inférieure du réacteur, située à 28 cm du haut de l'enceinte. Les parois latérales du réacteur sont à la masse électrique.

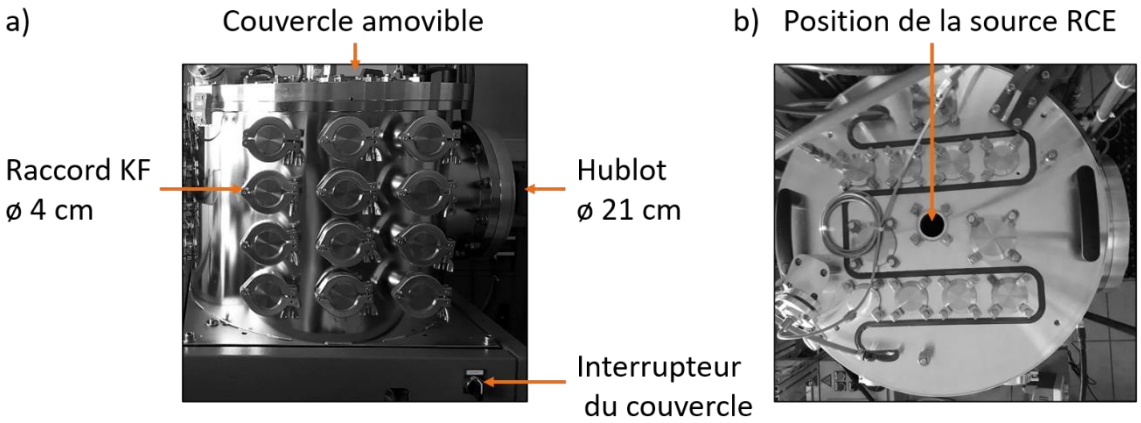


Figure I-2 Enceinte sous vide : a) Paroi latérale b) Paroi supérieure

L'objectif étant d'obtenir un traitement homogène de semences dans la chambre à vide, une grille en acier inoxydable de diamètre 30 cm est utilisée comme porte-substrat. Elle est reliée à la masse. Cette grille est disposée à 15 cm du haut de l'enceinte et à 13 cm de l'électrode RF pour permettre l'insertion des outils de diagnostics physiques au niveau des graines à travers les raccords KF aux positions B (Y = 14 cm) sur la Figure I-3.

Certains raccords sont référencés pour faciliter la compréhension dans le manuscrit sur le positionnement des appareils de mesure sur la surface latérale du réacteur (*cf.* Figure I-3). Les positions notées A, B et C correspondent aux raccords suivant l'axe vertical Y et les chiffres 1 et 3 sont associés aux raccords KF utilisés le long de l'axe horizontal. Par exemple, la position A3 correspond au troisième raccord KF horizontal situé à Y = 6 cm du haut du réacteur.

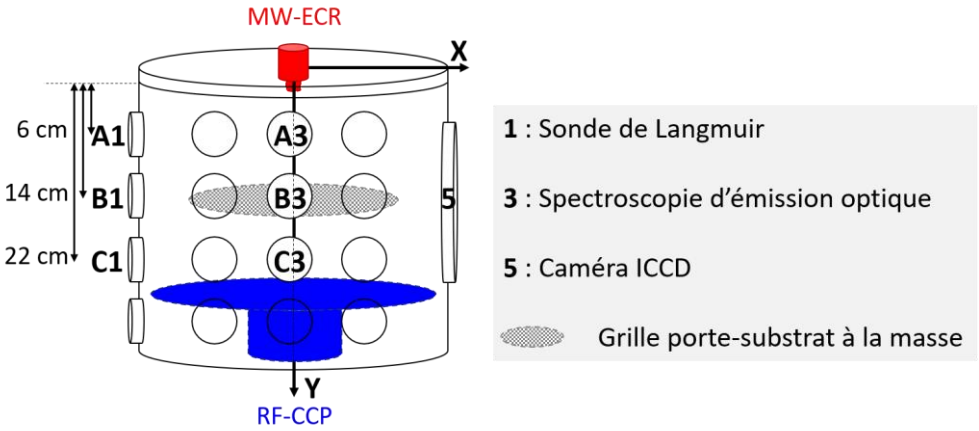


Figure I-3 Position des sources, principaux outils de diagnostic physique et référencement des raccords KF utilisés

I.A.1.b. Système de pompage et injection de gaz

L'enceinte peut atteindre un ultravide de l'ordre de 10^{-7} Pa grâce au système de pompage mis en place. La descente en pression depuis la pression atmosphérique est effectuée par une pompe primaire sèche (Adixen ACP 40G) jusqu'à quelques pascals. La pression est mesurée par une jauge Pirani (INFICON BCG450) avec une précision de ±15% sur la valeur lue pour des pressions supérieures à 1 kPa. A partir de là, l'amorçage d'une pompe turbo-moléculaire (Adixen ATH 500M) est possible et celle-ci prend le relais pour obtenir le vide secondaire avant l'injection du gaz de traitement. La pression est alors mesurée par deux jauges capacitives à membranes (INFICON CDG045D 13 Pa et 133 Pa) avec une précision de ±0,15% sur la valeur lue entre 10^{-2} et 100 Pa.

La distribution des gaz s'effectue en deux parties, l'une est consacrée au fonctionnement des éléments pneumatiques constitutifs du réacteur (argon 4.5 – 6 bars), l'autre est utilisée pour le procédé plasma. Différents gaz peuvent être utilisés en fonction de l'application ; l'air synthétique 4.0 est choisi dans cette étude. Le flux de gaz dans l'enceinte est contrôlé par un débitmètre massique (Bronkhorst El-Flow) dont le débit maximal est de 300 sccm. Le flux de gaz est fixé à 50 sccm pour l'ensemble des mesures et des traitements réalisés. Avec ce débit, le temps de résidence des espèces dans l'enceinte est estimé à 1 s pour une pression de 1 Pa.

I.A.1.c. Commande du procédé

Le système est piloté à partir d'une interface homme-machine (*cf.* Figure I-4 – Alliance Concept AC 2000). Celle-ci permet de visualiser l'état du réacteur en temps réel, de déceler les défauts et de piloter les différentes commandes : le pompage, le refroidissement et l'injection de gaz. La phase de pompage peut être automatisée selon le mode de commande sélectionné (manuel/automatique) pour atteindre l'ultravide. L'injection du gaz est gérée par l'opérateur qui définit un débit massique de gaz ainsi que la pression de traitement dans l'enceinte en régulant l'ouverture de la vanne de la pompe turbo-moléculaire. Les générateurs de plasma ne sont pas inclus dans cette interface, ils possèdent chacun leurs propres interfaces.

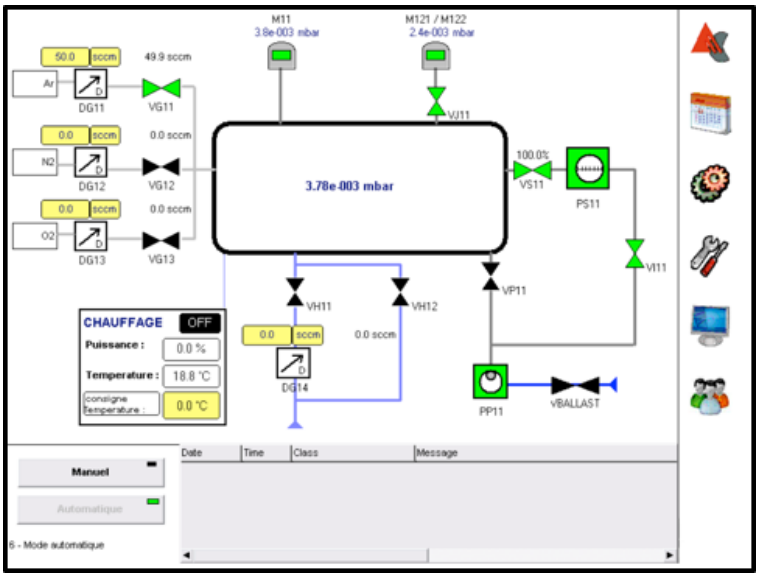


Figure I-4 Interface de commande du procédé

I.A.2. Sources plasmas et générateurs électriques

Le plasma est généré par le biais de deux technologies différentes conçues par la société *SAIREM SAS*. Des sources micro-ondes peuvent être insérées au niveau de la paroi supérieure (*cf.* Figure I-2). Le modèle *Aura-wave* est étudié dans le cadre de ce projet (source MW-ECR – principe physique : *cf.* Chapitre 1 – III.B.1.b). Une électrode radiofréquence est également utilisée pour générer un plasma par couplage capacitif (RF-CCP – principe physique : *cf.* Chapitre 1 – III.B.2.b) au niveau de la paroi inférieure. Le plasma issu de l'association de deux hautes fréquences apporte de nouvelles possibilités. La source MW-ECR est la principale source d'espèces réactives neutres ou ioniques avec la génération d'un plasma de densité élevée. La source RF-CCP contrôle l'énergie des ions à partir de la tension d'auto-polarisation.

I.A.2.a. Source micro-ondes MW-ECR

I.A.2.a.i. Applicateur micro-ondes

L'applicateur coaxial, est composé d'un cylindre métallique de diamètre 1,5 cm inséré dans un autre cylindre de diamètre 4 cm, tous deux de hauteurs 12 cm. Deux aimants permanents sont placés tête-bêche à l'extrémité du cylindre interne pour générer un champ magnétique dirigé vers le centre du réacteur sans engendrer de pertes de densité (*cf.* Figure I-5a). La RCE est prévue pour un champ magnétique de 87,5 mT (875 G) entourant la source d'un halo de forte intensité lumineuse dans la zone de densité maximale (*cf.* Figure I-5b).

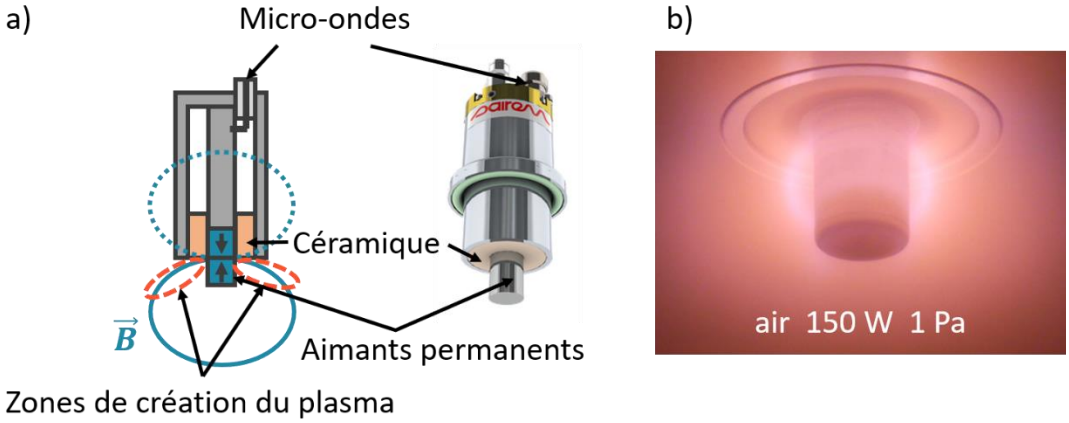


Figure I-5 Source MW-ECR : a) Principe du montage b) Plasma d'air généré à 150 W et à 1 Pa

La source MW-ECR est alimentée par un générateur à état solide (GMS) de fréquence variable à 2,45±0,05 GHz dont la puissance maximale est de 200 W pour des pressions comprises entre 10^{-2} et quelques pascals. La configuration de l'applicateur est telle que l'adaptation d'impédance à 50 Ω entre le générateur et le plasma est intrinsèque à la source.

I.A.2.a.ii. Rendement en puissance transmise en régime MW

Une cartographie du rendement en puissance transmise de la source est réalisée expérimentalement en fonction des conditions de génération du plasma (pression et puissance injectée). Le rendement théorique, établi dans le Chapitre 1 – III.B.1.a.ii, a montré que le transfert de puissance de l'applicateur au plasma dans la gamme de pression étudiée dépend de

l'adaptation d'impédance et de la densité électronique. Lorsque cette dernière approche la densité critique, le rendement est diminué, l'onde ne peut être absorbée par le plasma. Les pertes par réflexion sont quantifiées depuis le générateur micro-ondes (MW). La fréquence de l'onde incidente est ajustée jusqu'à obtenir une puissance réfléchie minimale. Le rendement en puissance transmise η est évalué comme la proportion de puissance réfléchie par le générateur P_{REF} par rapport à la puissance injectée P_{IN} à la sortie du générateur (*cf.* Equation 12).

$$\eta\ (\%) = \left(1 - \frac{P_{REF}}{P_{IN}}\right) \times 100 \qquad \text{Equation 12}$$

L'étude paramétrique du rendement en puissance transmise est réalisée pour la source MW-ECR selon les conditions présentées dans le Tableau I-1. La gamme de pression est définie par la capacité d'auto-entretien du plasma. En dessous de 0,25 Pa, le nombre d'ionisations que peut faire un électron dans le volume du réacteur est limité par la faible densité de ces derniers. Au-dessus de 10 Pa, le nombre de collisions augmente car le libre parcours moyen des électrons diminue. La mobilité et l'énergie des électrons entre deux collisions successives sont réduites ce qui limite le nombre d'ionisations. Dans les deux cas, la puissance électrique devrait être augmentée pour pallier ces obstacles et permettre la génération du plasma. Le générateur étant limité à 200 W et les dimensions de l'enceinte fixes, le plasma est généré entre 0,25 et 10 Pa.

Tableau I-1

Conditions expérimentales pour la détermination du rendement en puissance transmise du générateur vers le plasma

Gaz	Air synthétique 4.0
Flux de gaz	50 sccm
Gamme de pression	0,25-10 Pa – pas : 0,25 Pa
Puissance injectée	25-200 W – pas : 25 W

Les résultats sont représentés en 2D sur la Figure I-6. Le rendement est maximal à basse pression et à basse puissance. En dessous de 3 Pa, il est supérieur à 90% quelle que soit la puissance injectée. Le rapport ν/ω est faible (< 0,3). La densité électronique augmente avec la puissance mais reste inférieure à la densité critique (*cf.* Chapitre 3 – I.B.2). Les pertes sont négligeables et les électrons atteignent rapidement la zone RCE pour entretenir le plasma.

Latrasse *et al*. [174] obtiennent des résultats similaires en mesurant le rendement de cette même source dans de l'argon, du dioxygène et du diazote entre 2.10^{-2} et 2 Pa. Dans les trois gaz, la puissance réfléchie augmente avec la pression et la puissance mais le rendement reste supérieur à 85%. Les gaz atomiques comme l'argon ont une densité électronique plus importante que les gaz moléculaires. Les pertes par réflexion sont alors augmentées et les électrons ne peuvent gagner la zone RCE pour améliorer le couplage électromagnétique et entretenir le plasma.

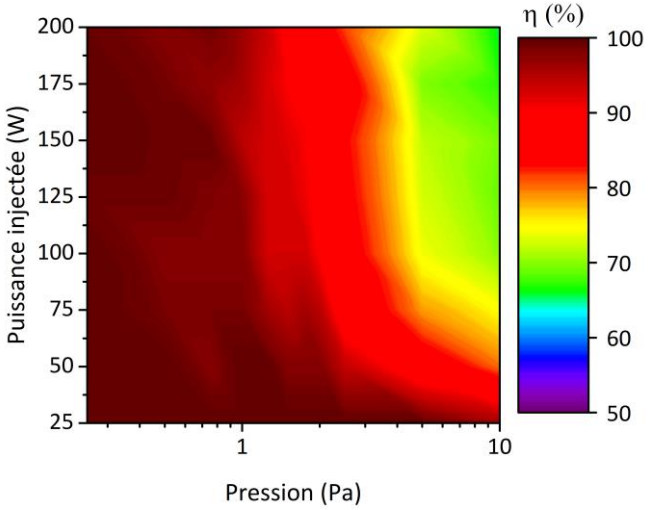


Figure I-6 Caractérisation paramétrique du rendement en puissance transmise entre le générateur micro-ondes et le plasma

A partir de 3 Pa, le rendement est réduit jusqu'à 65% dès 50 W de puissance injectée. Ces observations peuvent être corrélées aux propriétés diélectriques du plasma, de permittivité et de pertes, présentées dans le Chapitre 1 – III.B.1.a.i. Une augmentation de la pression entraîne une augmentation de la densité électronique et de la fréquence de collision élastique. La densité plasma avoisine ou excède la densité critique dans la zone d'ionisation, l'onde est alors atténuée à son entrée dans le plasma. La transmission en puissance ne compense ce phénomène que dans certaines limites de puissance. Une augmentation de la puissance injectée entre 25 et 200 W entraîne une augmentation de la densité électronique. La variation est moins marquée dans ce cas, l'atténuation en fonction de la puissance est moins importante qu'avec la pression.

Hagelaar *et al*. [96] observent également le comportement diélectrique/métallique du plasma par la simulation d'un plasma généré par RCE dans de l'argon entre 1 et 10 Pa. A basse pression, l'évolution de la puissance absorbée par les électrons (image des pertes diélectriques) est évaluée en fonction de la puissance. Lorsque celle-ci augmente, la densité électronique dépasse la densité critique et l'onde ne se propage plus dans le volume du plasma mais en surface, vers les bords. Il en est de même pour une augmentation en pression.

La source MW-ECR est la principale source caractérisée et appliquée au traitement de semences dans cette étude. Son rendement en puissance transmise est optimal (> 80%) en dessous de 3 Pa sur la gamme de puissance étudiée (0 – 200 W).

I.A.2.b. Source radiofréquence RF-CCP

I.A.2.b.i. Applicateur radiofréquence

L'électrode RF est un disque en acier inoxydable de 46 cm de diamètre, soit une aire A_{RF} de 1,7 dm^2. Les parois latérales et la grille porte-substrat sont à la masse électrique (*cf.* Figure I-7a et b). Leur association constitue une aire A_0 de 9,2 dm^2 pour l'électrode de masse.

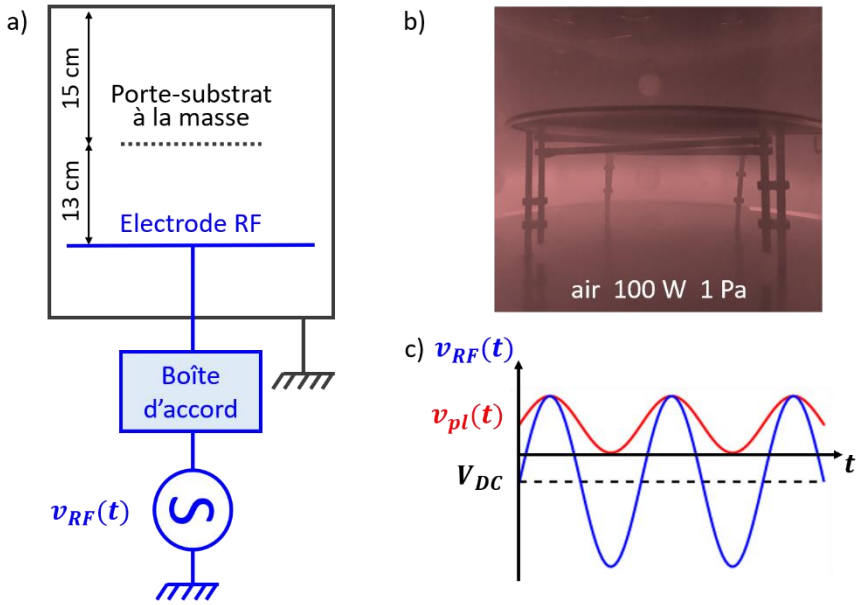


Figure I-7 Source RF-CCP : a) Principe du montage b) Plasma d'air généré à 100 W et à 1 Pa c) Oscillogramme des tensions du plasma $v_{pl}(t)$, radiofréquence $v_{RF}(t)$ et d'auto-polarisation V_{DC}

La source RF-CCP est alimentée par un générateur à état solide (modèle SSPGH13-10-WAM21) à 13,56 MHz pour une puissance maximale de 1 kW. Une boîte d'accord (modèle BAAI80AS) permet d'adapter l'impédance entre le générateur à 50 Ω et le plasma d'impédance variable. Une valeur résistive équivalente à 50 Ω est apportée au plasma, initialement capacitif. Cette boîte d'accord est configurée par un montage en L [175]. Une bobine d'inductance L fixe est associée à des capacités variables C pour compenser la réactance du plasma par résonance du circuit LC à la fréquence du générateur RF. L'impédance étant une grandeur complexe, sa résistance est ajustée par la commande X (module) de l'interface du générateur et sa réactance par la commande Y (phase). Le réacteur est asymétrique ce qui entraîne une forte chute de potentiel dans la gaine de l'électrode RF et favorise le passage des électrons. Une capacité de blocage est intégrée pour accumuler les charges négatives au niveau de l'électrode RF et ralentir ce phénomène. Une tension d'auto-polarisation (V_{DC} en Figure I-7c) est alors générée pour équilibrer les flux de charges (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.a.ii).

I.A.2.b.ii. Tensions en régime RF

Les variations des tensions RF et d'auto-polarisation en fonction de la puissance injectée sont présentées sur la Figure I-8a. Les mesures de tensions moyennes et efficaces sont effectuées par une sonde de tension (Tektronix P5100 2500 V – 250 MHz) et visualisées sur un

oscilloscope (Tektronix TBS1000B). La sonde est disposée entre l'électrode RF et la boîte d'accord. Le signal instantané $v_{RF}(t)$ est tel que $v_{RF}(t) = V_{RF}\sin(\omega t) + V_{DC}$. La tension V_{RF} équivaut à la valeur maximale, la tension d'auto-polarisation à la valeur moyenne mesurée V_{DC}. Elle est négative et de norme proche de la tension V_{RF} (*cf.* Figure I-8b). Le ratio $\left|\frac{V_{DC}}{V_{RF}}\right|$ calculé pour chaque puissance injectée est de 1,2 ce qui est cohérent dans un dispositif asymétrique ($A_{RF} < A_0$). Les deux grandeurs augmentent linéairement avec la puissance injectée [176].

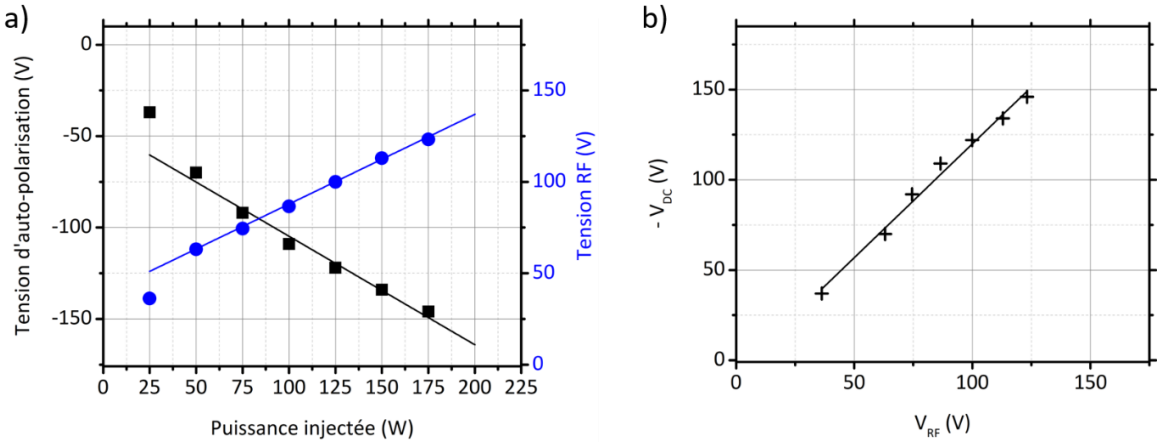


Figure I-8 Tensions du plasma généré par la source RF-CCP à 1 Pa : a) En fonction de la puissance injectée b) Relation entre la tension d'auto-polarisation (V_{DC}) et la tension RF (V_{RF})

I.A.2.b.iii. Rendement en puissance transmise en régime RF

L'étude paramétrique du rendement en puissance transmise pour la source RF-CCP est réalisée en se basant sur le même protocole que pour la source MW-ECR (*cf.* Tableau I-1). L'adaptation en impédance sur cette gamme de mesure est efficace ($\eta > 90\%$ – *cf.* Figure I-9).

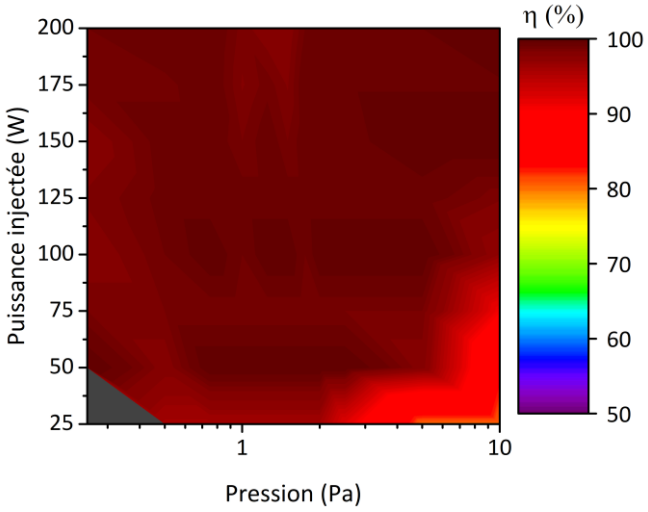


Figure I-9 Caractérisation paramétrique du rendement en puissance transmise entre le générateur radiofréquence et le plasma

La source RF-CCP possède les caractéristiques d'une configuration asymétrique standard ($V_{DC} \simeq -V_{RF}$ et V_{RF} augmente avec la puissance injectée). La transmission de puissance est efficace ($\eta > 90\%$) sur l'ensemble des conditions appliquées. Elle est associée à la source MW-ECR pour optimiser le traitement de semences en volume.

I.A.2.c. Couplage des sources MW-ECR et RF-CCP

I.A.2.c.i. Tensions en régime MW+RF

Les tensions maximale V_{max} et moyenne V_{moy} sont déterminées en présence des deux sources à 1 Pa. La puissance RF varie de 25 à 200 W. Les puissances MW de 50 W, 100 W ou 150 W sont ajoutées successivement (*cf.* Figure I-10). L'évolution des tensions en fonction de la puissance RF injectée (*cf.* Figure I-10a pour V_{moy}) indique un changement du plasma en présence de puissance MW. En dessous de 100 W de puissance MW, le plasma généré par les micro-ondes diffuse dans l'enceinte. L'apport d'électrons provenant de cette source permet d'équilibrer les flux de particules avec une tension moyenne moins importante qu'en RF seule. A une puissance MW de 150 W, l'onde se propage en surface, la quantité d'électrons au niveau de l'électrode RF est moindre. La tension moyenne tend vers celle obtenue en RF seule.

La Figure I-10b montre l'évolution des tensions moyennes par rapport aux tensions maximales. A 50 W de puissance MW, les tensions sont équivalentes, la configuration asymétrique est conservée. A une puissance MW de 150 W, la tension moyenne est 1,5 fois supérieure à la tension RF, tendant vers une configuration symétrique (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.b.i). La grille au centre du réacteur semble constituer une électrode de masse favorisée par rapport aux parois du réacteur. Un apport de 100 W en MW correspond à une zone de transition peu stable pour laquelle l'évolution des tensions n'est plus linéaire.

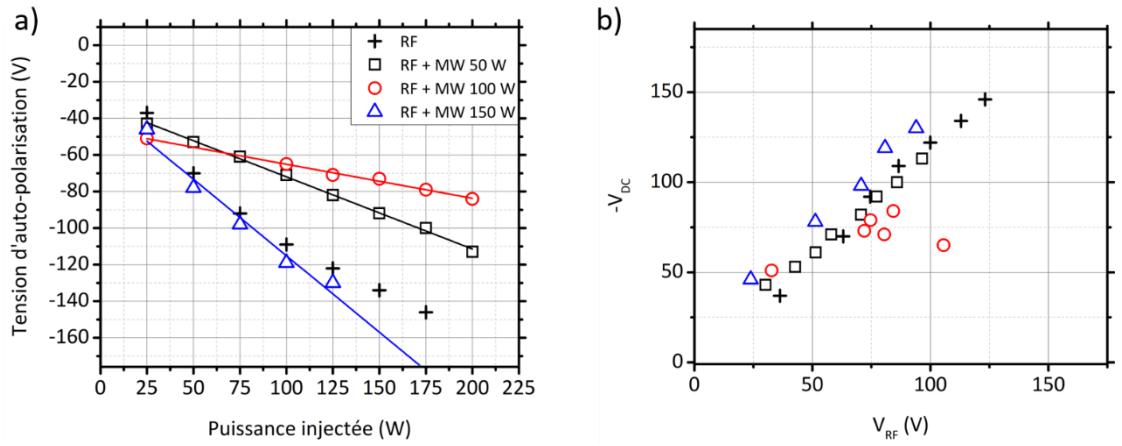


Figure I-10 Tensions du plasma généré par l'association des sources MW-ECR et RF-CCP à 1 Pa : a) En fonction de la puissance RF injectée b) Relation entre la tension moyenne (V_{DC}) et la tension RF (V_{RF})

I.A.2.c.ii. Rendement en puissance transmise en régime MW+RF

Le rendement est déterminé dans la gamme de pression précédente (0,25 – 10 Pa). Pour chaque palier de puissance MW, une puissance RF variant de 25 à 200 W est ajoutée. Les pertes par réflexion sont minimisées par l'adaptation en fréquence MW et par la boîte d'accord en RF. L'influence de la pression et des puissances MW et RF couplées est représentée sur la Figure I-11. A basse pression, 0,25 Pa, le rendement est supérieur à 90%, excepté à haute puissance. A haute pression, 10 Pa, la transmission en puissance est perturbée sur l'ensemble du domaine. A partir de 150 W en MW, ajouter une puissance RF supérieure à 125 W implique une augmentation des pertes en réflexion. Une pression de 1 Pa semble un bon compromis pour garantir un couplage efficace entre les sources permettant un rendement supérieur à 95%.

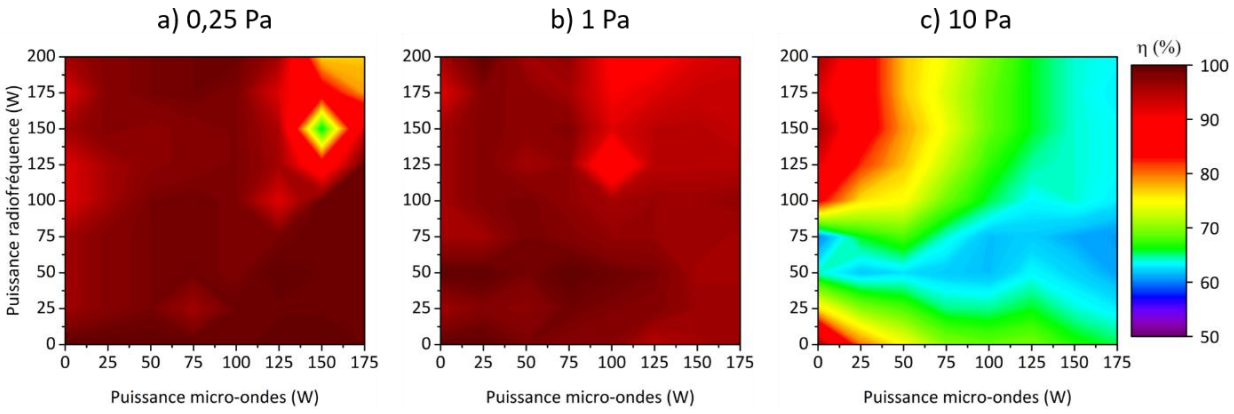


Figure I-11 Rendement en puissance transmise au plasma en MW + RF à : a) 0,25 Pa b) 1 Pa et c) 10 Pa

L'ajout de la source RF-CCP à la source MW-ECR modifie le plasma. Deux régimes sont observés compte tenu des tensions mesurées. En dessous de 100 W de puissance MW, la source MW-ECR a peu d'influence sur les tensions, le couplage RF reste asymétrique. Au-delà, la grille à la masse tend à symétriser la décharge RF-CCP. La transmission des puissances couplées est favorisée à 1 Pa ($\eta > 95\%$) dans les conditions de puissance explorées.

I.A.2.d. Conditions expérimentales pour la caractérisation du plasma

Les conditions expérimentales à mettre en œuvre pour caractériser le plasma sont définies et répertoriées dans le Tableau I-2. Dans la suite des travaux, la puissance présentée correspond à la différence entre la puissance injectée par le générateur et la puissance réfléchie.

Tableau I-2

Conditions expérimentales pour l'étude paramétrique des plasmas (MW-ECR et MW-ECR + RF-CCP)

Gaz	Air synthétique 4.0	
Flux de gaz	50 sccm	
Pression	1 Pa	
Sources	**MW-ECR**	**MW-ECR + RF-CCP**
Puissances injectées	25-175 W – pas : 25 W	MW : 25-175 W – pas : 25 W RF : 25-200 W – pas : 25 W

Les diagnostics optiques et électriques mis en place lors de la caractérisation du plasma sont présentés dans les sections suivantes pour avoir une compréhension générale de la physique des plasmas générés.

I.B. Analyse des émissions optiques des plasmas

La caractérisation optique des plasmas par spectroscopie d'émission optique et par imagerie ICCD permet d'identifier les espèces émises et de déterminer leur répartition dans le réacteur. Celle-ci mène à une compréhension de la cinétique chimique au cours de la décharge.

I.B.1. Spectroscopie d'émission optique

La spectroscopie d'émission optique (SEO) met en évidence les interactions énergétiques de chaque élément avec son milieu à travers l'analyse de l'émission d'un photon lors de sa désexcitation. Les mesures sont réalisées à partir de deux spectromètres optiques. Le modèle Ocean Optics HR2000+ permet d'identifier les espèces émises par le plasma et de suivre leur évolution dans l'étude paramétrique. Le modèle Horiba Jobin Yvon iHR320 est utilisé en complément pour calculer ses températures caractéristiques à partir de la transition $N_2(C-B)$ du diazote par simulation (logiciel SPECAIR). Les principes de base de la SEO, les dispositifs optiques, leurs réglages et la méthode employée pour calculer les températures sont développés.

I.B.1.a. Principes fondamentaux de la SEO

I.B.1.a.i. Répartition énergétique d'un élément chimique

L'air synthétique 4.0, pur à 99,99%, est utilisé pour générer les plasmas. Les molécules d'azote et d'oxygène qui le composent sont identifiables par leurs transitions énergétiques.

Energie atomique – La structure d'un atome est décrite de manière quantique par l'équation de Schrödinger en 1925. Cette conception intervient après les travaux de Bohr en 1913 qui présentent l'atome comme une entité composée d'un noyau central autour duquel gravitent des électrons à des niveaux énergétiques définis. La dualité onde-corpuscule proposée par De

Broglie en 1924 permet à Schrödinger de représenter les électrons sous la forme d'ondes de matière. A chaque fonction d'onde est associée une énergie de liaison de l'électron, énergie nécessaire à sa dissociation de l'atome auquel il est lié. L'approximation de Born-Oppenheimer décrit des mouvements de vibration et de rotation, propres au noyau, lents face à ceux des électrons ($m_{noyau} = 1836\, m_e$). Ces mouvements peuvent être dissociés et les transitions énergétiques au sein d'un atome sont assimilées aux transitions électroniques seules.

Energie moléculaire – Une molécule est un assemblage d'atomes guidé par les interactions entre leurs constituants. Cela lui confère des degrés de liberté supplémentaires par rapport à un atome isolé. Une molécule peut avoir des mouvements de translation, de vibration et de rotation. Le mouvement de vibration est rapide devant celui de rotation (Born-Oppenheimer). L'énergie d'un niveau de la molécule est alors établie comme une somme des énergies précédemment citées telle que $E_e > E_v > E_r$ (E_e : énergie de translation électronique, E_v : celle de vibration et E_r : celle de rotation). Différentes transitions énergétiques sont alors envisageables entre les niveaux électroniques, vibrationnels et rotationnels. Les règles de sélection des transitions spectroscopiques définissent les transitions permises par la théorie quantique (probables) et interdites (peu probables). Les spectres des émissions moléculaires sont plus complexes que les spectres de raies atomiques étant donné la richesse des transitions possibles, ils sont constitués de bandes moléculaires.

I.B.1.a.ii. Données contenues dans un spectre d'émission optique

Un spectre d'émission optique est une représentation des espèces qui le constituent et de leur proportion [177]. Un élément chimique peut être dans différents états (ou niveaux) énergétiques (*cf.* Figure I-12a). S'il est au repos, stable, celui-ci n'échange pas d'énergie avec le milieu qui l'entoure, il est dans son état fondamental. Lorsque l'élément interagit avec l'extérieur, son énergie augmente. Les électrons des couches externes se déplacent vers des niveaux énergétiques supérieurs, il est dans un état excité. Un élément instable, dans un niveau excité, cherche à retrouver sa stabilité énergétique. Il se désexcite en émettant un photon dont l'énergie est exactement égale à la différence d'énergie entre le niveau excité et l'état fondamental. Elle est caractéristique de l'état excité émetteur. Celle-ci, liée à la longueur d'onde λ_0 d'émission du photon, est quantifiée sur l'abscisse du spectre (*cf.* Figure I-12b). Toutes les espèces chimiques possèdent une signature spectrale, connaissant leur longueur d'onde, il est possible de retrouver la composition élémentaire du plasma. La raie d'émission à une longueur d'onde donnée est décrite par une intensité lumineuse en ordonnée du spectre.

Un spectre résolu en intensité relative donne une information sur la proportion des éléments constitutifs du plasma. Un élément dont l'intensité d'émission est élevée est présent en grande quantité. L'intensité maximale I_{max} et la largeur de la raie $\Delta\lambda$ permettent de calculer les paramètres fondamentaux du plasma (températures et densités). L'intensité maximale est utilisée pour la méthode du tracé de Boltzmann (température électronique ou d'excitation) [178], celles des ratios des intensités de raie (température électronique, densité électronique, densité des neutres par actinométrie) [179], [180] ou la simulation avec SPECAIR (températures vibrationnelles et rotationnelles) [181]. Les élargissements de raies (naturel, Doppler, Stark, collisionnel, instrumental) donnent les températures de gaz et densités électroniques [182].

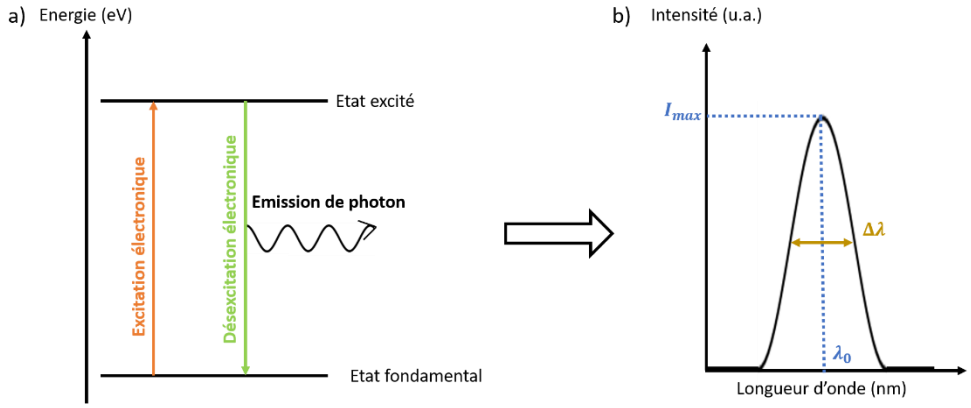


Figure I-12 a) Diagramme énergétique simplifié b) Raie d'émission et ses caractéristiques principales

La SEO est une méthode non invasive permettant de déterminer les espèces émissives du plasma. Les raies atomiques et les bandes moléculaires se répartissent sur un spectre d'émission à des longueurs d'ondes spécifiques. Leur élargissement et leur intensité maximale permettent d'estimer les grandeurs caractéristiques du plasma en fonction de la précision du spectromètre.

I.B.1.b. Caractéristiques techniques des spectromètres

I.B.1.b.i. Configuration des deux spectromètres

Un spectromètre optique est constitué d'un système de diffraction et d'un détecteur. Une fibre optique acheminant les émissions du plasma vers le spectromètre est reliée au système de diffraction par une fente d'entrée. Le faisceau lumineux traverse des miroirs et un réseau qui le décomposent et rejoint le détecteur à travers une fente de sortie. Les deux spectromètres sont agencés selon le montage Czerny-Turner [183] (*cf.* Figure I-13). La fente d'entrée est située au foyer objet du premier miroir qui renvoie des rayons parallèles sur le réseau. Le réseau, amovible, diffracte ces rayons vers le deuxième miroir qui les focalise sur la fente de sortie. La lumière polychromatique incidente est alors décomposée en raies monochromatiques. Les détecteurs sont des matrices CCD (Charge Coupled Device), un assemblage de pixels. Chaque pixel est un semi-conducteur capable de convertir les photons incidents à sa surface en photoélectrons par effet photoélectrique. Ces photoélectrons sont stockés dans des puits de potentiels polarisés. Un pixel de grande taille stocke un grand nombre de photoélectrons. Lorsque le capteur CCD n'est plus exposé à un signal lumineux, les photoélectrons sont convertis en un signal électrique puis numérique pour obtenir le spectre.

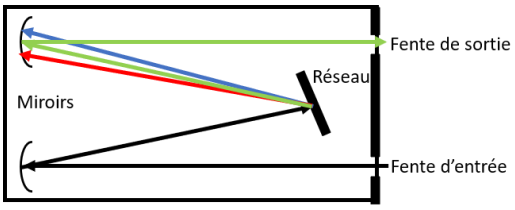


Figure I-13 Montage de type Czerny-Turner

La qualité d'un spectre dépend de deux grandeurs caractéristiques du spectromètre : la fonction d'appareil et la résolution spectrale. La fonction d'appareil est l'élargissement des raies causé par les dispositifs optiques : fentes, miroirs et réseau. L'ouverture de la fente d'entrée gère le flux lumineux reçu par le spectromètre. Une ouverture trop importante implique une large fonction d'appareil soit des raies peu définies en longueur d'onde. A l'inverse, une ouverture trop faible diminue la quantité de signal reçu et empêche l'observation de certaines espèces dont l'émission est de faible intensité. La résolution spectrale est la capacité du système de mesure à séparer des ondes de fréquences différentes. Expérimentalement, elle correspond à la largeur à mi-hauteur d'une raie monochromatique. Celle-ci dépend à la fois du réseau et de la distance focale des miroirs. Un spectromètre optimal en termes de résolution spectrale a des miroirs de grande distance focale et un réseau dont le nombre de traits par millimètre est élevé. Le pas du réseau et la gamme spectrale sont réduits.

Les caractéristiques techniques sont données par le fournisseur. Certaines mesures sont réalisées pour les vérifier ou les compléter en fonction de l'utilisation du spectromètre.

Spectromètre Ocean Optics HR2000+ – Ce spectromètre réalise une acquisition sur une large gamme de longueurs d'onde (200 – 1100 nm). Il est composé d'une fente d'entrée correspondant au diamètre de la fibre optique, soit 600 µm, de miroirs de distance focale 101 mm et d'un réseau de 300 traits/mm. La barrette CCD contient 2048 pixels de 14 µm × 200 µm (Sony ILX-511B linear silicon CCD array). L'angle solide de collection est estimé inférieur à 20° ce qui assure la distinction des zones d'analyse entre les différentes positions axiales (A3 – B3 – C3 en Figure I-3). Sa résolution spectrale est évaluée à 0,7 nm à partir de l'émission à 546 nm du mercure (lampe argon-mercure Ocean Optics HG-1).

Spectromètre Horiba Jobin Yvon iHR320 – Ce spectromètre contient un monochromateur qui sélectionne une gamme de longueurs d'onde réduite (20 nm) centrée sur celle d'intérêt pour accroître la précision de la mesure. Il est équipé de miroirs de distance focale 320 mm et de trois réseaux de 600,1200 et 1800 traits/mm. Ce dernier, blazé à 400 nm, est utilisé pour garantir une résolution spectrale minimale pour distinguer les premiers niveaux rotationnels de l'azote. Une lentille de collimation (Thorlabs F240SMA-532) est raccordée à une fibre optique de 200 µm de diamètre, la mesure est réalisée avec un angle solide de 5°. La fibre est reliée au spectromètre dont la fente d'entrée est ouverte sur 200 µm. Cette valeur est un compromis entre la quantité de signal qu'il reçoit et sa résolution spectrale. Augmenter la largeur de la fente amplifie le signal qui pénètre dans le spectromètre et dégrade sa résolution spectrale. Dans ces conditions, elle est évaluée à 0,3 nm. Le capteur CCD est composé de 1024×256 pixels.

I.B.1.b.ii. Calibration d'un spectromètre

Calibration en longueur d'onde – Une telle calibration est nécessaire pour retrouver les émissions caractéristiques des espèces du plasma. Celle-ci est réalisée à l'aide d'un spectre émis par une lampe argon-mercure (Ocean Optics HG-1). Une comparaison entre les valeurs mesurées et celles attendues permet de rectifier le décalage en longueur d'onde.

Calibration en intensité relative – Cette calibration est effectuée pour comparer les intensités des raies présentes sur le spectre lors de l'étude paramétrique des plasmas en fonction de la puissance injectée et de la position dans le réacteur. Une lampe de calibration deutérium – halogène, dont le rayonnement réel $L(\lambda)$ est connu sur la gamme de longueurs d'onde traitée (230 - 1000 nm), est utilisée comme référence (Ocean Optics DH-3 PLUS-BAL-CAL prêtée

par le *Réseau des Plasmas Froids*). Une interpolation linéaire du rayonnement réel est réalisée pour adapter les valeurs fournies avec un pas de 5 nm aux mesures. Le rapport entre le spectre mesuré de cette lampe par le spectromètre $S_{cal}^{ref}(\lambda)$ et le rayonnement de la source $L(\lambda)$ donne accès à sa réponse spectrale relative $RSR(\lambda)$, reportée dans l'Equation 13.

$$RSR(\lambda) = \frac{S_{cal}^{ref}(\lambda)}{L(\lambda)} \qquad \text{Equation 13}$$

Un spectre est acquis avant chaque mesure, en absence de plasma, dans les conditions expérimentales de pression et de positionnement du spectromètre pour retirer les bruits parasites provenant des sources extérieures au système et de l'instrumentation. Ce fond continu $S_{bruit}(\lambda)$ est alors soustrait au signal expérimental brut du plasma $S_{brut}^{expe}(\lambda)$ pour obtenir le signal expérimental mesuré $S_{expe}(\lambda)$ avec une ligne de base en intensité à zéro (*cf.* Equation 14).

$$S_{expe}(\lambda) = S_{brut}^{expe}(\lambda) - S_{bruit}(\lambda) \qquad \text{Equation 14}$$

Le spectre calibré en intensité relative du plasma $S_{cal}^{expe}(\lambda)$ correspond alors au rapport entre le spectre expérimental du plasma $S_{expe}(\lambda)$ et la réponse spectrale relative $RSR(\lambda)$. Le temps d'exposition de la fibre au plasma t_{int} est pris en compte dans le calcul (*cf.* Equation 15).

$$S_{cal}^{expe}(\lambda) = \frac{S_{expe}(\lambda)}{RSR(\lambda)\ t_{int}} \qquad \text{Equation 15}$$

Ces différentes composantes sont présentées dans la Figure I-14 avec un exemple du spectre mesuré en position A3 pour un plasma d'air généré par la source MW-ECR à 100 W et à 1 Pa.

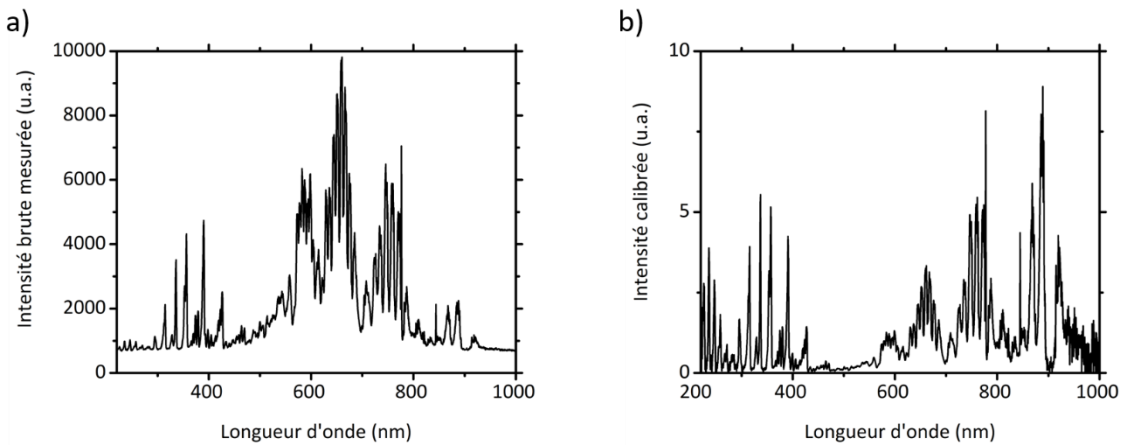


Figure I-14 Spectre mesuré en position A3 pour un plasma d'air généré par la source MW-ECR à 100 W et à 1 Pa : a) Spectre brut b) Spectre calibré

Le choix du spectromètre conditionne l'information à extraire du spectre. Le modèle HR2000+ permet d'identifier les espèces présentes du domaine ultra-violet à l'infrarouge en une seule acquisition mais sa résolution spectrale est trop faible pour les calculs des paramètres du plasma. Le modèle iHR320 est plus résolu, son monochromateur permet de cibler une longueur d'onde à ±10 nm. Sa précision est suffisante pour estimer les températures via le logiciel SPECAIR mais ne permet pas d'utiliser les autres méthodes conventionnelles. Une calibration relative des spectromètres en longueur d'onde et en intensité relative permet d'identifier les espèces émises et de les comparer dans l'étude paramétrique des plasmas.

I.B.1.c. Méthodes d'analyse des spectres

I.B.1.c.i. Identification des espèces émises par les plasmas

Le spectromètre HR2000+ est utilisé pour identifier les espèces émises sur une large gamme spectrale (200 – 1100 nm). Les transitions spectroscopiques connues sont répertoriées dans des bases de données :

- les transitions atomiques sont identifiées à partir du site du *National Institute of Standards and Technology* (NIST [184]),
- les transitions moléculaires sont issues des travaux de Pearse et Gaydon [185].

Les émissions caractéristiques des espèces d'intérêt pour le traitement de semences sont suivies en fonction des sources, de la puissance injectée et de leur distribution dans le réacteur.

I.B.1.c.ii. Détermination des températures caractéristiques du plasma

Le spectromètre iHR320 est utilisé pour déterminer les températures caractéristiques du plasma. Les températures rotationnelles et vibrationnelles de la molécule $N_2(C)$ du diazote sont estimées pour évaluer la température du gaz et améliorer la compréhension de la cinétique des réactions. Les calibrations en longueur d'onde et en intensité relative sont réalisées selon les mêmes protocoles que pour le spectromètre HR2000+ (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.b.ii).

En supposant que les populations des niveaux vibrationnels et rotationnels suivent une distribution de Boltzmann, il est possible de définir des températures vibrationnelles T_{VIB} et rotationnelles T_{ROT} du niveau excité émetteur. La température vibrationnelle est représentative de la cinétique réactionnelle du plasma. Les niveaux vibrationnels constituent des réservoirs d'énergie étant donné leur caractère adiabatique. La température rotationnelle est estimée à partir de l'émission à 380,5 nm de la transition $N_2(C, v' = 0) \rightarrow N_2(B, v" = 2)$.

La température rotationnelle de $N_2(C)$ peut être considérée équivalente à la température du gaz si les conditions ci-dessous sont respectées.

- La population rotationnelle de N_2 est à l'équilibre thermique, gouvernée par une distribution de Boltzmann.
- Les températures rotationnelles des neutres sont en équilibre : $T_{ROT}[N_2(C)] \equiv T_{ROT}[N_2(X)]$.
- La température rotationnelle de $N_2(X)$ doit être en équilibre avec sa température translationnelle : $T_{ROT}[N_2(X)] \equiv T_{TRANS}[N_2(X)]$.
- La température translationnelle du niveau fondamental doit être de l'ordre de la température du gaz : $T_{TRANS}[N_2(X)] \equiv T_{gaz}$.

Wang *et al.* [186] proposent un schéma récapitulatif pour valider ces hypothèses. La première étape consiste à vérifier si la durée du transfert d'énergie rotationnelle-translationnelle est négligeable devant les temps caractéristiques des autres processus de collisions : $\tau_{ROT-TRANS}(C) \ll \tau(C)$. La température rotationnelle du niveau fondamental $N_2(X)$, en supposant une distribution de Boltzmann, est alors représentative de la température du gaz.

La transition $N_2(C, v' = 0) \rightarrow N_2(B, v" = 2)$ dont l'émission à 380,5 nm est mesurée par SEO permet de quantifier la population rotationnelle du niveau excité $N_2(C)$. Cette dernière est l'image directe de la population rotationnelle de l'état fondamental $N_2(X)$ si sa durée de vie radiative est inférieure aux temps caractéristiques des productions et des pertes (*quenching :* dépeuplement par collision, sans émission de photon) du niveau radiatif : $\tau_{rad}(C) < \tau_{quench}$.

$T_{ROT}[N_2(C)] \equiv T_{ROT}[N_2(X)]$ – La durée de vie de l'état radiatif $N_2(C)$ est de 40 ns [187]. Les collisions susceptibles d'influencer la population du niveau $N_2(C)$ sont répertoriées dans le Tableau I-3 à partir des travaux de Popov *et al.* [188]. La condition $\tau_{rad}(C) < \tau_{quench}$ est respectée, la population rotationnelle du niveau $N_2(X)$ est équivalente à celle de l'état $N_2(C)$.

Tableau I-3

Processus de collision et temps caractéristiques de la population du niveau excité $N_2(C)$ [188]

Réaction	**Temps caractéristique (1 Pa)**
$N_2(C) + O_2 \rightarrow N_2 + O(^3P) + O(^3P, {}^1D) + \varepsilon$	16 µs
$N_2(C) + N_2 \rightarrow N_2(v) + N_2(B)$	405 µs
$N_2(A) + N_2(A) \rightarrow N_2(v) + N_2(C)$	25 µs
$N_2(C) \rightarrow N_2(B) + h\nu$	40 ns

$T_{ROT}[N_2(X)] \equiv T_{TRANS}[N_2(X)]$ – La durée de relaxation en rotation-translation $\tau_{ROT-TRANS}$ pour une pression de 1 Pa, est estimée à partir de l'Equation 16, définie par Laux *et al.* [189].

$$\tau_{ROT-TRANS} = Z_{ROT-TRANS}\overline{\left(10^{10}\sqrt{\frac{300}{T_g}}p_{atm}\right)^{-1}} \qquad \text{Equation 16}$$

$Z_{ROT-TRANS}$ représente le nombre de collisions nécessaires pour atteindre la relaxation du niveau rotationnel. Il est estimé à 4 compte-tenu des résultats obtenus par la simulation [190]–[192]. La température est fixée à 400 K et la pression p est de 1 Pa (soit $9{,}87.10^{-6}$ atm), le temps de relaxation $\tau_{ROT-TRANS}$ est alors de 47 µs, valeur cohérente avec les résultats de Riabov *et al.* [193]. Cette valeur est du même ordre de grandeur que les temps caractéristiques des processus de collision. L'équilibre rotationnel-translationnel n'est pas garanti par les collisions entre les molécules N_2 car $\tau_{ROT-TRANS} \ll \tau(C)$. Dans un cas comme celui-ci, où toutes les conditions ne

sont pas remplies, Bruggeman *et al*. [194] proposent une condition sur le mode de peuplement de l'état radiatif $N_2(C)$. Si celui-ci est dominé par les collisions par impact électronique depuis le niveau fondamental, alors la thermalisation des niveaux rotationnels $N_2(X)$ et $N_2(C)$ est assurée et suffisante pour affirmer que la température rotationnelle du niveau $N_2(C)$ reflète la température du gaz. Cette hypothèse s'applique aux plasmas générés dans cette étude à une faible pression, limitant les collisions neutre-neutre. L'hypothèse d'un équilibre entre la température rotationnelle du niveau $N_2(C)$ et la température du gaz est alors prise en compte dans l'enceinte à 1 Pa.

$T_{ROT}[N_2(X)] \equiv T_{gaz}$ – Le transfert d'énergie vibrationnelle-translationnelle entre $N_2(X)$ et $O(\,^3P)$ est un des principaux mécanismes de chauffage du gaz. Le taux de réaction $k_{VIB-TRANS}$ est établi par Popov *et al*. [188] en fonction de la température du gaz T_g dans l'Equation 17.

$$k_{VIB-TRANS} = 4{,}5.10^{-15} \left(\frac{T_g}{300}\right)^{2,1} \qquad \text{Equation 17}$$

La température T_g utilisée pour le calcul est 400 K, cela correspond à un temps $\tau_{VIB-TRANS}$ de 0,28 s. Les constantes de temps décrivant les mécanismes de peuplement et de dépeuplement des états $N_2(C)$ sont plus faibles que celle responsable du chauffage du gaz ($\tau_{VIB-TRANS}$). La température du gaz peut alors être suivie par SEO.

La région de 365 à 385 nm est sélectionnée pour étudier l'effet des paramètres sur les températures de vibration et de rotation. Les émissions du diazote dans cette zone correspondent aux premières transitions $N_2(C, v') \rightarrow N_2(B, v''),\ \Delta v = -2$ (*cf*. Figure I-15). L'estimation des températures vibrationnelle et rotationnelle est basée sur la comparaison entre le spectre expérimental et un spectre simulé à partir de distributions de Boltzmann des niveaux énergétiques électronique, vibrationnel et rotationnel (logiciel SPECAIR [195]). Afin de réaliser un ajustement fidèle, la fonction d'appareil du spectromètre mesurée est convoluée au signal dans le logiciel. Les spectres sont normalisés par rapport à la bande à 380,5 nm.

Température vibrationnelle – A une température rotationnelle de 300 K, des spectres sont simulés à différentes températures vibrationnelles jusqu'à obtenir un ajustement des maxima d'intensité des bandes vibrationnelles entre la simulation et l'expérience (*cf*. Figure I-15a). Une incertitude de 100 K sur l'estimation des températures vibrationnelles est considérée de manière empirique.

Température rotationnelle – Une fois la température vibrationnelle connue, seule la bande (0,2) est conservée. La queue de celle-ci permet de déterminer la température rotationnelle avec une incertitude estimée à 50 K à partir de la simulation (*cf*. Figure I-15b).

Le spectromètre HR2000+ est utilisé pour identifier les émissions du plasma sur une large gamme spectrale. La calibration en intensité relative des spectres permet de comparer les différentes émissions dans l'étude paramétrique des plasmas.

Le spectromètre iHR320 a une résolution spectrale suffisante pour distinguer les bandes vibrationnelles et rotationnelles du diazote et en estimer les températures (T_{VIB} ± 100 K et T_{ROT} ± 50 K). La température vibrationnelle est caractéristique de la cinétique des réactions. La température rotationnelle permet d'estimer celle du gaz.

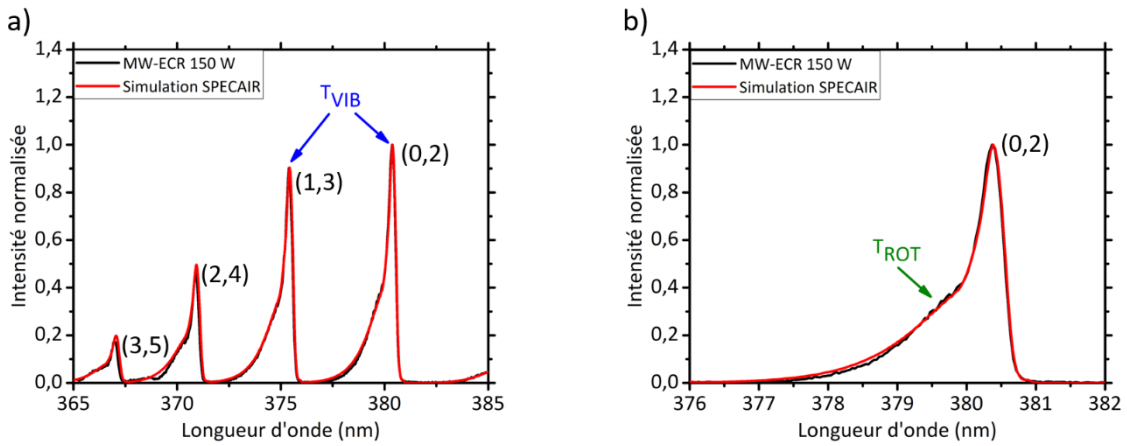


Figure I-15 Ajustement entre un spectre expérimental et un spectre simulé à partir du logiciel SPECAIR : a) Définition de la température vibrationnelle T_{VIB} b) Détermination de la température rotationnelle T_{ROT}

I.B.1. Imagerie par caméra ICCD

L'imagerie ICCD est utilisée en complément des mesures de SEO afin de cartographier la décharge et ses espèces principales en deux dimensions dans l'enceinte. Les mesures sont réalisées par une caméra ICCD (Princeton Instruments PI-MAX 1). Son fonctionnement, les dispositifs optiques (objectifs, filtres) mis en œuvre et le traitement des images sont décrits. La méthode de calibration de l'intensité en présence de filtres pour déterminer la répartition spatiale des espèces dans le réacteur et compléter les mesures spectroscopiques est explicitée.

I.B.1.a. Principe de fonctionnement d'une caméra ICCD

Cette technique est également basée sur l'analyse de l'émission d'un photon lors de la désexcitation de l'espèce chimique (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.a). Elle a la particularité de réaliser une observation en deux dimensions de la distribution spatiale des émissions du plasma. L'ajout de filtres interférentiels entre la caméra et le plasma permet de cibler l'évolution d'une espèce distincte émise par la décharge. Une caméra CCD intensifiée (ICCD) est constituée d'une matrice CCD et d'un intensificateur. Ce dernier amplifie le signal émis par le plasma et le transmet à la matrice CCD qui le convertit en un signal numérique.

Intensificateur – L'intensificateur reçoit le signal optique émis par le plasma sur une photocathode. Celle-ci convertit les photons en électrons par effet photoélectrique. Les électrons entrent ensuite dans une galette de micro-canaux (MCP). L'application d'une tension aux bornes d'un canal entraîne un gradient de potentiel dans celui-ci. Chaque interaction entre un électron et une paroi du canal génère des électrons secondaires. Cette avalanche électronique provoquée permet l'amplification du signal électrique. Le signal est reconverti en photons par un écran phosphore fluorescent. Les photons sont réceptionnés par la barrette CCD.

Matrice CCD – La barrette CCD convertit alors ces photons en photoélectrons, stockés dans des pixels. Le principe de fonctionnement est décrit dans le Chapitre 2 – I.B.1.b.i. L'efficacité quantique est fournie par le constructeur sur la gamme de longueurs d'onde étudiée.

Filtre interférentiel – Un filtre optique est conçu pour sélectionner une partie des longueurs d'ondes à transmettre à sa sortie. Les filtres interférentiels utilisés pour décrire la distribution spatiale d'une espèce donnée du plasma sont des filtres passe-bande, de faible largeur de bande.

I.B.1.b. Données techniques la caméra ICCD et des filtres interférentiels

I.B.1.b.i. Caractéristiques techniques de la caméra ICCD

Le modèle Princeton Instruments PI-MAX 1 est utilisé. La matrice CCD a une résolution de 1024×1024 pixels, de 13 µm de côté. Un refroidissement par effet Peltier améliore la transmission du signal en réduisant le courant d'obscurité de la CCD. La mesure est réalisée sur une gamme de longueurs d'onde de 200 à 900 nm grâce à l'intensificateur RB. Le gain, défini lors de l'acquisition d'une mesure, module la tension à appliquer aux bornes des canaux de la MCP pour amplifier le signal sans le saturer au niveau de la matrice CCD. Il est fixé à 50 sur l'ensemble des mesures compte-tenu de la non-linéarité de la réponse des CCD.

I.B.1.b.ii. Spécificités techniques des filtres interférentiels

Trois filtres interférentiels de bande passante 10 nm permettent de cibler les longueurs d'onde caractéristiques des espèces d'un plasma d'air pouvant interagir avec du vivant (Thorlabs – référencés dans le Tableau I-4).

Tableau I-4

Spécifications techniques des filtres interférentiels

Filtre		Espèce	Longueur d'onde (nm)
FB340-10	340±5 nm	$N_2(C-B)$	337,1
FB390-10	390±5 nm	$N_2^+(B-X)$	391,4
FB780-10	780±5 nm	$O\ I$	777,2

Les caractéristiques de la caméra ICCD permettent de réaliser une cartographie de la décharge de l'ultra-violet à l'infrarouge. L'ajout de filtres interférentiels dans cette gamme mène à un suivi de l'évolution spatiale d'une espèce isolée spectralement.

I.B.1.c. Cartographie de la décharge et des espèces émises par le plasma

I.B.1.c.i. Dispositif expérimental

La caméra ICCD cartographie le plasma depuis la source MW-ECR jusqu'à la grille porte-substrat incluse. La mesure est prise au niveau du hublot latéral du réacteur (position 5 sur les Figure I-3 et Figure I-16). Deux acquisitions sont nécessaires pour obtenir la hauteur souhaitée (20 cm) compte-tenu de la géométrie du réacteur. Le hublot entraîne une contrainte supplémentaire pour la focalisation du signal avec une distance fixe entre le plan objet dans l'axe de la source MW-ECR et l'objectif de la caméra et des réflexions possibles en surface. Un objectif de distance focale minimum de 52 mm (Nikon Hoya Skylight 1B) est placé devant

l'intensificateur pour garantir la mise au point. Le champ angulaire de la caméra est inférieur à 20°, l'acquisition est séparée en deux images de 10 cm de haut, prises dans le même plan vertical (ICCD1 et ICCD2 sur le schéma). Elles sont normalisées par rapport à l'intensité maximale en position ICCD1 pour reconstituer la distribution de la décharge. Un schéma (*cf.* Figure I-16) illustre la disposition de la caméra pour chaque zone. Le temps d'intégration est déterminé en position ICCD1, région d'émission la plus intense, pour éviter de saturer la CCD.

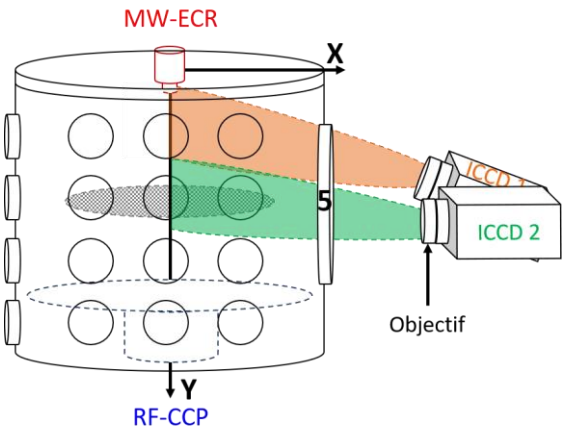


Figure I-16 Montage expérimental mis en place pour l'imagerie ICCD – ICCD 1 et 2 représentent les deux positions successives permettant de visualiser à la fois la source MW-ECR et la grille porte-substrat

I.B.1.c.ii. Profils d'intensité

Un profil de la somme des intensités le long de l'axe Y (*cf.* Figure I-16 et Figure I-17) est réalisé pour une comparaison qualitative avec les mesures de spectroscopie.

Calibration relative en intensité – Les images acquises par la caméra ICCD sont calibrées en intensité d'émission relative pour être comparées sur le même principe qu'en SEO. Les différents systèmes (hublot, filtre et matrice CCD) qui se succèdent sur le trajet optique sont responsables d'une variation de l'intensité mesurée en fonction de la longueur d'onde ciblée.

- Le coefficient de transmission du hublot est constant, il n'intervient pas dans le calcul.
- Chaque filtre a une courbe de transmission T, fournie par le fabriquant.
- L'efficacité quantique η de la barrette CCD est donnée par le constructeur.
- Les temps d'intégration t_{int} sont modifiés en fonction des filtres mais toujours conservés entre les acquisitions ICCD 1 et 2.

Un coefficient d'ajustement α est alors établi pour prendre ces contributions en compte (*cf.* Equation 18 – Tableau I-5).

$$\alpha = T\,\eta\,\frac{t_{int}^{sans\ filtre}}{t_{int}^{filtre}} \qquad \text{Equation 18}$$

Le signal mesuré I_{mes} est multiplié par ce coefficient α pour obtenir l'intensité calibrée I_{calib}.

Tableau I-5

Coefficients d'ajustement dans le calcul de l'intensité lumineuse acquise par la caméra ICCD

Espèce	Transmission du filtre (%)	Efficacité quantique (%)	Temps d'intégration (ms)	Coefficient d'ajustement
Sans filtre	-	-	0,3	-
$N_2(C-B)$	26	15	10^3	$1{,}2.10^{-5}$
$N_2^+(B-X)$	32	16	10	$1{,}6.10^{-3}$
$O\ I$	49	3,5	10	$5{,}2.10^{-4}$

Profil d'intensité – L'influence de la puissance injectée sur la répartition des espèces le long de l'axe Y est analysée par la réalisation de profils en intensité. A chaque position Y, les intensités I sont sommées selon l'axe X pour représenter ces profils PI (*cf.* Equation 19 et Figure I-17b).

$$PI = \sum_{Y} I_X \qquad \text{Equation 19}$$

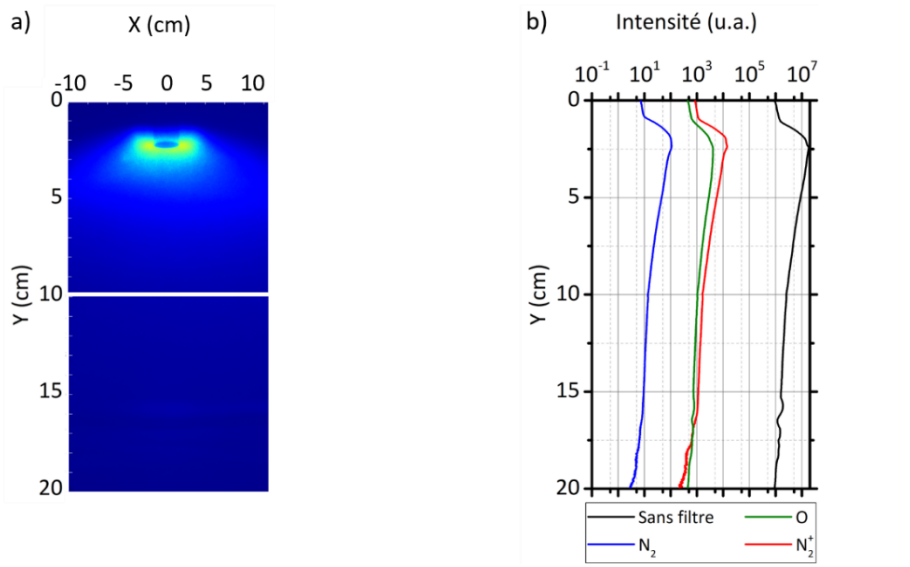


Figure I-17 Exemple de signaux calibrés – mesure du signal MW-ECR à 150 W : a) Image reconstituée du signal émis sans filtre b) Profils d'intensité calibrée sans et avec les différents filtres

L'imagerie par caméra ICCD est réalisée pour observer la répartition de la décharge dans l'enceinte. La configuration du réacteur et la présence du hublot contraignent à sélectionner un objectif de faible distance focale et à décomposer l'acquisition en deux. Les profils d'intensité, avec une calibration relative, donnent une idée des contributions des espèces dans la décharge.

I.C. Caractérisation des propriétés fondamentales des plasmas

La caractérisation électrique par sonde de Langmuir et par interférométrie micro-ondes permet de définir le plasma d'un point de vue de ses électrons. Les paramètres plasma apportent des éléments de compréhension supplémentaires sur les réactions mises en jeu dans la décharge.

I.C.1. Sonde de Langmuir

I.C.1.a. Principe de fonctionnement d'une sonde de Langmuir

Une sonde de Langmuir est une sonde électrostatique insérée localement dans le plasma. Elle permet, à partir de l'acquisition d'une caractéristique courant-tension, de calculer des paramètres tels que le potentiel plasma, les densités et températures électroniques, le flux ionique et les fonctions de distribution en énergie des électrons (FDEE), en tout point sondé. Ce diagnostic est l'un des premiers utilisés pour décrire la physique d'un plasma froid à basse pression sur une large gamme de mesures ($0{,}1 \leq T_e(eV) \leq 15$ et $10^{12} \leq n_e(m^{-3}) \leq 3.10^{19}$). Développée dès 1926 par Mott-Smith et Langmuir [196], la sonde de Langmuir apparaît comme un instrument simple d'utilisation. Elle est constituée d'un matériau conducteur auquel une tension est appliquée pour collecter les ions à sa surface. Ce diagnostic est pourtant source de nombreuses erreurs [197]. Les mesures et l'interprétation de la caractéristique courant-tension doivent prendre en compte le mode de génération du plasma, ses conditions physiques et la géométrie de la sonde. Les champs électromagnétiques à haute fréquence peuvent perturber les mesures. La sonde peut être simple ou multiple et de forme plane, cylindrique ou sphérique.

Les acquisitions sont réalisées à l'aide d'une sonde de Langmuir commerciale (Impedans Ltd.). Quelques concepts d'électrocinétique, les théories associées aux conditions de mesure et la démarche de réflexion sont présentés pour comprendre le principe de la technique.

I.C.1.a.i. Interactions entre la sonde et le plasma

Le plasma étant un gaz ionisé, il peut être appréhendé par la théorie cinétique des gaz. Celle-ci se base sur l'hypothèse de collisions instantanées et locales pour décrire le plasma. Elle suppose que les interactions se produisent sur des échelles de temps (instantanées) et d'espace (locales) négligeables devant celles du mouvement du plasma. La mesure réalisée par la sonde de Langmuir permet de déterminer les paramètres du plasma aux échelles mésoscopique, à partir de la fonction de distribution des grandeurs microscopiques du plasma et macroscopique, à travers les théories des ions collectés dans la gaine.

Fonction de distribution en énergie des électrons (FDEE) – La théorie menant à la définition des fonctions de distribution et les expressions utilisées pour décrire la répartition statistique d'une particule dans un plasma froid sont rappelées dans l'Annexe I. Différentes théories peuvent être privilégiées selon la distribution des électrons en énergie. Trois d'entre elles concordent avec les FDEE couramment obtenues à partir des mesures de sonde de Langmuir. La statistique des électrons constitue un critère de sélection pour déterminer celle à appliquer.

- Les **fonctions de distribution de Maxwell** décrivent la distribution des électrons dans le cadre d'un équilibre de Boltzmann.
- Les **fonctions de distribution de Druyvesteyn** sont utilisées si les collisions élastiques sont dominantes parmi les interactions entre les particules du plasma hors équilibre.
- Les **fonctions de distribution bi-maxwelliennes** représentent la distribution des électrons lorsque la dispersion des électrons est grande et que deux populations se dessinent.

La Figure I-18 montre l'évolution énergétique des FDEE citées dans le cadre d'une distribution isotrope des électrons. La distribution de Druyvesteyn favorise les électrons à basse énergie. En comparaison, la distribution de Maxwell présente une répartition plus large des électrons sur la gamme énergétique. La distribution bi-maxwellienne traduit l'allure de deux populations maxwelliennes dont l'une évolue rapidement à basse énergie, les électrons froids. La deuxième population, celle des électrons chauds, varie plus lentement à haute énergie.

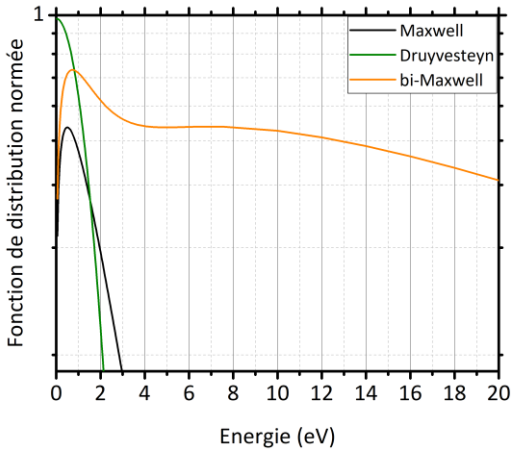


Figure I-18 Fonctions de distribution théoriques usuelles

Expérimentalement, la FDEE est déterminée à partir de la dérivée seconde du courant électronique par rapport à la tension appliquée à la sonde (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1.c.i. méthode 2). Les densités et les températures électroniques sont calculées en intégrant cette FDEE. Un ajustement des FDEE est réalisé à partir des modèles théoriques correspondant aux fonctions connues pour décrire la physique de répartition des électrons dans la décharge.

Gaine électrostatique – La caractéristique courant-tension peut également être analysée à partir de la zone de charge d'espace formée autour de la sonde exposée au plasma. La définition de la gaine électrostatique et les grandeurs qui lui sont associées sont présentées dans le Chapitre 1 – III.B.2.a.i. Plusieurs théories de collection des ions dans les gaines sont établies pour tenir compte des conditions géométriques et physiques de la gaine dans l'analyse de la caractéristique courant-tension. Elles sont présentées dans l'Annexe II et résumées brièvement ci-dessous.

- La **théorie classique** correspond au cas idéal d'une sonde plane et d'une gaine fine non-collisionnelle.
- La **théorie du mouvement orbital (OML)** est utilisée avec une sonde cylindrique lorsque la gaine est épaisse et non-collisionnelle.
- La **théorie du mouvement radial (ABRC)** est employée dans le cas d'une sonde sphérique ou cylindrique présentant une gaine épaisse et collisionnelle.
- La **théorie couplée (BRL)** tient compte à la fois du mouvement orbital et du mouvement radial dans le cadre d'une gaine épaisse non-collisionnelle.

La sonde de Langmuir mesure un courant constitué de deux composantes, électronique et ionique. Les théories de collection des ions sont mises en œuvre pour déterminer les paramètres du plasma tels que le flux ionique, les densités et les températures électroniques. La difficulté dans l'analyse des données réside dans la discrimination du courant ionique par rapport au courant total mesuré. Deux critères sont utilisés pour déterminer la théorie à appliquer en fonction des considérations géométriques de la sonde, à travers l'épaisseur de la gaine, et des propriétés et conditions de génération du plasma, à partir de son caractère collisionnel.

- La gaine est qualifiée de fine lorsque $\xi_r = \frac{r_s}{\lambda_D}$>>1 ($r_s$: rayon de la sonde).
- Elle est collisionnelle si $\eta = \frac{\lambda_{e0}}{\lambda_D} < 1$ (λ_{e0} : libre parcours moyen, collisions électron-neutre).

La Figure I-19 représente les intervalles de valeurs de ces deux critères en prenant en compte les conditions expérimentales suivantes : une pression de 0,1 à 10 Pa, des densités électroniques entre 10^{14} et 10^{17} m^{-3} et des températures électroniques de 0,1 à 10 eV. L'hypothèse d'une gaine fine est valable pour des densités élevées (> 10^{15} – 10^{16} m^{-3}) dans la gamme de températures électroniques analysée (*cf.* Figure I-19a). La Figure I-19b garantit une gaine non-collisionnelle dans les conditions opératoires.

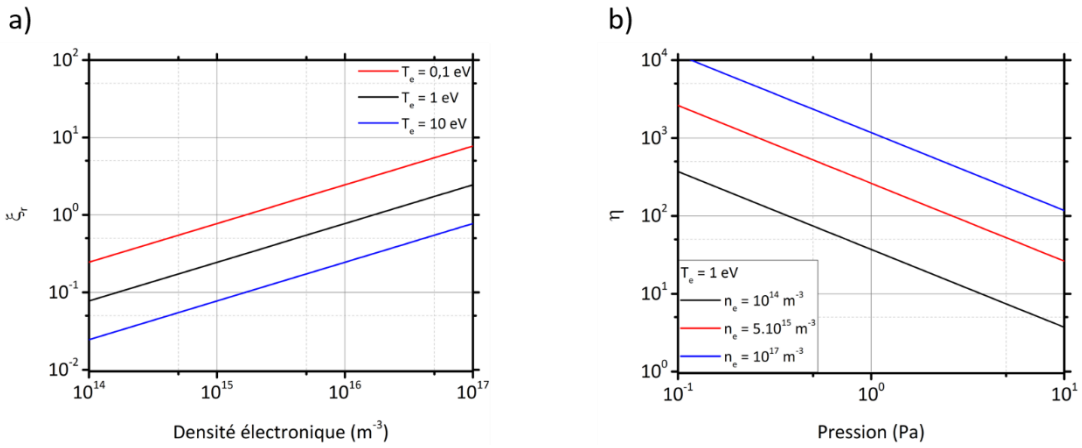


Figure I-19 Critères de sélection des théories de collection des ions par la sonde de Langmuir : a) Epaisseur de gaine b) Caractère collisionnel

A une pression de 1 Pa, pour $T_e = 1$ eV et $n_e = 10^{16}$ m^{-3}, la sonde cylindrique utilisée présente une gaine épaisse ($\xi_r = 0{,}78$) et non-collisionnelle ($\eta = 371$). Les théories OML et BRL peuvent être appliquées pour déterminer les paramètres du plasma.

La sonde de Langmuir permet une mesure locale de la caractéristique courant-tension du plasma. Les paramètres plasmas sont calculés à partir des FDEE ou de la collection des ions dans la gaine. La corrélation entre ces calculs et les théories existantes repose sur des critères propres aux éléments chargés composant le plasma (FDEE souvent bi-maxwelliennes) ainsi qu'à la géométrie de la sonde et à la physique de la gaine qui l'entoure (théorie OML ou BRL).

I.C.1.a.ii. Caractéristique courant-tension

L'évolution des espèces chargées dans la décharge est représentée par une caractéristique courant-tension $I_s(V_s)$ à une position et à une condition données (*cf.* Figure I-20). Si la sonde insérée dans le plasma n'est pas polarisée, le courant de sonde est nul, les flux de charges s'équilibrent en considérant la sonde comme un potentiel flottant V_f (*cf.* Equation 20).

$$V_f = V_s(I_s = 0) \qquad \text{Equation 20}$$

Zone I : saturation ionique – Lorsque la sonde est polarisée à une tension négative, inférieure au potentiel flottant, elle agit comme un répulsif à électrons. La gaine est dominée par les ions dont l'énergie respecte le critère de Bohm. Le courant collecté est alors purement ionique.

Zone II : transition – En augmentant la tension de polarisation, l'épaisseur de la gaine devient négligeable et la sonde est en équilibre électrique avec le plasma. Mathématiquement, la sonde est au potentiel plasma V_{pl} lorsque la dérivée de la caractéristique par rapport à la tension est maximale (*cf.* Equation 21). Le courant collecté est composé d'ions et d'électrons. Les ions se dirigent de préférence vers V_f tandis que les électrons vont vers V_{pl}.

$$V_{pl} = V_s\left(\left.\frac{dI_s}{dV_s}\right|_{max}\right) \qquad \text{Equation 21}$$

Zone III : saturation électronique – Si la tension excède le potentiel plasma, les ions sont repoussés par la sonde et la gaine devient électronique. Le flux électronique peut être estimé dans cette région sur le même principe que pour le flux ionique dans la zone I : $\Gamma_e = -\frac{I_e}{eA_s}$.

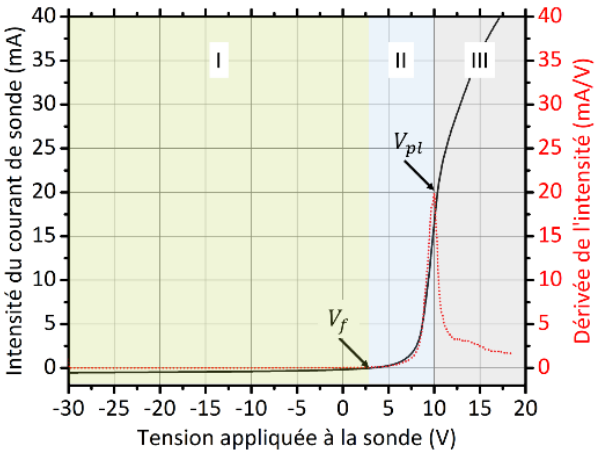


Figure I-20 Caractéristique courant-tension divisée en trois régions : I) Saturation ionique II) Transition III) Saturation électronique

I.C.1.b. Configuration de la sonde de Langmuir

I.C.1.b.i. Caractéristiques techniques de la sonde de Langmuir

Une sonde de Langmuir industrielle (Impedans Ltd.) est utilisée pour mesurer la caractéristique courant-tension. Cette sonde est composée de deux pointes cylindriques en tungstène. Les pointes, de diamètres 115 µm et de longueur 13 mm, sont séparées l'une de l'autre par 3 mm. L'une d'elle est utilisée comme référence. L'autre est polarisée par un générateur de tension (-150 – 150 V). Un filtre radiofréquence (1 – 100 MHz) est présent pour limiter les soucis causés par les oscillations à haute fréquence. Une électrode de compensation RF est ajoutée pour réduire la chute de potentiel dans la gaine. L'ensemble est disposé sur un support en translation motorisée. Le plasma est sondé à plusieurs positions depuis l'axe de la source MW-ECR et jusqu'en bordure de la grille porte-substrat (0 – 15 cm) pour cartographier la répartition des électrons dans la décharge.

Un programme a été développé en langage Python pour effectuer les calculs menant aux paramètres fondamentaux du plasma. Quelques précisions sont apportées sur le traitement numérique du signal mesuré mis en œuvre dans ce programme. Le signal de courant de la sonde est lissé par un algorithme de Savitzky-Golay d'ordre 2 avec 7 coefficients avant tout calcul.

I.C.1.b.ii. Précautions d'emploi liées à cette étude

La présence d'onde électromagnétique dans le plasma peut perturber la mesure de sonde.

Champ magnétique – Un champ magnétique dirigé vers la sonde peut entraîner des variations dans la collecte des particules. L'importance de ce champ dans la mesure de sonde est évaluée à partir du ratio entre le rayon de Larmor électronique R_{le} et les caractéristiques géométriques de la sonde (longueur l_s et rayon r_s). Le plasma généré par la source MW-ECR est magnétisé (B = 87,5 mT). Le rayon de Larmor de ses électrons est exprimé en fonction de la vitesse thermique des électrons et de la fréquence cyclo-électronique dans l'Equation 22.

$$R_{le} = \left(\frac{m_e k_B T_e}{e^2 B^2}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad \text{Equation 22}$$

Les électrons possèdent un rayon de Larmor de l'ordre de 3 mm, supérieur aux paramètres géométriques de la sonde. Le champ magnétique n'influence pas les mesures de sonde.

Onde radiofréquence – La génération de plasma dans le domaine des radiofréquences entraîne aussi des perturbations dans la mesure de sonde. Les oscillations du plasma font fluctuer le potentiel plasma au cours du temps. La sonde de Langmuir doit être portée à un potentiel fluctuant pour pouvoir suivre l'évolution du potentiel plasma et éviter les distorsions dans la caractéristique courant-tension. L'adaptation d'impédance entre la sonde et le plasma est limitée par le dispositif expérimental (ajout de filtres et des électrodes compensatrices). Le signal étant bruité, la précision du traitement numérique est réduite.

La sonde de Langmuir permet de déterminer les paramètres du plasma généré par la source MW-ECR sans perturbation électromagnétique. Les mesures en présence de la source RF-CCP sont plus délicates compte-tenu des fluctuations du potentiel flottant.

I.C.1.c. Méthodes d'analyse d'une caractéristique courant-tension

I.C.1.c.i. Présentation des méthodes générales

Trois méthodes permettent d'extraire les paramètres plasma de la courbe courant-tension. Dans tous les cas, la première étape consiste à séparer le courant ionique du courant total.

- Le **courant ionique I_i** est collecté pour la valeur minimale de tension : $I_i = I_s(V_s^{min})$. Cette approximation facilite les calculs mais entraîne une incertitude sur le potentiel flottant.
- Le **courant électronique I_e** est calculé à partir du courant de la sonde I_s : $I_e = I_s - I_i$.

La deuxième étape est de calculer les potentiels flottants (*cf.* Equation 20) et plasmas (*cf.* Equation 21) pour délimiter les zones d'étude quelles que soient les méthodes appliquées.

Méthode 1 – Cette technique tient compte de la théorie OML et suppose une distribution électronique de Maxwell. C'est une approximation pour les plasmas étudiés.

- La température est établie dans la zone II de la caractéristique par l'Equation 23. La densité est calculée à partir de la température précédente (*cf.* Equation 24).
- La FDEE maxwellienne est obtenue par intégration des températures et densités calculées.

$$\frac{1}{k_B T_e} = \frac{I_s(V_{pl})}{\int_{V_f}^{V_p} I_e(V_s) dV_s} \qquad \text{Equation 23}$$

$$n_e = \frac{I_s(V_{pl})}{A_s} \left(\frac{2\pi m_e}{e^2 k_B T_e}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad \text{Equation 24}$$

Méthode 2 – La seconde méthode permet d'éviter toute considération préalable sur la distribution des électrons. La mesure est supposée exempte de bruit à haute fréquence ; si ce n'est pas le cas, les incertitudes sur le calcul deviennent importantes.

- La FDEE est calculée à partir de la dérivée seconde du courant électronique par la formule de Druyvesteyn (*cf.* Equation 25).
- La FDEE est intégrée pour obtenir les densités et températures électroniques.

$$F(\varepsilon) = \frac{2}{eA_s}\left(\frac{2m_e\varepsilon}{e}\right)^{\frac{1}{2}} \frac{d^2 I_e}{dV_s^2} \qquad \text{Equation 25}$$

Méthode 3 – La troisième méthode correspond à un hybride des deux premières techniques.

- La FDEE est calculée par la formule de Druyvesteyn (*cf.* Equation 25 – méthode 2).
- Si elle est de type bi-maxwellienne ou trop bruitée par la source RF-CCP, ce qui est souvent le cas, deux températures et deux densités sont déterminées :
  - Les températures sont évaluées à partir du logarithme du courant représenté sur la Figure I-21. La température des électrons froids (*trait plein*) correspond aux tensions supérieures au potentiel plasma, celle des électrons chauds (*pointillé*), aux potentiels inférieurs.
  - Les densités des électrons chauds et froids sont déterminées à partir de l'Equation 24 (*cf.* méthode 1) pour chaque température. La densité moyenne est évaluée par la FDEE.

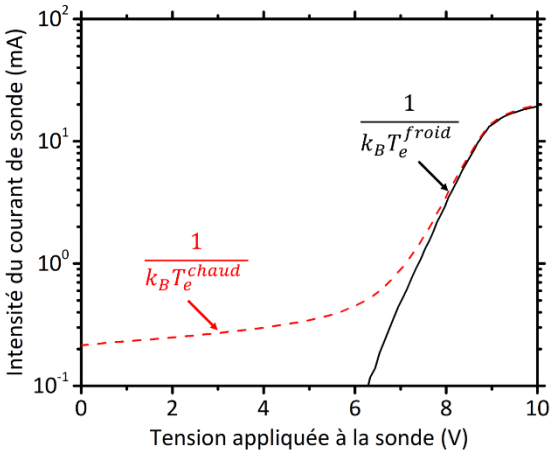


Figure I-21 Détermination des températures des électrons chauds et froids du plasma par le logarithme du courant de sonde

Cette troisième méthode semble recevable dans la mesure où les FDEE observées pour ces plasmas présentent généralement une distribution bi-maxwellienne.

I.C.1.c.ii. Sélection de la méthode appropriée à cette étude

Un exemple de calcul par les trois méthodes est proposé à la position B1 (X = 0 cm et Y = 14 cm) pour vérifier la validité de la démarche et sélectionner la méthode à utiliser. Les tendances observées se retrouvent aux autres positions (X = 5 – 10 – 15 cm et Y = 6 – 22 cm).

Détermination de la densité électronique – Les densités électroniques sont comparées et représentées sur la Figure I-22. La densité prise en compte dans la méthode 3 est celle des électrons froids. Les trois valeurs sont proches dans les conditions présentées, l'écart-type est inférieur à 10%. La valeur mesurée par la méthode 2 pour le cas *MW 100W RF 100W* fait exception, elle est perturbée par la haute fréquence. Ceci est cohérent avec une population d'électrons froids, responsables de la densité électronique.

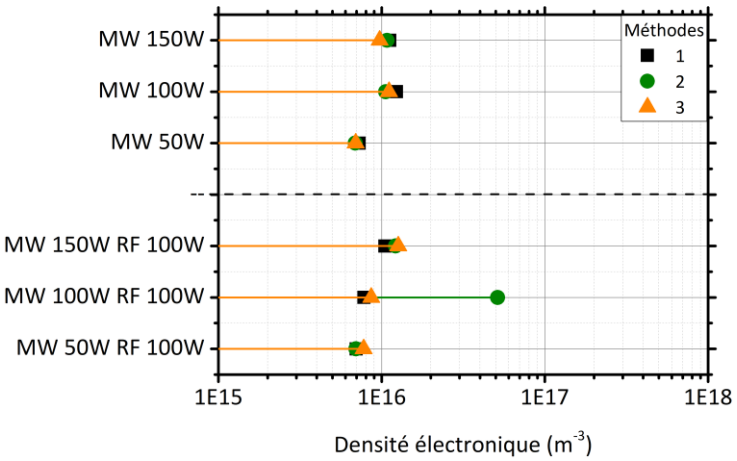


Figure I-22 Densités électroniques calculées pour les plasmas issus de la source MW-ECR (en haut) et MW-ECR + 100 W RF-CCP (en bas) – seule la densité des électrons froids est prise pour la méthode 3

Détermination de la température électronique – Les températures électroniques obtenues par les méthodes 1 à 3 dans les conditions plasma précédentes sont comparées (*cf.* Figure I-23a). La température prise en méthode 3 est celle des électrons froids.

- Les **méthodes 1 et 3**, considérant des distributions maxwelliennes, donnent des valeurs de températures similaires et sont constantes par rapport à la puissance MW injectée.
- La **méthode 2**, appliquée à toute distribution, présente des valeurs de températures élevées. La température calculée est une température effective qui prend en compte la moyenne de l'ensemble des électrons (chauds et froids). Les populations d'électrons chauds augmentent la température moyenne calculée. Le phénomène est plus marqué en ajoutant la source RF-CCP. Le potentiel flottant est fluctuant et la compensation RF du filtre n'est pas suffisante pour garantir un signal exploitable. La caractéristique courant-tension est bruitée ce qui accentue les incertitudes sur le calcul numérique de la dérivée première du courant, et pire encore pour la dérivée seconde dont est issue la température.

Deux cas issus de la littérature sont appliqués aux mesures pour confronter les valeurs de températures obtenues et valider les théories prises en compte dans les méthodes 1 à 3.

Cas A – L'expression de la température électronique obtenue par la théorie classique des gaines, valable pour une sonde plane (idéale) est donnée dans l'Equation 26. Cette théorie est utilisée par Hagelaar *et al*. [96] dans le cadre d'une simulation des paramètres plasmas d'une source micro-ondes dipolaire par RCE comparable à la source MW-ECR.

$$\frac{eV_{pl}}{k_B T_e} = 1 + \frac{1}{2}\ln\left(\frac{m_i}{2\pi m_e}\right) \qquad \text{Equation 26}$$

Cas B – Dans le cadre d'un dépôt de couche mince par plasma RCE [198], avec un substrat porté au potentiel flottant, la température électronique peut être établie à partir de l'énergie de bombardement ionique (*cf.* Equation 27).

$$V_{pl} - V_f = \frac{k_B T_e}{e}\ln\left(\sqrt{\frac{m_i}{2\pi m_e}}\right) \qquad \text{Equation 27}$$

La Figure I-23b regroupe les températures électroniques obtenues par les méthodes 1 à 3 et les cas A et B.

- Le **cas A**, correspondant à la théorie des sondes planes, surestime la température électronique. Cela confirme la non-validité de cette méthode pour les plasmas sondés avec cette sonde de Langmuir (gaine épaisse). Les perturbations causées par la présence d'un champ radiofréquence se retrouvent également dans cette situation.
- Le **cas B** présente des valeurs cohérentes avec celles de la méthode 3. La sonde de Langmuir est considérée comme un substrat bombardé par les ions du plasma.

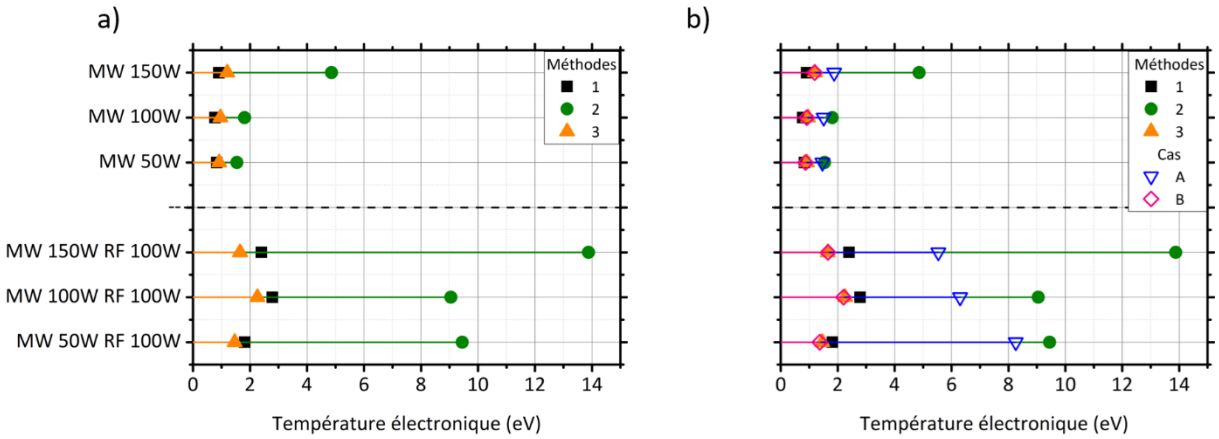


Figure I-23 Comparaison des températures électroniques calculées pour le plasma issu de la source MW-ECR (en haut) et MW-ECR + 100 W RF-CCP (en bas) : a) Méthodes appliquées aux mesures b) Méthodes et cas théoriques – seule la température des électrons froids est prise pour la méthode 3

Dans l'étude paramétrique des plasmas MW et MW+RF, la méthode 3 est employée pour calculer les températures et les densités électroniques avec un minimum d'incertitudes liées au dispositif de mesure (FDEE souvent bi-maxwelliennes et perturbations en régime RF).

I.C.2. Interférométrie micro-ondes

L'interférométrie micro-ondes est une méthode non invasive, utilisée en complément des mesures de sonde de Langmuir pour déterminer la densité électronique radiale du plasma MW à proximité de la source. Cette technique repose sur la capacité du plasma à déphaser une onde qui le traverse. Elle ne risque pas de perturber le plasma contrairement à une mesure de sonde de Langmuir. En contrepartie, la mesure n'est pas locale mais intégrée sur un volume de plasma.

Les mesures d'interférométrie micro-ondes sont réalisées par un interféromètre à ultra haute-fréquence (UHF – MiWitron Ka-band MWI 2650). Le principe de la mesure est présenté pour expliquer les conditions favorables aux interactions entre l'onde et le plasma et déterminer la densité électronique. Ses caractéristiques techniques et le dispositif expérimental sont décrits.

I.C.2.a. Principe fondamental de l'interférométrie micro-ondes

I.C.2.a.i. Propagation de l'onde UHF dans le plasma

Une onde UHF est générée par une antenne émettrice en direction d'une antenne réceptrice. Le plasma est un milieu dispersif pour cette onde si la fréquence de l'onde UHF est supérieure à la fréquence plasma. Lorsque l'onde se propage dans le plasma sur une longueur L, une différence de phase peut être détectée entre les deux antennes (*cf.* Equation 28). Ce déphasage dépend à la fois de l'onde, de pulsation ω_{UHF} et du plasma, d'indice de réfraction $\underline{n}$.

$$\underline{\Delta\varphi} = \frac{\omega_{UHF}}{c}\int_0^L (1-\underline{n})dl \qquad \text{Equation 28}$$

- La référence de phase est établie en absence de plasma. L'onde se propage entre les antennes émettrice et réceptrice à une certaine vitesse de phase v_φ égale à la célérité de la lumière c.
- En présence de plasma, la vitesse de phase diminue ($\underline{v_\varphi} = c/\underline{n}$) et l'onde est déphasée.

I.C.2.a.ii. Calcul de la densité électronique

L'indice de réfraction du plasma est à l'image de sa permittivité diélectrique relative par la relation : $\underline{n} = \sqrt{\underline{\varepsilon_r}}$. L'expression de la permittivité diélectrique relative est exposée dans le Chapitre 1 – III.B.1.a.i. Celle-ci dépend de la pulsation plasma ω_{pe}.

Dans un plasma à basse pression, les collisions sont faibles et l'indice de réfraction peut être exprimé par l'Equation 29.

$$\underline{n} = \left[1 - \left(\frac{\omega_{pe}}{\omega_{UHF}}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}} \simeq \frac{1}{2}\left(1 - \frac{\omega_{pe}}{\omega_{UHF}}\right) \simeq \frac{1}{2}\left(1 - \frac{\langle n_e \rangle}{n_c^{UHF}}\right) \qquad \text{Equation 29}$$

- La pulsation plasma dépend de la densité électronique (*cf.* Chapitre 1 – III.A.2.c). La mesure est intégrée sur le volume de plasma ce qui donne une densité électronique moyenne $\langle n_e \rangle$.
- La pulsation de l'onde maximale à partir de laquelle l'onde ne se propage plus dans le plasma est associée à une densité critique n_c^{UHF} dont l'expression est établie dans le Chapitre 1 – III.A.2.c. A une fréquence de 26,5 GHz, la densité critique vaut $8{,}7.10^{18}$ m^{-3}.

La relation entre le déphasage et la densité moyenne est alors établie par l'Equation 30.

$$|\Delta\varphi| = \frac{\omega_{UHF} L}{2 c n_c} \langle n_e \rangle \qquad \text{Equation 30}$$

La présence d'un champ magnétique peut modifier cette relation si celui-ci est orthogonal au champ électrique. La configuration de la source MW-ECR en deux aimants tête-bêche et sa faible intensité (87,5 mT dans la zone RCE) permettent de négliger l'influence du champ magnétique dans la mesure d'interférométrie. L'Equation 30 reste valable.

I.C.2.b. Caractéristiques techniques de l'interféromètre

L'interféromètre MiWitron 2650 est utilisé pour déterminer la densité électronique. Cet interféromètre fait partie des outils mutualisés du *Réseau des Plasmas Froids*. Une unité de contrôle permet la génération d'une onde électromagnétique à 26,5 GHz. Un afficheur donne directement la valeur de la densité calculée à partir de l'Equation 30. Ce dispositif fonctionne à basse pression (< 20 mbar) pour une gamme de densités de 10^{15} à $8{,}7.10^{18}$ m^{-3}. La longueur du plasma doit être inférieure à 1 m et les hublots du réacteur doivent être de diamètre supérieur à 3 cm pour tenir compte de l'angle solide des antennes. La variation angulaire minimale de phase est de 0,1° ce qui correspond à une résolution spatiale de l'ordre du centimètre.

I.C.2.c. Mise en œuvre expérimentale de la mesure par interférométrie micro-ondes

La source MW-ECR est déplacée dans un réacteur possédant des hublots de diamètre 20 cm en vis-à-vis pour pouvoir réaliser une acquisition radiale du déphasage de l'onde par le plasma. L'enceinte sous vide est présentée en arrière-plan sur la Figure I-24a, elle est dimensionnée par un volume de 40 L. La longueur de plasma traversée par l'onde UHF est de 20 cm. Les antennes sont disposées de part et d'autre des hublots à une hauteur de 6 cm par rapport à la source MW-ECR (*cf.* Figure I-24b). Cette hauteur est sélectionnée pour comparer les mesures à celles réalisées avec la sonde de Langmuir. Des mesures radiales sont réalisées jusqu'à 5 cm de part et d'autre de l'antenne.

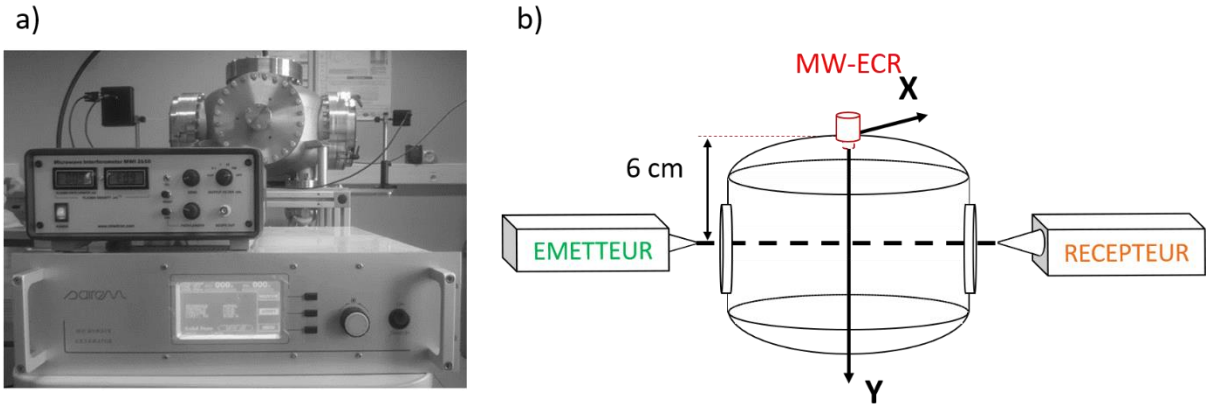


Figure I-24 Dispositif expérimental pour la mesure de la densité électronique du plasma MW par interférométrie micro-ondes : a) Photographie b) Schéma de principe

L'interférométrie micro-ondes permet de déterminer la densité électronique à partir d'une mesure de déphasage lors de la propagation d'une onde UHF dans le plasma ($\langle n_e \rangle < n_c^{UHF}$). Les mesures sont réalisées à une distance de Y = 6 cm du haut du réacteur pour valider les densités électroniques calculées à partir des mesures de sonde de Langmuir.

I.D. Estimation de la température dans l'enceinte

La température dans l'enceinte est évaluée par deux capteurs électriques (thermocouple de type K et sonde Pt100) basés sur la variation de température aux bornes d'un matériau conducteur. La mesure de la température avec une sonde vient en complément afin d'évaluer la température du gaz, ainsi que les échanges énergétiques pouvant intervenir entre le plasma et le substrat. La mesure dépend des conditions du milieu (rayonnement, gaz, chimie, etc.) et des propriétés intrinsèques du capteur (*e.g.* conditionnement, auto-échauffement). S'il s'avère que la température mesurée par la sonde diffère de celle obtenue par la mesure de la température rotationnelle en SEO (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.c.ii), alors l'échauffement du substrat n'est pas lié au bombardement des neutres du gaz mais privilégié par d'autres processus tels que les recombinaisons en surface [178].

I.D.1. Validité d'une mesure de température par un capteur électrique

Une mesure de température par un capteur électrique résulte de la température de son milieu et des échanges énergétiques qu'il effectue avec l'extérieur [199]. Les instruments sélectionnés mesurent une température locale, à leur surface. Ils sont caractérisés par leur temps de réponse à l'excitation de température, optimisé par une faible capacité thermique du capteur (convection) et une forte conductance thermique (conduction) entre le capteur et le milieu.

Le capteur est considéré par le plasma comme un objet extérieur au même titre que la sonde de Langmuir (*cf*. Chapitre 2 – I.C.1.a.i). La gaine électrostatique formée en périphérie du capteur induit une perturbation négligeable tant que le diamètre du capteur est inférieur au libre parcours moyen. Un capteur de diamètre important entraîne une diminution de la température à sa surface et une augmentation de son temps de réponse pour atteindre l'état stationnaire [200]. Les dimensions des capteurs utilisés sont de l'ordre du millimètre alors que le libre parcours moyen dans l'air à 1 Pa est supérieur à la dizaine de millimètres.

La température mesurée dans un plasma prend en compte les échanges énergétiques entre le capteur et le plasma dont la température est inconnue. Le plasma étant un milieu complexe, chargé et radiatif, ses différents éléments composent la température mesurée. L'environnement extérieur peut influer sur la valeur, la distance entre les parois métalliques du réacteur et la zone de mesure entre autres (négligeable au centre du réacteur). Différents flux de particules sont susceptibles d'influer sur la température mesurée à sa surface [178], [200]–[202].

- La **capacité thermique du gaz** dans l'enceinte est inversement proportionnelle à la pression. Dans l'hypothèse d'un gaz parfait, la pression est à l'image de sa température. A pression atmosphérique dans l'air, le temps de réponse du capteur est de l'ordre de la minute. Si les échanges thermiques entre le plasma et le capteur sont gouvernés par la température du gaz, la capacité thermique du capteur est équivalente à celle du gaz et le capteur atteint son régime stationnaire après quelques minutes (3 fois le temps de réponse). Lorsque la pression diminue, le temps de réponse du capteur augmente ($\simeq$ 30 min à 1 Pa). Expérimentalement, si une valeur de température constante est obtenue avant le régime stationnaire théorique du capteur, la température du gaz est inférieure à celle mesurée. Ce phénomène est observé pour les deux capteurs utilisés, les températures stables sont atteintes en moins de 30 min. L'échauffement en surface du capteur est alors régi par d'autres échanges.
- La **contribution des particules chargées** est liée aux énergies cinétiques des électrons et des ions à travers la densité et la température électronique, l'énergie de recombinaison des ions en surface et le potentiel flottant. Le capteur de température étant un objet flottant dans le plasma, son potentiel est exprimé en fonction de ses dimensions et de la température électronique. La source MW-ECR génère des plasmas de fortes densités, supérieures à 10^{14} m^{-3} quelle que soit la position, la température du capteur en dépend fortement.
- Les **espèces excitées** du plasma sont négligeables dans les échanges énergétiques en surface du capteur. Elles sont exprimées à travers des niveaux résonants et métastables.
- Les **radiations** en surface de la sonde sont déterminées par la différence entre son émissivité et celle des matériaux environnants (parois du réacteur). Ces valeurs évoluent peu avec les conditions opératoires et la mesure de température est réalisée loin des parois mais elles constituent le phénomène de refroidissement majoritaire en surface des capteurs.

Les flux de particules chargées dominent le chauffage en surface des capteurs. Leur refroidissement est de type radiatif dans des plasmas d'argon (RF-ICP [200] et MW [178]).

La mesure de température par un capteur électrique est une méthode locale regroupant les échanges thermiques entre le milieu environnant, le plasma (ses différents constituants) et la surface du capteur.

I.D.2. Evaluation de la température mesurée par un thermocouple de type K

I.D.2.a. Principe de la mesure

La mesure de température avec un thermocouple repose sur l'effet Seebeck. Lorsque deux conducteurs de nature différente sont reliés entre eux par deux jonctions de températures différentes, une force électromotrice s'établit entre les deux. Celle-ci dépend uniquement de la nature des conducteurs et de leur température. L'une des températures est connue et utilisée comme référence, la soudure froide. L'autre correspond à celle mesurée par le capteur, la soudure chaude. La valeur de la force électromotrice est convertie numériquement en une température en degré Celsius par une équation polynômiale. Celle-ci est définie par les normes de fabrication du thermocouple en fonction de la nature des conducteurs et de leur isolation.

I.D.2.b. Caractéristiques techniques du thermocouple de type K

Le thermocouple de type K à isolant minéral est conforme à la norme CEI 584 (RS PRO 219-4393). Il est constitué de deux conducteurs en nickel-chrome et nickel-aluminium et de diamètre 3 mm. La jonction est isolée par une gaine minérale flexible en acier inoxydable pour réduire les interférences électromagnétiques. Ce thermocouple permet de mesurer des températures de -40°C à 1100°C avec une sensibilité de 40,7 µV/°C.

Il est associé à un circuit de conditionnement (*cf.* Figure I-25) pour amplifier la tension fournie par le thermocouple, déterminer le potentiel de soudure froide et évaluer la tension du capteur en le compensant. La température de la soudure froide est mesurée à partir d'un capteur électronique de température (LM35 Texas Instruments). Celui-ci convertit la température qu'il mesure au niveau de la soudure froide en une tension avec une sensibilité de 10 mV/°C. En parallèle, un amplificateur opérationnel (AD620 Analog Device), de gain 2450 pour une résistance R_G de 20 Ω, permet d'amplifier les potentiels collectés à chaque soudure et d'en déterminer la tension mesurée dans l'enceinte. La conversion du signal de tension en température est réalisée à partir d'une carte d'acquisition (DAQ NI6008 National Instruments) et le traitement est effectué à partir d'un programme LabVIEW.

I.D.2.a. Limitations dans la mesure

En présence de la source RF-CCP, l'électronique du capteur LM35 et le thermocouple (malgré l'isolation) sont soumis à des perturbations électromagnétiques. Celles-ci empêchent une mesure fidèle de la température de soudure froide et ne permettent pas de réaliser des mesures avec ce dispositif.

La température dans l'enceinte est déterminée en présence de la source MW-ECR à l'aide d'un thermocouple de type K. Les perturbations électromagnétiques causées par la présence de radiofréquence excluent son utilisation en présence de la source RF-CCP.

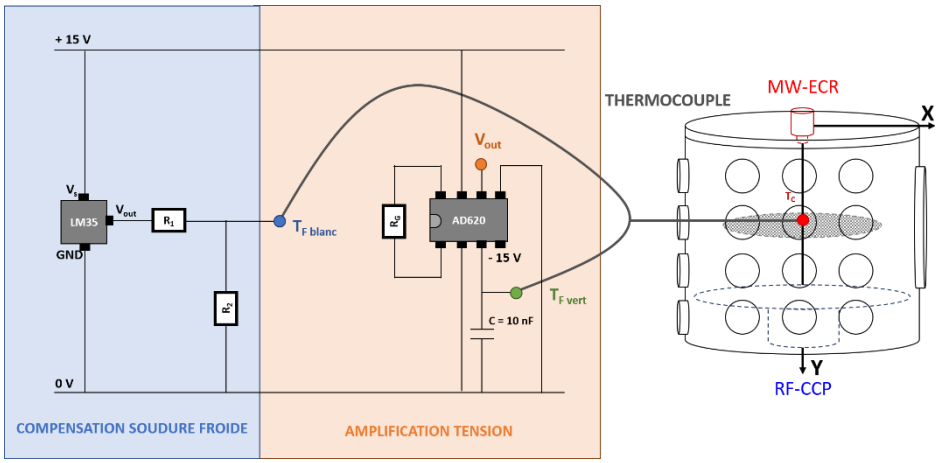


Figure I-25 Dispositif de mesure avec le thermocouple et conditionnement du thermocouple

I.D.3. Evaluation de la température mesurée par une sonde Pt100

I.D.3.a. Principe de la mesure

La température est évaluée à partir d'un courant qui parcourt la résistance. La variation de la résistance en fonction de la température suit une loi polynômiale. Elle peut être linéarisée pour de faibles variations en température pour définir la sensibilité thermique du capteur. Lorsqu'un courant traverse une résistance, celle-ci dissipe de l'énergie thermique par effet Joule. Cet auto-échauffement ajoute une contribution aux énergies échangées entre le capteur et le milieu et avec son environnement externe qui peut limiter la précision de la mesure. Les normes de fabrication des sondes définissent les valeurs nominales et leurs incertitudes compte tenu du matériau utilisé et de son enrobage. Elles sont répertoriées dans des tables de référence résistance-température pour chaque type de capteur.

I.D.3.b. Caractéristiques techniques de la sonde Pt100

La sonde Pt100 (RS PRO 181-1980) est normalisée pour une résistance de 100 Ω à 0°C (norme CEI 751). Elle est composée d'un substrat en céramique recouvert d'une couche mince de platine et reliée par des fils en nickel-platine. Elle est dimensionnée par une surface collectrice de 4 mm². Sa sensibilité thermique dans le cadre d'une linéarisation est de 0,39 Ω/°C pour une gamme de températures de -50 à 600°C.

La mesure de résistance est relevée directement aux bornes de la sonde Pt100 par un multimètre (Fluke 83 V) en fonction ohmmètre. Celui-ci génère une tension à ses bornes et mesure l'intensité du courant qui le traverse pour déterminer la valeur de la résistance, et donc la température en surface du capteur.

I.D.3.c. Limitations dans la mesure

La sonde Pt100 dissipe de l'énergie dans son volume. Ce phénomène est appelé auto-échauffement. Il est déterminé comme le produit de la résistance thermique entre le capteur et le milieu par la puissance résultant de l'effet Joule. Un courant d'auto-échauffement de 1 mA est mesuré par le multimètre. Cette faible valeur ne nuit pas à l'estimation de la température en surface du capteur en présence de la source RF-CCP.

Celle-ci ne peut pas être la seule utilisée pour l'ensemble des mesures. En présence de la source MW-ECR, les valeurs mesurées par ce capteur sont inférieures à celles du thermocouple. Un exemple comparatif est présenté dans le Tableau I-6 à la position Y = 14 cm.

Tableau I-6

Comparaison des mesures réalisées avec les deux capteurs à la position Y = 14 cm

Capteur	**Puissance MW injectée**		
	50 W	**100 W**	**150 W**
Thermocouple	39°C	72°C	77°C
Sonde Pt100	41°C	54°C	56°C

La mesure par sonde Pt100 est réalisée directement par un ohmmètre. Dans un cas idéal, la valeur de la résistance mesurée est exactement le ratio entre la tension à ses bornes U par le courant qui le traverse $I_{Ohmmètre}$. En pratique, lorsque la puissance MW augmente, le capteur est porté à un potentiel flottant V_f dans le plasma. L'anode est à un potentiel $V_f + \Delta U$ et sa cathode à $V_f - \Delta U$. Le courant qui lui est associé est composé d'une contribution électronique I_e et d'une contribution ionique I_i qui ne s'annulent pas étant donné que les électrons sont plus mobiles que les ions. Les électrons engendrent un courant plus important à la cathode que celui des ions à l'anode. La résistance donnée par l'ohmmètre aux bornes de la sonde Pt100 étant sous-estimée par rapport à sa valeur réelle, la température déterminée par ce capteur est inférieure à celle du thermocouple pour des puissances supérieures à 100 W.

En présence de la source RF-CCP, les oscillations radiofréquences permettent une compensation entre les courants ionique et électronique amenée par la composante alternative du potentiel plasma. La température déterminée pour une puissance totale équivalente permet d'obtenir une valeur cohérente entre les mesures réalisées au thermocouple avec la source MW-ECR et celles effectuées avec la sonde Pt100 en présence des deux sources (*cf.* Tableau I-7).

Tableau I-7

Comparaison des mesures de température réalisées à puissance totale équivalente à Y = 14 cm

Puissance totale : 150 W		**Température mesurée**	
MW	**RF**	**Thermocouple**	**Sonde Pt100**
150 W	0 W	77°C	56°C
50 W	100 W	-	74°C

La sonde Pt100 permet de mesurer la température dans l'enceinte lors du couplage des deux sources. Elle n'est pas utilisée dans le cas où la source MW-ECR est seule à cause du déséquilibre entre les courants électronique et ionique à sa surface.

II. Efficacité fongicide et détoxifiante du plasma

La problématique de la contamination fongique impacte principalement les productions de céréales. Le blé étant la céréale la plus consommée et cultivée en France, des grains de blé tendre sont analysés. Leur contamination fongique native est estimée comme donnée d'entrée afin d'évaluer l'efficacité du procédé plasma en tant qu'outil fongicide. Les moisissures détectées sur ces graines peuvent également produire des mycotoxines dangereuses pour la santé humaine. Le pouvoir de dégradation des molécules par ce procédé plasma est évalué pour l'une d'elles. La conservation des propriétés de panification et de germination des graines traitées est analysée pour garantir la conformité du produit dans son objectif applicatif.

La validité des différentes expériences réalisées pour répondre à cette problématique est évaluée d'un point de vue statistique (*cf.* Annexe IV). Les substances chimiques employées sont répertoriées dans l'annexe V. Les milieux de culture préparés et leurs principales caractéristiques se trouvent dans l'Annexe VI.

II.A. Graines sélectionnées

Les céréales utilisées pour évaluer l'efficacité fongicide du procédé plasma sont des graines de blé tendre panifiable (*Triticum aestivum* L.). Le choix s'est porté sur un blé local dont la culture est garantie raisonnée en produits chimiques par la certification CRC® (Culture Raisonnée Contrôlée). La fertilité des sols est étudiée, l'apport d'eau, la fertilisation et les traitements sont raisonnés. Le stockage est réalisé sans traitement, à l'air naturel. Ces graines proviennent du Moulin de Rivières[5], dans le Tarn. Cette meunerie fabrique des farines artisanales à destination des boulangeries de la région.

II.B. Etude de l'efficacité fongicide du plasma sur le blé

L'étude bibliographique sur les contaminations fongiques du blé a mis en évidence quatre genres de moisissures prépondérants en fonction des conditions environnementales et de leurs besoins nutritifs (*cf.* Chapitre 1 – I.B.1.b). Les genres *Fusarium spp.* et *Alternaria spp.* proviennent majoritairement des sols alors que les genres *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.*, contaminent les réserves. La première partie de cette étude consiste à identifier les genres fongiques natifs contaminant les grains de blé sélectionnés. La contamination native totale est quantifiée, sans distinction du genre afin d'évaluer ensuite l'efficacité fongicide du plasma à partir de la survie de ces moisissures à une exposition au plasma.

II.B.1. Evaluation des contaminations fongiques natives

La présence d'une contamination fongique native est exprimée comme un taux de contamination par grain de blé. Elle est estimée en disposant les graines sur un milieu de culture nutritif pour les moisissures et restrictif pour les bactéries.

Pour chaque réplica, 200 graines de blé sont réparties sur le milieu de culture DG18 à raison de 10 graines par boîte de Pétri. Parmi elles, 100 graines sont directement issues du lot de blé. Les 100 autres sont décontaminées en surface par immersion dans du chlore à 0,4% pendant 2 minutes. Un lavage à l'eau distillée stérile avec agitation est réalisé pendant 1 minute.

[5] https://www.moulinderivieres.fr/

L'eau est ensuite retirée de l'échantillon. La comparaison entre les deux échantillons permet d'évaluer la contamination présente en surface (contamination des réserves et des champs) et en volume des graines (contamination des champs). L'utilisation de chlore permet d'inhiber la croissance des contaminants de surface des échantillons. Après une incubation de 5 jours à 25°C, le nombre de graines contenant des moisissures est décompté sur chaque boîte afin d'évaluer le pourcentage moyen de graines contaminées.

II.B.2. Détermination des genres des moisissures natives

Le genre des moisissures sur un substrat contaminé peut être identifié par observation aux échelles macro et microscopiques des caractéristiques morphologiques d'une moisissure ayant été soumise à différentes conditions.

II.B.2.a. Isolement des moisissures

La diversité des moisissures isolées par grain de blé est comptabilisée pour évaluer la proportion des différents genres présents sur ce blé. La première étape d'identification consiste à isoler les moisissures afin d'assurer un échantillon purifié, *i.e.* une seule moisissure colonisant un milieu de culture.

L'isolement des moisissures présentes sur un échantillon permet de purifier l'échantillon à observer afin d'identifier le genre auquel la moisissure appartient. Un prélèvement de chaque moisissure présente sur l'échantillon initial (contaminants du blé cultivés dans le Chapitre 2 – II.B.1) est réalisé. Celui-ci est inoculé seul sur un milieu PDA et incubé pendant 5 jours à 25°C. L'échantillon est considéré purifié à partir du moment où une seule moisissure a colonisé le milieu PDA. Si l'isolement n'est pas effectif, un nouveau prélèvement de chaque contaminant est mis en culture dans des boîtes de Pétri séparées jusqu'à obtenir un échantillon purifié.

II.B.2.b. Identification des moisissures

Les moisissures isolées sur le PDA sont repiquées sur différents milieux de culture (CYA, MEA et G25N) selon le protocole mis en place par Pitt et Hocking [8]. Celles-ci sont incubées pendant 7 jours dans les conditions suivantes : MEA 25°C ; G25N 25°C ; CYA 5°C, 25°C et 37°C. Deux moisissures peuvent être inoculées dans une même boîte de Pétri pour les conditions G25N 25°C, CYA 5°C et CYA 37°C. L'utilisation de trois milieux et la différence de température sont justifiées par la façon dont se développent les moisissures en fonction des nutriments qu'elles consomment et des conditions physiques dans lesquelles elles sont cultivées. Les clés d'identification permettent de croiser les morphologies obtenues pour chaque milieu afin d'assurer l'identification du genre de la moisissure observée.

Les caractéristiques morphologiques des moisissures sont analysées aux échelles macro et microscopiques. Des clés dichotomiques telle que celles de Pitt et Hocking [8] répertorient et hiérarchisent les critères menant à l'identification du genre de la moisissure observée.

- Les premiers critères sont d'ordre macroscopique : la formation de colonies sur un milieu de culture et à une température d'incubation donnés, leur couleur, leur diamètre de développement, la présence de spores et la forme des hyphes.
- Les observations microscopiques du thalle et des conidies (*cf.* Chapitre 1 – I.B.1.b) permettent d'aboutir à un seul genre correspondant à l'ensemble des critères de sélection.

Les échantillons observés au microscope optique (Leica couplé à une caméra modèle Leica ICC50 W) sont préparés en récupérant une partie de la colonie comprenant des spores à l'aide

d'une aiguille d'inoculation. Si le mycélium est abondant, celui-ci est prélevé délicatement et déposé dans une goutte de milieu de montage sur une lame de microscope. Sinon, un carré de gélose, de côté 3 mm et le plus fin possible, est prélevé et déposé sur une lame de microscope. L'ensemble est chauffé au bec Bunsen avec une légère agitation jusqu'à évaporation de la gélose. Une goutte de bleu de lactophénol est ajoutée pour améliorer le contraste [8].

Le blé est susceptible d'être contaminé par des moisissures de genres différents, dans le champ et pendant les périodes de stockage. La caractérisation des contaminations fongiques natives des échantillons de blé a permis d'évaluer leur taux de contamination et le genre des moisissures présentes sur le lot analysé.

II.B.3. Evaluation de l'efficacité fongicide du plasma

Le nombre d'unités formant des colonies de moisissures pour un gramme de blé (UFC/g) est estimé sur l'ensemble des moisissures, sans distinction du genre pour évaluer l'efficacité fongicide des plasmas générés par la source MW-ECR puis en lui couplant la source RF-CCP.

Pour chaque réplica, 10 g de blé sont utilisés. Cela représente un échantillonnage initial de l'ordre de 10^4 UFC/g de moisissures. Les échantillons sont soumis à différentes conditions opératoires afin de déterminer l'efficacité du plasma dans l'inactivation des moisissures.

Les moisissures sont récupérées dans de l'eau peptonée en utilisant un stomacher (modèle BagMixer 400CC interscience). La suspension obtenue est ensuite diluée en série dans l'eau peptonée à 0,1%. Les dilutions successives de chaque échantillon sont inoculées en duplicata sur un milieu de culture DG18. Les échantillons sont incubés à 25°C pendant 7 jours. Le nombre d'unités formant colonie est évalué sur les boîtes de Pétri contenant entre 10 et 150 colonies distinctes (limites de significativité de la méthode). La survie des moisissures est alors déterminée en UFC/g à l'aide du facteur de dilution.

La contamination fongique native, tout genre confondu, est estimée pour l'échantillon de graines de blé et exprimée en UFC/g de blé. Son taux est suffisamment élevé pour observer un effet du procédé plasma en évaluant la survie des moisissures par décompte sur plaques de milieu de culture.

II.C. Etude de l'efficacité détoxifiante du plasma

Les céréales sont majoritairement contaminées par des moisissures du genre *Fusarium spp.*, capables de produire des mycotoxines en quantité suffisante pour affecter la santé du consommateur. La principale mycotoxine produite dans le genre *Fusarium spp.* est le déoxynivalénol (DON). Elle appartient à la famille chimique des trichothécènes B. La première partie des analyses consiste à déterminer la concentration initiale de DON sur les graines de blé. L'efficacité du procédé dans leur dégradation est basée sur une concentration initiale contrôlée de DON.

II.C.1. Analyse de la concentration en mycotoxine DON par la méthode ELISA compétitive

II.C.1.a. Intérêts principaux de la méthode

Les concentrations en mycotoxines présentes sur des semences ou des produits transformés sont généralement mesurées par chimie analytique. La chromatographie, en phase liquide (HPLC, TLC) ou gazeuse (GC), est la technique la plus répandue dans l'industrie agroalimentaire compte-tenu de sa capacité à isoler des éléments-traces contenus dans une matrice [203]. Elle présente l'avantage d'atteindre des résolutions toujours plus fines, jusqu'au pg/ml [204], grâce au développement des détecteurs (fluorescence ou spectrométrie de masse). La préparation des échantillons et la conception du détecteur constituent les principaux inconvénients impactant la durée, le coût et la mobilité des expériences.

Les concentrations en déoxynivalénol (DON) sont mesurées en utilisant la méthode ELISA compétitive. Cette technique est moins conventionnelle mais permet de contourner les inconvénients de la chromatographie. Les analyses immunitaires sont spécifiques à une mycotoxine étant basées sur la reconnaissance des anticorps produits par la graine en présence de la toxine. Elles sont plus adaptées pour de faibles volumes d'échantillon et leur mise en place est plus simple, moins coûteuse et permet d'avoir une information rapide tout en réduisant la préparation des échantillons et les temps d'incubation [205]. Elles permettent également une détection directe d'une mycotoxine donnée en plein champ grâce à leur faible encombrement. La limite de détection de cette méthode est moins résolue que la chromatographie, de l'ordre du ng/ml, mais suffisante compte-tenu des quantités tolérées dans les céréales, selon la législation européenne CE n°1881/2006 [206]. Les travaux de Zheng *et al*. [207] et ceux de Klaric *et al*. [208] valident l'utilisation de cette procédure en corrélant les concentrations obtenues à partir de mesures réalisées par HPLC (respectivement TLC) avec un test ELISA spécifique à diverses mycotoxines sélectionnées.

II.C.1.b. Mise en œuvre de la technique

Le test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assays) est basé sur la réponse immunitaire d'un substrat biologique à la présence d'une mycotoxine ciblée. D'un point de vue immunitaire, les mycotoxines DON sont des antigènes. Ces derniers peuvent être reconnus par un anticorps spécifique et déclenchent une réponse immunitaire dans l'organisme. Le test ELISA utilisé est une analyse colorimétrique compétitive entre l'antigène DON et un anticorps de détection. Si l'antigène est présent en plus grande quantité que l'anticorps de détection, le milieu est transparent à 450 nm, sinon, il est opaque. Un kit commercial est utilisé pour la quantification de la mycotoxine DON : kit B-TeZ ELISA Deoxynivalenol (BTDOEK-001). Des standards de concentrations connues de DON sont fournis pour réaliser une courbe de calibration et retrouver la concentration de DON présente dans l'échantillon traité. Le protocole mis en place dans le test est illustré sur la Figure II-1 et décrit ci-dessous.

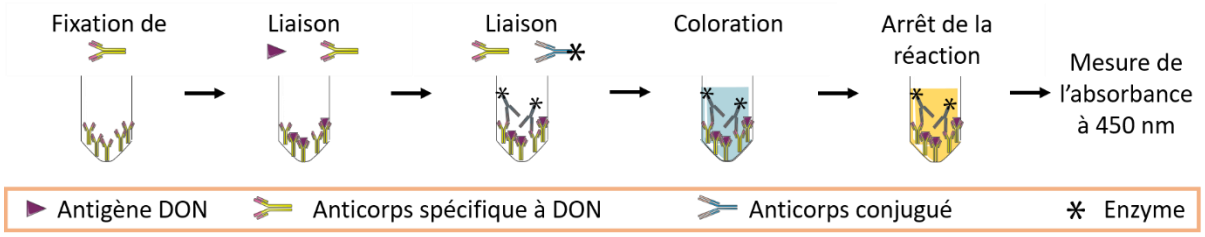


Figure II-1 Principe de fonctionnement du test ELISA

Etape 1 : fixation de l'anticorps à doser – Le fond des puits des plaques 96 puits fournies dans le kit a été préalablement recouvert d'anticorps anti-DON à doser, capables de fixer des antigènes spécifiques (mycotoxine DON).

Etape 2 : fixation des antigènes DON – Les échantillons sont ajoutés en duplicata à raison de 50 µl par puits et incubés dans le noir à température ambiante pendant 15 minutes, avec agitation de la plaque pour homogénéiser le milieu.

Si les molécules de DON sont présentes dans l'échantillon, celles-ci se fixent sur les anticorps anti-DON au fond des puits.

Etape 3 : fixation de l'anticorps de détection – Une solution contenant un anticorps conjugué à l'anticorps à doser est ajoutée à raison de 50 µl par puits. L'ensemble est incubé dans le noir à température ambiante pendant 15 minutes, avec agitation de la plaque.

Un anticorps conjugué se fixe à un anticorps à doser qui n'est pas déjà fixé à un antigène DON. Il a été préalablement lié à une enzyme qui favorise la réaction colorimétrique permettant de détecter la présence des anticorps au moment de l'analyse spectrophotométrique.

Etape 4 : lavage – L'excès en anticorps de détection est éliminé dans chaque puit en retirant la suspension et en réalisant deux lavages successifs avec 300 µl de solution fournie dans le kit. Cette solution est préalablement diluée à 10^{-1} conformément aux proportions précisées.

Etape 5 : révélation des anticorps – Une solution substrat de péroxydase (3,3',5,5'-Tetraméthylbenzidine, TMB) est ajoutée à raison de 100 µl par puits. L'ensemble est incubé dans le noir à la température ambiante pendant 15 minutes avec agitation de la plaque pour homogénéiser le milieu.

Une réaction colorimétrique entre le TMB et l'enzyme fixée est mise en place pour révéler la présence d'anticorps dans l'échantillon. Si la solution devient bleue, l'enzyme est présente dans le puits. En reprenant les étapes en sens inverse, cela signifie que des molécules de DON sont présentes dans l'échantillon.

Etape 6 : arrêt de la réaction – 25 µl de solution d'acide sulfurique (solution STOP-H_2SO_4) sont ajoutés. La coloration devient jaune instantanément au contact entre les deux solutions.

Cette solution est utilisée pour arrêter la réaction précédente et permettre une analyse quantitative de la présence de DON dans l'échantillon.

Etape 7 : détection de la présence de DON – Une mesure de l'absorbance à 450 nm est réalisée à l'aide du spectrophotomètre à lecture automatique de plaques (TECAN Infinite 200 PRO).

La moyenne des densités optiques (D.O.) est effectuée pour chaque échantillon et standard dupliqué. Une courbe de calibration est effectuée en parallèle des échantillons à partir des solutions standards fournies par le kit (6 solutions dont les concentrations varient de 0 à 120,0 ng/ml). Son expression mathématique est déterminée à partir du logiciel *MyAssays*. Les D.O. mesurées pour les standards et le facteur de dilution des échantillons constituent les

données d'entrée permettant d'estimer les concentrations de DON en ng/g des échantillons à partir d'une régression logistique de la forme $y = d + \frac{a-d}{1+\left(\frac{x}{c}\right)^b}$.

La documentation du kit annonce une limite de détection pour la farine de blé de 12 ng/g.

Une analyse immuno-enzymatique compétitive (test ELISA) est réalisée pour déterminer la concentration de la mycotoxine DON présente sur différents échantillons de volume réduit.

II.C.2. Détermination de la concentration initiale de DON sur le blé

Une étude préliminaire est réalisée afin de déterminer la concentration native de DON sur un lot statistique de graines de blé.

Pour chaque réplica, 10 g de blé sont traités puis moulus afin d'en récupérer 5 g pour l'analyse ELISA. La récupération des molécules de DON fixées sur les graines de blé s'effectue en ajoutant 5 g de blé moulus dans 25 ml d'eau distillée. La suspension est mélangée au vortex pendant 3 minutes puis centrifugée à 3000 g pendant 5 minutes. Elle est filtrée pour réaliser l'analyse quantitative à partir du kit de test ELISA. Le filtrat est dilué d'un facteur 1:5 à partir de la solution tampon fournie (DON-SAMPLE-BUFFER). Cette étape prépare les échantillons avec un facteur de dilution de 25 pour que les mesures d'absorption soient comprises dans la gamme de détection. La concentration de molécules de DON sur les grains de blé est évaluée par un test ELISA selon la méthode présentée dans le Chapitre 2 – II.C.1.b.

II.C.3. Evaluation de la dégradation des molécules de DON par la source MW-ECR

La concentration initiale de DON sur le blé est trop faible pour évaluer l'efficacité du plasma dans la dégradation de la molécule (369±11 ng/g). L'étude du pouvoir détoxifiant de la source MW-ECR est décomposée en deux étapes pour lesquelles la concentration initiale de DON est fixée et suffisante pour observer une action du plasma. La concentration des DON est évaluée par une analyse ELISA compétitive (*cf.* Chapitre 2 – II.C.1.b).

L'apport de la source RF-CCP n'est pas évalué dans ces travaux compte-tenu du dispositif expérimental actuel. Dans le cadre de l'évaluation des contaminations fongiques et des concentrations en DON natives sur les grains de blé, ceux-ci sont disposés directement sur la grille. Lors de la contamination contrôlée en mycotoxine DON, les grains de blé sont disposés dans un récipient en aluminium afin d'éviter un transfert des toxines sur la grille.

II.C.3.a. Préparation des échantillons pour l'analyse ELISA compétitive

II.C.3.a.i. Evaluation sur un substrat en verre

Un substrat inerte plan en verre est sélectionné comme modèle pour valider l'efficacité du plasma dans la dégradation de la mycotoxine DON. Cette étude est couplée à une analyse par contamination contrôlée sur un substrat de blé (*cf.* Chapitre 2 – II.C.3.a.ii) afin d'évaluer l'impact de la géométrie du substrat sur le pouvoir détoxifiant du plasma.

Pour chaque réplica, la solution DON est appliquée à raison de 150 ng/ml sur un substrat de verre de 1 cm^2. Les échantillons sèchent à température ambiante sous hotte pendant au moins 30 minutes avant d'être exposés aux conditions de traitement. Les molécules de DON sont

récupérées après traitement en immergeant les substrats de verre dans 1 ml d'eau distillée pendant 30 minutes. Le filtrat est récupéré pour être analysé.

II.C.3.a.ii. Evaluation sur des grains de blé

Une quantité contrôlée de mycotoxines est appliquée sur les grains de blé afin de situer le procédé plasma dans le contexte agricole. Les grains de blé constituent un substrat en volume, possédant des aspérités en surface, l'effet matrice du substrat est étudié.

Pour chaque réplica, 5 g de blé sont utilisés. la solution DON est appliquée à raison de 2,5 µg/g sur un substrat de verre. Après exposition au plasma, les mycotoxines sont récupérées par centrifugation des grains de blé broyés en solution. Le surnageant est filtré pour réaliser l'analyse quantitative à partir du kit de test ELISA.

II.C.3.b. Evaluation de l'efficacité détoxifiante du plasma

L'efficacité de la source MW-ECR est évaluée par comparaison entre la teneur en toxine après un traitement plasma et celle présente dans un échantillon témoin non exposé au plasma. La puissance MW utilisée pour l'inactivation des moisissures est sélectionnée.

- La cinétique de dégradation de la molécule est abordée en fonction du temps d'exposition des échantillons de verre au plasma MW.
- Une condition témoin non exposée et une condition de plasma MW sont réalisées sur les graines de blé contaminées compte-tenu des résultats sur les substrats de verre.

L'efficacité du plasma MW dans la dégradation des molécules DON est évaluée à partir d'une analyse ELISA compétitive. L'utilisation de deux substrats différents permet de mettre en avant l'effet de la structure du substrat sur les capacités détoxifiantes du procédé plasma.

II.D. Etude des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé

Le blé utilisé dans cette étude est commercialisé pour la fabrication du pain. La qualité des grains et de la farine ne doit pas être détériorée par un traitement au plasma comme cela peut être observé avec un traitement par abrasion ou par friction utilisé actuellement dans l'industrie [209]. Le taux d'humidité des grains entiers et moulus ainsi que la teneur en gluten sont évalués comme indicateurs de la préservation de la qualité du blé panifiable.

Les grains de blé sélectionnés étant cultivés selon une agriculture raisonnée, il est intéressant de pouvoir les semer sur plusieurs générations. La conservation de sa capacité germinative est estimée après les traitements au plasma par le taux de germination des graines.

II.D.1. Evaluation du taux d'humidité

La perte d'humidité engendrée par l'exposition des échantillons dans le réacteur est évaluée par le taux d'humidité. Celui-ci est mesuré par analyse gravimétrique à deux niveaux : dans les grains de blé entiers et dans la farine, une fois ceux-ci moulus.

II.D.1.a. Evaluation du taux d'humidité des grains

Le taux d'humidité des grains de blé est déterminé à l'aide de l'humidimètre OHAUS MB25. Cet appareil mesure la différence de masse des échantillons en les déshydratant par un chauffage ohmique. L'humidimètre est configuré pour chauffer les échantillons à 105°C. Son temps de mesure est automatisé, il repose sur une mesure par dichotomie. Lorsqu'une même valeur de pesée est relevée plusieurs fois, elle correspond à la valeur attendue. La mesure est donnée avec une précision de 0,05% par 0,005 g.

Pour chaque réplica, 3 g de grains de blé sont utilisés afin de garantir une pesée comprise dans les limites de fonctionnement de l'humidimètre (0,5 – 20 g). Leur taux d'humidité est évalué pour chaque condition de mesure.

II.D.1.b. Evaluation du taux d'humidité de la farine

Le taux d'humidité de la farine est évalué selon le protocole proposé par Serna-Saldivar [210], établi à partir des méthode de l'Association Américaine des Chimistes Céréaliers (AACC 2000). Entre chaque étape, les échantillons sont placés dans un dessiccateur à gel de silice pour être protégés de l'humidité environnante.

Pour chaque réplica, 30 g de grains de blé sont traités. Ils sont moulus et tamisés afin d'obtenir 25 g de particules de blé de taille inférieure au millimètre. Les supports en aluminium vides sont chauffés au four (135°C – 30 min) puis refroidis au dessiccateur pendant 20 minutes. Ils sont pesés à vide à l'aide d'une balance de précision à 0,0001 g (OHAUS Adventurer). Une quantité de 2 g de farine est ajoutée sur les supports en aluminium. La masse totale est relevée comme quantité initiale.

Après exposition au plasma, les échantillons sont placés au four à l'aide d'une pince en bois pour éviter de les humidifier (135°C – 2 h). A la sortie du four, ils sont refroidis au dessiccateur pendant 30 minutes. La masse des échantillons secs est relevée sur la balance.

Le taux d'humidité est calculé à partir de la différence de masse avant et après séchage de la farine au four à partir de la relation donnée dans l'Equation 31.

$$\%H = \frac{Masse\ initiale\ - Masse\ sèche}{Masse\ initiale} \times 100 \qquad \text{Equation 31}$$

Le taux d'humidité est évalué dans les grains de blé pour assurer une préservation des qualités du blé pour de la panification. L'humidité présente dans la farine est également déterminée dans cet objectif. Cette dernière constitue également une étape préliminaire à la mesure de la teneur en gluten des échantillons.

II.D.2. Evaluation de la concentration en gluten du blé

La concentration en gluten dans la farine des échantillons de blé traités est évaluée en respectant les protocoles de l'AACC 2000 [210].

Pour chaque réplica, 30 g de grains de blé sont traités. Ils sont moulus et tamisés (Fisher Scientific ISO 3310-1 – 100 µm) afin d'obtenir 25 g de particules de blé. Le taux d'humidité de la farine de blé des échantillons doit être fixé à 15% avant de mettre en œuvre la méthode. Celui-ci est mesuré par la méthode donnée dans la section 0 afin de déterminer la quantité d'eau à ajouter dans chaque échantillon de farine à partir de l'Equation 32.

$$Masse\ d'eau = \left(\frac{100-\%H\ initial}{100-\%H\ souhaité} - 1\right) \times Masse\ de\ l'échantillon \qquad \text{Equation 32}$$

La quantité d'eau est alors ajustée sur chaque échantillon pour obtenir un taux d'humidité de 15%. La répartition de l'eau dans les échantillons est homogénéisée en les mélangeant pendant 10 minutes à température ambiante. La masse de farine sèche peut alors être estimée par la relation donnée dans l'Equation 33.

$$Masse\ de\ farine\ sèche = Masse\ de\ l'échantillon \times \left(\frac{100 - \%H}{100}\right) \qquad \text{Equation 33}$$

Une boule de pâte est formée en mélangeant chaque échantillon de 25 g de farine de blé avec 15 ml d'eau distillée dans un mortier. Elle est placée dans un bécher à moitié rempli d'eau distillée (26°C – 1 h). La boule est lavée dans un tamis de maille de 180 µm et malaxée sous un filet d'eau pour retirer l'excédent de matériel soluble (amidon, protéines et sucres). La procédure s'arrête lorsque l'eau issue du tamis est limpide. La boule est laissée au repos pendant 1 heure et compressée manuellement pour en retirer l'excès d'eau. Une mesure de la masse de gluten humide est alors réalisée. Le gluten est déshydraté à l'étuve (60°C – 24 h) puis refroidi au dessiccateur pendant 20 minutes. La masse de gluten sec est mesurée.

Le taux de gluten dans l'échantillon (sec ou humide) est établi à partir de l'Equation 34.

$$\%Gluten\ (\text{sec}\ ou\ humide) = \frac{Masse\ du\ gluten\ (\text{sec}\ ou\ humide)}{Masse\ de\ farine\ sèche} \qquad \text{Equation 34}$$

La teneur en gluten est évaluée sur de la farine humide et sèche pour assurer la préservation des propriétés de panification des graines de blé traitées au plasma.

II.D.3. Détermination du taux de germination des grains de blé

Le taux de germination des grains de blé est estimé à partir des recommandations de l'AOSA *Rules for testing seeds* (Association of Official Seed Analysts – 2016) [211].

Un échantillon, constitué de 100 graines de blé, est exposé aux conditions de traitement. Des feuilles de papier de germination (Ahlstrom Munksjö Grade 196) sont taillées pour être insérées dans des boîtes de Pétri carrées de côté 10 cm. Elles sont stérilisées au four (180°C – 3 h). Deux feuilles sont disposées au fond d'une boîte de Pétri carrée de côté 10 cm. Celles-ci sont humidifiées avec 10 ml d'eau distillée préalablement stérilisée à l'autoclave (121°C – 15 min). Les grains de blé sont répartis sur les feuilles de germination humidifiées à raison de 50 graines par boîte. Les échantillons sont incubés à 20°C pendant 7 jours en insérant les boîtes de Pétri dans des sacs de congélation scellés pour éviter d'assécher le papier.

Le taux de germination est estimé comme le ratio du nombre de graines germées par rapport au nombre total de graines. Une graine est considérée germée lorsque 2 mm de la radicule ont émergé de l'enveloppe [211].

Le taux de germination des graines est évalué pour assurer la possibilité d'engendrer une nouvelle génération de blé issue de ces graines, dans un souci d'agriculture raisonnée.

III. Evaluation du procédé plasma pour la germination de semences

L'augmentation du rendement des semences est actuellement prioritaire au détriment de la biodiversité et de la sécurité sanitaire du producteur avec l'usage massif de pesticides dans les champs. Le développement de nouvelles pratiques, plus respectueuses de ces problématiques, réduit inévitablement les capacités de production. Dans ce contexte, des semences de poivrons sont exposées au procédé plasma afin de déterminer ses effets sur la germination des semences.

La validité des différentes expériences réalisées pour répondre à cette problématique sont évaluées d'un point de vue statistique (*cf.* Annexe IV). Les substances chimiques employées sont répertoriées dans l'Annexe V.

III.A. Semences sélectionnées

Les semences utilisées pour évaluer les effets du procédé plasma sur la germination sont des graines de poivron Cubo orange (*Capsicum annuum* L.). Le choix s'est porté sur des semences paysannes (Agrosemens SAS), labélisées BIO. Elles sont garanties non modifiées génétiquement et limitées en intrants chimiques. Une sélection de 15000 graines provenant d'un même lot est réalisée pour cette étude. Le fournisseur annonce un taux de germination de 76±5%. Les contaminations fongiques natives sont évaluées sur les semences pour vérifier leur impact sur la germination (protocole – *cf.* Chapitre 2 – II.B.1).

III.B. Etude des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du poivron

III.B.1. Etude des effets du plasma dans la germination

III.B.1.a. Evaluation de la viabilité des graines

La viabilité des graines de poivron est évaluée par le test de coloration au chlorure de tétrazolium (TZ : 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride). Le protocole est optimisé à partir de ceux proposés par Santos *et al.* [212] et Verma et Majee [213].

La viabilité des graines est estimée à partir de la respiration cellulaire. Une semence viable contient de l'oxygène dans ses cellules, qu'elle soit en phase dormante ou prête à la germination. Le test de coloration au TZ consiste à évaluer la teneur en oxygène dans la graine par réaction avec le chlorure de tétrazolium. Ce dernier pénètre dans chaque cellule et produit du formazan, de couleur rouge, lorsqu'il est en présence d'oxygène. La proportion d'oxygène dans le lixiviat des graines broyées est évaluée par spectrophotométrie d'absorption.

Un échantillon constitué de 20 graines est exposé aux conditions opératoires. Les graines sont ensuite hydratées dans 10 ml d'eau distillée et incubées pendant 16 heures à 30°C. Elles sont ensuite entaillées sur 2 mm puis immergées dans 1 ml de solution de TZ à 5% dans des tubes eppi de 2 ml dont le couvercle se visse. L'ensemble est recouvert d'aluminium pour assurer une obscurité totale et incubé pendant 4 heures à 30°C pour permettre la formation de formazan si les graines sont viables.

Les échantillons sont lavés à l'eau distillée pour assurer la fin de la réaction chimique. Les graines mises en solution dans 1 ml d'éthanol puis l'ensemble est broyé à l'aide d'un

homogénéisateur (Bead Mill 4 Homogenizer Fisherbrand™). Le lixiviat est extrait pour être analysé par spectroscopie d'absorption. L'absorbance du formazan présent dans chaque échantillon est mesurée à 485 nm. Le témoin négatif, ne contenant aucune cellule viable est un échantillon traité à l'autoclave (121°C – 15 min), son absorption est minimale A_{min}. Le taux de viabilité $\%V$ dans l'échantillon est estimé par la relation donnée par l'Equation 35.

$$\%V = \frac{A_{min} - A}{A_{min}} \times 100 \qquad \text{Equation 35}$$

III.B.1.b. Evaluation du taux et de la vitesse de germination

Les propriétés de germination des graines de poivron sont estimées à partir des recommandations de l'AOSA *Rules for testing seeds* (Association of Official Seed Analysts – 2016) [211].

Un échantillon est constitué de 100 semences. Les graines sont mises à germer sur du papier de germination (Ahlstrom Munksjö Grade 196) stérilisé au préalable au four (180°C – 3 h). Deux feuilles de germination sont insérées dans une boîte de Pétri carrée de côté 10 cm avant d'être humidifiées avec 10 ml d'eau distillée, préalablement stérilisée à l'autoclave (121°C – 15 min). Les graines sont réparties sur les feuilles humidifiées à raison de 50 graines par boîte. Après exposition aux conditions de traitement, les échantillons sont incubés à deux températures différentes dans la journée (20°C – 16 h / 30°C – 8 h) pendant 14 jours en insérant les boîtes de Pétri dans des sacs de congélation scellés pour éviter d'assécher le papier.

Le décompte du nombre de graines germées est évalué tous les jours par rapport au nombre total de graines. Un taux de germination par jour est alors établi et permet d'obtenir l'évolution du taux de germination en fonction des jours post-traitement. Le taux de germination final est estimé à 14 jours comme le rapport du nombre de graines germées par le nombre total de graines. Une graine est germée lorsque 2 mm de la radicule ont émergé de l'enveloppe.

La viabilité des graines est mise en évidence pour vérifier que le plasma n'engendre pas d'effet négatif sur celles-ci. Le taux et la vitesse de germination des semences en fonction des conditions de traitement sont ensuite évalués pour déterminer l'efficacité du procédé plasma.

III.B.2. Evaluation des propriétés physico-chimiques

Le taux d'humidité de la graine et la perméabilité de sa surface sont évalués comme indicateurs des modifications physico-chimiques apportées par le procédé plasma.

III.B.2.a. Estimation du taux d'humidité

Le taux d'humidité est calculé à partir de la différence de masse des semences avant et après séchage au four.

Pour chaque réplica, 10 graines sont utilisées. Les échantillons exposés sont disposés dans des coupelles en aluminium dont la masse est préalablement déterminée à la balance de précision à 0,0001 g (OHAUS Adventurer). Une pesée initiale des échantillons est réalisée

avant de les placer au four à 90°C pendant 72 heures afin de déshydrater les grains. Une pesée finale de la masse sèche est réalisée en sortie du four. Leur taux d'humidité est alors estimé à partir de l'Equation 31.

Le procédé plasma étant à basse pression, le taux d'humidité est vérifié avant et après traitement pour vérifier l'effet de la déshydratation des graines sur le processus de germination.

III.B.2.b. Mesure de la perméabilité de la surface

La perméabilité des graines de poivron est évaluée par une acquisition numérique de l'étalement d'un colorant liquide en surface d'une graine.

Pour chaque réplica, 5 graines sont exposées aux conditions opératoires. Une goutte de bleu de méthylène de 1 µl de diamètre est déposée manuellement en surface de chaque graine. Une caméra numérique (VEHO Discovery VMS-001) est utilisée pour visualiser l'étalement du colorant. Deux diamètres de la goutte sont mesurés sur chaque graine comme indicateur de cet étalement. Un diamètre d'étalement important induit une perméabilisation de la surface.

La perméabilité de la surface des graines est estimée pour évaluer la capacité du plasma à rendre hydrophile la surface des graines. Une graine plus hydrophile peut emmagasiner plus rapidement l'eau et les nutriments provenant du sol pour favoriser la germination mais elle peut également être plus contaminée par des agents extérieurs (moisissures et bactéries).

III.B.3. Evaluation des propriétés biochimiques

III.B.3.a. Définition du rôle des antioxydants

La présence des espèces réactives de l'oxygène dans une graine cause un stress oxydatif responsable de dommages cellulaires et entraîne une baisse de la germination des semences. Les graines possèdent des antioxydants, aux caractéristiques chimiques différentes, pour se défendre contre les processus d'oxydation variés auxquels ils doivent faire face. Plusieurs méthodes peuvent alors être mises en œuvre pour déterminer ces différents antioxydants et obtenir une réponse complète de l'activité antioxydante de l'échantillon. Dans cette étude, une méthode biochimique, déjà mise en œuvre sur des semences du genre *Capsicum annuum* L. par Sahitya *et al.* [214] est employée : le piégeage du radical DPPH.

Pour chaque réplica, 1,5 g de graines de poivron sont exposés aux conditions opératoires. Les échantillons sont broyés au pilon dans un mortier en excès d'azote liquide puis tamisés afin de récupérer les particules de taille inférieure à 100 µm. Le piégeage du radical DPPH est effectué à partir de 100 mg de poudre.

III.B.3.b. Evaluation de l'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH

La présence d'antioxydants dans les graines de poivron est évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) à partir du protocole établi par Sahitya *et al.* [214]. Cette technique consiste à estimer l'activité antioxydante dans la graine, *i.e.* sa capacité à résister à l'oxydation, par piégeage d'un radical libre. Le principe de la mesure

repose sur une réaction d'oxydo-réduction entre un composé radicalaire, le DPPH et un antioxydant présent dans la graine (*e.g.* composé phénolique, vitamine). Le DPPH en solution dans du méthanol est de couleur violette. En présence d'un antioxydant dans le milieu, un complexe de DPPHH (forme réduite du DPPH) se forme. La solution se décolore dans les tons de jaune. Cette dernière est analysée par spectrophotométrie d'absorption pour quantifier la présence des antioxydants.

Chaque échantillon est immergé dans 2 ml de méthanol pendant 10 heures à température ambiante puis la suspension est filtrée. Le filtrat est mélangé à 3 ml de DPPH à 0,1 mmol/ml dissout dans du méthanol. L'ensemble est incubé 30 minutes dans le noir à température ambiante. Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'un antioxydant de référence, l'acide ascorbique pour permettre de quantifier la mesure. Une mesure de l'absorption à 517 nm est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Thermo Scientific Genesys 20) pour détecter la présence de DPPHH (jaune). L'activité du radical DPPH $\%a_{DPPH}$ est établie à partir de l'Equation 36. Une augmentation de l'activité du radical correspond à une augmentation de la concentration en antioxydant dans l'échantillon.

$$\%a_{DPPH} = \frac{A_{témoin} - A_{échantillon}}{A_{témoin}} \times 100 \qquad \text{Equation 36}$$

La présence des antioxydants dans les graines est évaluée à partir du piégeage du radical DPPH. Cette donnée permet d'assurer que les espèces réactives de l'oxygène, oxydantes du plasma, ne nuisent pas au bon développement de la germination.

Chapitre 3
Caractérisation physique du plasma

Ce chapitre présente les résultats obtenus à partir des diagnostics électriques et optiques afin de définir les propriétés physiques des plasmas et leurs intérêts pour le traitement de semences. Les espèces générées et leur distribution spatiale dans le réacteur sont déterminées à partir d'une étude paramétrique, réalisée en fonction de la source à l'origine du plasma, de la puissance injectée dans la décharge et de la position dans l'enceinte. Les caractéristiques fondamentales des plasmas (densités électroniques, températures et fonctions de distribution des électrons) sont établies afin d'appréhender les mécanismes de production et de perte des espèces d'intérêt pour le traitement des semences, engageant l'inactivation des moisissures ou améliorant les propriétés germinatives d'une graine. L'ensemble de l'étude permet de définir les conditions opératoires à mettre en place pour les traitements des semences, en fonction de l'effet souhaité.

La première partie est consacrée à la description du plasma généré par la source MW-ECR. L'applicateur MW-ECR est sélectionné pour sa capacité à produire de nombreuses espèces réactives. La répartition des espèces émissives caractéristiques d'un plasma d'air et des électrons est étudiée afin d'identifier les principales réactions mises en jeu dans le plasma.

La deuxième partie est axée sur le couplage des sources MW-ECR et RF-CCP. La source RF-CCP est associée à la source MW-ECR dans l'idée d'homogénéiser la répartition des espèces dans le volume et de disposer d'un degré de liberté supplémentaire sur les contributions en énergie et en flux de particules chargées. Différentes proportions de puissances RF et MW sont injectées dans la décharge afin de déterminer l'effet d'un apport de puissance RF sur les propriétés des plasmas. Les conditions opératoires optimales pour appliquer le procédé plasma au traitement de semences sont définies dans ce chapitre.

I. Caractérisation physique du plasma MW

La variété des espèces présentes dans un plasma hors équilibre thermodynamique (électrons, ions, neutres, photons) le rend attractif pour des applications biologiques. Une connaissance approfondie de leur contribution en fonction des conditions opératoires permet d'optimiser la production d'une espèce ou d'un ensemble d'espèces en synergie. Une caractérisation du plasma est alors réalisée à partir de diagnostics optiques et électriques.

La première étape est l'identification des espèces émises par spectroscopie d'émission optique (SEO) indépendamment des paramètres étudiés. Les intensités des émissions du plasma généré par la source MW-ECR peuvent varier mais leur présence est observée sur les spectres dans les conditions de l'étude. Leur intérêt pour le traitement de semences est ensuite discuté.

La deuxième étape consiste à suivre l'évolution des paramètres fondamentaux du plasma en fonction de la puissance injectée dans la décharge et de la position dans l'enceinte. Les conditions expérimentales sont définies dans le Chapitre 2 – I.A.2.d) afin de garantir un transfert optimal de puissance dans le plasma (air synthétique, 50 sccm, 1 Pa, 25 – 175 W).

- La variation en puissance révèle deux régimes de fonctionnement aux propriétés différentes.
- La répartition des espèces dans le réacteur permet d'appréhender les mécanismes de réaction.

I.A. Espèces émissives du plasma

L'identification des espèces émissives présentes dans le plasma permet de repérer certains agents responsables des actions biologiques observées sur les semences après un traitement.

I.A.1. Identification des espèces

Les espèces présentes dans le plasma sont détectées par SEO entre 200 et 1000 nm et identifiées à partir des bases de données rapportées dans le Chapitre 2 – I.B.1.c.i. Un spectre typique des émissions optiques du plasma est représenté sur la Figure I-1.

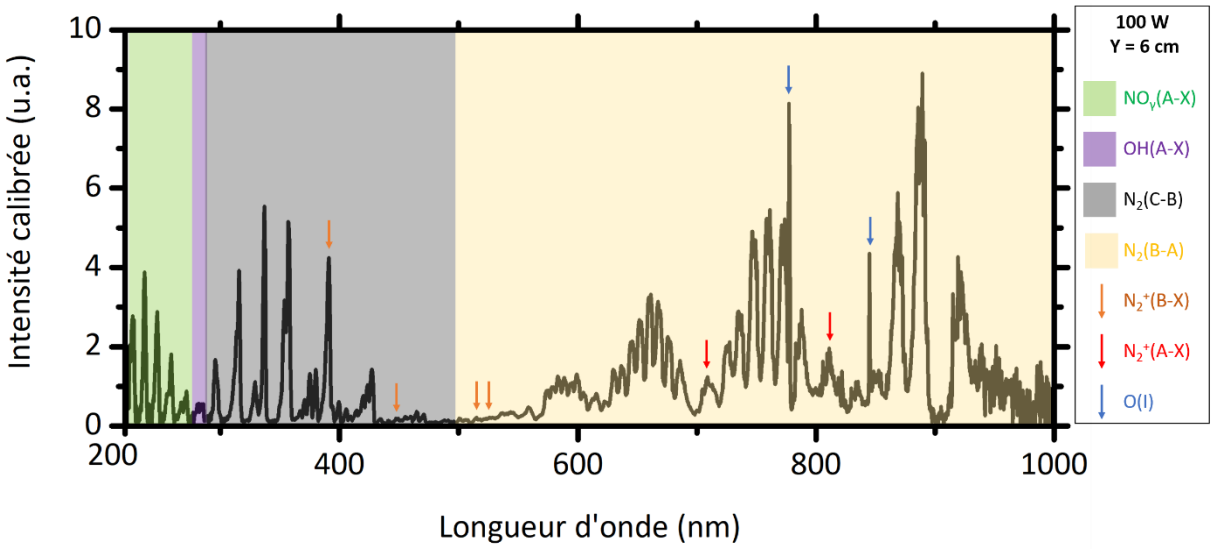


Figure I-1 Spectre des émissions optiques du plasma d'air

Les espèces excitées et ionisées présentes sur le spectre et caractéristiques d'un plasma d'air à basse pression sont répertoriées dans le Tableau I-1. Les bandes moléculaires attribuées au diazote N_2^* sont majoritaires sur le spectre avec les émissions du premier système positif (PSP : 503 – 1051 nm) ainsi que celles du second système positif (SSP : 281 – 498 nm). Les niveaux ionisés N_2^{+*} représentatifs du premier système négatif (PSN : 325 – 586 nm) et du système auroral de Meinel (611 – 950 nm) sont également observés. La contribution de l'oxygène dans le plasma intervient à travers les émissions de monoxyde d'azote NO_γ^* (196 – 356 nm) et du radical hydroxyle OH^* (244 – 347 nm) dans l'UV. L'oxygène atomique O^*I est également présent. Certaines longueurs d'onde caractéristiques de ces émissions sont sélectionnées pour étudier l'influence des conditions opératoires sur le plasma. Celles utilisées pour la SEO sont notées en gras et celles suivies par la caméra ICCD filtrée sont soulignées dans le Tableau I-1.

Tableau I-1

Identification des espèces émises par le plasma généré par la source MW-ECR

Espèce	Système	Transition	Longueurs d'onde (nm)
NO	Troisième système positif : γ	$A \rightarrow X$	219,9 ; 230,9 ; 237,0 ; **247,9** ; 259,6 ; 268,0 ; 272,2
OH	Système 3064 Å	$A \rightarrow X$	282,9 et **289,3**
N_2	Second système positif	$C \rightarrow B$	297,7 ; 311,7 ; 315,9 ; 328,5 ; **<u>337,1</u>** ; 353,7 ; 357,7 ; 367,2 ; 371,1 ; 375,5 ; 380,5 ; 394,3 ; 399,8 ; 405,9 ; 409,5 ; 414,2 ; 420,1 ; 426,9 ; 434,4 ; 441,7 ; 449,0 ; 464,9 ; 472,4 ; 481,5 ; 491,7
	Premier système positif	$B \rightarrow A$	537,3 ; 547,9 ; 559,2 ; 575,5 ; 580,4 ; 585,4 ; 590,6 ; 595,9 ; 601,4 ; 606,9 ; 612,7 ; 625,3 ; 632,3 ; 639,4 ; 646,9 ; 654,5 ; 662,4 ; 670,5 ; 678,9 ; 687,5 ; 705,9 ; 727,3 ; 738,7 ; 750,4 ; 762,6 ; 775,3 ; 789,6 ; 820,5 ; 836,9 ; 854,2 ; 872,2 ; 891,2 ; 920,4
N_2^+	Premier système négatif	$B \rightarrow X$	**<u>391,4</u>** ; 455,4 ; 514,8 ; 522,8
	Système auroral de Meinel	$A \rightarrow X$	708,1 et 810,5
O	I	$3s \rightarrow 3p$	<u>777,2</u> et **844,6**

* Longueur d'onde suivie par SEO (**gras**) – par caméra ICCD filtrée (<u>soulignée</u>)

I.A.2. Espèces d'intérêt pour le traitement de semences

L'air est sélectionné dans le procédé pour sa composition en espèces réactives. Ces dernières sont capables de modifier les propriétés physico-chimiques (nutriments et perméabilité membranaire) ou biologiques des cellules végétales et fongiques (*cf.* Chapitre 1 – IV.A). Les espèces chargées peuvent intervenir au sein des cellules pour réguler la circulation de l'eau et des sels minéraux dans les vacuoles, nutriments essentiels au développement des plantes. Les espèces oxygénées et azotées sont initialement présentes dans les cellules et responsables de différents processus naturels. Le dioxygène est nécessaire à la respiration cellulaire, le diazote peut être source de nutriments. Les espèces réactives (RONS) formées dans le plasma peuvent accélérer des mécanismes initialement présents dans les cellules, menant à un développement plus performant (*e.g.* NO favorable à la germination des semences) ou, en excès, à la mort cellulaire (*e.g.* OH et O utiles à la décontamination fongique des graines). A basse pression, les émissions UV sont également importantes dans les processus d'inactivation des micro-organismes, agissant en synergie avec les RONS [136].

Plusieurs espèces caractéristiques d'un plasma d'air à basse pression sont identifiées à partir des spectres : N_2, N_2^+, NO, OH et O. Chacune présente un intérêt dans le traitement de semences, *e.g.* NO favorise la levée de dormance menant à la germination, OH protège l'embryon contre les contaminants extérieurs. L'influence des conditions opératoires sur leurs intensités ainsi que leurs mécanismes de production et de perte sont abordés dans les sections suivantes.

I.B. Régimes de fonctionnement de la décharge

Une modification de la distribution du plasma en fonction de la puissance injectée est observée dans les mesures d'imagerie ICCD. Celle-ci se retrouve dans l'évolution des densités électroniques et dans la répartition des espèces émissives du plasma. Cette variation suggère la présence de deux modes de fonctionnement de la décharge évoluant avec la puissance injectée.

I.B.1. Distribution de la décharge

Une partie des émissions du plasma appartient au domaine spectral du visible. En première approche, il est possible d'observer la progression du plasma à l'œil nu en fonction des paramètres d'entrée. Par exemple, lorsque la puissance MW injectée augmente (> 100 W), la structure du plasma est modifiée. Ce constat est matérialisé par l'acquisition d'images intégrées dans le temps avec la caméra ICCD, sans filtre. La décharge est visualisée dans un plan de 20×20 cm² contenant la source MW-ECR et la grille porte-substrat (Y = 15 cm) à partir du dispositif présenté dans le Chapitre 2 – I.B.1.c.i.

Les images reconstituées de la distribution du plasma aux différentes puissances MW sont exposées sur la Figure I-2. Les profils des intensités sommées sur l'axe X à différentes puissances (*cf.* Equation 18) sont représentés dans la Figure I-3.

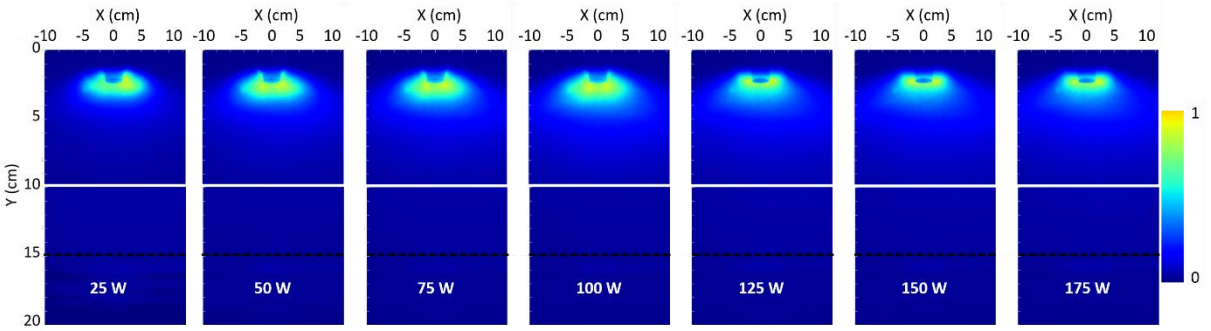


Figure I-2 Distribution du plasma dans le réacteur en fonction de la puissance visualisée par caméra ICCD en absence de filtre – grille à Y = 15 cm (pointillés)

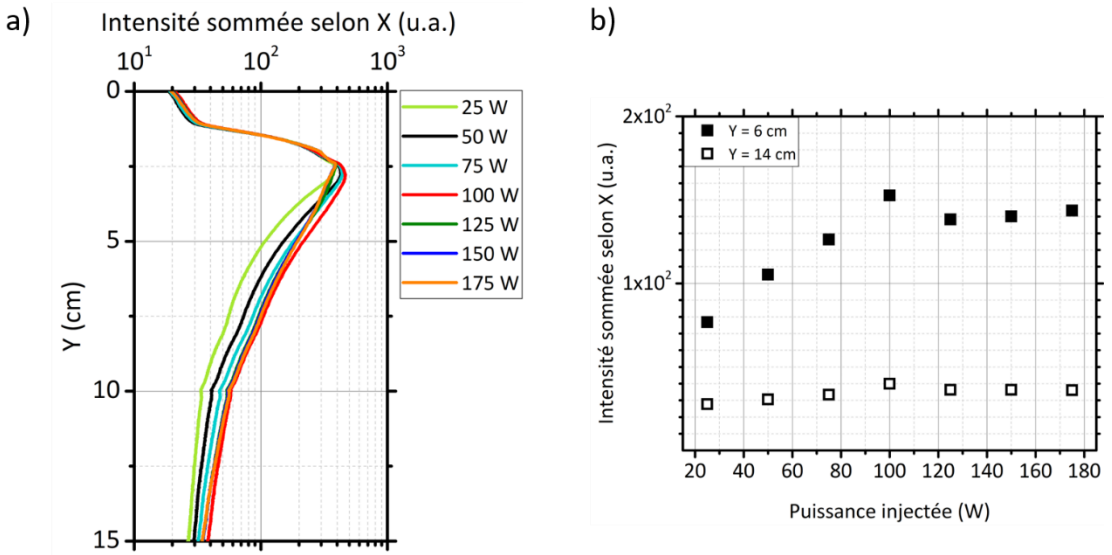


Figure I-3 Intensités sommées selon l'axe X : a) Profils le long de l'axe Y à différentes puissances b) Evolution en fonction de la puissance à Y = 6 cm et à Y = 14 cm

Observations en fonction des positions X et Y – Le plasma est généré au niveau de la tête de l'applicateur MW-ECR. Sa distribution dans l'enceinte suit une symétrie de révolution autour de l'axe de la source (X = 0 cm, Y). Quelle que soit la puissance injectée, le profil d'intensité (*cf.* Figure I-3a) montre qu'elle est atténuée en s'éloignant de la zone de génération du plasma suivant la direction Y.

Observations en fonction de la puissance – En variant la puissance de 25 à 175 W, deux modes de distribution apparaissent (*cf.* Figure I-2). Les valeurs des intensités sommées extraites à proximité de la source (Y = 6 cm) ou de la grille (Y = 14 cm) sont reportées sur la Figure I-3b.

- Tant que la puissance est inférieure à 100 W, le plasma est distribué de manière isotrope depuis la source MW-ECR. Une augmentation de la puissance entraîne une expansion du plasma en volume. Les intensités sommées augmentent linéairement.
- Au-delà de 100 W, le plasma se resserre en anneau autour de l'applicateur MW-ECR. Il n'y a plus d'expansion du plasma en volume lorsque la puissance augmente. Les intensités sommées présentent des valeurs constantes.

Ce phénomène est marqué à proximité de la source (Y = 6 cm). Il est atténué à Y = 14 cm, dans une zone éloignée de la génération du plasma. Au-delà de 15 cm, les mesures de caméra sont perturbées par le support de la grille porte-substrat, elles ne sont pas exploitables.

Deux modes de distribution du plasma semblent alors se dessiner en fonction de la puissance injectée. A basse puissance (≤ 100 W), le plasma se développe de manière isotrope alors qu'il prend une forme toroïdale, concentrée autour de l'applicateur, à haute puissance. Une analyse des constituants est effectuée pour définir les propriétés des régimes de décharge.

I.B.2. Distribution de la densité électronique

Dans le Chapitre 1 – III.B.1.a.i, le comportement conducteur/isolant du plasma vis-à-vis de l'onde micro-onde incidente est explicité à partir de sa permittivité diélectrique relative. Cette grandeur dépend des propriétés fondamentales du plasma, des températures et des densités électroniques, qui évoluent avec les conditions opératoires de pression et de puissance injectée dans la décharge. L'étude en fonction de la pression est réalisée dans le Chapitre 2 – I.A.2.a.ii à partir du rendement en puissance transmise de l'onde au plasma et corrélée aux résultats de simulation d'Hagelaar *et al*. [96]. La basse pression favorise ce transfert en présentant peu de collisions et une faible densité électronique. Le plasma se propage en volume dans l'enceinte tant que la densité électronique est inférieure à la densité critique n_c (*cf*. Equation 4). Sinon, l'onde est évanescente et est atténuée en surface vers les bords du réacteur, là où la densité électronique est plus faible. La densité critique correspondant à une excitation de l'onde à une fréquence de 2,45±0,05 GHz est de $7{,}5.10^{16}\pm0{,}4.10^{16}$ m^{-3}.

La répartition de la densité électronique dans l'enceinte est déterminée en fonction de la puissance par les mesures locales de sonde de Langmuir. Elles sont confrontées aux mesures d'interférométrie micro-ondes (IMO), intégrées sur un volume de plasma.

I.B.2.a. Densités électroniques locales par sonde de Langmuir

Une étude de l'évolution de la densité électronique en fonction de la puissance est réalisée à partir des mesures de sonde de Langmuir. Le dispositif et les méthodes d'extraction des paramètres plasmas sont présentés dans le Chapitre 2 – I.C.1. Cette technique permet de cartographier la répartition de la densité électronique dans la décharge (*cf*. Figure I-4) par interpolation numérique des mesures réalisées aux positions : X = 0 ; 5 ; 10 ; 15 cm et Y = 6 ; 14 ; 22 cm. La Figure I-5 met en avant l'influence des paramètres d'entrée (position X, position Y et puissance injectée) sur les valeurs des densités électroniques.

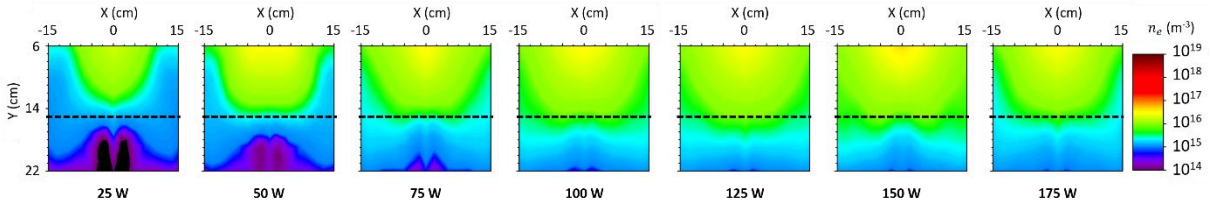


Figure I-4 Cartographies des densités électroniques en fonction de la puissance déterminées à partir des mesures de sonde de Langmuir – grille à Y = 15 cm (pointillés)

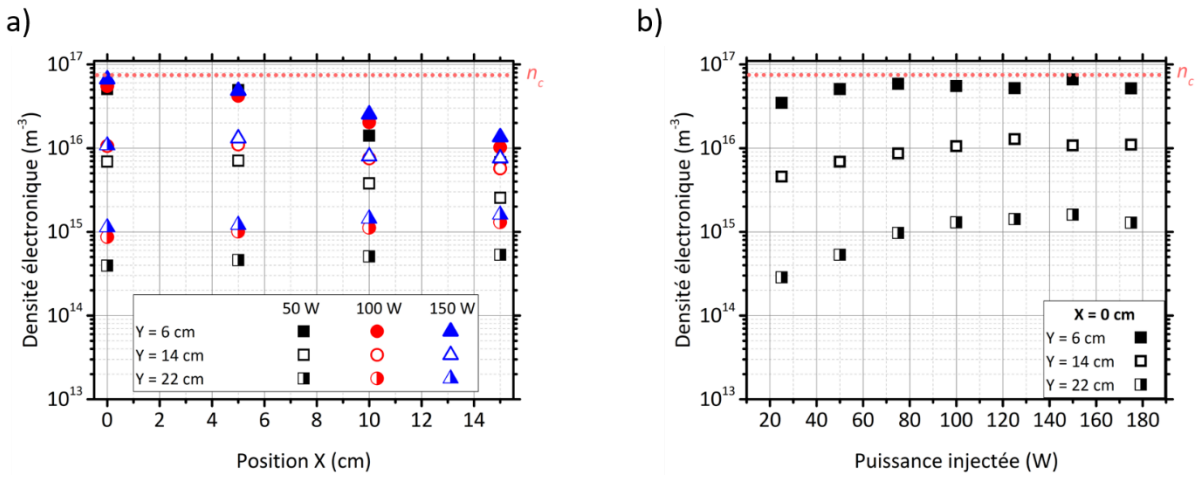


Figure I-5 Densités électroniques locales déterminées à partir des mesures de sonde de Langmuir : a) En fonction de la position X à différentes puissances b) En fonction de la puissance injectée aux trois positions Y, en X = 0 cm – Densité critique n_c = 7,5.10^{16} m^{-3} (pointillés)

Observations en fonction des positions X et Y – Dans la gamme des positions étudiées, la densité électronique n'excède pas la densité critique, l'onde se propage dans le plasma. La décroissance suivant l'axe X est significative en Y = 6 cm avec un ordre de grandeur d'écart (*cf.* Figure I-5a). En s'éloignant suivant l'axe Y, la densité électronique décroît et devient constante par rapport à l'axe X. Deux ordres de grandeurs peuvent être atteints entre les positions de mesure les plus extrêmes (*cf.* Figure I-5b). A proximité de la source (Y = 6 cm), quelles que soient la position X et la puissance, la densité électronique est supérieure à 10^{16} m^{-3}, proche de la densité critique. A la position la plus éloignée de la source (Y = 22 cm), elle est inférieure à 2.10^{15} m^{-3}.

Observations en fonction de la puissance – La répartition de la densité électronique moyenne dans le réacteur évolue avec la puissance injectée.

- En dessous de 100 W, elle est concentrée dans l'axe de la source. Elle augmente avec la puissance et se propage dans le volume du réacteur dans les directions X et Y.
- A partir de 100 W, des densités de 10^{16} m^{-3} sont détectées au niveau de la grille (Y = 15 cm) sur l'ensemble des positions X. La densité n'évolue plus en volume dans l'enceinte.

La répartition de la densité électronique semble atteindre une saturation en augmentant la puissance à partir de 100 W. Cette progression est cohérente avec une diminution du rendement en puissance transmise dans cette gamme de puissances (*cf.* Chapitre 2 – Figure I-6 : 100% à 50 W et 95% à 150 W). Les études du rendement en puissance transmise réalisées dans les Chapitre 1 –III.B.1.a.ii (théorique) et Chapitre 2 – I.A.2.a.ii (expérimentale) montrent un transfert efficace de la puissance vers les électrons du plasma (> 95%) à une pression de 1 Pa et pour des densités électroniques inférieures à la densité critique. La puissance moyenne absorbée par les électrons est alors la composante dominante de la puissance injectée dans la décharge. Elle est proportionnelle à la densité électronique à une pression fixée (*cf.* Equation 7 : chauffage ohmique et Equation 9 : chauffage à la RCE). Celle-ci est alors proportionnelle à la puissance injectée tant que le chauffage des électrons par RCE est garanti. Elle peut être corrélée aux travaux expérimentaux de Baële *et al.* [215]. Ils évaluent la transmission de l'onde dans un plasma d'argon par un applicateur micro-ondes dipolaire à travers l'évolution de

l'impédance et de la permittivité relative du plasma en fonction de la puissance. En variant la puissance de 0 à 150 W pour des pressions de 0,6 et 6 Pa, ils constatent une transition de mode du plasma d'une propagation dans le volume du plasma à faible puissance (< 50 W), tant que la permittivité est positive, vers un mode évanescent en surface à haute puissance. L'efficacité du transfert de puissance diminue à partir de 50 W.

La densité électronique dans un gaz atomique (argon) est généralement supérieure à celle dans un gaz moléculaire (air). Une densité plus élevée peut expliquer que la puissance limite de transition entre les modes de propagation de l'onde dans le plasma soit inférieure dans le cas d'un plasma d'argon. La saturation de la densité électronique peut également s'expliquer par les phénomènes de recombinaison électron-ion qui augmentent avec la densité.

I.B.2.b. Densités électroniques intégrées sur le volume de plasma par IMO

Les mesures de densité électronique par sonde de Langmuir (SL) sont validées par des mesures d'interférométrie micro-ondes (IMO). Cette méthode repose sur le déphasage d'une onde à ultra haute fréquence se propageant dans le plasma. Elle permet de déterminer une valeur de densité électronique intégrée sur le volume de plasma traversé par l'onde. Le réacteur ne présentant pas deux hublots en vis-à-vis, la source est installée dans un autre réacteur pour réaliser les acquisitions (*cf.* Chapitre 2 – I.C.2.c). La progression de la densité en fonction de la puissance est déterminée sur une longueur de plasma de 20 cm à la position Y = 6 cm. Une caractérisation spatiale est effectuée chaque centimètre suivant l'axe X (X = 0 – 5 cm). Les mesures sont réalisées en triplicata pour avoir un écart-type, la densité moyenne est calculée et ses variations présentées.

La Figure I-6 présente les valeurs de densités électroniques obtenues par IMO. L'évolution des densités à différentes puissances en fonction de la position X est représentée sur la Figure I-6a. L'étude en puissance est comparée avec les valeurs déterminées par la sonde de Langmuir à partir de la Figure I-6b à la position X = 0 cm.

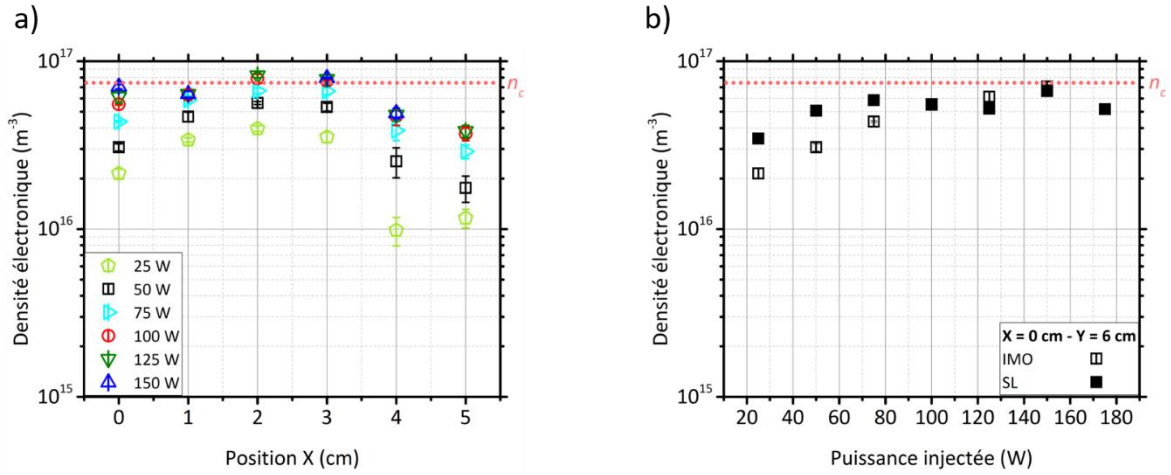


Figure I-6 Densités électroniques à Y = 6 cm : a) Intégrées sur une ligne de visée de longueur 20 cm par IMO b) Comparaison des mesures de SL et IMO à X = 0 cm en fonction de la puissance

Observations en fonction de la position X – La densité électronique est comprise entre 10^{16} m^{-3} et 10^{17} m^{-3} quelle que soit la position X (*cf.* Figure I-6a). Elle est maximale autour de la tête de l'applicateur MW-ECR (X = 2 cm) ; elle décroît au centre et en s'éloignant de l'axe.

Observations en fonction de la puissance – Ce phénomène s'atténue en augmentant la puissance.

- Si la puissance est inférieure à 100 W, la variation de la densité électronique suivant X avec un maximum à 2 cm est observée.
- A partir de 100 W, la densité électronique sature avec la puissance. Sa répartition selon X est différente, elle est maximale jusqu'à X = 3 cm puis décroît (*cf.* Figure I-6b).

Les dernières observations sont concordantes avec les mesures réalisées par la sonde de Langmuir pour lesquelles une décroissance de la densité est constatée entre les mesures à X = 0 et 5 cm. Des résultats similaires par comparaison entre différentes théories de sonde de Langmuir et une mesure par IMO sont proposés par Chen *et al.* [216], [217]. La répétabilité des mesures par IMO est estimée par un triplicata, l'incertitude est faible (< 10%). L'incertitude de la densité électronique par sonde de Langmuir n'est pas évaluée de manière statistique. Elle est estimée par comparaison entre les méthodes de détermination de la densité présentées dans le Chapitre 2 – I.C.1.c.i à 20% tant que la mesure n'est pas perturbée (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1.b.ii).

Les densités en bordure de l'applicateur n'ont pas été mesurées compte-tenu de la configuration des réacteurs utilisés (distance minimale accessible : Y = 6 cm). Les simulations réalisées par Hagelaar *et al.* [96] permettent d'estimer la densité d'un plasma d'argon à 1 Pa au niveau de la tête d'un applicateur dipolaire MW-ECR. Les densités électroniques les plus élevées se trouvent dans la zone de RCE étant donné que les électrons y sont confinés par le champ magnétique. Celle-ci se situe sur les derniers centimètres de l'applicateur et présente des densités jusqu'à cinq fois supérieures à la densité critique lorsque la puissance augmente (50 W). La densité de puissance absorbée par les électrons suit le profil de la densité électronique, limitée par la densité critique. Par analogie, dans le plasma d'air généré par la source MW-ECR, une densité supérieure à la densité critique est supposée dans la zone de RCE aux puissances supérieures à 100 W. Cela conduit l'onde à se propager en surface du plasma pour gagner les zones de plus faible densité. Ce constat explique la saturation de la densité électronique selon la position Y à partir de 100 W.

Les mesures de sonde de Langmuir et d'IMO présentent des résultats concordants dans l'évaluation de la densité électronique. Ces méthodes l'estiment entre 10^{14} et 10^{17} m^{-3} sur l'ensemble des conditions opératoires (positions X et Y, puissance). Elle diminue en s'éloignant de sa zone de génération (région RCE autour de l'applicateur MW-ECR) et sature à partir de 100 W, puissance limite de propagation de l'onde dans le volume de plasma. Ces observations sont corrélées dans la suite aux émissions des espèces du plasma dont le mécanisme principal de formation est l'impact électronique.

I.B.3. Répartition des espèces dans l'enceinte

La répartition des espèces excitées et ionisées émises par le plasma est évaluée en fonction de la puissance pour compléter les analyses sur les densités électroniques.

I.B.3.a. Distribution des espèces par SEO

Un spectre tel que celui présenté dans la Figure I-1 est acquis puis calibré en intensité relative pour chaque condition de puissance et aux positions Y habituelles (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.b.ii). Les résultats pour OH et ceux à Y = 22 cm ne sont pas exploités compte-tenu du

faible rapport signal sur bruit dans les acquisitions. Les maxima des intensités des émissions ont été tracés pour plusieurs transitions en fonction de la puissance injectée. Leur évolution étant similaire, une seule transition par espèce est présentée (*cf.* Tableau I-1 valeurs en gras). La transition sélectionnée est soit la plus intense (*e.g.* N_2^+ à 391,4 nm), soit la plus isolée spectralement des autres (*e.g.* O à 844 nm), soit d'intérêt pour le traitement des graines.

Les effets de la puissance et de la position sur les intensités émises sont présentés sur la Figure I-7.

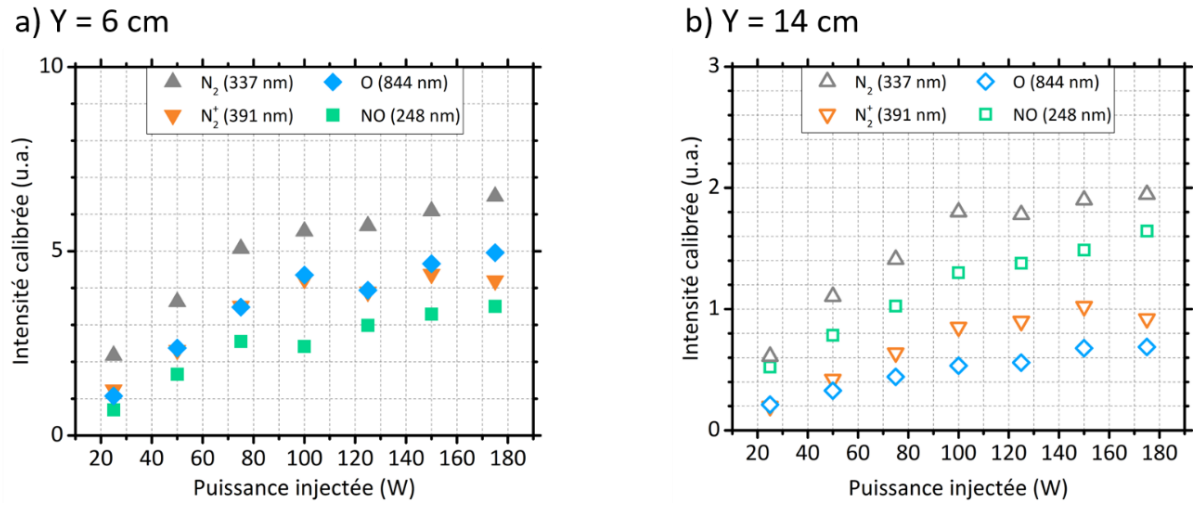


Figure I-7 Intensité des émissions du plasma en fonction de la puissance en X = 0 cm et : a) Y = 6 cm b) Y = 14 cm

Observations en fonction de la position Y – Les intensités des émissions diminuent en s'éloignant de la source MW-ECR. Conformément à un régime de diffusion du plasma, les espèces ne sont pas créées dans le volume du réacteur.

Observations en fonction de la puissance – Toutes les espèces sélectionnées présentent une augmentation linéaire en deux phases avec la puissance.

- En dessous de 100 W, l'augmentation de l'intensité maximale, caractéristique de la densité de l'espèce, est fortement influencée par la puissance.
- A partir de 100 W, un palier apparaît avec une augmentation plus réduite de l'intensité.

Les intensités triplent entre 25 et 100 W puis sont constantes entre 100 et 175 W en Y = 6 cm pour l'ensemble des espèces (*cf.* Figure I-7a). Les spectres étant calibrés en intensité relative et non absolue, les intensités des émissions de deux espèces différentes ne sont pas comparables.

I.B.3.b. Répartition des espèces par caméra ICCD filtrée

L'ajout de filtres interférentiels à la caméra ICCD permet de cibler une longueur d'onde d'émission caractéristique des éléments du plasma. La répartition de cette espèce est cartographiée dans l'enceinte selon le même protocole que dans le Chapitre 3 – I.B.1. Le temps d'intégration est varié en fonction du filtre utilisé et un coefficient d'ajustement est apporté pour comparer les distributions spatiales des émissions (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.c.ii).

La Figure I-8 représente la distribution du plasma sans filtre et avec les filtres associés aux émissions : N_2(337,1 nm) ; N_2^+(391,4 nm) et O(777,2 nm) à 50, 100 et 150 W. Les hublots du réacteur ne transmettant pas les UV en dessous de 300 nm, l'émission de NO(247,9 nm) n'est pas suivie. Les images filtrées sont normalisées par rapport à l'intensité maximale déterminée sans filtre. Seule l'image acquise en position ICCD1 est affichée, celle au niveau de la grille (ICCD2) n'est pas assez contrastée.

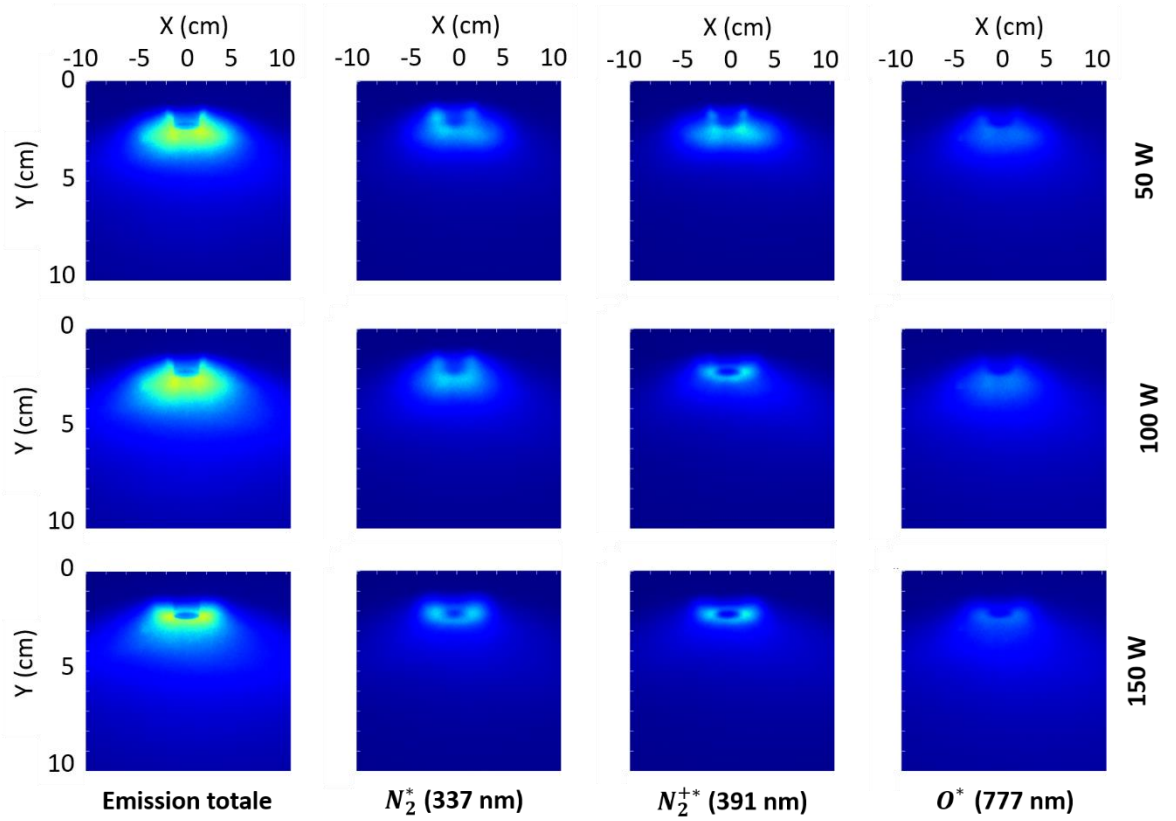


Figure I-8 Distribution du plasma et de ses espèces caractéristiques (N_2, N_2^+ et O) mesurée par caméra ICCD filtrée à 50, 100 et 150 W

Observations en fonction des positions X et Y – La Figure I-8 permet de décrire la répartition des espèces dans la décharge. Les espèces azotées se concentrent autour de la tête de l'applicateur MW-ECR, leurs distributions s'étalent suivant X. L'oxygène est réparti de manière plus homogène avec une diffusion isotrope. Le maximum d'intensité est atteint en sortie de l'applicateur et le profil présente une large distribution dans la direction Y.

Les trois puissances sélectionnées sont représentatives des régimes observés par la caméra ICCD sans filtre (*cf.* Figure I-2). Le maximum d'intensité correspond à la zone d'ionisation privilégiée. L'image de l'émission totale, acquise sans filtre, peut-être reconstituée à partir des images des espèces ciblées. Elle est schématisée sur la Figure I-9 à 50 et à 150 W.

- L'oxygène se diffuse dans l'enceinte quelle que soit la puissance, son intensité d'émission et sa densité de présence augmentent avec la puissance.

- Les espèces azotées se répartissent différemment selon la puissance et cela se répercute sur la distribution totale de la décharge.
  - A 50 W, ces espèces diffusent en volume avec une configuration similaire à celle de l'oxygène (*cf.* Figure I-9a). Le plasma semble être dans un régime diffusif jusqu'à 100 W.
  - A 150 W, elles se concentrent autour de la tête de l'applicateur (*cf.* Figure I-9b). Elles s'étalent selon l'axe X avec une augmentation de la puissance à partir de 100 W.

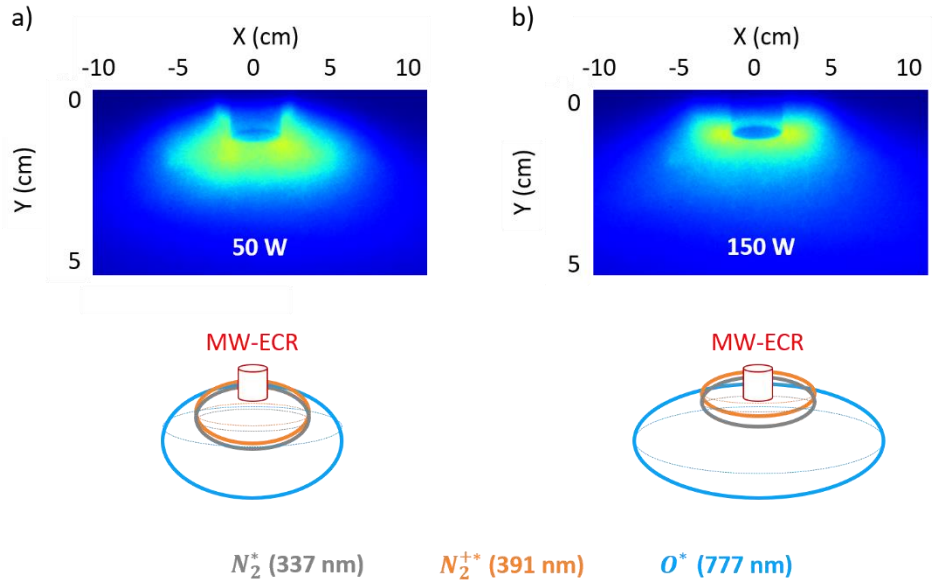


Figure I-9 Illustration simplifiée de la reconstitution de l'image de la décharge à partir de la répartition des espèces ciblées : a) 50 W b) 150 W

Les profils des intensités sommées pour chaque filtre sont normalisés par rapport à la valeur maximale. Cette représentation permet de mieux appréhender la distribution de l'espèce dans le réacteur aux différents régimes de puissance déterminés sans filtre (*cf.* Figure I-10).

Observations en fonction de la puissance – La répartition de chaque espèce est analysée par les profils des intensités sommées à trois puissances dans la Figure I-10.

- A une puissance de 50 W, les intensités sommées des émissions sont maximales à Y = 2,5±0,5 cm (*cf.* Figure I-10a). L'élargissement du profil suivant la direction Y est observé dans chaque cas mais plus important pour l'oxygène que pour les espèces azotées.
- A une puissance de 150 W, les maxima des intensités sommées des espèces azotées se concentrent autour de l'applicateur MW-ECR (*cf.* Figure I-10c), le profil devient plus étroit. L'oxygène conserve la position du maximum d'intensité relevée à basse puissance et son étalement augmente, il se diffuse dans le réacteur proportionnellement à la puissance.
- Une puissance de 100 W semble constituer une zone de transition pour les espèces azotées (*cf.* Figure I-10b). La distribution de N_2 est toujours celle observée à 50 W tandis que celle de N_2^+ a basculé dans le régime correspondant à 150 W.

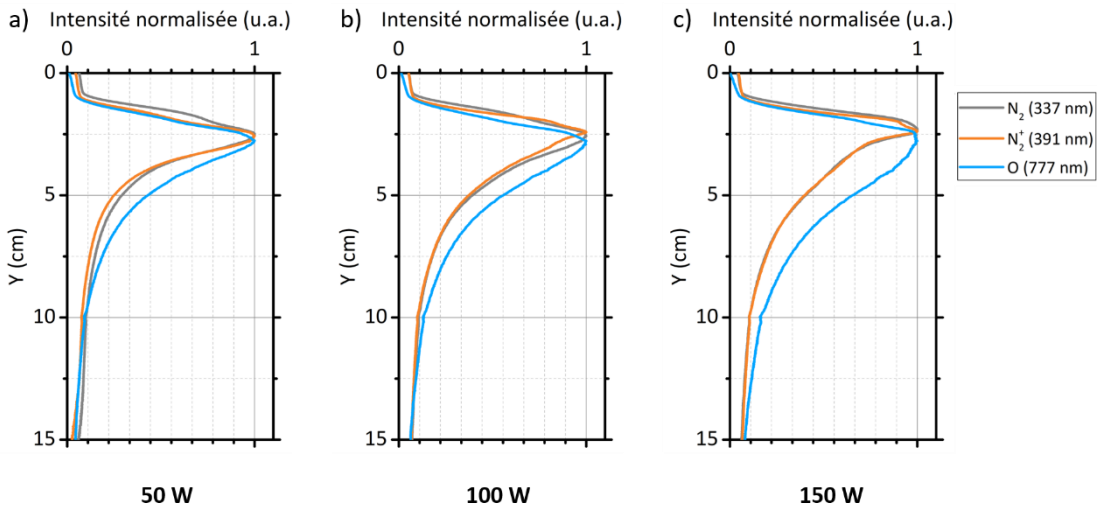


Figure I-10 Profils des intensités des émissions sommées suivant X mesurées par caméra ICCD filtrée et normalisées à : a) 50 W b) 100 W c) 150 W

Cette répartition est expliquée par les mécanismes de production et de perte de ces espèces dans le Chapitre 3 – II.A.3. Les espèces azotées sont produites principalement par impact électronique depuis l'état fondamental (ε > 11,1 eV [218]) tandis que l'oxygène radicalaire peut provenir d'un attachement électronique dissociatif (ε > 4,2 eV [219]). En s'éloignant de la région de RCE, les électrons chauds ne sont plus suffisants pour maintenir les espèces azotées tandis que les électrons froids permettent un maintien de la production de l'oxygène radicalaire. Ce dernier point favorise également la production de NO (*cf.* Chapitre 3 – I.D.2.c).

L'évolution des intensités sommées selon X, extraites aux positions Y = 6 et 14 cm, sont représentées sur la Figure I-11 en complément pour montrer leur progression en fonction de la puissance. Une fois de plus, une saturation apparaît à partir de 100 W pour l'ensemble des espèces à Y = 6 cm (*cf.* Figure I-11a). Le phénomène est moins évident sur la Figure I-11b à Y = 14 cm où l'écart est réduit entre les intensités d'une puissance à l'autre.

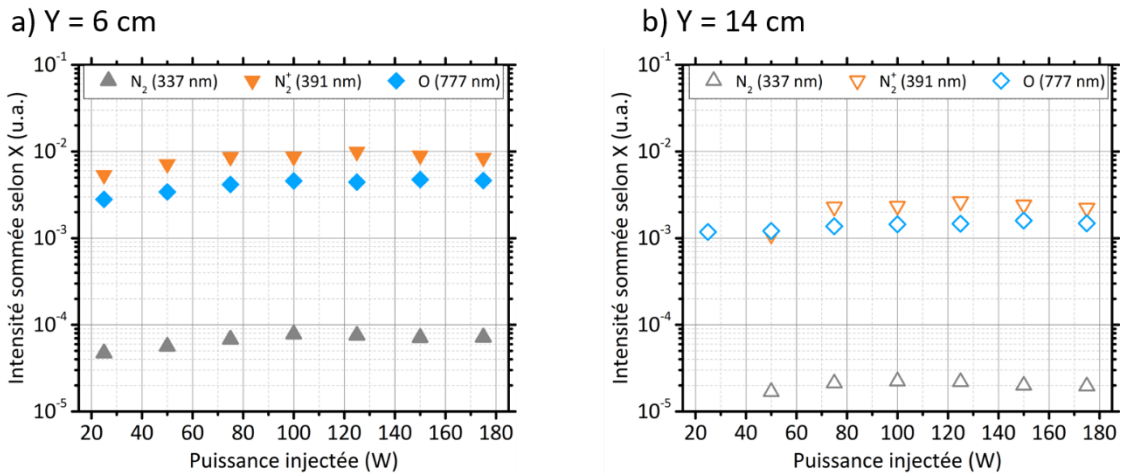


Figure I-11 Intensités sommées suivant X des émissions caractéristiques du plasma en fonction de la puissance : a) Y = 6 cm b) Y = 14 cm

La répartition des espèces émissives du plasma d'air est décrite par des mesures de spectroscopie d'émission optique et de caméra ICCD filtrée. En augmentant la puissance, les émissions de l'azote sont localisées aux abords de l'applicateur MW-ECR tandis que l'oxygène se diffuse dans le volume de l'enceinte.

I.B.4. Conditions opératoires en fonction des régimes de décharge

Les différents diagnostics électriques et optiques mis en œuvre ont permis de cartographier la répartition des espèces réactives du plasma dans le réacteur. La source MW-ECR est conçue pour favoriser la création des espèces chargées au niveau de la tête de l'applicateur, dans la zone de résonance cyclo-électronique (RCE). C'est une région importante d'ionisation étant donné que les électrons, énergétiques, y sont confinés par le champ magnétique. Les espèces neutres du gaz interagissent avec les électrons principalement dans cette zone pour générer le plasma. A mesure que les espèces sont produites dans la région de RCE, elles se diffusent dans le réacteur. Les intensités des émissions et les densités des espèces neutres et chargées sont cartographiées pour cette étude paramétrique. La diminution systématique des valeurs déterminées entre les mesures à Y = 6 cm et à Y = 14 cm confirme ce phénomène de diffusion, caractéristique d'un plasma généré à la RCE à basse pression.

L'augmentation de la puissance injectée entraîne une modification dans le comportement macroscopique du plasma et dans l'évolution de ses paramètres fondamentaux. Deux régimes de fonctionnement de la décharge se distinguent, séparés par une valeur limite autour de 100 W.

Régime à basse puissance (< 100 W) – Une distribution isotrope du plasma dans le volume du réacteur est observée. L'imagerie ICCD non filtrée montre une intensité maximale, représentative de la zone d'ionisation principale du plasma située à l'extrémité de la tête de l'applicateur. L'augmentation de la puissance s'accompagne d'une expansion en volume des densités électroniques et des émissions ciblées par l'imagerie ICCD filtrée. Les intensités des émissions, à l'image des densités des espèces émissives du plasma d'air, augmentent linéairement avec la puissance. Leur proportion est au moins doublée entre 25 et 100 W.

Une puissance de 50 W est sélectionnée comme modèle de ce régime pour évaluer ses effets dans le traitement des semences paysannes de poivron disposées sur la grille. Les paramètres du plasma correspondant à cette condition sont présentés dans le Tableau I-2.

Régime à haute puissance (> 100 W) – Le plasma a tendance à se développer en direction des parois du réacteur. La zone d'intensité maximale observée par imagerie est située autour de la tête de l'applicateur, de forme toroïdale. Ce phénomène est expliqué par une densité électronique élevée, proche ou excédant la densité critique [96]. L'onde est atténuée à son entrée dans le volume du plasma, elle se propage en surface, dans les régions où la densité électronique est plus faible. Dans le volume du réacteur, une augmentation de la puissance ne signifie plus une augmentation des densités des espèces du plasma. La plupart continuent d'augmenter mais la pente de progression est moindre (*e.g.* NO observé par SEO ou O par imagerie ICCD filtrée).

Une puissance de 150 W est sélectionnée comme représentative de ce régime pour évaluer ses effets dans les traitements des semences paysannes de poivron et de graines de blé pour la panification. Les caractéristiques physiques sont répertoriées dans le Tableau I-2.

Régime intermédiaire (≃ 100 W) – Dès lors que la densité électronique dépasse la densité critique, l'onde ne se propage plus en volume [96]. Ce phénomène limite l'ionisation de N_2 par impact électronique direct (> 18,7 eV) ou par étapes (> 11,1 eV). L'onde se propage vers les parois, permettant l'excitation et l'ionisation des espèces azotées en surface. La distribution de ces espèces montre cette transition d'un chauffage volumique vers un chauffage surfacique à une puissance injectée de 100 W. Les espèces ionisées N_2^+ présentent une répartition vers la surface, proche de la zone de RCE tandis que les espèces neutres N_2 sont observées dans le volume.

Les graines de poivron sont également traitées à 100 W pour vérifier l'effet d'une puissance intermédiaire entre les deux régimes principaux sur le développement des semences de poivron (*cf.* Tableau I-2).

Le Tableau I-2 répertorie les propriétés du plasma dans les différents régimes de décharge définis par la puissance injectée à la position Y = 14 cm correspondant à l'emplacement où les graines sont traitées. L'évolution des espèces émissives correspond au rapport des intensités des émissions de SEO normalisées par l'émission maximale à 100 W. Le gain est moindre entre 100 et 150 W qu'entre 50 et 100 W. Ce phénomène est cohérent avec une variation dans la distribution de la densité électronique depuis la zone de RCE en fonction du régime de puissance. Les espèces azotées, principalement formées par collisions électroniques (*cf.* Chapitre 3 – 0), se diffusent moins en volume dans le réacteur et réduisent la contribution totale à la position Y = 14 cm.

Tableau I-2

Conditions plasma de traitement des semences dans chaque régime de décharge – grille à Y = 14 cm

Y = 14 cm	**50 W**	**100 W**	**150 W**
Propagation de l'onde	En volume	Transitoire	En surface
Densité électronique moyenne	$6{,}9.10^{15}$ m^{-3}	$1{,}1.10^{16}$ m^{-3}	$1{,}1.10^{16}$ m^{-3}
Evolution des espèces émissives	0,6	1	1,1

La distribution du plasma à basse pression dans l'enceinte, est mise en évidence par l'intensité lumineuse reçue par la caméra. Celle-ci est maximale dans la zone de génération du plasma, autour de l'applicateur MW-ECR et est atténuée en s'en éloignant. Deux régimes de développement de la décharge se dessinent en fonction de la puissance injectée. A basse puissance, le régime est caractérisé par une diffusion des espèces en volume dans le réacteur compte-tenu des faibles densités électroniques. La variation de puissance entraîne une modulation de la densité des espèces. Une fois la densité critique approchée, autour de 100 W, les densités n'augmentent plus, un régime de propagation en surface se met en place.

Cette répartition présente un intérêt pour le traitement de semences. A basse puissance, la contribution des espèces chargées, des UV et des RONS dans le traitement des graines permet d'améliorer la germination des semences de poivron sans perturber l'intégrité cellulaire. A haute puissance, les proportions de ces espèces augmentent. Ce phénomène entraîne alors un stress oxydatif dans certaines conditions et une production de NO dans l'UV plus favorable à l'inactivation des moisissures et à la dégradation des mycotoxines.

I.C. Températures caractéristiques du plasma

Lorsque la puissance MW excède 100 W, son augmentation ne se traduit plus par une augmentation de la production des espèces excitées, réactives et ionisées. Celle-ci peut alors intervenir dans la répartition énergétique des niveaux, assimilés à des réservoirs d'énergie disponible, pouvant agir sur la surface des substrats. Les plasmas étudiés sont hors équilibre thermodynamique, leurs espèces présentent des températures différentes ($T_e \gg T_i \simeq T_g \simeq T_{amb}$). Au sein des molécules qui constituent le plasma, des températures translationnelle, vibrationnelle et rotationnelle sont également distinguées. Elles sont représentatives du peuplement des niveaux par collisions et mettent en avant les processus dominants dans la formation des espèces.

I.C.1. Température dans l'enceinte

En parallèle de la distribution globale du plasma observée par l'imagerie ICCD non filtrée, l'évolution de la température du plasma en fonction des régimes de fonctionnement en puissance est évaluée par des capteurs électriques (*cf.* Chapitre 2 – I.D).

Les acquisitions réalisées par le thermocouple en présence de la source MW-ECR sont répertoriées dans le Tableau I-3 en fonction de la position Y et de la puissance injectée.

Tableau I-3

Températures mesurées par le thermocouple pour différentes conditions de puissance MW aux trois hauteurs Y accessibles dans l'enceinte

Position Y dans l'enceinte	**Puissance MW injectée**		
	50 W	**100 W**	**150 W**
6 cm	104°C	204°C	191°C
14 cm	39°C	72°C	77°C
22 cm	20°C	37°C	40°C

Observations en fonction de la position Y – Dans chaque cas, s'éloigner de la zone de génération du plasma entraîne une diminution de la température mesurée par le thermocouple. Les échanges énergétiques en surface du capteur provenant majoritairement des espèces du plasma, leur influence sur la température diminue. Piejak *et al*. [200] mesurent la température en surface d'un thermocouple dans un plasma d'argon radiofréquence à couplage inductif pour des pressions de 0,13 Pa et 13 Pa et des densités électroniques entre 10^{10} et 10^{11} cm^{-3}. Le capteur est positionné à Y = 5 cm de la zone de génération du plasma et la puissance RF est de 100 W. A 13 Pa, ils obtiennent des températures en surface de l'ordre de 300°C et évaluent la température du gaz à 111°C en tenant compte des différentes contributions.

Observations en fonction de la puissance – A faible puissance, la température en surface du capteur est fortement influencée par la puissance du générateur. Entre 50 et 100 W, la variation de température est importante, quasiment doublée quelle que soit la hauteur de mesure, elle devient constante entre 100 et 150 W. Il semble que la température atteigne un palier pour lequel la puissance injectée dans la décharge n'influe plus sur l'équilibre thermique au niveau du capteur.

Ces observations sont cohérentes avec les régimes de décharge établis jusque-là et avec les mesures de température électronique qui suivent. Le thermocouple est considéré par le plasma comme un objet extérieur à un potentiel flottant au même titre que la sonde de Langmuir. La chute de potentiel dans leurs gaines est comparable pour un même flux reçu à leur surface. Leur variation de température en fonction de la puissance est du même ordre.

La température mesurée par le thermocouple reflète les interactions entre les espèces du plasma et la surface du thermocouple. Ces échanges semblent augmenter avec la puissance injectée jusqu'à 100 W, puis se stabiliser étant donné l'évolution de la température du capteur. Dans le cas d'un plasma hors équilibre, la contribution des espèces chargées et des neutres peut être importante. Les mesures suivantes permettent d'en discriminer certaines.

I.C.2. Température électronique

La température des électrons définit leur énergie cinétique et donc les collisions électron-neutre possibles pour générer de nouvelles espèces dans la décharge. Lorsque le plasma est composé de deux populations d'électrons, celles-ci se répartissent en deux distributions maxwelliennes, caractérisées par leur température moyenne (*cf.* Annexe I).

- La population des électrons chauds est responsable de la génération du plasma. Ces électrons à haute énergie ($\varepsilon > \varepsilon_{ion}$), confinés par le champ magnétique, engendrent un taux d'ionisation élevé des particules du gaz. Leur température est maximale dans la zone de RCE et atténuée lors de leur diffusion dans le volume du plasma.
- Les électrons froids gouvernent le maintien du plasma dans le volume. Ils régulent la densité électronique moyenne. Leur faible présence dans la zone de RCE, région de forte densité, devrait garantir une température électronique faible et constante dans tout le plasma.

Les températures électroniques moyennes de ces deux populations sont estimées en appliquant la méthode 3 présentée dans le Chapitre 2 – I.C.1.c.i pour traiter les mesures de sonde de Langmuir. Les résultats obtenus dans l'axe de la source (X = 0 cm) sont présentés dans la Figure I-12 pour décrire leurs évolutions en fonction de la position et de la puissance.

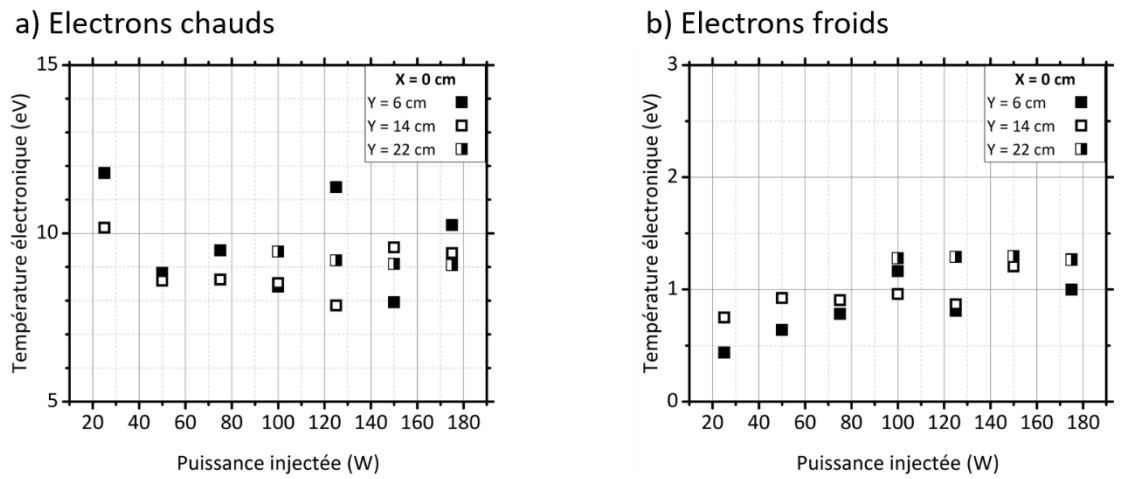


Figure I-12 Températures des électrons en fonction de la puissance : a) Electrons chauds b) Electrons froids

La température des électrons chauds est en moyenne de 9±3 eV (*cf.* Figure I-12a).

Observations en fonction des positions et de la puissance – Les fluctuations sont importantes entre les conditions mais sans raison physique. Elles sont causées par la méthode de détermination de la température. Celle-ci est estimée comme étant l'inverse de la pente du logarithme du courant électronique par rapport à la tension de la sonde pour des valeurs supérieures au potentiel flottant. L'incertitude sur le calcul dépend de la séparation du courant ionique de celui de la sonde et du potentiel flottant de la sonde. Cette valeur moyenne et constante est observée dans des plasmas d'argon générés par cette même source (*Aura-wave* – SAIREM SAS) par Boivin *et al*. [220]. Les températures sont estimées dans la zone de génération et dans la région de diffusion en volume par spectroscopie d'émission optique (TRG-OES [221]) et corrélées à des mesures de sonde de Langmuir. Dans leur étude, ils montrent que les électrons chauds possèdent une température maximale dans la zone de RCE (18 eV) qui décroît le long de l'axe de la source jusqu'à atteindre une valeur constante (8 eV) quelques centimètres après.

La température moyenne des électrons froids varie avec les conditions (*cf.* Figure I-12b).

Observations en fonction des positions X et Y – Elle augmente en s'éloignant de la région de génération du plasma. A 25 W, la température des électrons froids est de 0,4 eV à Y = 6 cm contre 0,7 eV à Y = 14 cm. Ce phénomène est observé dans les travaux de Lagarde *et al*. [222] pour un plasma d'argon généré par des sources dipolaires distribuées à la RCE. Les paramètres du plasma sont déterminés à partir de mesures de sonde de Langmuir et de spectroscopie d'émission optique (rapports de raies ioniques et atomiques) dans la zone de génération du plasma et en volume lors de sa diffusion. Dans la région de RCE, l'augmentation de la densité résulte principalement de l'accélération des électrons chauds. En dehors, les électrons chauds ne gagnent plus d'énergie, ils se diffusent et réalisent des collisions avec des molécules neutres ou avec les électrons froids. Ces collisions élastiques entre électrons peuvent contribuer à une légère hausse de la température des électrons froids en s'éloignant dans le volume du plasma.

La température est constante par rapport à la position X, les résultats ne sont pas représentés mais sont cohérents avec ceux obtenus pour des plasmas d'argon [223] et de diazote [224] générés à la RCE. En s'éloignant de cette zone, la température radiale devient constante.

Observations en fonction de la puissance – Elle est influencée par le régime de décharge établi.

- En dessous de 100 W, la température électronique augmente linéairement avec la puissance tout comme la densité électronique. Le phénomène est plus marqué à Y = 6 cm où la température des électrons froids triple entre 25 et 100 W. Il n'est pas montré à Y = 22 cm compte-tenu des faibles valeurs de densité électronique moyenne (< 10^{15} m^{-3} *cf.* Figure I-5b).
- A partir de 100 W, ces températures varient peu avec la puissance. Le régime de propagation de l'onde en surface est atteint, la densité électronique moyenne est constante.

Ces remarques sont corrélées à la différence entre le potentiel plasma et le potentiel flottant déterminée à partir des mesures de sonde de Langmuir (*cf.* Figure I-13).

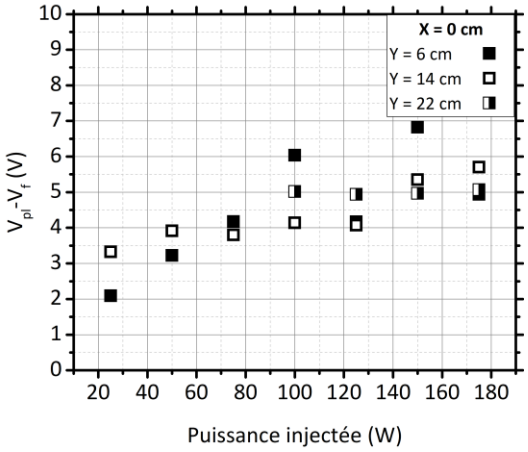


Figure I-13 Différence entre les potentiels plasma V_{pl} et flottant V_f en fonction de la puissance

Cet écart est caractéristique de l'énergie cinétique moyenne des électrons collectés par la sonde qui dépend de la température électronique moyenne.

- Le potentiel plasma est constant par rapport à la puissance, il décroît en s'éloignant de la zone de RCE (*cf.* Tableau I-4). Au-delà de 100 W, la variabilité dans la mesure à ces positions Y augmente compte-tenu du régime de propagation en surface de l'onde.
- Le potentiel flottant dépend de la puissance injectée. A basse puissance, la densité électronique est réduite, un faible potentiel flottant suffit à égaliser les courants des électrons et des ions à la surface de la sonde. Cela engendre une différence avec le potentiel plasma croissante en fonction de la puissance. A partir de 100 W, la densité électronique est élevée et constante, la différence des potentiels et donc la température électronique le sont aussi.

Tableau I-4

Potentiel plasma moyen obtenu en X = 0 cm

	Potentiel plasma (V)
Y = 6 cm	10
Y = 14 cm	8,5
Y = 22 cm	7

La température électronique est déterminée à partir des mesures de sonde de Langmuir. Les électrons chauds possèdent une température moyenne de 9 eV aux positions Y sélectionnées. Les électrons froids suivent les variations des régimes de la décharge en fonction de la puissance avec une température moyenne de l'ordre de 1 eV.

I.C.3. Température vibrationnelle

Les collisions électron-neutre dans un plasma consistent majoritairement en un transfert d'énergie des électrons vers les états vibrationnels de la molécule impactée. Un niveau vibrationnel peut également être peuplé par des interactions entre les états métastables (quenching ou pooling). Il stocke l'énergie (la température vibrationnelle) avant sa relaxation vers des états inférieurs par des réactions entre états vibrationnels ou de vibration-translation.

Les températures vibrationnelles sont estimées avec une incertitude de ±100 K par comparaison entre les acquisitions de SEO entre 365 et 385 nm (émissions du $N_2(C-B)$) et des simulations dans le logiciel SPECAIR (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.c.ii). Elles sont représentées en fonction de la puissance et de la position Y sur la Figure I-14. Les valeurs sont inférieures (de 1,5 à 2 fois) à la température électronique confirmant le caractère hors équilibre du plasma.

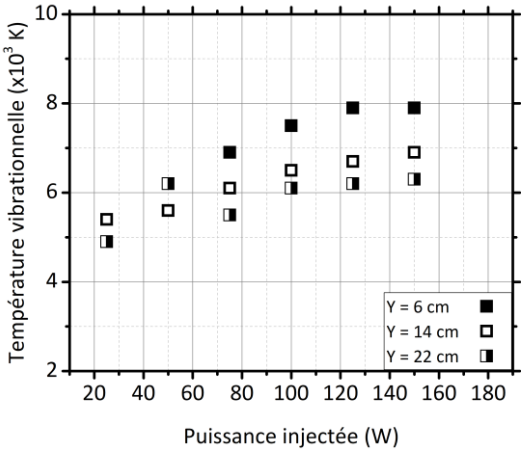


Figure I-14 Températures vibrationnelles en fonction de la puissance aux trois positions Y – incertitude ±100 K

Observations en fonction de la position Y – La température vibrationnelle moyenne décroît en s'éloignant de la zone de génération du plasma. Elle est réduite de 11% entre deux positions Y successives. A 150 W, elle vaut 7900 K en Y = 6 cm, 6900 K en Y = 14 cm et 6300 K en Y = 22 cm. Ces valeurs sont cohérentes avec celles obtenues par Brockhaus *et al.* [225] pour un réseau d'antennes micro-ondes par guide d'onde à 2,45 GHz (7100 K pour une température électronique de 1 à 3 eV). Les températures vibrationnelles des travaux de Britun *et al.* [226] sur un plasma RF-ICP d'azote et d'argon-azote sont estimées entre 5000 et 6000 K pour une proportion d'azote entre 50 et 100% à 13,3 Pa. Les collisions mettant en jeu les niveaux vibrationnels interviennent dans le volume du plasma et non dans la zone de création des espèces chargées, ils se relaxent en avançant dans le plasma et leur population est moins énergétique. Les écarts de la température vibrationnelle augmentent en s'éloignant de la zone de génération du plasma. Ceci constitue un argument supplémentaire de la perte d'énergie des niveaux vibrationnels et des électrons chauds, issus de la zone de RCE, à mesure qu'ils se diffusent dans le plasma.

Observations en fonction de la puissance – La température vibrationnelle augmente avec la puissance en respectant une pente différente dans les deux régimes de plasma.

- A basse puissance (< 100 W), l'augmentation est importante et corrélée à celle des densités électroniques. Les collisions électrons chauds-niveaux vibrationnels sont favorisées.
- A haute puissance (> 100 W), elle est quasi-constante, à l'image des densités électroniques.

Ces évolutions sont cohérentes avec celles observées par Passow *et al*. [227] pour un plasma d'air généré en cavité résonante. Des températures de 3700 à 7300 K sont obtenues en variant la puissance de 0 à 300 W. Une augmentation importante est constatée à basse puissance, puis un palier s'installe à partir de 100 W.

La température vibrationnelle varie entre 5000 et 8000 K sur l'ensemble des conditions données. Le peuplement des niveaux vibrationnels dépendant en grande partie des collisions électron-neutre, la température vibrationnelle évolue avec la densité électronique.

I.C.4. Température rotationnelle

La température rotationnelle du niveau $N_2(C)$ équivaut à celle du gaz (*cf*. Chapitre 2 – I.B.1.c.ii). Son évolution en fonction de la puissance et de la position Y est évaluée à partir des mesures de SEO entre 365 et 385 nm. La température rotationnelle est estimée par ajustement dans le logiciel SPECAIR et présentée sur la Figure I-15. L'estimation est compliquée compte-tenu de la résolution spectrale du spectromètre (0,3 nm). Les incertitudes sur les valeurs sont de ±50 K. Cela suggère une température constante du gaz dans l'ensemble des conditions opératoires, équivalente à 400 K (rappel : 0°C ≡ 273 K). Britun *et al*. [226] ont également obtenu des valeurs du même ordre de grandeur pour les températures rotationnelles (entre 350 et 500 K) et celles-ci s'avèrent indépendantes de la proportion d'azote dans la décharge. L'écart à l'équilibre thermodynamique du plasma est validé par la différence significative entre la température électronique (≃1 eV) et la température du gaz, associée à la température rotationnelle (≃0,03 eV). En se basant sur les tendances des valeurs moyennes, une élévation de la température rotationnelle est supposée en approchant de la zone de génération du plasma. Les valeurs à Y = 6 cm étant en moyenne de 450 K et celles à Y = 22 cm, de 350 K.

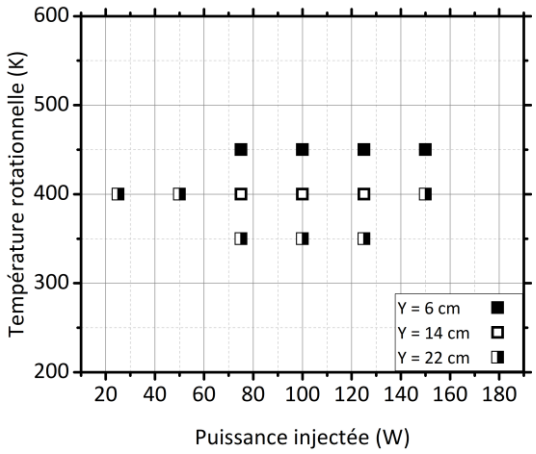


Figure I-15 Températures rotationnelles en fonction de la puissance aux trois positions Y – incertitude ±50 K

La température du gaz est évaluée entre 70 et 170°C à partir de l'estimation de la température rotationnelle du niveau $N_2(C)$. L'incertitude sur la mesure ne permet pas de distinguer une variation inférieure à 50 K de celle-ci en fonction des paramètres étudiés.

I.C.5. Températures caractéristiques en fonction des régimes de décharge

Les températures caractéristiques du plasma mettent en évidence son caractère hors équilibre thermodynamique. La température des électrons est supérieure à celle des niveaux vibrationnels et rotationnels de la molécule d'azote. Leur évolution en fonction de la puissance concorde avec les densités de présence des espèces. Elles sont répertoriées dans le Tableau I-5 aux conditions utilisées pour le traitement des semences.

Tableau I-5

Températures caractéristiques aux conditions de traitement des semences – grille à Y = 14 cm

Y = 14 cm	**50 W**	**100 W**	**150 W**
Température du thermocouple	39°C	72°C	77°C
Température électronique (froids)	0,9 eV	1,0 eV	1,2 eV
Température électronique (chauds)	8,6 eV	8,5 eV	9,6 eV
Température vibrationnelle (±100 K)	5600 K	6500 K	6900 K
Température rotationnelle (±50 K)	400 K	400 K	400 K

Dans la gamme de puissances inférieures à 100 W, son augmentation entraîne une augmentation de la température en surface du thermocouple. Celle-ci concorde avec une augmentation des températures caractéristiques des échanges énergétiques entre les particules du plasma. L'accord n'est pas équivalent en termes de proportion, tous les termes sources n'étant pas envisagés dans cette étude. Au-delà de 100 W, l'apport de puissance ne se traduit plus par une augmentation de la température en surface du thermocouple, ni par la production des espèces étudiées. Les processus de formation et de pertes possibles sont discutés dans la section suivante pour appréhender cette problématique.

I.D. Formation et perte des espèces dans la décharge

Les plasmas hors équilibre générés par des micro-ondes à basse pression dans le diazote [228] et dans des mélanges diazote – dioxygène [188], [229]–[231] ont été modélisés depuis la fin des années 1990. Les modèles répertorient le maximum de réactions pour être corrélés aux expériences. Ils permettent de prédire les mécanismes qui régissent l'entretien de la décharge.

Pour un gaz moléculaire tel que l'air, à une basse pression de 1 Pa, les collisions électron-neutre dominent la cinétique réactionnelle. Les ions sont principalement produits par impact électronique direct et perdus par diffusion vers les parois ou par recombinaison dans le volume du plasma. D'autres réactions peuvent intervenir dans les processus de création et de perte des espèces du plasma tels que l'ionisation par étapes et la recombinaison radiative [85].

I.D.1. Fonction de distribution en énergie des électrons

Une collision entre particules est probable si elles sont présentes en grande quantité dans un milieu et si elles atteignent une énergie cinétique suffisamment élevée pour interagir. Les fonctions de distribution en énergie des particules (*cf.* Annexe I) font le lien entre ces grandeurs.

Les interactions mettant en jeu les électrons dans un plasma dépendent alors de leur densité de population et de leur température. La forme générale de la FDEE est modélisée par différentes théories caractéristiques du régime de fonctionnement du plasma. Si les électrons sont à l'équilibre thermodynamique avec le gaz, leur FDEE suit une distribution de Boltzmann. L'allure de la FDEE permet ensuite de prédire les réactions possibles à une énergie donnée.

Dans un plasma d'air, un impact électronique peut être responsable de :

- l'excitation du diazote et du dioxygène sur une large gamme énergétique (de 0,6 à 13,0 eV) ;
- leur dissociation, à 5,2 eV (O_2) et 9,8 eV (N_2) ;
- leur première ionisation, à 12,1 eV (O_2) et à 15,6 eV (N_2) et celle des atomes à 13,6 eV (O) et à 14,5 eV (N).

Les FDEE obtenues par la relation de Druyvesteyn (*cf.* Equation 25) à partir des courbes de sonde de Langmuir sont constituées de deux fonctions maxwelliennes caractéristiques des distributions des électrons froids et chauds du plasma. A haute énergie, elle est difficilement définie, le calcul faisant intervenir la dérivée seconde du courant électronique (*cf.* Figure I-16).

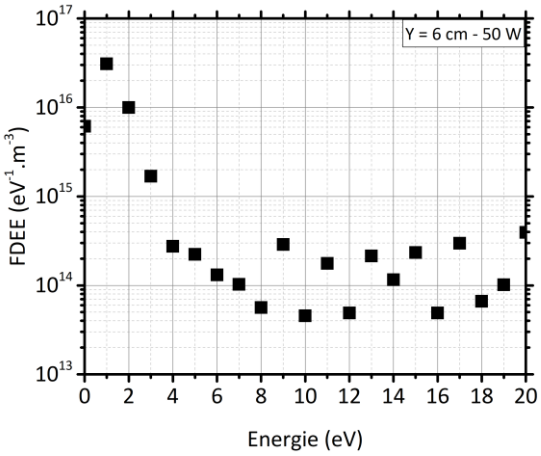


Figure I-16 FDEE expérimentale déterminée à 50 W aux positions X = 0 cm et Y = 6 cm à partir de la formule de Druyvesteyn

La Figure I-17 est une représentation d'une fonction de probabilité en énergie des électrons (FPEE) établie avec le plasma MW pour une température en électrons froids moyenne de 1 eV et une température moyenne en électrons chauds de 9 eV. La FPEE correspond au rapport de la FDEE par la densité électronique. Son allure est caractéristique de l'ensemble des FPEE obtenues pour ce plasma dans les conditions opératoires explorées. Elle est de nature bi-maxwellienne, regroupant les distributions des électrons froids et des électrons chauds. Les électrons froids sont concentrés à basse énergie, privilégiant l'excitation des niveaux vibrationnels de l'état fondamental de N_2 par impact électronique direct. Les sections efficaces

de collision par excitation électronique, répertoriées par les travaux de Phelps et Pitchford [68] présentent un maximum d'excitation autour de 3 eV relatif à la séparation entre l'action des électrons froids et chauds du plasma sur la FPEE. Au-delà, les électrons chauds gouvernent les réactions de dissociation et d'ionisation des molécules par impact électronique.

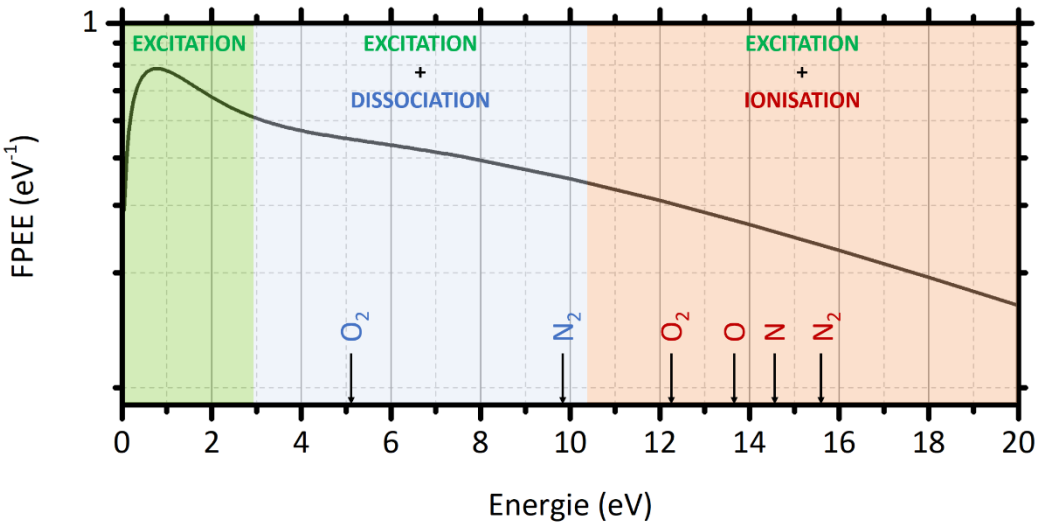


Figure I-17 FPEE dans le plasma MW pour une température moyenne des électrons froids de 1 eV et celle des électrons chauds de 9 eV –répartition des mécanismes relatifs aux collisions avec les électrons

Les électrons sont créés dans la zone d'ionisation, à la RCE et se diffusent dans le volume du plasma à basse puissance, et en surface à haute puissance. L'évolution de la FDEE permet de mettre en avant l'effet de la puissance sur la distribution des électrons étant donné que la puissance conditionne leurs densités et leurs températures. Ces phénomènes sont abordés sur les Figure I-18 et Figure I-19 à partir des FPEE obtenues par la somme de deux distributions de Maxwell (*cf.* Annexe I) dont les températures électroniques sont celles des électrons froids et chauds déterminées par la méthode 3 (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1.c.i) aux conditions opératoires : position X = 0 cm, positions Y et puissances.

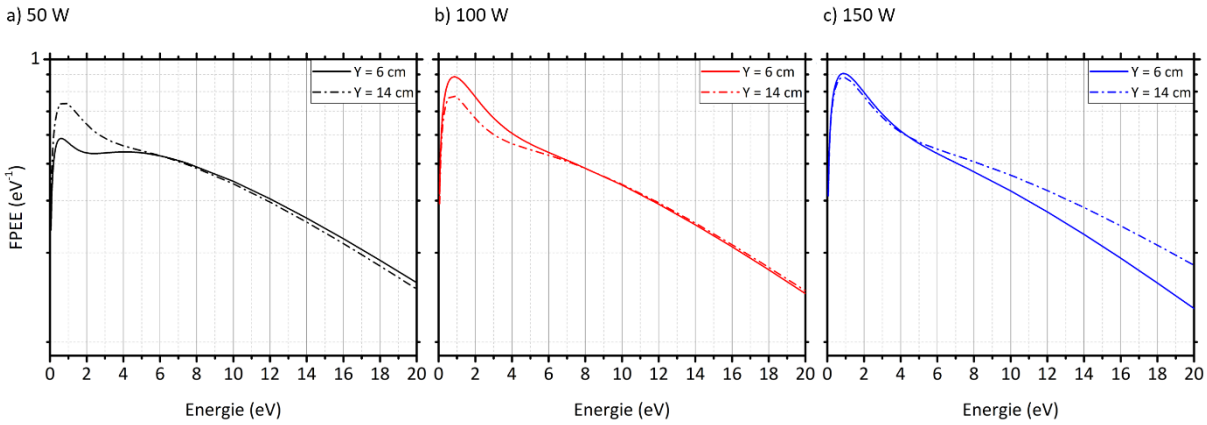


Figure I-18 FPEE aux positions Y = 6 et 14 cm à X = 0 cm et à : a) 50 W b) 100 W c) 150 W

Les observations sur les FPEE sont séparées autour de 6 eV entre les parties à basse énergie, correspondant aux électrons froids et à haute énergie pour les électrons chauds.

Observations en fonction de la position Y – Les FPEE évoluent différemment en fonction des régimes de développement de la décharge.

- A basse puissance, le plasma est gouverné par une distribution volumique de ses espèces. Les électrons chauds sont générés dans la zone de RCE et réalisent des collisions en se diffusant dans le volume de plasma. La partie à haute énergie de la FPEE est alors plus élevée à Y = 6 cm qu'à Y = 14 cm (*cf.* Figure I-18a). A l'inverse, les électrons froids gagnent de l'énergie à mesure qu'ils entrent en collision avec les électrons chauds, leur densité de population est alors plus importante à Y = 14 cm qu'à Y = 6 cm.
- La Figure I-18b présente l'évolution de la FPEE à la puissance intermédiaire de 100 W, les électrons se rapprochent du régime de propagation en surface avec une densité en électrons froids qui augmente à Y = 6 cm au niveau de celle obtenue à 150 W tandis que celle à Y = 14 cm reste cohérente avec celle à 50 W. Le même phénomène est observé pour les électrons chauds.
- A haute puissance (*cf.* Figure I-18c), l'onde est évanescente, elle se propage en surface du plasma et une saturation des différentes espèces est constatée. La densité en électrons froids n'est pas modifiée dans le volume de la décharge. Les électrons chauds, de température constante, atteignent plus facilement la zone à Y = 14 cm qu'à basse puissance.

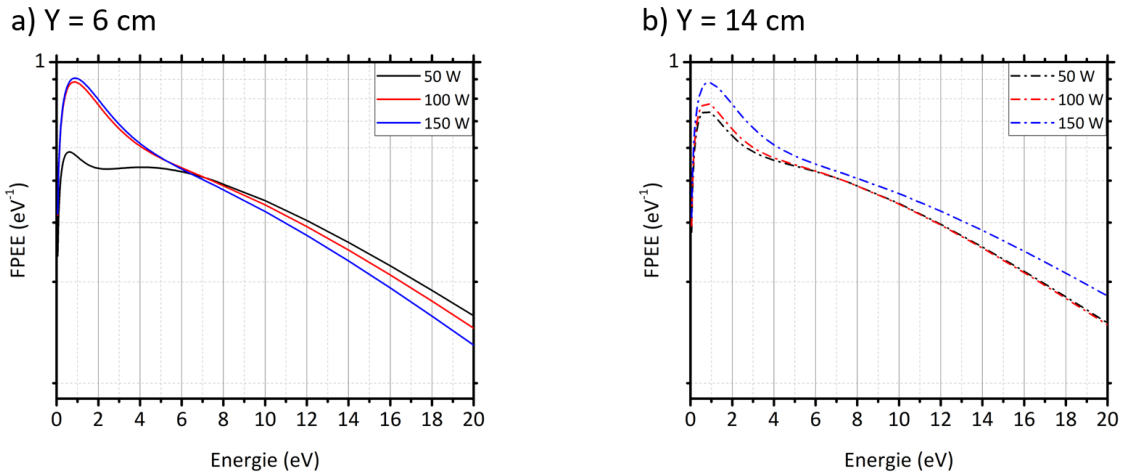


Figure I-19 FPEE aux trois puissances à X = 0 cm et à : a) Y = 6 cm b) Y = 14 cm

Observations en fonction de la puissance – La puissance injectée dans la décharge influe sur la distribution des électrons. Une augmentation de la puissance entraîne une augmentation de la densité en électrons froids et diminue celle en électrons chauds. Le phénomène est perceptible en comparant les FPEE à 50 et à 150 W. Un régime intermédiaire est atteint à 100 W. Il évolue comme la haute puissance se rapprochant de cette région (Y = 6 cm – *cf.* Figure I-19a) et comme à basse puissance en s'éloignant de la zone de RCE (Y = 14 cm – *cf.* Figure I-19b).

Le plateau autour de 6 eV particulièrement marqué à 50 W, à la position Y = 6 cm est caractéristique des collisions super élastiques entre les électrons froids et les premiers niveaux vibrationnels du diazote générant des électrons chauds [232], [233]. Les variations d'évolution de la FDEE inversées entre les basses et hautes énergies sont cohérentes avec cette explication.

La FDEE permet de décrire la répartition des populations en électrons chauds et froids dans le plasma en fonction de la position dans le réacteur et de la puissance injectée. Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux des températures électroniques et mettent en avant les réactions que peuvent faire les électrons.

I.D.2. Processus de création et de perte des espèces réactives

Le spectre des émissions optiques du plasma (*cf.* Figure I-1) met en évidence les transitions énergétiques entre les niveaux vibrationnels de ses éléments. Ces émissions sont caractéristiques des densités de population des niveaux émetteurs. Les réactions mises en jeu dans la formation et la perte des cinq espèces majoritaires du plasma (*cf.* Tableau I-1) d'air sont présentées. Les mesures de densité électronique par sonde de Langmuir sont comparées aux intensités des espèces déterminées par SEO en fonction des paramètres opératoires.

I.D.2.a. Diazote neutre

Le niveau $N_2(C)$ est principalement peuplé par impact électronique direct depuis l'état fondamental $N_2(X)$ par la réaction présentée dans l'Equation 37.

$$N_2(X, v = 0) + e\ (\varepsilon \geq 11{,}1\ eV) \Rightarrow N_2(C, v' = 0) + e \qquad \text{Equation 37}$$

La densité de population du niveau excité est exprimée à partir de la FDEE $f_D(\varepsilon)$. La relation de proportionnalité entre les niveaux $N_2(C)$ et $N_2(X)$ est donnée par l'Equation 38 avec $\sigma_{N_2}(\varepsilon)$, la section efficace de collision par excitation électronique.

$$[N_2(C)] \propto [N_2(X)] \int_{\varepsilon \geq 11{,}1\ eV} f_D(\varepsilon)\ \sigma_{N_2}(\varepsilon)\ d\varepsilon \qquad \text{Equation 38}$$

Les pertes dans le niveau $N_2(C)$ sont essentiellement issues de la désexcitation radiative présentée dans l'Equation 39 dont les photons émis sont détectés par SEO à 337,1 nm.

$$N_2(C, v' = 0) \Rightarrow N_2(B, v'' = 0) + h\nu_{337{,}1} \qquad \text{Equation 39}$$

L'intensité des émissions acquises par SEO est proportionnelle à la densité de peuplement du niveau émetteur [177]. En reprenant l'Equation 38, la densité de population du niveau $N_2(X)$ est proportionnelle à l'intensité d'émission de $N_2(C)$ à 337,1 nm.

Le niveau métastable $N_2(A)$ peut être peuplé par collision entre deux molécules de N_2 dont une à l'état excité $N_2(B)$ et par la désexcitation radiative de l'état $N_2(B)$ du premier

système positif (PSP). Il constitue un réservoir d'énergie accessible pour augmenter la population de l'état $N_2(C)$ avec des collisions neutre-neutre (*cf.* Equation 40).

$$N_2(B) + N_2 \Rightarrow N_2(A) + N_2$$

$$N_2(B) \Rightarrow N_2(A) + h\nu_{PSP} \qquad \text{Equation 40}$$

$$N_2(A) + N_2(A) \Rightarrow N_2(C) + N_2(X, v = 2)$$

La Figure I-20 regroupe les évolutions de la densité électronique et de l'intensité maximale de l'émission à 337,1 nm de $N_2(C)$ normalisées par rapport aux valeurs maximales en fonction de la puissance injectée pour vérifier les hypothèses de peuplement du niveau [234].

- A basse puissance, la progression des intensités maximales d'émission de $N_2(C)$ coïncide avec celle de la densité électronique. L'hypothèse d'une production des niveaux excités par impact électronique direct depuis le niveau fondamental $N_2(X)$ est vérifiée.
- A haute puissance, la densité électronique est plus fluctuante et tend vers une saturation. Ce phénomène ne se retrouve pas dans les intensités des émissions de $N_2(C)$ qui continuent d'augmenter, moins vite, en fonction de la puissance. Dans cette région, les collisions entre les molécules à l'état métastable $N_2(A)$ interviennent probablement pour peupler le niveau $N_2(C)$, la densité électronique saturant. La puissance continue à contribuer à la formation des autres espèces par des collisions entre neutres (ou ion-neutre), notamment avec l'état métastable $N_2(A)$.

L'intensité des émissions à 337,1 nm est à l'image de la densité électronique pour des puissances inférieures à 100 W, au-delà, elle est représentative de la densité du niveau métastable $N_2(A)$.

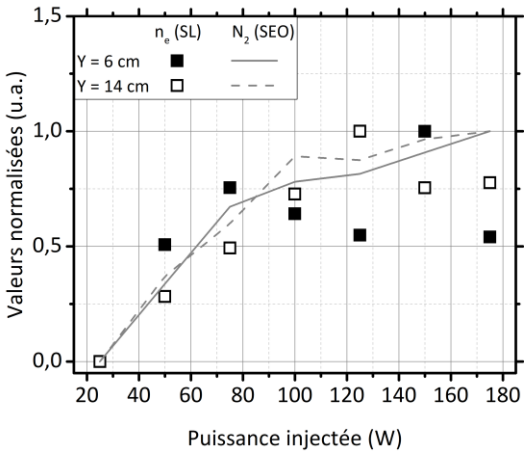


Figure I-20 Comparaison des allures de la densité électronique et des émissions du N_2 à 337,1 nm en fonction de la puissance injectée – valeurs normalisées par rapport à la valeur maximale

I.D.2.b. Diazote ionisé

L'état ionisé $N_2^+(B)$ peut également être formé par impact électronique direct depuis le niveau fondamental de la molécule neutre $N_2(X)$ par la réaction donnée dans l'Equation 41.

$$N_2(X, v = 0) + e\ (\varepsilon \geq 18{,}7\ eV) \Rightarrow N_2^+(B, v' = 0) + 2e \qquad \text{Equation 41}$$

Une énergie seuil importante est nécessaire pour réaliser ce peuplement ($\varepsilon \geq 18{,}7\ eV$). Un processus d'ionisation par impact électronique en deux étapes (*cf.* Equation 42) faisant intervenir l'état ionisé fondamental $N_2^+(X)$ est alors privilégié pour peupler le niveau $N_2^+(B)$.

$$\begin{aligned} N_2(X, v = 0) + e\ (\varepsilon \geq 15{,}5\ eV) &\Rightarrow N_2^+(X, v' = 0) + e \\ N_2^+(X, v' = 0) + e\ (\varepsilon \geq 3{,}2\ eV) &\Rightarrow N_2^+(B, v'' = 0) + e \end{aligned} \qquad \text{Equation 42}$$

Le dépeuplement est réalisé par désexcitation radiative à 391,4 nm vers le niveau ionisé fondamental $N_2^+(X)$ et donné dans l'Equation 43.

$$N_2^+(B, v' = 0) \Rightarrow N_2^+(X, v = 0) + h\nu_{391{,}4} \qquad \text{Equation 43}$$

Par analogie avec la réflexion proposée pour le niveau $N_2(C)$, l'intensité mesurée sur le spectre d'émission optique est proportionnelle à la densité d'ions $N_2^+(B)$. L'Equation 44 montre que cette densité est à l'image de la densité du niveau $N_2^+(X)$.

$$[N_2^+(B)] \propto [N_2^+(X)] \int_{\varepsilon \geq 15{,}5\ eV} f_D(\varepsilon)\ \sigma_{N_2^+}(\varepsilon)\ d\varepsilon \qquad \text{Equation 44}$$

Une comparaison des progressions de la densité électronique et de l'intensité maximale à 391,4 nm en fonction de la puissance est présentée dans la Figure I-21. Elle permet d'évaluer la part du processus d'ionisation par impact électronique dans la formation de l'état $N_2^+(B)$. Ces évolutions sont similaires sur l'ensemble des puissances injectées. L'impact électronique est alors le processus d'ionisation principal peuplant le niveau $N_2^+(B)$.

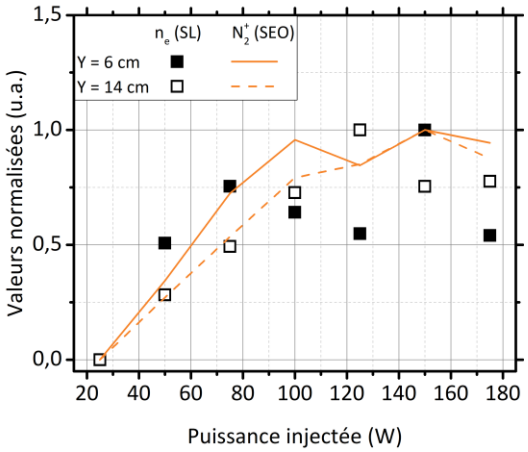


Figure I-21 Comparaison des allures de la densité électronique et des émissions du N_2^+ à 391,4 nm en fonction de la puissance injectée – valeurs normalisées par rapport à la valeur maximale

I.D.2.c. Espèces oxygénées

Les espèces oxygénées détectées par SEO (monoxyde d'azote NO, oxygène atomique O et radical hydroxyle OH) sont liées entre elles par leurs processus de formation et de perte.

Des réactions telles que les dissociations de molécules par impact électronique proposées dans l'Equation 45 peuvent être responsables du peuplement du niveau $O(\,^3P)$ [235].

$$O_2 + e \Rightarrow O + O + e$$
$$NO + e \Rightarrow N + O + e$$

Equation 45

Les molécules de NO sont formées majoritairement par le mécanisme de Zel'dovich dans l'air. Il est présenté dans l'Equation 46. Il n'est pas pour autant responsable du peuplement du niveau $NO(X)$ étant donné la rapidité des réactions inverses [231].

$$N + O_2 \Rightarrow NO(X) + O(\,^3P)$$
$$N_2(X, v > 12) + O(\,^3P) \Rightarrow NO(X) + N$$

Equation 46

L'état métastable $N_2(A)$ présente un intérêt pour la génération du niveau $N_2(C)$. Il peut également contribuer à la formation de molécules de NO, notamment dans la région où la densité électronique est réduite, ne permettant plus la dissociation de O_2 par impact électronique (*cf.* Equation 45) ni par attachement dissociatif (*cf.* Equation 46). Le temps de résidence du gaz dans le réacteur et sa durée de vie, de l'ordre de la seconde [236], permettent au niveau métastable $N_2(A)$ de réagir de manière privilégiée avec l'oxygène atomique et le dioxygène à travers l'Equation 47.

$$N_2(A) + O \Rightarrow NO + N$$
$$N_2(A) + O_2 \Rightarrow N_2(X) + 2O$$

Equation 47

La population du niveau excité $NO(A)$ dépend essentiellement des transferts énergétiques entre une molécule de $NO(X)$ et un métastable $N_2(A)$ [237] comme présenté dans l'Equation 48.

$$NO(X) + N_2(A) \Rightarrow NO(A, v' = 0) + N_2(X) \qquad \text{Equation 48}$$

Sa désexcitation radiative entraîne l'émission d'un photon à 247,9 nm (*cf.* Equation 49).

$$NO(A, v' = 0) \Rightarrow NO(X, v = 2) + h\nu_{247,9} \qquad \text{Equation 49}$$

La Figure I-22 compare l'évolution des intensités des émissions de $NO(A)$ à 247,9 nm et de $O(\,^3P)$ à 844,6 nm avec la densité électronique en fonction de la puissance injectée.

- A basse puissance, les intensités des émissions de $NO(A)$ et $O(\,^3P)$ sont proportionnelles à la densité électronique.
- A haute puissance, elles ne suivent plus les variations de la densité électronique et continuent leur progression, malgré un ralentissement.

Les évolutions des émissions de $NO(A)$ et de $O(\,^3P)$ sont similaires, leurs mécanismes de peuplement sont interdépendants. A basse puissance, les pertes sont négligeables, entraînant une corrélation directe entre les évolutions en puissance de la densité électronique et des espèces O et NO. A haute puissance, les pertes par recombinaison augmentant avec la puissance, la densité électronique sature. Au contraire, l'état métastable $N_2(A)$ augmente et prend le relais dans la production de O et NO, n'induisant pas une saturation de leurs émissions. Ces intensités d'émission sont alors à l'image de la densité électronique à basse puissance et à celle du niveau métastable $N_2(A)$ lorsque la puissance excède 100 W, les phénomènes de recombinaison ne sont plus négligeables.

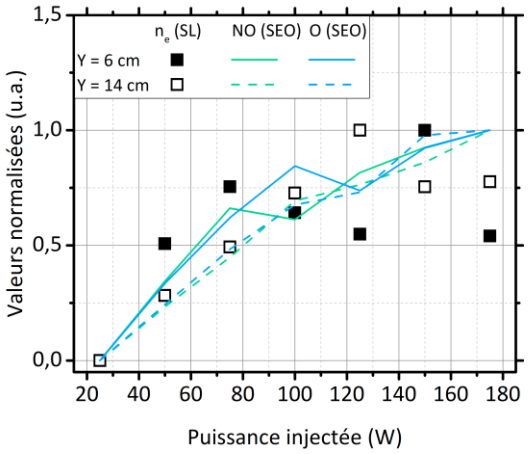


Figure I-22 Comparaison des allures de la densité électronique et des émissions de NO à 247,9 nm et de O à 844,6 nm en fonction de la puissance injectée – valeurs normalisées par rapport à la valeur maximale

Le radical OH, détecté en faible quantité sur les spectres est le témoin de la présence de molécules d'eau dans le réacteur. De rares traces de H_2O peuvent exister malgré la pureté de l'air synthétique 4.0 utilisé (≥ 99,99%) et l'herméticité du réacteur. Le radical OH est alors majoritairement généré par impact dissociatif de H_2O avec un électron ou avec un atome d'oxygène (*cf.* Equation 50).

$$H_2O + e \Rightarrow OH + H + e$$

Equation 50

$$H_2O + O \Rightarrow OH + H$$

Différents processus de formation des espèces peuvent intervenir dans les régimes à basse et à haute puissances. A basse puissance, les collisions par impact électronique sont prépondérantes dans la formation des espèces. A haute puissance, l'état métastable $N_2(A)$ participe également au peuplement des niveaux $N_2(C)$ et $NO(A)$.

I.D.3. Caractéristiques des réactions en fonction des régimes de décharge

Une comparaison entre les intensités des émissions des espèces et la densité électronique aux différentes positions dans le réacteur a permis de mettre en évidence les réactions majoritaires entraînant leur progression dans le plasma.

Les processus de création et de perte des espèces neutres et chargées présentes dans la décharge dépendent de son régime de fonctionnement en puissance. La distribution en énergie des électrons de la décharge favorise la probabilité d'une réaction à une position donnée.

Régime à basse puissance (< 100 W) – La FPEE présente une densité importante à haute énergie, caractéristique d'une forte population en électrons chauds à proximité de la zone de RCE (Y = 6 cm) et une densité en électrons froids plus grande au niveau de la grille (Y = 14 cm). Les intensités des émissions caractéristiques du plasma suivent les variations de la densité électronique moyenne en fonction de la puissance aux deux positions. Les collisions par impact électronique à faible et à haute énergie sont dominantes dans leur processus de formation.

Régime à haute puissance (> 100 W) – La FPEE montre une répartition électronique inverse. Les collisions par impact électronique direct avec des électrons chauds sont toujours responsables du peuplement des niveaux $N_2^+(B)$. L'ionisation par étapes à partir des électrons froids est également envisagée. Les phénomènes de pertes, non négligeables, entraînent une saturation de la densité malgré une augmentation de la puissance injectée. Les états métastables de la molécule d'azote interviennent alors dans le peuplement des niveaux $N_2(C)$ et $NO(A)$. Les collisions entre les espèces neutres contribuent à la production des espèces oxygénées.

II. Caractérisation physique du plasma MW+RF

Deux sources plasma peuvent être utilisées et associées dans ce projet compte-tenu de la configuration du réacteur et des modes de générations de ces sources (fréquences et principes physiques différents) donnant lieu à des plasmas aux propriétés spécifiques.

- Le plasma MW, étudié dans le Chapitre 3 – I, est généré dans la zone de RCE puis diffuse ses espèces dans l'enceinte. Cette distribution est réalisée en volume tant que la puissance MW est inférieure à 100 W. Au-delà, l'onde se répartit en surface à cause des densités électroniques excédant ou avoisinant la densité critique. Ce plasma est alors caractérisé par de fortes densités mais une répartition des espèces réactives peu étendue en volume.
- Le plasma RF est généré et entretenu dans le volume du réacteur entre deux électrodes capacitives. Les électrons gagnent de l'énergie pendant l'expansion et la contraction des gaines à chaque alternance du champ électrique afin d'ioniser le gaz à basse pression. Ce type de plasma est caractérisé par une faible densité électronique mais une grande uniformité dans la répartition des espèces réactives en volume.

Leur couplage a pour objectif une action cumulée des avantages de chaque source, de fortes densités électroniques et une répartition uniforme des espèces dans l'enceinte.

La première étape consiste à réaliser une étude paramétrique en fonction des puissances injectées par les deux sources. Les propriétés fondamentales du plasma et de ses espèces réactives neutres et chargées sont évaluées dans chaque régime de puissance MW défini (50, 100 et 150 W) en faisant varier la puissance RF (0 – 200 W) injectée en complément.

- La contribution de chaque source dans la distribution du plasma et de ses espèces réactives est évaluée à partir d'une caractérisation optique de la décharge.
- La détermination de ses propriétés fondamentales permet de vérifier leurs effets sur l'énergie et le flux des ions.

La deuxième étape permet d'établir l'apport de la source RF-CCP pour le traitement de semences afin d'évaluer les possibilités d'optimisation du procédé plasma.

II.A. Répartition du plasma dans l'enceinte

A une puissance MW fixée, les images acquises par la caméra ICCD donnent un aperçu des modifications du comportement du plasma en présence de la source RF-CCP. Les profils des intensités sommées selon l'axe X mettent en avant la contribution de chaque source dans la répartition du plasma dans le réacteur. L'imagerie ICCD filtrée et les spectres de SEO permettent d'estimer les proportions des espèces réactives à une position Y donnée.

II.A.1. Distribution de la décharge

Une première idée de la contribution de chaque source dans la répartition du plasma est obtenue avec les mesures d'imagerie ICCD (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1). Chaque image est normalisée par rapport à l'intensité maximale en ICCD1 pour la source MW-ECR seule.

La Figure II-1 présente les images reconstituées de la distribution du plasma en fonction des puissances MW, en absence (*RF 0 W*) ou en présence (*RF 100 W*) de puissance RF.

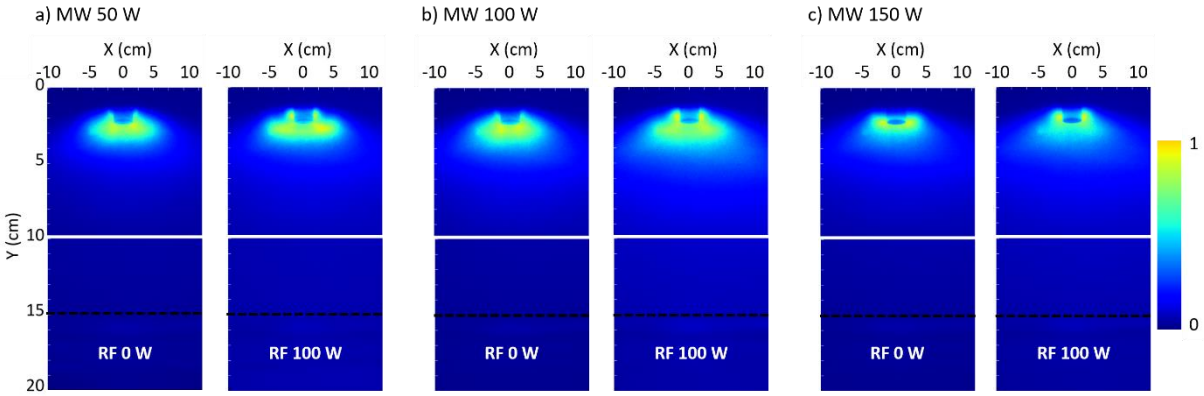


Figure II-1 Comparaison de la distribution du plasma en présence de la source MW-ECR seule et en ajoutant 100 W de puissance RF – grille à Y = 15 cm (pointillés) : a) MW 50 W b) MW 100 W c) MW 150 W

Les variations des profils des intensités sommées aux positions Y = 6 cm et Y = 14 cm sont présentées sur la Figure II-2 en fonction des paramètres expérimentaux. Une augmentation de la puissance RF entraîne une augmentation de l'intensité lumineuse pour chaque position Y, notamment pour les puissances maximales des sources.

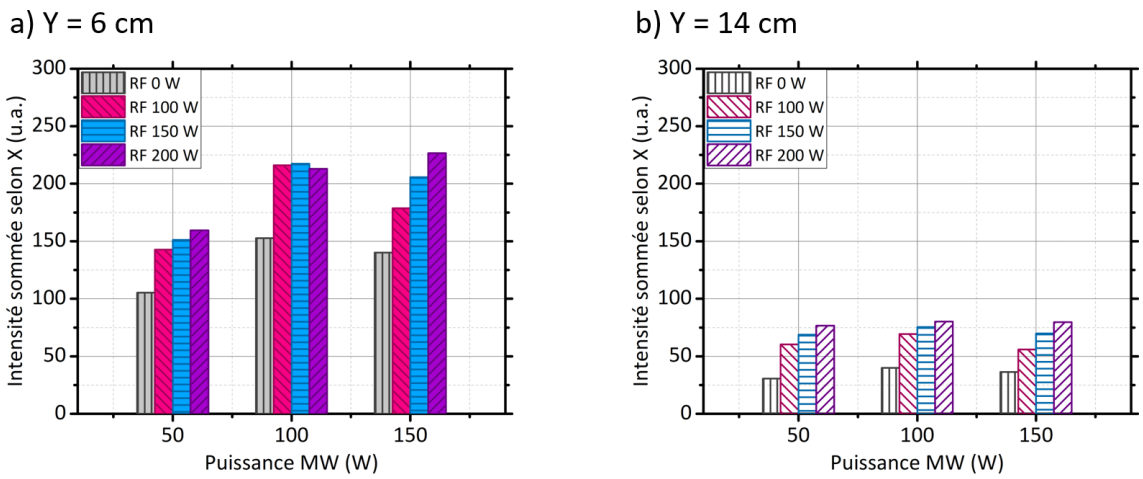


Figure II-2 Intensités sommées selon X en fonction des puissances MW et RF en : a) Y =6 cm b) Y = 14 cm

Observations en fonction des positions X et Y – Quelle que soit la puissance MW, l'intensité lumineuse est maximale autour de la source MW-ECR (*cf.* Figure II-1 et Figure II-2). En supposant qu'elle représente la densité électronique ayant permis de générer les espèces principales, cette observation conforte l'idée d'une implication privilégiée de la source MW-ECR dans la production des espèces réactives du plasma.

En absence de puissance RF, le plasma est concentré autour de l'applicateur MW. En ajoutant la source RF-CCP, il se distribue en volume. Le plasma RF se développe dans le volume du réacteur pendant les oscillations des gaines, réduisant légèrement la densité électronique à proximité de la zone de RCE (*cf.* Figure II-7). Une zone de forte intensité étendue suivant X à Y = 3 cm se développe (*cf.* Figure II-1) quel que soit le régime de puissance MW (50, 100 ou 150 W). Cette différence est particulièrement visible pour le plasma MW+RF qui se répartit en volume et non vers les parois pour une puissance MW de 150 W.

Observations en fonction de la puissance MW – A une puissance RF fixe, la somme des intensités suivant X aux positions Y = 6 et 14 cm respecte l'évolution en fonction de la puissance MW constatée pour un plasma généré par la source MW-ECR seule. Celle-ci augmente pour des puissances MW comprises entre 50 et 100 W puis se stabilise ou diminue entre 100 et 150 W.

Observations en fonction de la puissance RF – Aux puissances MW fixées, un minimum de 100 W de puissance RF est nécessaire pour obtenir un gain en intensité lumineuse en couplant les deux sources. Une augmentation de la puissance RF entraîne ensuite une augmentation de l'intensité lumineuse du plasma.

La distribution du plasma dans le réacteur est différente en présence de la source RF-CCP. Les modes de propagation en fonction de la puissance observés avec la source MW-ECR seule sont encore distingués, atténués par une composante continue apportée par la source RF-CCP à une condition donnée. La source MW-ECR semble être responsable de la densité du plasma. Les intensités sont dominantes dans la zone de RCE, même à faible puissance MW. La répartition du plasma en volume est améliorée par une puissance RF supérieure à 100 W.

II.A.2. Répartition des espèces émissives

Les caractérisations optiques (caméra ICCD filtrée et SEO) ciblant les espèces d'intérêt pour le traitement de semences sont reproduites en ajoutant différentes proportions de puissance RF pour une puissance MW fixée. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus en présence de la source MW-ECR seule (*cf.* Chapitre 3 – I.B.3) afin de mettre en évidence les effets potentiels de la source RF-CCP sur la répartition des espèces réactives du plasma. Les résultats obtenus à partir des mesures de SEO sont détaillés dans cette section. Ceux correspondant aux mesures de la caméra ICCD sont présentés en complément dans l'Annexe III.

L'évolution de la répartition des espèces caractéristiques du plasma d'air en fonction des contributions des puissances MW et RF est observable sur la Figure II-3 à travers les intensités des émissions détectées par SEO entre 200 et 1000 nm (*cf.* Chapitre 2 – I.B.1.b). En présence des deux sources, les acquisitions à la position Y = 22 cm sont ajoutées puisque l'électrode RF, située à Y = 28 cm, permet une intensification du signal spectral.

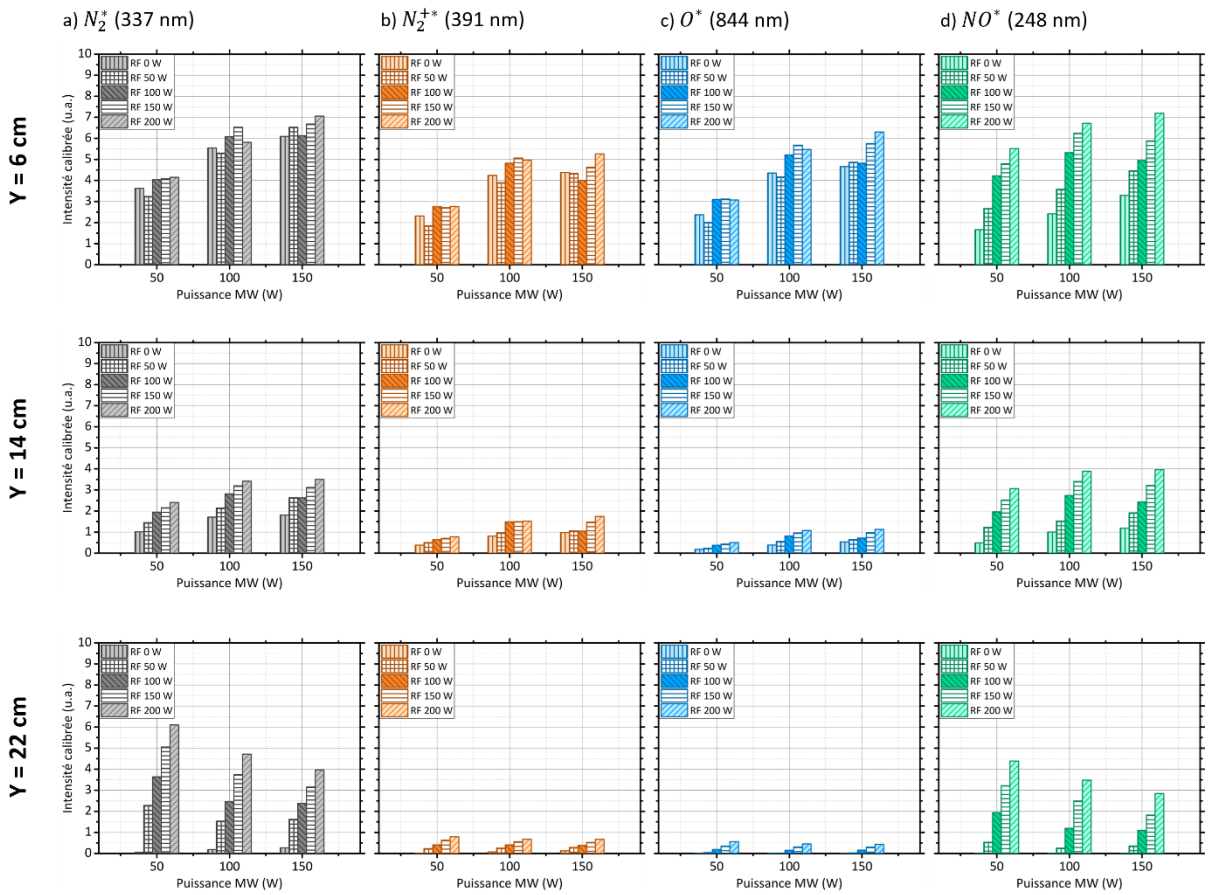


Figure II-3 Contribution de la source RF-CCP dans la répartition des espèces émissives de l'air en comparaison avec leur intensité d'émission détectée avec la source MW-ECR seule (RF 0 W)

Observations en fonction de la position Y – Le plasma diffuse les espèces dans le réacteur en fonction des régimes de puissance MW : en volume à basse puissance (*MW 50 W*), en surface à haute puissance (*MW 150 W*).

Le plasma généré par la source MW-ECR (*RF 0 W*) présente une distribution des espèces décroissante dans le volume (*cf.* Chapitre 3 – I.B.3). Leur production est principalement dans la zone de RCE à Y = 2,5±0,5 cm par collision électronique des neutres. En présence de la source RF-CCP, la distribution des espèces dépend des proportions des puissances RF et MW.

- Les espèces N_2^+ et O évoluent de manière similaire. Leurs intensités sont maximales à la position Y = 6 cm (> 2) et décroissantes dans le volume (< 1 pour Y = 22 cm).
- Les espèces N_2 et NO suivent une même répartition. Leurs intensités diminuent entre Y = 6 et 14 cm puis réaugmentent en Y = 22 cm.

Observations en fonction de la puissance MW – L'évolution des émissions en fonction de la puissance MW est évaluée à chaque position Y pour une puissance RF fixe.

- A la position Y = 6 cm, les espèces évoluent avec la puissance MW en respectant les régimes de décharge décrits pour la source MW-ECR seule. Les intensités des émissions augmentent entre 50 et 100 W de puissance MW puis atteignent une saturation au-delà de 100 W.

- A la position Y = 14 cm, un équilibre entre les contributions des deux sources s'installe. Une augmentation de la puissance MW entraîne une faible augmentation des intensités quelles que soient l'espèce et la puissance RF injectée. Cette augmentation est plus importante pour des puissances MW comprises entre 50 et 100 W, à l'image du plasma MW en Y = 6 cm.
- A la position Y = 22 cm, les espèces N_2^+ et O sont présentes en faible proportion (< 1). Aucune variation de l'intensité n'est observée avec la croissance de la puissance MW. Cette observation est cohérente avec une production majoritaire de ces espèces par impact électronique. A cette position, les densités et les températures électroniques sont peu sensibles à l'augmentation de la puissance MW (*cf.* Chapitre 3 – II.B). La faible contribution d'une puissance MW sur la répartition des espèces suggère alors que la source RF-CCP est dominante dans cette partie du réacteur, l'électrode RF se situant à Y = 28 cm.

  Une augmentation de la puissance MW entraîne une diminution des intensités des espèces N_2 et NO. L'absence de corrélation entre l'intensité des émissions et la densité électronique, stable, suggère des mécanismes responsables de la formation des espèces N_2 et NO différant de l'impact électronique. La production des métastables $N_2(A)$, entraînant une plus grande probabilité de collisions neutre-neutre, pourrait être corrélée à l'évolution de ces intensités d'émission. La baisse d'intensité des émissions N_2 et NO avec l'augmentation de la puissance MW suppose alors que la population du niveau $N_2(A)$ diminue. Les mécanismes de peuplement et de dépeuplement de cet état sont décrits par Guerra *et al.* [238]. Les processus de perte pourraient être dominés par les collisions avec des niveaux vibrationnels élevés de $N_2(X)$. La température vibrationnelle augmentant avec la puissance MW, ces processus augmentent et conduisent à une baisse de la population du niveau $N_2(A)$, impliquant ensuite une baisse des intensités des espèces N_2 et NO.

Observations en fonction de la puissance RF – L'évolution des émissions en fonction de la puissance RF est évaluée à chaque position Y pour les trois régimes de puissance MW.

- A la position Y = 6 cm, les émissions de *NO* augmentent avec la puissance RF dans tous les cas. Les émissions de N_2, N_2^+ et O font exception à cette position. Ce phénomène est cohérent avec les processus de formation de ces espèces décrits pour la source MW-ECR seule dans le Chapitre 3 – I.D, cette zone privilégiant la contribution de la puissance MW. Dans ce cas, en dessous d'un certain seuil de puissance (100 W pour la source MW-ECR seule), ces émissions reflètent l'évolution de la densité électronique. Au-delà du seuil, elles suivent les variations de densité de l'état métastable $N_2(A)$. En présence de la source RF-CCP, la densité électronique est constante quelle que soit la puissance RF, pour une puissance MW fixée (*cf.* Chapitre 3 –II.B.2), les intensités des émissions de ces espèces sont alors invariées car leur production est dominée par l'impact et l'attachement électronique.
- A la position Y = 14 cm, les émissions augmentent avec la puissance RF quelle que soit la puissance MW. Le phénomène est moins marqué pour N_2^+ et O, de faibles intensités.
- A la position Y = 22 cm, les intensités des émissions augmentent avec la puissance RF quelle que soit la puissance MW compte-tenu de l'augmentation de la densité électronique (*cf.* Chapitre 3 –II.B.2). Ce phénomène est plus important pour les émissions de N_2 et NO qu'à la position Y = 14 cm étant donné la disposition de l'électrode RF et de la grille.

La production des espèces est favorisée par la présence de la source RF-CCP. L'apport de la puissance RF pourrait s'expliquer par une augmentation de la population du niveau métastable $N_2(A)$, responsable des mécanismes de production et de perte de ces espèces.

II.A.3. Processus de formation et de perte des espèces

Les observations réalisées dans la section précédente peuvent être reliées aux processus de formation et de perte des espèces. La contribution de chaque source dépend principalement de la distance entre la position étudiée dans l'enceinte et celle des sources, les proportions des puissances MW et RF étant secondaires.

Contribution majoritaire de la source MW-ECR – A la position Y = 6 cm, l'évolution des intensités des espèces étant similaire, celles-ci sont probablement formées par le même type de processus. Cette région est encore proche de la zone de RCE de la source MW-ECR. Les réactions d'excitation et d'ionisation par impact électronique sont favorisées étant donné une forte production d'électrons énergétiques dans la zone de RCE. Ces électrons chauds se diffusent dans le volume du plasma et perdent de l'énergie par collision avec des électrons froids ou avec les molécules neutres favorisant entre autres la production des métastables du diazote et de l'oxygène atomique par dissociation de molécules. A la position Y = 6 cm, les électrons sont encore d'énergie suffisante pour dissocier le dioxygène (*cf.* Equation 45 – $\varepsilon \geq 5{,}2$ eV) et ioniser le diazote (*cf.* Equation 41 et Equation 42 : $\varepsilon \geq 15{,}5$ eV) par impact direct ou par étapes.

Equilibre dans la contribution des sources – A la position Y = 14 cm, les intensités des émissions montrent un compromis entre les effets de chaque source. La diffusion des électrons depuis la zone de RCE suggère une présence d'électrons moins énergétiques, réduisant la production globale des espèces par impact électronique, surtout N_2^+ et O. Les collisions neutre-neutre entrent en compétition avec celles-ci pour la formation des N_2 et NO. Ces dernières sont produites à la fois par des collisions entre un neutre et un électron provenant de la zone de RCE et par des collisions entre neutres, grâce à la source RF-CCP. Ce processus semble cohérent avec les tendances de leurs intensités d'émission lorsque les puissances RF et MW augmentent.

Contribution majoritaire de la source RF-CCP – A la position Y = 22 cm, l'évolution des intensités des espèces est corrélée à la source RF-CCP, peu d'espèces formées par la source MW-ECR atteignent une telle distance dans le réacteur, les électrons ayant perdu leur énergie en amont. Une augmentation de la puissance RF entraîne une augmentation linéaire des intensités de chaque émission à une puissance MW fixée. La production des électrons par la source RF-CCP est régie par les oscillations des gaines aux abords des électrodes RF et de masse (parois et grille). Ceux-ci sont produits en plus faible quantité que ceux issus de la source MW-ECR mais ils sont en moyenne plus énergétiques. Les collisions neutre-neutre entre les molécules du gaz deviennent un processus important. Celles-ci mettent en jeu les états métastables du diazote neutre dans le peuplement du niveau excité $N_2(C)$ (*cf.* Equation 40) et du monoxyde d'azote $NO(A)$ (*cf.* Equation 48). L'inversion des tendances des intensités de N_2 et NO en augmentant la puissance MW par rapport aux observations réalisées en Y = 6 cm, le confirme. La faible densité électronique implique une présence réduite des espèces N_2^+ et O.

La répartition des espèces dans le réacteur met en évidence la contribution des sources dans leurs mécanismes de production. A proximité de la source MW-ECR (Y = 6 cm), la production des espèces est dominée par les collisions par impact électronique. La zone de RCE favorise des densités élevées et localisées qui sont ensuite diffusées dans le volume du réacteur. Son influence est réduite à mesure que les espèces s'en éloignent. La source RF-CCP contribue à la formation des espèces dans ces régions par collisions entre neutres (Y = 22 cm), et des métastables $N_2(A)$ qui est modulée par la puissance RF notamment. Au niveau de la grille porte-substrat sur laquelle sont disposées les graines à traiter (Y = 14 cm), un équilibre s'établit entre la contribution des deux sources pour la production des espèces réactives.

II.B. Propriétés fondamentales du plasma

L'influence de la puissance RF sur l'évolution des paramètres du plasma est évaluée à partir des températures des électrons, à l'image de l'apport énergétique de la source RF-CCP, et de leur densité, vectrice des flux de particules. Ces grandeurs sont calculées à partir des mesures locales de sonde de Langmuir (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1.c.i : méthode3).

II.B.1. Température électronique

La température électronique moyenne des électrons froids est évaluée en associant les deux sources et comparée à la valeur obtenue en présence de la source MW-ECR seule. Celle des électrons chauds n'est pas abordée compte-tenu du faible rapport signal sur bruit lors des acquisitions en présence de radiofréquence. Lors de la diffusion des électrons chauds dans le plasma, ils perdent de l'énergie au fil des collisions. Ce phénomène entraînant la production d'électrons froids, leurs évolutions sont inversées en fonction des conditions opératoires.

II.B.1.a. Evolution de la température électronique axiale

La Figure II-4 présente leur évolution en fonction de la puissance RF, aux trois régimes de puissance MW et aux trois positions Y dans l'axe de la source MW-ECR (X = 0 cm).

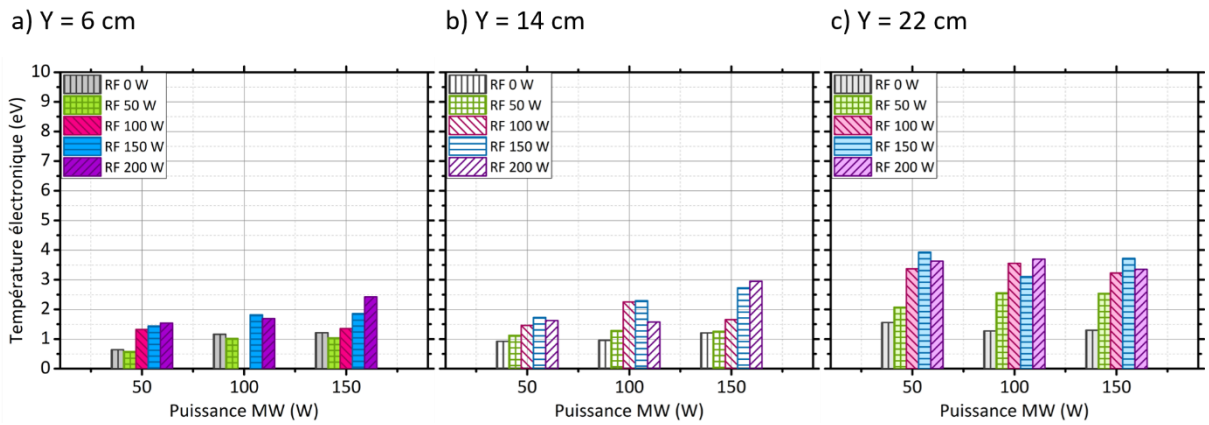


Figure II-4 Contributions des puissances MW et RF sur la température électronique déterminée à partir des mesures de sonde de Langmuir en X = 0 cm, aux positions : a) Y = 6 cm b) Y = 14 cm c) Y = 22 cm

Observations en fonction de la position Y – En présence, comme en absence de la source RF-CCP, une augmentation de la température des électrons froids est observée en s'éloignant de la zone de RCE selon l'axe Y (*cf.* Figure I-12b). A un couple fixe de puissances MW et RF, la température électronique augmente en s'éloignant de la région de RCE. En considérant la géométrie de la source RF-CCP, la température est maximale entre l'électrode RF et la grille à la masse. A la position Y = 22 cm, la mesure est réalisée dans le cœur du plasma, loin des gaines électrostatiques. La température diminue ensuite dans le volume du réacteur (de Y = 22 cm vers Y = 6 cm). Les électrons les plus énergétiques réalisent des collisions ionisantes en se diffusant dans le volume, leur énergie moyenne diminue.

Observations en fonction de la puissance MW – L'évolution de la température électronique en fonction du régime de puissance MW met en avant l'influence de la source MW-ECR en fonction de la position Y dans le réacteur.

- Aux positions Y = 6 et 14 cm, l'évolution de la température suit les régimes de la décharge MW. L'augmentation de la température électronique apportée par la source RF-CCP est faible. La différence entre la température établie avec la source MW-ECR seule est inférieure à 1 eV pour un ajout de 100 W de puissance RF.
- A la position Y = 22 cm, les températures électroniques sont équivalentes quelle que soit la puissance MW. La contribution de la source RF-CCP dans la valeur de température est importante. Une puissance RF de 100 W entraîne une augmentation supérieure à 2 eV.

Observations en fonction de la puissance RF – A une puissance MW fixe, l'influence de la puissance RF sur la température électronique dépend de la position Y. Une augmentation jusqu'à 100 W de la puissance RF entraîne une augmentation de la température électronique. Au-delà, une saturation apparaît dans la plupart des conditions.

II.B.1.b. Evolution de la température électronique radiale

Une puissance RF intermédiaire de 100 W est sélectionnée pour évaluer l'apport de la source RF-CCP sur la répartition de la température électronique en fonction de la position X dans les deux régimes de puissance MW (*cf.* Figure II-5). Une telle puissance est nécessaire pour garantir une augmentation de la température électronique quelles que soient la position Y et la puissance MW. Sur la Figure II-4a, une puissance RF de 50 W entraîne une diminution de la température électronique par rapport au cas généré par la source MW-ECR seule. La saturation observée aux puissances MW de 50 et 100 W suggère qu'une puissance RF de 100 W est suffisante pour que la source RF-CCP contribue à augmenter la température électronique.

Observations en fonction de la position X – La présence de la source RF-CCP n'a que peu d'influence sur l'allure de l'évolution de la température électronique aux positions Y = 6 et 14 cm. La source MW gère la distribution radiale de la température électronique à ces positions. A la position Y = 22 cm, le régime de puissance MW change la répartition de la température électronique selon la position X.

- A une puissance MW de 50 W, la température électronique maximale est située en X = 0 cm et vaut 3,5 eV. Elle décroît selon X et se stabilise entre X = 10 et 15 cm.
- A une puissance MW de 150 W, la température maximale est augmentée à 4 eV (X = 5 cm).

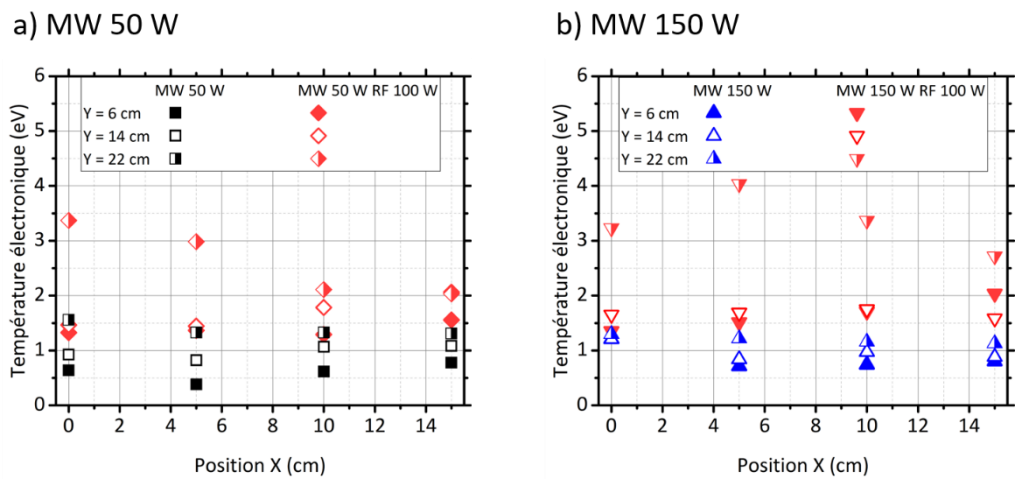


Figure II-5 Distribution de la température électronique en fonction des positions X et Y en absence ou en présence de 100 W de puissance RF dans les deux types de régimes de puissance MW : a) A 50 W b) A 150 W

Cette décroissance peut être causée par la perte d'énergie continue des électrons diffusés depuis le cœur du plasma RF vers les parois latérales de l'enceinte. Un phénomène similaire est observé pour un plasma DF-CCP d'argon à 4 Pa alimenté par une haute fréquence à 60 MHz et une basse fréquence à 2 MHz [239]. La température électronique est maximale entre 4,5 et 5 eV dans l'axe de l'électrode RF. Elle augmente avec la puissance de la haute fréquence et décroît dans chaque condition jusqu'en bordure de celle-ci.

La température électronique dans l'enceinte est augmentée par l'ajout de la source RF-CCP. Elle est maximale, autour de 3 eV, à la position Y = 22 cm et décroît en volume dans le réacteur. L'influence de la source MW-ECR sur cette valeur est observée aux positions Y = 6 et 14 cm avec une évolution équivalente en fonction de la puissance MW, augmentée à une constante près, fixée par la puissance RF associée.

II.B.2. Densité électronique

Les densités électroniques sont calculées à partir des températures électroniques (*cf.* Equation 24). Une démarche similaire à celle mise en place pour la température électronique est utilisée pour évaluer les effets des conditions opératoires sur la densité électronique.

II.B.2.a. Evolution de la densité électronique axiale

La Figure II-6 présente leur évolution en fonction de la puissance RF, aux trois régimes de puissance MW et aux trois positions Y dans l'axe de la source MW-ECR (X = 0 cm).

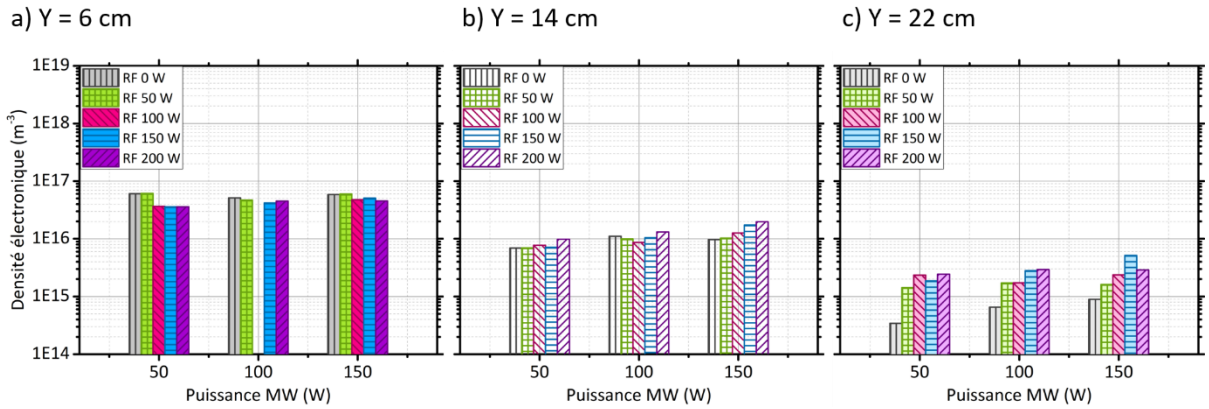


Figure II-6 Contribution de la source RF-CCP dans la répartition de la densité électronique en X = 0 cm, aux positions : a) Y = 6 cm b) Y = 14 cm c) Y = 22 cm

Observations en fonction de la position Y – En présence de la source RF-CCP, la décroissance de la densité électronique selon Y, observée pour la source MW-ECR seule à une condition de puissance donnée, est maintenue. Elle est équivalente entre les positions Y = 6 et 14 cm, réduite ensuite. 2 log d'écart sont observés entre les positions extrêmes Y = 6 et 22 cm pour la source MW-ECR seule, contre 1 log en présence de la source RF-CCP.

Observations en fonction de la puissance MW – En présence de la source RF-CCP, les variations de la densité électronique en fonction de la puissance MW sont faibles. Ce phénomène est déjà observé pour la source MW-ECR seule sur la Figure I-5. A une puissance RF et une position Y fixes, la densité électronique reste constante en augmentant la puissance MW.

Observations en fonction de la puissance RF – A une puissance MW fixée, l'augmentation de la puissance RF n'implique pas de variation significative de la densité électronique, excepté à la position Y = 22 cm.

- A la position Y = 6 cm, l'ajout de puissance RF, quelle qu'elle soit, tend à diminuer la valeur de la densité électronique. Cette observation est cohérente avec la propagation du plasma et de ses espèces émissives (*cf.* Chapitre 3 – II.A). La densité électronique reste maximale à proximité de la zone de RCE, correspondant à la région d'intensité lumineuse maximale dans laquelle le gaz est ionisé par des collisions avec des électrons très énergétiques. La température moyenne des électrons froids est augmentée par un apport de puissance RF supérieure à 100 W (*cf.* Figure II-4) ce qui favorise une diminution de la densité électronique.

- A la position Y = 14 cm, la présence de la source RF-CCP entraîne une augmentation de la densité électronique à une puissance MW de 150 W. Cette augmentation évolue avec la puissance RF injectée. La densité électronique reste constante dans les autres conditions.
- A la position Y = 22 cm, un apport de puissance RF implique une augmentation de la densité électronique. Dans un plasma RF-CCP asymétrique, les gaines oscillantes entraînent la génération d'un potentiel d'auto-polarisation, continu pour éviter la perte des électrons aux parois. Les électrons dont l'énergie est inférieure à la tension de la gaine sont alors confinés dans le plasma, favorisant une densité électronique constante plus élevée dans le plasma. Les autres perdent de l'énergie en avançant vers la paroi, réduite de moitié à l'entrée de la gaine. Cette énergie est récupérée par les cations et équilibre des flux aux parois. A une puissance RF constante, la densité est constante dans le plasma et décroît aux abords des gaines.

II.B.2.b. Evolution de la densité électronique radiale

L'évolution de la densité électronique en fonction de la position X aux trois positions Y est analysée à partir de la Figure II-7 est étudiée dans les mêmes conditions que la température.

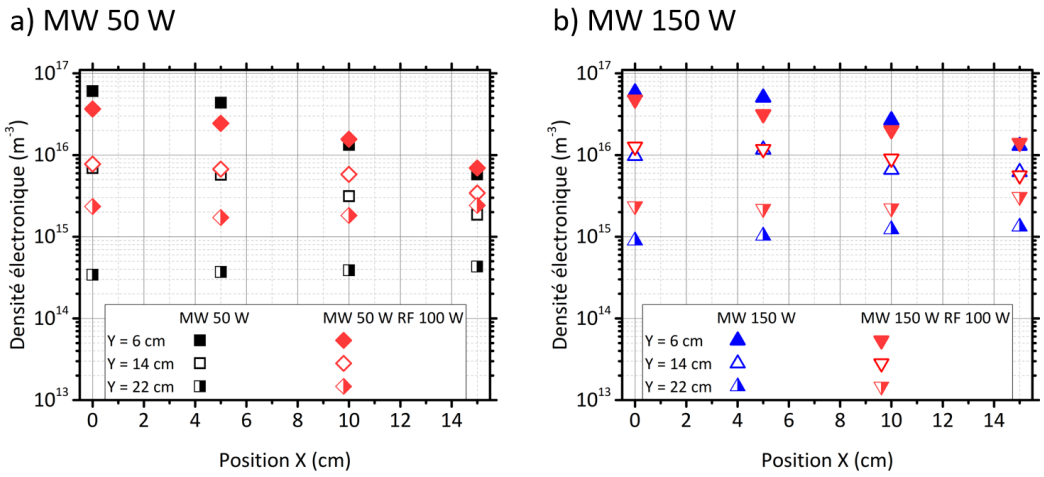


Figure II-7 Distribution de la densité électronique en fonction des positions X et Y en absence ou en présence de 100 W de puissance RF dans les deux types de régimes de puissance MW : a) A 50 W b) A 150 W

Observations en fonction de la position X – En présence de la source MW-ECR seule, au plus proche de la région de RCE (Y = 6 cm), les densités électroniques sont maximales au centre du réacteur (*cf.* Figure I-5a). Elles sont décroissantes selon les positions X (1 log d'écart entre X = 0 et 15 cm en Y = 6 cm). L'écart entre les valeurs se réduit en s'éloignant de cette zone.

Les plasmas générés par une source RF-CCP seule présentent des densités électroniques constantes dans le corps du plasma et fortement décroissantes dans les gaines aux abords des parois et des électrodes [240]. Les mesures réalisées dans cette étude sont éloignées de 10 cm environ des parois latérales du réacteur, la densité électronique déterminée est alors celle du corps du plasma.

En présence des deux sources, la densité est répartie de manière plus homogène dans le volume de l'enceinte qu'en utilisant la source MW-ECR seule (*cf.* Figure II-7). Le régime de puissance MW n'influe pas sur l'évolution de la densité électronique en ajoutant une puissance RF fixe, les tendances sont similaires à une puissance MW de 50 ou de 150 W.

- A la position Y = 6 cm, la densité s'éloigne de la valeur critique qui concentrait le plasma autour de l'applicateur MW-ECR. Cela justifie la répartition en volume du plasma observée pour une puissance MW de 150 W par l'imagerie ICCD (*cf.* Figure II-1). La présence de la source RF-CCP atténue la densité électronique à proximité de l'applicateur MW-ECR. La température électronique est augmentée dans cette région à partir d'une puissance RF de 100 W. A une puissance MW de 150 W, la tension d'auto-polarisation est doublée par rapport aux cas à 50 et 100 W (-120 V – *cf.* Chapitre 2 – Figure I-10). Cela suggère une énergie ionique plus importante dans la gaine (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.a.i), cohérente avec une augmentation de la température électronique et une diminution de la densité.
- A la position Y = 14 cm, la mesure pourrait être considérée comme réalisée dans une gaine étant donné que la grille porte-substrat est située à Y = 15 cm. L'expression de l'épaisseur de gaine s est donnée dans l'Equation 10 à partir de la longueur de Debye λ_D du plasma (*cf.* Equation 2) et du potentiel de gaine V_s, associé directement au potentiel plasma étant donné que la grille est à la masse. Le potentiel est estimé en fonction de la température électronique à partir de la relation de Child-Langmuir pour une gaine non-collisionnelle (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.a.i). Les épaisseurs de gaine au niveau de la grille sont évaluées à partir des densités et des températures électroniques extrêmes estimées dans cette section. Les résultats suggèrent des gaines de l'ordre du millimètre au maximum. La mesure en Y = 14 cm est réalisée dans le plasma et non dans la gaine (épaisseur : 0,2 – 1,2 mm). Son évolution concorde avec un couplage des deux sources. Elle suit principalement la source MW-ECR, la source RF-CCP tend à augmenter la valeur en X = 15 cm pour homogénéiser la distribution en corrélation avec les résultats obtenus pour la température électronique.
- A la position Y = 22 cm, la densité électronique est constante quelle que soit la position X. Dans cette région, la production des électrons par la source MW-ECR est négligeable, l'influence de la source RF-CCP est alors mise en avant et confirme que la mesure est réalisée dans le corps du plasma.

Sahu *et al*. [240] ont évalué les variations des densités et des températures électroniques dans un plasma DF-CCP (13,56 et 320 MHz) de diazote à 400 mTorr pour une puissance totale de 200 W. Les deux sources étant de type RF-CCP, la répartition radiale de la densité électronique par rapport aux électrodes est quasi-constante jusqu'à 1 cm avant la gaine. Les évolutions de la température et de la densité des électrons en fonction de la puissance injectée par chaque source sont inversées. Elles sont délimitées par une même puissance de 100 W pour chaque source. Tant que la puissance à basse fréquence est inférieure à celle à haute fréquence, la densité électronique augmente et la température décroît. Lorsque la puissance à basse fréquence devient supérieure, la densité décroît et la température augmente. Ces observations sont cohérentes avec une action privilégiée de la source à basse fréquence sur la température électronique et une action prédominante de la source à haute fréquence sur leur densité.

La densité électronique est principalement gouvernée par la source MW-ECR. Son évolution est peu influencée par la source RF-CCP. Cette dernière uniformise sa distribution dans le volume en réduisant les écarts de densité entre les positions X et Y extrêmes.

II.B.3. Couplage du flux et de l'énergie des ions

Dans les procédés de traitement de surface, il est intéressant de pouvoir contrôler séparément le flux et l'énergie des ions arrivant sur la surface à traiter selon l'objectif du traitement (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.b.iii et III.B.3). Cette problématique a conduit au développement des procédés à double fréquence. Les densités et les températures électroniques sont associées respectivement au flux et à l'énergie des ions.

- Dans une décharge RF-CCP symétrique, l'énergie ionique ε_i arrivant dans une gaine non-collisionnelle est proportionnelle à la température électronique du plasma. Elle peut être définie par l'Equation 51, à partir de la relation établie par Child-Langmuir.

$$\varepsilon_i = \frac{1}{2} k_B T_e \left(1 + \ln\left(\frac{m_i}{2\pi m_e}\right)\right) \qquad \text{Equation 51}$$

- Le flux ionique Γ_i est calculé dans les mêmes conditions à partir de la vitesse de Bohm (*cf.* Chapitre 1 – III.B.2.a.i). Il est rapporté à la densité de courant ionique j_i. Celle-ci faisant le lien entre les densités et les températures électroniques à partir de l'Equation 52.

$$j_i = e\,\Gamma_i \simeq 0{,}6\, e\, n_e \left(\frac{k_B T_e}{m_i}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad \text{Equation 52}$$

L'énergie ionique maximale correspond à la valeur maximale de température, la densité de courant moyenne est à l'image de la densité électronique. Le couplage des deux permet d'appréhender la contribution de chaque source dans le procédé.

Le couplage de l'énergie et du flux des ions est évalué en présence des deux sources aux positions Y dans la Figure II-8. A une puissance MW fixée, l'énergie et le flux des ions sont calculées en X = 0 cm pour une variation de la puissance RF de 0 à 200 W avec un pas de 50 W.

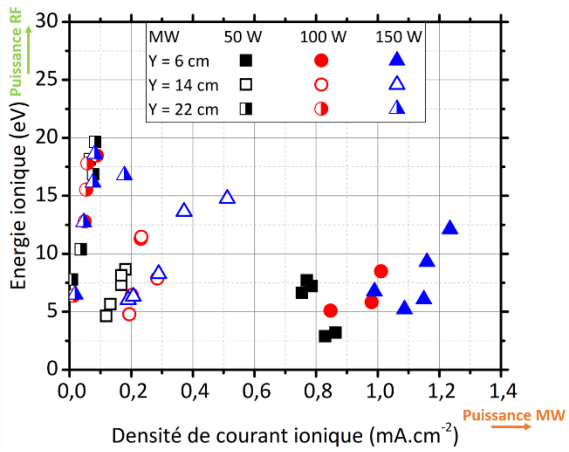


Figure II-8 Energie ionique en fonction de la densité de courant des ions en couplant les deux sources : MW 50, 100, 150 W et RF 0-200 W

Observations en fonction de la position Y – L'évolution à une puissance MW fixe est observée à partir de la pente d'un ajustement linéaire réalisé pour chaque courbe à une position Y donnée. En s'éloignant de la zone de génération du plasma MW, la pente diminue. Pour une puissance MW de 150 W, elle vaut 10 à la position Y = 6 cm contre 26 en Y = 22 cm. Cela signifie qu'au plus près de la source MW-ECR, la contribution en flux est dominante devant l'énergie. Leurs variations à chaque position le confirment quelle que soit la puissance MW.

Observations en fonction de la puissance MW – A une position Y fixée, la contribution des sources se retrouve également à partir de la proportion de puissance MW injectée.

- A la position Y = 6 cm, une augmentation de la puissance MW implique une augmentation du flux ionique. La densité de courant moyenne, quelle que soit la puissance RF, est de 0,8 $mA.cm^{-2}$ pour une puissance MW de 50 W contre 1,2 $mA.cm^{-2}$ pour une puissance MW de 150 W à des énergies ioniques équivalentes.
- A la position Y = 14 cm, le flux et l'énergie des ions sont croissants avec l'augmentation de la puissance MW. Les comportements observés aux deux autres positions Y s'équilibrent.
- A la position Y = 22 cm, une augmentation de la puissance MW n'entraîne pas de variation significative de l'énergie et du flux des ions.

Observations en fonction de la puissance RF – L'évolution de l'énergie et du flux des ions dépend essentiellement de la distance entre la position de la mesure et celle de la source.

- A la position Y = 6 cm, la source MW-ECR est dominante. Le flux des ions (densité de courant moyenne de 1 $mA.cm^{-2}$) est important et leur énergie est faible, maximale à 12 eV. La variation de la puissance RF entraîne une faible variation de l'énergie ionique, à l'image des constats réalisés pour la température électronique dont celle-ci dépend.
- A la position Y = 14 cm, les contributions des deux sources s'équilibrent. La densité de courant moyenne est de 0,2 $mA.cm^{-2}$ pour une énergie maximale de 15 eV.
- A la position Y = 22 cm, la source MW-ECR influe peu sur le plasma, la source RF-CCP prend le dessus. La densité de courant moyenne est de 0,05 $mA.cm^{-2}$ pour une énergie maximale approchant les 20 eV. Une augmentation de la puissance RF entraîne systématiquement une augmentation de la température électronique et de l'énergie ionique.

Ces résultats montrent une modulation en énergie et en flux des ions apportée par la source RF-CCP. Un plasma généré par une source RF-CCP seule à une fréquence de 13,56 MHz présente une forte énergie, augmentant avec la puissance injectée, pour un faible flux des ions, de l'ordre de la tension RF appliquée. Les travaux de Perret *et al*. [108] montrent l'effet de la fréquence d'excitation sur le couplage de l'énergie et du flux des ions dans une décharge RF-CCP d'argon à 15 mTorr (rappel : 1 Pa = 7,5 mTorr). A 13,56 MHz, ils obtiennent une densité de courant moyenne de 0,05 $mA.cm^{-2}$ pour une énergie ionique minimale de 100 eV. Lorsque le porte-substrat constitue l'électrode RF, comme dans leur cas, l'énergie des ions arrivants sur le substrat correspond à la somme du potentiel plasma et du modulo de la tension d'auto-polarisation.

Dans cette étude, l'énergie ionique est faible, pour un flux équivalent. Le porte-substrat est relié à la masse et situé entre une source MW-ECR et l'électrode RF d'une source RF-CCP. L'énergie des ions arrivants sur le substrat est alors assimilée directement au potentiel plasma. Elle est alors faible à proximité de la source MW-ECR et élevée à proximité de l'électrode RF.

L’ion produit dans la zone de RCE est alors accéléré par le gradient de potentiel entre l’électrode RF et la source MW-ECR.

L’évolution de l’énergie en fonction du flux des ions dépend fortement de la contribution des sources. Un apport de puissance MW entraîne une augmentation de la densité électronique et de la densité de courant des ions avec une faible énergie ionique. Un apport de puissance RF implique une augmentation de la température électronique et de l’énergie ionique sans impacter leur flux. Ces phénomènes sont amplifiés à proximité des zones de génération de chaque source et en augmentant leurs puissances respectives. La position de la grille porte-substrat constitue une zone où les contributions de chaque source s’équilibrent. En fonction de l’effet recherché, il est alors possible d’augmenter la puissance d’une source par rapport à l’autre.

III. Conclusions sur les caractéristiques du plasma pour une optimisation du traitement des semences

La caractérisation du plasma réalisée pour la source MW-ECR seule (*cf.* Chapitre 3 – I) met en évidence une décroissance des densités des espèces neutres et chargées en s'éloignant de la zone de RCE, région de génération du plasma (Y = 2,5±0,5 cm). Elle révèle une saturation de la densité électronique et des espèces formées uniquement par impact électronique (N_2^+ et O) lorsque la puissance MW augmente. Une puissance MW limite, autour de 100 W, est alors suffisante pour maximiser leur production. Le seuil de puissance correspondant à cette région de saturation n'est pas fixe. Une incertitude de 25 W sur la puissance est observée selon les espèces, les diagnostics et les positions. Afin de garantir une stabilité dans l'évolution des espèces, une puissance MW de 150 W est sélectionnée comme condition optimale de production des espèces par la source MW-ECR.

L'étude paramétrique réalisée en couplant les puissances MW et RF est présentée dans le Chapitre 3 – II. Les tendances favorisant la production des espèces dans les différentes combinaisons de puissance sont analysées. De manière générale, à une puissance MW fixée, l'ajout de puissance RF entraîne une augmentation des émissions des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène, une augmentation de la température électronique, peu de variation dans la densité électronique et un contrôle du flux et de l'énergie ionique arrivant sur un substrat. La contribution de chaque source dans les propriétés physiques du plasma dépend de la position dans le réacteur. Les espèces sont majoritairement formées par des processus différents selon la source principale, *i.e.* la source la plus proche.

- La partie supérieure du réacteur est principalement gouvernée par la source MW-ECR. Celle-ci privilégie la densité électronique, *i.e.* le flux des ions, et les espèces formées par impact électronique telles que N_2^+ et O. Un apport de puissance RF n'entraîne qu'une faible modification des propriétés physiques de la décharge et ces dernières n'évoluent pas lorsque la puissance RF excède 100 W. Les densités électroniques sont réduites par sa présence mais les collisions électron-neutre restent le processus majoritaire de formation des espèces réactives de l'air compte-tenu de la proximité avec la zone de RCE.
- La partie inférieure du réacteur est gérée par la source RF-CCP. L'éloignement avec la source MW-ECR réduit son influence dans la production des espèces réactives. Leur énergie moyenne est augmentée en corrélation avec la puissance RF et les oscillations des gaines électrostatiques. La source RF-CCP agit sur la température électronique, ce qui a pour conséquence de moduler le flux et l'énergie ionique. Elle contribue également au peuplement du niveau métastable $N_2(A)$ par collisions entre les neutres N_2, O et NO.
- Au centre du réacteur, le couplage des deux sources est effectif. L'apport conjugué de chaque source conduit à des densités électroniques élevées, correspondant à la contribution de la source MW-ECR, et à des températures électroniques élevées, grâce à la source RF-CCP. Cela signifie qu'il est possible d'obtenir à la fois un flux et une énergie des ions importants au niveau de la grille porte-substrat. La production des espèces réactives est augmentée par la présence de la source RF-CCP et conservée élevée quelles que soient les puissances MW et RF étant donné que leurs contributions respectives se complètent.

Jusqu'à présent, les effets de chaque source sont analysés pour différentes proportions de puissance MW et RF. En considérant maintenant une puissance totale fixe de 150 W, obtenue en présence de la source MW-ECR seule (*MW 150 W*) ou en couplant les deux sources (*MW 50 W RF 100 W*), leur contribution à une position donnée peut être vérifiée. Les résultats des deux études paramétriques obtenus à la position Y = 14 cm sont réorganisés pour aborder cette problématique au niveau de la grille porte-substrat (*cf.* Tableau III-1). Les phénomènes physiques observés à la position Y = 14 cm sont considérés équivalents à ceux pouvant être responsables des interactions entre le plasma et les graines (*cf.* Chapitre 4 – I).

Les caractéristiques des plasmas correspondant à ces conditions, obtenues par SEO, par caméra ICCD et par sonde de Langmuir sont présentées dans le Tableau III-1. La densité électronique est dépendante de la puissance MW, influençant alors les espèces N_2^+ et O produites par impact ou attachement électronique. La production de N_2 et NO est favorisée en présence de la source RF-CCP par les collisions entre neutres mettant en jeu le niveau métastable $N_2(A)$. L'ajout de 100 W de puissance RF permet d'obtenir des proportions équivalentes à une puissance MW de 150 W seule pour N_2, N_2^+ et O, et de doubler celle de NO. L'ensemble de ces espèces, et notamment NO, intervient dans les mécanismes permettant d'optimiser la germination des semences et de réduire la prolifération des micro-organismes (*cf.* Chapitre 1 – IV). Un apport de puissance RF est alors avantageux pour favoriser la production des espèces N_2 et NO. Une puissance MW minimale est tout de même nécessaire à la production de NO par l'oxygène atomique O, lui-même issu d'une densité électronique importante.

Tableau III-1

Contribution des sources dans la proportion des espèces émises à une puissance totale de 150 W en Y = 14 cm

	Intensité (u.a.) à la position Y = 14 cm	
	MW 150 W	**MW 50 W RF 100 W**
$\boldsymbol{N_2}$	1,8	2,0
$\boldsymbol{N_2^+}$	1,0	0,7
$\boldsymbol{O}$	0,5	0,4
$\boldsymbol{NO}$	1,2	2,0
Profil caméra	36	60
Flux ionique (mA.cm^{-2})	0,19	0,17
Energie ionique (eV)	6,1	7,3

Les densités et les énergies des espèces réactives sont alors plus importantes, et réparties de manière plus uniforme sur la grille. Le traitement des graines devrait être optimisé par leur association.

La détermination des conditions opératoires optimales pour le traitement des semences est délicate compte-tenu des nombreux facteurs qui entrent en jeu. Les espèces du plasma peuvent avoir à la fois un effet positif et un effet délétère sur les graines. Le rôle exact de chaque espèce, le mécanisme conduisant à cette action et le seuil à partir duquel l'exposition au plasma devient délétère sont encore mal connus (*cf.* Chapitre 1 – IV.A.2).

- Les espèces chargées, visualisées par le flux d'ions dans les caractéristiques étudiées, érodent les surfaces des graines et les parois des micro-organismes. A faible dose, elles permettent de perméabiliser la membrane, facilitant l'imbibition d'une semence par exemple. A forte dose, elles entraînent la rupture des parois, laissant échapper le contenu des cellules. Ce dernier point est un atout quand il s'agit d'inactiver les micro-organismes néfastes pour la graine mais il peut s'avérer être un inconvénient pour la survie de la graine.
- Les émissions UV contribuent à améliorer la germination par une modification de la mouillabilité de la surface de la graine, entraînant alors une meilleure imbibition. Leur effet germicide est également reconnu, une dose importante conduit à un effet délétère sur les cellules, végétales ou fongiques.
- Les RONS sont en premier lieu décrits comme néfastes, engendrant un stress oxydatif qui induit l'inactivation des cellules. Ils sont pourtant nécessaires au fonctionnement et à la protection de la cellule, transmettant les informations entre le milieu extérieur et les composants cellulaires. Dans le cas des semences, le monoxyde d'azote NO peut intervenir dans la levée de dormance des semences en stimulant l'hormone gibbérelline. Il peut également entraîner un stress oxydatif sur les cellules si les antioxydants n'équilibrent plus sa portée dans la cellule. Le potentiel d'oxydoréduction du couple NO/N_2 est de l'ordre de celui du couple O/OH, soit 1,6-1,7 eV [241], le radical hydroxyle étant connu comme le RONS le plus toxique.

La stratégie de traitement par plasma mise en œuvre dans le Chapitre 4 tient compte de ces différents paramètres.

- L'énergie ionique est limitée à 6-8 eV. Ce seuil devrait permettre d'éviter de détériorer les graines tout en laissant la possibilité de perméabiliser la surface. Les énergies de liaison du carbone sont : 3,6 eV ($C - C$) ; 6,4 eV ($C = C$) et 8,6 eV ($C \equiv C$).
- La production de RONS est favorisée par la sélection de la puissance injectée et contrôlée ensuite par le temps d'exposition des graines au plasma.

Chapitre 4
Evaluation de l'efficacité du procédé plasma pour le traitement de semences

Ce chapitre est consacré à l'étude du potentiel du procédé plasma étudié dans le Chapitre 3 dans le contexte agroalimentaire décrit au Chapitre 1.

Une étude préliminaire des effets de la présence de graines dans le réacteur sur les caractéristiques du plasma est réalisée avant d'évaluer les effets des plasmas sur les graines. Cette étude permet de valider l'utilisation des caractéristiques mises en évidence dans le Chapitre 3 pour définir les conditions d'exposition des graines au plasma en fonction de la problématique à traiter et pour appréhender les interactions plasma-graine.

L'état de l'art réalisé a permis de sélectionner deux problématiques auxquelles les procédés plasma peuvent tenter de répondre afin d'améliorer les rendements agricoles tout en assurant la sécurité sanitaire de l'agriculteur au consommateur et en préservant la biodiversité.

La première problématique concerne la préservation des graines contre des agents extérieurs (insectes, bactéries et moisissures). Les céréales s'avèrent être massivement contaminées par des moisissures, en provenance du champ ou de la zone de stockage. Une première étude est alors réalisée pour évaluer l'efficacité du procédé plasma dans la décontamination fongique de grains de blé. Cette étude met également en évidence les capacités du plasma MW à dégrader les mycotoxines pouvant être responsables de problèmes au niveau du système digestif du consommateur. Le blé étudié étant utilisé pour la panification, la conservation de ses propriétés intrinsèques est vérifiée après exposition au plasma.

La deuxième problématique est axée sur la germination des semences. Les méthodes actuelles étant controversées par leurs effets néfastes pour l'environnement et pour l'agriculteur, de nouvelles pratiques émergent sans pour autant permettre d'obtenir des rendements aussi importants que ceux de l'agriculture intensive. Le procédé plasma est étudié dans le cadre d'une agriculture alternative afin d'évaluer ses effets sur les propriétés germinatives de semences paysannes de poivron. L'efficacité du plasma dans l'amélioration du taux et de la vitesse de germination est évaluée par une étude paramétrique en fonction du mode de génération du plasma, de la puissance injectée et du temps de traitement. Les effets du procédé plasma sur les propriétés intrinsèques de la graine de poivron sont analysés à travers l'évaluation du taux d''humidité, de la perméabilité de sa surface et de la teneur en antioxydants.

I. Influence de la présence de graines sur les plasmas

La caractérisation du plasma généré par une source MW-ECR seule ou par son association avec une source RF-CCP a été réalisée dans le Chapitre 3 pour évaluer les propriétés fondamentales du plasma, la répartition de ses espèces dans l'enceinte et les modifications engendrées par le couplage des sources. Une vérification des éventuelles variations du plasma causées par la présence de graines (substrat biologique, non inerte chimiquement) dans le réacteur est effectuée afin de valider l'utilisation des paramètres établis au Chapitre 3 pour l'interprétation des phénomènes susceptibles d'intervenir lors de l'interaction plasma-graine.

Une graine est constituée de différentes molécules (de protéines, de lipides, de minéraux et d'eau) qui pourraient, si elles sont présentes en quantité suffisante, modifier la composition et la stabilité du plasma. La descente en pression déshydrate la graine et la dissociation des molécules d'eau peut entraîner la production de ROS.

L'étude paramétrique des plasmas est réitérée en présence de graines sur la grille porte-substrat afin de s'assurer que les propriétés fondamentales du plasma ne sont pas modifiées.

I.A. Evaluation des propriétés électroniques en présence de graines

Les densités et les températures électroniques sont estimées pour chaque condition de plasma en présence de 1 g de graines de tomate étalées au centre de la grille porte-substrat à partir des mesures de sonde de Langmuir. Ces tomates sont sélectionnées comme modèle assimilable aux graines de poivron utilisées pour l'évaluation des effets du plasma sur la germination.

Plasma généré par la source MW-ECR – La Figure I-1 montre que la présence de 1 g de graines de tomates disposées sur la grille porte-substrat n'influence pas l'évolution des densités et des températures électroniques dans les conditions de puissance MW données.

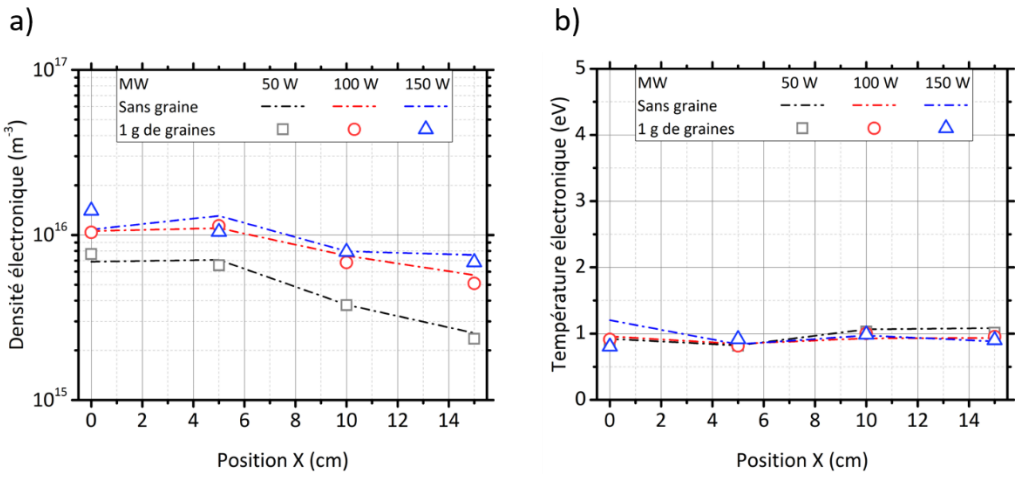


Figure I-1 Effets de la présence de graines sur la grille dans l'évolution des propriétés électriques du plasma MW : a) Densités électroniques b) Températures électroniques

Ajout de la source RF-CCP – L'étude est répétée avec 100 W de puissance RF supplémentaires. Les résultats présentés sur la Figure I-2 concordent avec les observations précédentes.

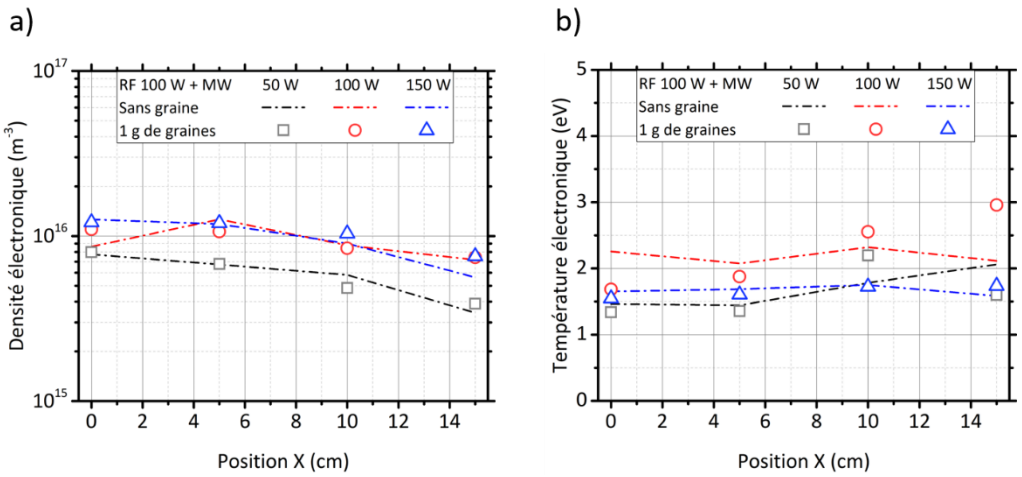


Figure I-2 Effets de la présence de graines sur la grille dans l'évolution des propriétés électriques du plasma MW+RF : a) Densités électroniques b) Températures électroniques

Ces conditions correspondent à celles utilisées pour le traitement des semences de poivron. Par analogie, la présence de 1 g de graines de poivron dans le réacteur ne modifie pas les propriétés électriques des plasmas.

I.B. Evaluation des espèces émissives en présence de graines

Une production augmentée du radical hydroxyle et de l'oxygène atomique sont des marqueurs de la dissociation des molécules d'eau présentes dans les graines en réduisant la pression dans l'enceinte. Un spectre d'émission du plasma généré avec 150 W de puissance MW et 100 W de puissance RF est réalisé pour différentes conditions : sans graine, en présence de 1 g de semences de poivron ou de 10 g de graines de blé (conditions maximales correspondant aux traitements réalisés – *cf.* Figure I-3). Les émissions repérées en absence de graine dans le Chapitre 3 – I.A se retrouvent en présence de chaque type de graines, globalement en même proportion. Deux remarques peuvent être faites concernant la présence des graines.

- Les intensités des émissions du diazote N_2 à 315 nm sont peu influencées par la présence des graines. Ce phénomène suggère une invariance des voies de peuplement des niveaux $N_2(C)$ et $N_2(B)$. La population du niveau $N_2(A)$ n'est alors pas modifiée non plus.

  Une augmentation des intensités des émissions est relevée dans la région entre 305 et 312 nm en présence des graines. Le rapport des intensités à 308 nm par celles à 315 nm est respectivement de 0,2 en absence des graines, puis de 0,3 en leur présence. Deux hypothèses peuvent être mises en avant concernant cette légère augmentation en présence des graines.
  - La première hypothèse consiste à considérer que cette augmentation est relative à une augmentation des températures des niveaux rotationnels et vibrationnels du diazote.
  - La deuxième hypothèse est basée sur le dégazage des graines lors du traitement plasma. Les graines sont constituées de molécules d'eau qui peuvent être dissociées à basse pression. Ce phénomène peut être observé sur un spectre par l'émission du radical hydroxyle OH aux longueurs d'onde : 306,4 ; 306,7 ; 307,8 et 308,9 nm. Ces émissions sont peu distinguées dans cette étude compte-tenu de la résolution du spectromètre. La mesure du taux d'humidité présent dans les graines avant et après une exposition au plasma montre une déshydratation de la graine (≃ 4% : *cf.* Chapitre 4 – III.B.2.b).

- Les émissions de NO entre 219,9 et 272,2 nm sont moins intenses en présence des graines. En considérant la densité des métastables $N_2(A)$ constante, la diminution des intensités des émissions de NO ne s'explique pas par une baisse de sa densité. Ce phénomène peut être corrélé à une absorption du NO par des molécules d'eau à des longueurs d'onde inférieures à 300 nm. Mason *et al.* [242] ont déterminé un coefficient d'absorption à 280 nm dix fois plus important que celui obtenu à 300 nm.

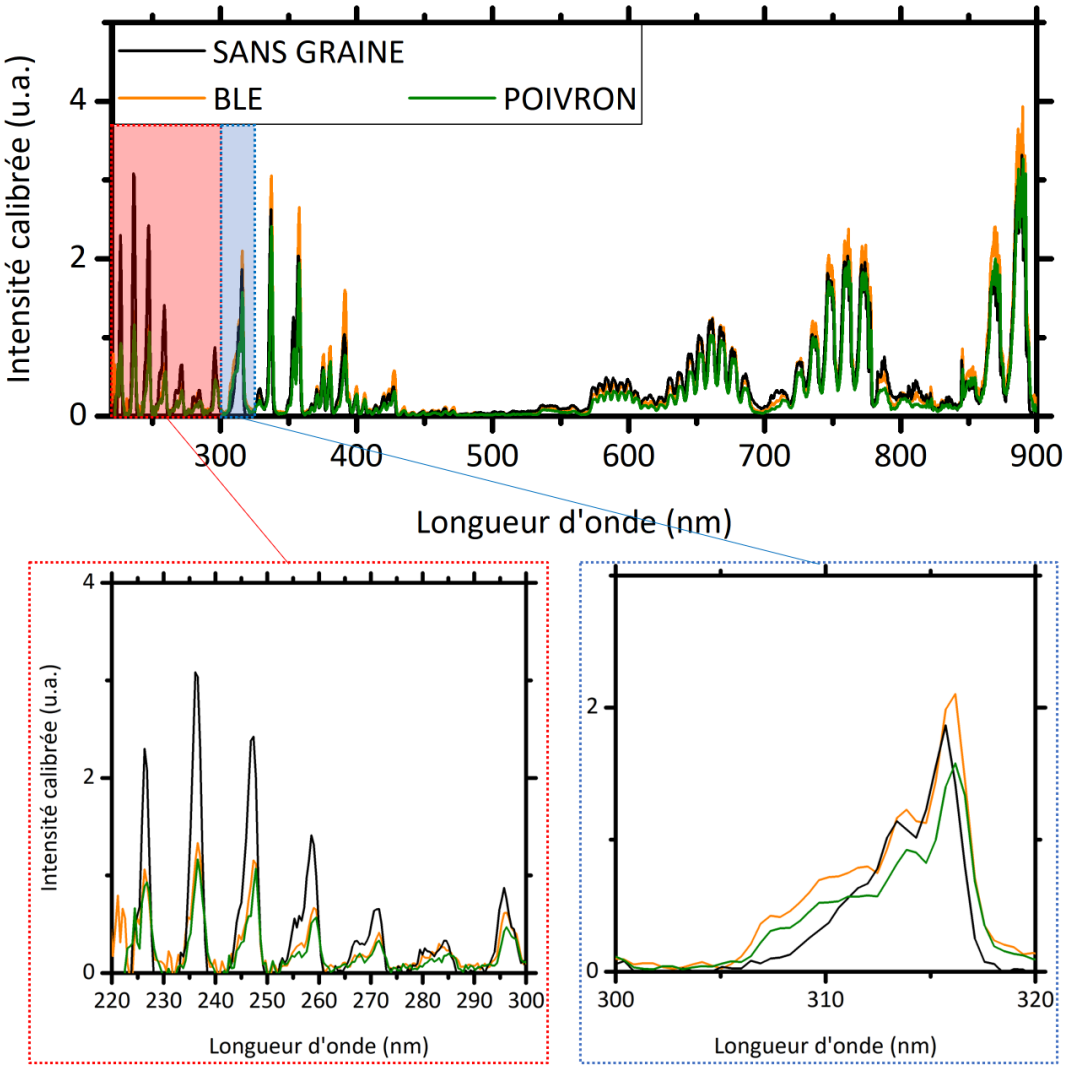


Figure I-3 Spectres des émissions du plasma MW 150 W + RF 100 W en absence et en présence de graines sur la grille porte-substrat – zooms réalisés sur les émissions de NO entre 220 et 300 nm et de N_2 entre 300 et 320 nm

Ces différentes observations permettent de supposer que la présence des graines n'engendre pas de modification dans les propriétés fondamentales du plasma. L'invariance des densités et des températures électroniques suggère que les flux et les énergies des ions établis correspondent à ceux en présence des graines. La faible influence de leur présence sur les émissions optiques n'entraîne pas de conséquence significative sur la densité des RONS. Les conclusions réalisées dans le Chapitre 3 sont alors valables en présence des graines et sont utilisées pour interpréter les effets du plasma sur les graines dans la suite de ce chapitre.

II. Effets du plasma dans la décontamination fongique du blé

La contamination fongique des céréales, dans le champ ou sur la chaîne de stockage, est une des problématiques majeures de l'agroalimentaire. Les méthodes physiques utilisées jusque-là ne permettent pas d'assurer à la fois une inactivation efficace des moisissures et une dégradation des mycotoxines qu'elles peuvent produire. Les méthodes chimiques sont efficaces sur ces composants mais nuisent à la sécurité sanitaire du producteur au consommateur et au respect de la biodiversité. Les plasmas d'air à basse pression possèdent de nombreuses espèces ionisées et neutres dont les RONS et les UV, capables d'interagir avec des substrats biologiques et de répondre à cette problématique. Les effets du procédé plasma caractérisé dans le Chapitre 3 sont étudiés à travers la décontamination fongique de grains de blé.

La première partie permet d'évaluer l'efficacité du plasma dans l'inactivation des moisissures. En amont, une caractérisation du lot de grains de blé est réalisée. La contamination fongique présente sur les grains est quantifiée et les genres de ces moisissures sont identifiés.

La deuxième partie consiste à évaluer les effets du traitement plasma dans la dégradation de mycotoxines. Ces substances toxiques sont susceptibles d'être produites par certaines moisissures du blé et de nuire à la sécurité du consommateur. Cet aspect est abordé à travers la quantification du déoxynivalénol (DON) exposé au plasma MW.

La troisième partie permet de confirmer la préservation des propriétés des graines pour leur utilisation future. Le blé utilisé est destiné à la fabrication de pain, son taux d'humidité est évalué ainsi que les propriétés physico-chimiques de la farine (taux d'humidité et teneur en gluten). La possibilité de replanter une graine de blé est également envisagée à partir du taux de germination.

II.A. Détermination de l'efficacité fongicide du plasma

II.A.1. Caractérisation des contaminations fongiques natives des grains de blé

Une étude préliminaire à l'évaluation du procédé plasma dans la décontamination fongique des grains de blé sélectionnés pour la panification et cultivés dans une agriculture raisonnée est réalisée pour définir le champ d'action du plasma dans cette problématique.

Les graines de blé peuvent être soumises à des contaminations fongiques provenant du sol dans lequel elles sont cultivées tout comme de la réserve dans laquelle elles sont conservées. Les moisissures dégradent les graines, nuisent aux qualités nutritionnelles des aliments et peuvent contenir des mycotoxines nocives pour le consommateur (*cf.* Chapitre 1 – I.B). Les échantillons sélectionnés pour cette étude proviennent d'une agriculture raisonnée, limitée en intrants chimiques (*cf.* Chapitre 2 – II.A). Leurs contaminations fongiques natives et la teneur en mycotoxine DON sont quantifiées. Un taux de contamination suffisant permet d'étudier les effets du plasma directement sur les contaminations natives. Sinon, une contamination contrôlée est réalisée. Les genres de ces contaminants fongiques sont identifiés pour évaluer la sélectivité du traitement plasma en fonction des moisissures rencontrées dans le blé.

II.A.1.a. Détermination de la variété fongique présente dans les graines

II.A.1.a.i. Identification des genres par une analyse morphologique des moisissures

L'identification des genres de moisissures présentes sur les graines de blé est réalisée à partir des méthodes décrites dans le Chapitre 2 – II.B.2. Les genres retrouvés habituellement dans le blé et ses produits transformés [46] correspondent aux proportions les plus importantes identifiées dans ces échantillons (*Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.*). Leurs caractéristiques principales sont décrites dans le Chapitre 1 – I.B.1.b. En plus faible quantité, des moisissures des genres *Cladosporium spp.* et *Rhizopus spp.* sont également présentes. Une partie des moisissures présentes n'a pas encore été identifiée.

II.A.1.a.ii. Evaluation de la provenance de la contamination

Lors de cette étude, la moitié des échantillons a été mise en culture directement (contamination totale) tandis que l'autre moitié a subi une décontamination chimique de surface (contamination interne *cf.* Chapitre 2 – II.B.1). Cette séparation permet de distinguer le développement des moisissures initialement présentes en volume dans la graine, en provenance du sol, de celles présentes en surface, pouvant être issues du champ et de la zone de stockage.

Contamination interne – Une contamination de 60% est obtenue sur les graines dont la surface a été préalablement décontaminée chimiquement. Une isolation de 53% d'entre elles a été réalisée. Les proportions des genres de ces moisissures sont répertoriées dans le Tableau II-1.

Contamination totale – Une contamination de 100% est obtenue sur les graines non décontaminées chimiquement. Une isolation de 80% d'entre elles a été réalisée. Les proportions des genres de ces moisissures sont répertoriées dans le Tableau II-1.

Cette différence de proportion entre la contamination fongique interne et totale montre qu'il existe des contaminants de diverses provenances. La contamination interne est corrélée aux contaminants présents dans le sol, avec une majorité des genres *Fusarium spp.* et *Alternaria spp.* (35,8% et 22,6% respectivement). La contamination totale permet de relever une contamination de surface importante, en provenance de la chaîne de stockage, avec la présence des genres *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.* (27,5% et 6,3% respectivement).

Tableau II-1

Proportion des genres de moisissures natives des grains de blé : interne (décontamination chimique de la surface) et totale (sans décontamination préalable)

Genre	Contamination interne (%)	Contamination totale (%)
Fusarium spp.	35,8	16,3
Alternaria spp.	22,6	22,5
Penicillium spp.	0	6,3
Aspergillus spp.	0	27,5
Cladosporium spp.	3,8	1,3
Rhizopus spp.	1,9	3,8
Non identifiées	35,9	22,3

II.A.1.b. Estimation du taux de contamination native de l'échantillon de blé

II.A.1.b.i. Quantification de la contamination fongique totale du blé

La contamination fongique évaluée sur un échantillon de graines de blé (*cf.* Chapitre 2 – II.B.3) est estimée à $1{,}09.10^4 \pm 0{,}12.10^4$ UFC/g. Ce taux de contamination peut nuire à la conservation du stock si ce dernier est soumis à des conditions favorables à la prolifération des moisissures (*cf.* Chapitre 1 –I.B.1.a).

L'efficacité du plasma dans la décontamination fongique est évaluée dans le Chapitre 4 – II.A.2 à partir de ce taux de référence.

II.A.1.b.ii. Quantification de la concentration initiale de déoxynivalénol sur le blé

La concentration en déoxynivalénol (DON) dans un échantillon de blé est estimée par une analyse ELISA compétitive (*cf.* Chapitre 2 – II.C.1). Une concentration de 369±11 ng/g est obtenue sur la flore native des moisissures présentes sur l'échantillon de blé. Celle-ci est inférieure aux normes exigées par la législation Européenne (1250 ng/g) [243] garantissant la sécurité du consommateur. La faible teneur en DON ne permet pas d'évaluer l'efficacité du plasma dans la dégradation de la mycotoxine, celle-ci pouvant être en dessous des limites de détection après une exposition au plasma.

L'efficacité du plasma MW est déterminée à partir d'une quantité de DON connue avec une inoculation contrôlée réalisée sur différents substrats (*cf.* Chapitre 4 – II.B).

Les contaminants présents sur le blé sélectionné sont quantifiés et leurs principaux genres identifiés. Les moisissures des genres *Alternaria spp*. et *Fusarium spp*. sont les principaux contaminants de la graine dans le sol, elles sont présentes dans son volume total (respectivement : 22,5% et 16,3%). Celles des genres *Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*. sont davantage présentes en surface, représentantes des moisissures de la chaîne de stockage (respectivement : 27,5% et 6,3%). La contamination fongique totale d'un échantillon de graines est estimée à $1{,}09.10^4 \pm 0{,}12.10^4$ UFC/g. Cette valeur est la référence (le témoin) pour évaluer l'efficacité fongicide du plasma. La contamination en mycotoxine DON s'avère trop faible pour être utilisée comme témoin de la dégradation des molécules par plasma.

II.A.2. Inactivation des moisissures natives du blé par le procédé plasma

La contamination native s'avère suffisante pour permettre une évaluation des effets du procédé plasma dans la décontamination fongique des grains de blé.

L'efficacité fongicide du plasma est évaluée à partir d'une courbe de survie des moisissures en fonction du temps d'exposition. Les conditions opératoires ont été déterminées à partir de la caractérisation physique du plasma dans le Chapitre 3, pour les deux modes de génération du plasma envisagés : MW ou MW+RF.

II.A.2.a. Détermination des conditions opératoires

Les échantillons de blé sont soumis à différentes conditions opératoires afin de déterminer l'efficacité du plasma dans l'inactivation des moisissures (*cf.* Tableau II-2).

- L'efficacité fongicide du procédé est évaluée à partir d'une courbe de survie des moisissures en fonction de leur temps d'exposition à une condition opératoire fixée. La contamination présente sur l'échantillon traité est rapportée à celle contenue initialement sur un échantillon de blé témoin, non exposé dans le réacteur. L'écart logarithmique entre ces deux valeurs correspond à un pourcentage de survie des moisissures. Un écart de 1-log correspond à 90% de moisissures inactivées, 2-log en représente 99%, 3-log équivaut à 99,9%.
- Une étude paramétrique est effectuée en prenant en compte le mode de génération du plasma, la puissance injectée et le temps d'exposition de l'échantillon. Une condition de puissance est fixée pour chaque mode de génération du plasma. L'objectif étant d'inactiver les moisissures, la puissance injectée est maximisée. Cela favorise la production des espèces réactives et devrait augmenter leur potentiel d'action sur les moisissures.
- Un échantillon est exposé uniquement à la basse pression (*vide : 1 Pa*) pour vérifier si la déshydratation influence l'inactivation des moisissures. Le temps maximum utilisé dans les conditions en présence de plasma est sélectionné en considérant que si l'effet n'est pas significatif au temps le plus long, il n'y a pas d'effet à un temps plus court.

Tableau II-2

Conditions opératoires pour l'évaluation de l'efficacité fongicide du procédé plasma

Condition de traitement	Temps d'exposition
Témoin non exposé	-
Vide : 1 Pa	90 min
MW 150 W	15 – 30 – 45 – 60 – 90 min
MW 150 W + RF 100 W	15 – 30 – 45 – 60 – 90 min

II.A.2.b. Evaluation de l'efficacité du plasma

La courbe de survie des moisissures est présentée sur la Figure II-1.

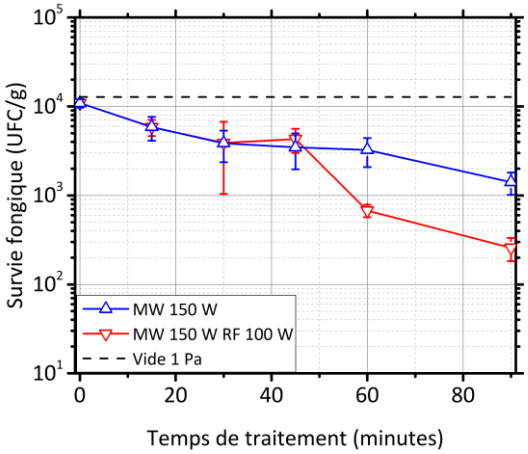


Figure II-1 Survie des moisissures natives du blé après exposition aux conditions opératoires

Effets du plasma MW – L'exposition des moisissures au plasma MW permet d'atteindre 1-log de réduction fongique dans les graines après 90 minutes. Cette décroissance est progressive, répartie en trois phases présentant des cinétiques différentes. La première phase est plutôt rapide, avec une inactivation de 65% des moisissures au bout de 30 minutes de traitement. La deuxième phase constitue un palier, évoluant lentement (10% d'inactivation en 30 min). La troisième phase présente à nouveau une accélération de la décroissance de la survie des moisissures, menant à l'inactivation de 90% d'entre elles au bout de 90 minutes.

Effets du plasma MW+RF – La décroissance logarithmique de la survie des moisissures suit celle du plasma MW pendant 45 minutes. A partir de là, l'inactivation des moisissures est accélérée en présence de la source RF-CCP, menant à une réduction fongique de 1,5-log en 90 minutes.

Effet du vide – L'exposition des moisissures à un vide de 1 Pa pendant 90 minutes n'a aucune incidence sur la quantité de moisissures présentes dans les graines.

Plusieurs études de décontamination fongique de la flore native de grains de blé par plasma sont recensées dans la littérature. Los *et al*. [147] obtiennent 2,5-log de réduction après une exposition de 20 minutes à un plasma d'air à la pression atmosphérique généré par une source DBD. Zahoranova *et al*. [145] observent une inactivation totale des moisissures du blé de différentes espèces inoculées : *Fusarium nivale* en 1,5 minutes et *Aspergillus flavus* en 4 minutes. Leur plasma est généré par une décharge DBD coplanaire à diffusion en surface. Selcuk *et al*. [154] ont inactivé par un plasma RF-ICP, à basse pression dans de l'air, des moisissures des genres *Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*. inoculées sur des grains de blé. Ils obtiennent 3-log de réduction en 20 minutes de traitement. La cinétique de décroissance de la survie des moisissures est évaluée pour ce procédé RF-ICP dans le cadre de la décontamination d'oléagineux par Basaran *et al*. [155]. Ils observent également une décroissance en trois phases de la survie des moisissures sur ces oléagineux contaminés par des *Aspergillus parasiticus*. A pression atmosphérique, le champ électrique est généralement plus important qu'à basse pression. Celui-ci peut alors entraîner une électroporation irréversible des membranes cellulaires conduisant à une inactivation plus rapide des micro-organismes. Les sources RF-ICP entraînent des densités électroniques importantes susceptibles d'accélérer le phénomène d'érosion de surface par les ions.

Actions possibles des agents du plasma – Les mécanismes d'interaction entre un plasma d'air à basse pression et des micro-organismes pouvant être responsables de cette décroissance en trois phases ont été proposés par Moisan *et al*. [136] (*cf*. Chapitre 1 – IV.A.2). Leur étude consistant à analyser les actions potentielles des UV et des RONS dans le processus de décontamination d'un substrat est comparée aux résultats présentés sur la Figure II-1. Ces deux catégories d'espèces (UV et RONS) sont produites par les plasmas d'air générés dans les configurations *MW-ECR seule* ou *MW-ECR + RF-CCP*.

- La première phase présentée par Moisan *et al*. repose sur l'effet privilégié des UV qui inactivent les cellules en modifiant directement l'ADN. Les rayonnements UV émis dans les deux configurations correspondent essentiellement aux émissions du monoxyde d'azote NO. Le processus d'action des UV est plus rapide dans l'inactivation cellulaire que celui des RONS, ces derniers réalisant une érosion de la membrane des cellules.
  - Dans l'étude de Moisan *et al*., les micro-organismes sont directement exposés au plasma, sur un substrat plan, cette première phase d'inactivation est alors efficace et rapide.

- Dans cette thèse, les contaminants fongiques sont présents sur des substrats agro-alimentaires tels que des grains de blé, la surface tridimensionnelle contient différents creux et des aspérités dans lesquels les moisissures peuvent se loger. La décontamination d'un substrat par les UV est de faible portée spatiale, limitée par les obstacles pouvant être présents entre le rayonnement UV et l'ADN de la moisissure à inactiver. Un phénomène d'ombrage, causé soit par les aspérités du grain, soit par la répartition en multicouches des moisissures sur le grain, peut alors réduire l'effet des UV [244]. Cette contrainte est probablement responsable d'une inactivation moins efficace et lente des moisissures présentes sur les grains de blé.

- Les RONS s'associent aux UV dans la deuxième phase, réalisant un « nettoyage » des débris cellulaires des couches supérieures et érodant les membranes cellulaires pour faciliter l'accès aux UV. Cette région présente une inactivation ralentie des micro-organismes tant que leur ADN n'est pas atteint par les UV. Les émissions des espèces réactives de l'air (N_2, N_2^+, O et NO) sont intensifiées en présence des deux sources aux conditions sélectionnées pour le traitement des grains de blé. L'oxygène atomique O peut contribuer à une érosion des membranes mais il n'est pas nécessairement responsable de l'ensemble du processus, s'il a lieu, celui-ci étant présent en faible quantité dans les deux conditions.
- Une troisième phase peut apparaître si la décontamination du substrat n'est pas totale à la fin de la deuxième. Les UV poursuivent l'inactivation des cellules, les RONS ayant libéré l'accès vers l'ADN.
  - En utilisant la source MW-ECR seule, les émissions des espèces réactives, dans le visible et dans l'UV, sont faibles au niveau de la grille. La position de celle-ci est éloignée de la zone de RCE correspondant à leur région de formation (*cf.* Chapitre 3 – I.B.3).
  - En présence des deux sources, les intensités des émissions sont augmentées (*cf.* Chapitre 3 – II.A). Ce phénomène est particulièrement marqué pour les émissions de N_2 et NO. En présence de la source RF-CCP, ces deux espèces peuvent également être produites dans le volume, par des collisions neutre-neutre. Les densités de ces espèces augmentent alors par rapport au cas étudié pour la source MW-ECR seule. L'intensification des émissions de NO peut expliquer, en partie, l'augmentation de l'efficacité du plasma dans la troisième phase d'inactivation des moisissures.

En complément, la contribution des espèces chargées doit être envisagée. La composante ionique du plasma n'est observée par SEO que pour les ions N_2^+, ne présentant pas une intensité importante au niveau de la zone de traitement. La densité électronique peut être utilisée en considérant qu'elle est à l'image du flux d'ions incident sur la surface des graines. Quel que soit le mode de génération sélectionné, la densité électronique est élevée ($1{,}1.10^{16}$ m^{-3}) dans la zone de traitement. Les ions qui s'accumulent au niveau de la membrane des cellules peuvent entraîner une différence de potentiel suffisante pour engendrer la rupture de leur membrane.

Ces hypothèses n'ont pas encore été vérifiées. Une observation au microscope électronique à balayage (MEB) permettrait de déterminer deux éléments : l'effet d'ombrage causé par les aspérités de la surface d'un grain de blé et l'érosion de la membrane des moisissures. Une étude précédente [245] a consisté à mettre en évidence l'inactivation de spores de bactéries (*Bacillus spp.*) inoculées sur des substrats de verre exposés à un plasma d'air généré par la source MW-ECR à 1 Pa. Le décompte des colonies formées sur un milieu de culture solide montre que l'inactivation des spores bactériennes est plus importante et plus rapide. Une réduction jusqu'à 5-log est atteinte après 10 minutes d'exposition pour la souche *B. atrophaeus*,

dont 3-log en 1 minute. Les surfaces des spores observées au MEB (modèle Quanta 250 FEG du CMEAB, Toulouse) présentent des marques d'érosion pour les échantillons exposés 10 minutes au plasma alors que ceux traités 1 minute ne présentent aucune modification de surface (*cf.* Figure II-2). Ces résultats sont cohérents avec la cinétique d'inactivation proposée par Moisan *et al*. Dans la première minute, l'inactivation par les UV n'engendre pas de dommages membranaires sur les spores, ces derniers apparaissent après une plus longue exposition, 10 minutes dans ce cas, correspondant à la synergie des RONS et des UV engagée dans une seconde phase d'inactivation des spores.

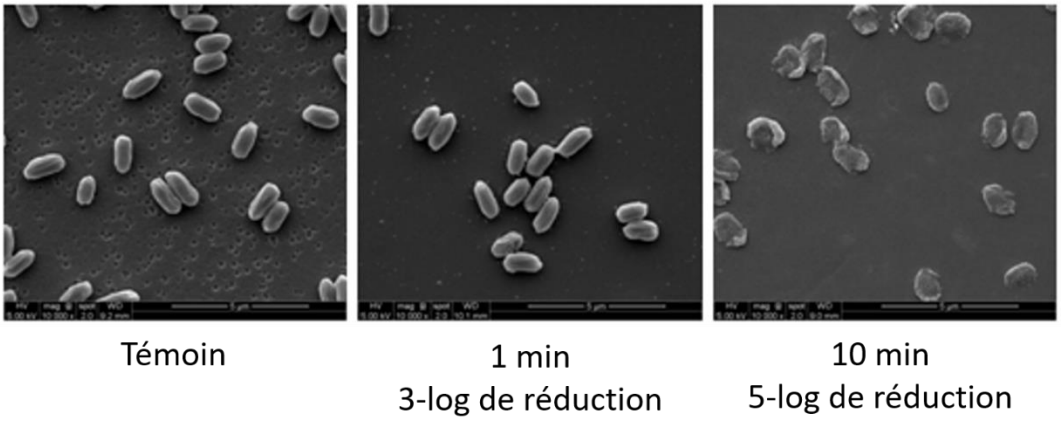


Figure II-2 Images de microscopie électronique à balayage réalisées sur les spores de B. atrophaeus *exposées à la source MW-ECR à 150 W*

La conservation des grains de blé non traités chimiquement peut être améliorée par le procédé plasma étudié. L'efficacité du plasma dans l'inactivation des moisissures est avérée dans les deux configurations (plasma MW : 1-log ; plasma MW+RF : 1,5-log). L'ajout de la source RF-CCP implique une densité plus importante des UV et des RONS, susceptibles d'avoir accentué la décroissance par rapport à l'utilisation de la source MW-ECR seule.

II.B. Détermination de l'efficacité détoxifiante du plasma MW

La capacité du plasma MW à dégrader les mycotoxines que peuvent produire certaines de ces moisissures est étudiée. La teneur en déoxynivalénol (DON) sur le blé sélectionné s'avère faible (369±11 ng/g – *cf.* Chapitre 4 – II.A.1.b.ii) pour évaluer les effets du plasma directement sur celle-ci. L'étude de l'efficacité détoxifiante du plasma MW est alors effectuée en deux temps, permettant également de déterminer l'influence du substrat lors de la décontamination fongique par plasma (*cf.* Chapitre 2 – II.C.3). Une première étude est réalisée avec un substrat inerte chimiquement, plan, en verre afin de valider l'action du plasma MW dans la dégradation de la toxine. La deuxième étude situe le procédé dans le contexte agroalimentaire avec l'évaluation de la source MW-ECR pour la dégradation des DON appliqués sur des grains de blé. La comparaison de ces deux études met en avant l'importance de l'effet de matrice du substrat à détoxifier. Le protocole décrit dans le Chapitre 2 – II.C.3 modifierait les conditions de traitement en présence de la source RF-CCP, la dégradation de DON engendrée par l'association des deux sources n'a donc pas été étudiée.

II.B.1. Détermination des conditions opératoires

Dégradation du DON sur un substrat de verre – Les échantillons sont soumis aux conditions de traitement plasma présentées dans le Tableau II-3. L'efficacité de la source MW-ECR est évaluée par comparaison entre la teneur en toxine après un traitement plasma et celle présente dans un échantillon témoin non exposé dans le réacteur. La puissance MW sélectionnée correspond à celle utilisée dans l'étude de l'inactivation des moisissures. La cinétique de dégradation de la molécule est abordée en fonction du temps d'exposition au plasma MW pour les échantillons sur substrat de verre. La durée maximale de 90 minutes correspond à une inactivation des moisissures natives des grains de blé de 1-log.

Tableau II-3

Conditions opératoires pour l'évaluation de la dégradation de la mycotoxine DON par la source MW-ECR

Condition de traitement	Temps d'exposition
Témoin non exposé	-
MW 150 W	5 – 15 – 30 – 60 – 90 min

Dégradation du DON sur un grain de blé – La mesure à 60 minutes est ensuite retenue pour évaluer l'efficacité du plasma sur le substrat de blé, compte-tenu des résultats obtenus sur le verre et de l'effet de matrice envisagé.

II.B.2. Evaluation de l'efficacité détoxifiante de la source MW-ECR

Dégradation du DON sur un substrat de verre – La Figure II-3 montre la teneur en mycotoxine DON présente sur un substrat de verre, sans traitement (0 min) ou avec une exposition directe au plasma généré par la source MW-ECR. Une concentration de 245,1±33,1 ng/ml de DON est mesurée pour le témoin sur substrat de verre. La dégradation est rapide et efficace dès les 5 premières minutes d'exposition au plasma, la teneur est inférieure à la limite de détection du test (6,1±2,1 ng/ml). Elle est ensuite constante jusqu'à 90 minutes, ce temps correspondant à une réduction de 1-log des moisissures natives du blé.

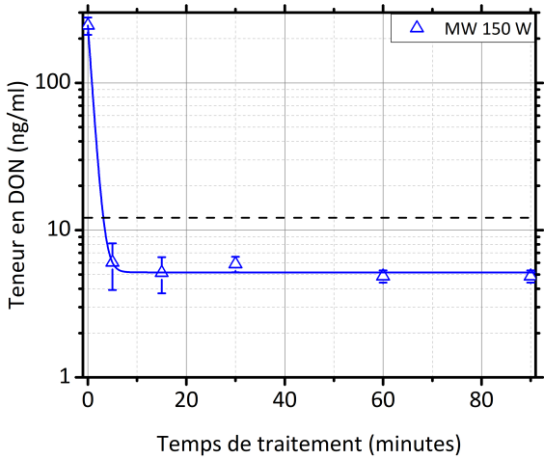


Figure II-3 Dégradation par le plasma MW de la mycotoxine DON présente sur un substrat de verre – limite de détection (pointillés)

Park *et al*. [246] ont été parmi les premiers à avoir exposé des mycotoxines au plasma. Leur étude est basée sur l'analyse des effets d'un plasma d'argon généré par des micro-ondes à la pression atmosphérique dans la dégradation de mycotoxines à portée agroalimentaire, dont le déoxynivalénol. L'efficacité du plasma dans leur cas est évaluée en appliquant différentes mycotoxines sur un substrat de verre. La dégradation totale de chaque mycotoxine est obtenue dès 5 secondes d'exposition au plasma. En complément, les auteurs ont vérifié la corrélation entre la présence de la mycotoxine et les effets cytotoxiques observés sur des cellules animales, les mycotoxines étant réputées pour leurs effets néfastes sur la santé du consommateur. Dans leur étude, ils montrent que les effets cytotoxiques s'arrêtent lorsque la mycotoxine est dégradée. Le plasma présente alors un effet détoxifiant.

Sakudo *et al*. [247] ont exposé des aflatoxines AFB1 inoculées sur un substrat de verre à un plasma d'azote pur à 0,5 atm (50 kPa) généré par un thyristor à induction statique. Les AFB1 possèdent une structure qui contient des cycles aromatiques au même titre que le DON et de nombreuses insaturations (*cf*. Chapitre 1 – I.B.2.a). Plusieurs techniques d'analyse sont employées pour mettre en avant la dégradation de la mycotoxine. Deux tests de réponse immunitaire, dont une analyse enzymatique ELISA, sont réalisés en premier lieu pour déterminer de manière quantitative l'évolution de la concentration de AFB1 en fonction du temps de traitement (0, 15, 30 min). L'analyse ELISA montre une réduction de la teneur en AFB1 supérieure à 90% après une exposition au plasma de 15 minutes. Une analyse HPLC est effectuée en complément afin d'évaluer la dégradation de la mycotoxine. La présence de sous-produits à des temps de rétention différents suggère une dégradation de la mycotoxine dépendante du temps d'exposition au plasma, en corrélation avec les mesures quantitatives.

Dégradation du DON sur un grain de blé – La teneur en DON native sur le blé s'étant avérée faible (369±11 ng/g), une concentration volontaire est appliquée pour étudier l'efficacité du plasma MW. Le témoin présente une concentration de 1161±77 ng/g de DON. Une exposition au plasma MW pendant 60 minutes, réduit cette concentration à 627±55 ng/g (*cf*. Tableau II-4).

Tableau II-4

Dégradation par le plasma MW de la mycotoxine DON présente sur un lot de grains de blé

Echantillon	Teneur en DON (ng/g)
Témoin non exposé	1161±77
MW 150 W 60 min	627±55

Devi *et al*. [156] ont évalué l'efficacité d'un plasma d'air à 20 Pa généré par une source RF-CCP dans l'inactivation de moisissures du genre *Aspergillus spp*. (*A. flavus* et *A. parasiticus*) et dans la dégradation d'aflatoxines contaminant des graines d'arachides. Les moisissures sont inoculées artificiellement sur les graines. La concentration en aflatoxines est évaluée par une analyse HPLC à détecteur de fluorescence après 5 jours d'incubation à 30°C des échantillons, témoin et exposés au plasma dans les conditions permettant de maximiser l'inactivation des moisissures. Quatre aflatoxines sont identifiées sur les échantillons. L'efficacité du plasma dans la réduction de leur concentration est avérée quelles que soient les conditions plasma et les souches fongiques. Leurs résultats sont cohérents avec ceux de Basaran

et al. [155] après 20 minutes de traitement par un plasma d'air à 67 Pa généré par une source RF-ICP. Ces derniers vérifient également la réduction de la concentration totale en aflatoxines présentes sur des arachides. Ils obtiennent une diminution de 50% de la teneur du témoin.

Kriz *et al*. [248] ont étudié les effets d'un plasma micro-ondes généré à 100 Pa dans de l'air. Ils mettent en évidence la diminution de la teneur en DON sur des grains d'orge exposés au plasma entre 0 et 5 minutes. Une réduction supérieure à 50% est obtenue dès 50 secondes.

Mise en évidence de l'effet matrice du substrat – Les extraits de la littérature présentés dans les deux sections précédentes suggèrent que l'efficacité des traitements plasmas, quels qu'ils soient, est plus importante dans la réduction de la teneur en mycotoxines présentes sur des substrats de verre (> 90%) que sur des graines (≃ 50%).

Ces constats réalisés pour des plasmas, des graines, des moisissures et des mycotoxines aux propriétés différentes sont corrélés aux résultats obtenus dans cette thèse. L'efficacité du plasma MW dans la dégradation du DON est avérée dans les expériences précédentes. La nature du substrat influence la qualité de la dégradation opérée par le plasma, une réduction de 98% de la concentration de DON est obtenue sur le substrat plan en verre contre 50% sur le blé (*cf*. Figure II-4). Cette observation met en évidence l'effet de matrice du substrat. Le substrat de verre est plan et inerte chimiquement tandis que le grain de blé présente une structure tridimensionnelle avec des aspérités et des creux en surface.

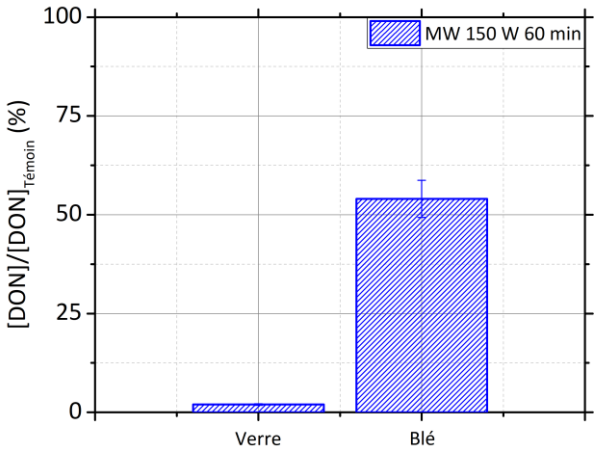


Figure II-4 Effet de matrice lors de la dégradation de la mycotoxine DON par le plasma MW

Bosch *et al*. [158] ont réalisé une étude complémentaire à celle-ci en évaluant les effets d'un plasma d'air généré par une DBD à la pression atmosphérique dans la dégradation de mycotoxines produites par des moisissures des genres *Fusarium spp*., *Aspergillus spp*. et *Alternaria spp*. sur un substrat de verre et sur des grains de riz. Le plasma, appliqué entre 0 et 1 minute, entraîne une diminution de la teneur relative en mycotoxine quelle que soit la toxine et quel que soit le substrat.

- L'influence de la structure chimique de la mycotoxine (présence d'insaturations ou de ramifications) est évaluée sur les substrats de verre. Celle-ci influe sur la vitesse d'action du plasma dans les 20 premières secondes du traitement. Par exemple, la diminution de la teneur

en DON est totale au bout de 20 secondes alors que celle de la fumonisine FB1 est totale en 10 secondes. Les énergies de liaison entre les atomes augmentent avec le nombre d'insaturations (cycles ou liaisons multiples). Il est alors plus simple de rompre les liaisons dans une molécule linéaire, sans insaturation et non ramifiée telle que la FB1 que dans le cas de molécules complexes, présentant des insaturations telle que le DON.

- L'évaluation de l'effet de matrice est réalisée pour quatre mycotoxines du lot en comparant les résultats précédents avec ceux obtenus sur les grains de riz. L'effet de matrice dépend de la mycotoxine : la dégradation de deux d'entre elles est seulement ralentie mais effective à 60 secondes tandis que la dégradation de la fumonisine présente une évolution différente, elle n'est réduite qu'à 50% en 60 secondes.

Les agents d'un plasma d'air pouvant être responsables de la dégradation des mycotoxines sont discutés par Bosch *et al*. [158] à pression atmosphérique et par Wang *et al*. [249] pour un procédé RF-CCP à basse pression (15 Pa – 300 W – 10 min) dans la dégradation de l'aflatoxine AFB1. Le plasma cause la rupture des liaisons carbone entraînant la fragmentation de la mycotoxine. Les sous-produits identifiés par spectrométrie de masse peuvent être générés par deux voies chimiques : la première engage l'action des UV du plasma tandis que la deuxième met en avant le rôle des ROS (OH et O). L'action des UV pourrait être privilégiée dans le cas de la dégradation du DON par le plasma MW étant donné l'effet de matrice observé. Les UV pénétrant peu dans la matière organique, s'ils sont acteurs de la dégradation des molécules, une exposition directe du composé est nécessaire. Hojnik *et al*. [159] ont évalué les effets d'une lampe UV-C à 254 nm dans la dégradation de DON. Ils constatent une dégradation de 50% du DON appliqué sur des substrats de verre au bout de 80 minutes d'exposition aux UV avec une cinétique de dégradation linéaire. La dégradation entraînée par une lampe UV-C est moindre que celle obtenue par un plasma, les RONS contribuent efficacement à la dégradation des mycotoxines. Les mesures réalisées ne permettent pas de définir le mécanisme privilégié dans le cas des plasmas MW et MW+RF générés.

L'efficacité du plasma MW est avérée dans la diminution de la teneur en déoxynivalénol, associée à sa détoxification, quel que soit le substrat contaminé. Le traitement est plus performant lorsque le substrat est plan et inerte chimiquement (verre : 98%) que lorsqu'il s'agit d'un grain de blé (50%). Cette observation met en évidence l'importance du substrat à travers son effet de matrice et suggère que les RONS et les UV du plasma agissent ensemble pour permettre la dégradation du DON.

II.C. Détermination des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé

Cette étude est complétée par la vérification des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé, liées à son utilisation future. Deux conséquences annexes au traitement plasma dans le cadre de la décontamination fongique de grains de blé sont alors envisagées. Le premier effet consiste à évaluer la conservation du taux d'humidité et de la teneur en gluten permettant d'assurer la qualité du pain. Le deuxième concerne l'évaluation du taux de germination pour envisager de semer ces graines dans le cadre d'une agriculture plus raisonnée.

II.C.1. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés de panification

Les procédés thermiques étudiés jusque-là pour la dégradation des mycotoxines présentent une efficacité avérée également dans la décontamination fongique des céréales mais entraînent la détérioration des qualités nutritionnelles ou organoleptiques des aliments [250], [251]. La vérification de la préservation des propriétés intrinsèques du blé assurant la qualité du pain est nécessaire à la validation du procédé plasma pour le traitement des grains de blé. Ces propriétés sont évaluées à travers le taux d'humidité dans les grains et dans la farine ainsi que la teneur en gluten de la farine.

II.C.1.a. Détermination des conditions opératoires

Les échantillons sont soumis aux conditions de traitement présentées dans le Tableau II-5. Celles-ci correspondent aux conditions de traitement ayant permis d'obtenir la décroissance logarithmique maximale des moisissures contaminant les grains de blé avec chaque mode de génération du plasma, soit 90 minutes. Si les propriétés intrinsèques du blé sont conservées dans ces conditions, alors elles sont considérées conservées pour des temps plus courts et des puissances injectées plus faibles. Un échantillon non exposé sert de référence et un échantillon est exposé au vide à 1 Pa pendant 90 minutes pour assurer que la basse pression n'intervienne pas dans le processus si un effet du plasma est observé.

Tableau II-5

Conditions opératoires pour l'évaluation des effets du plasma sur les propriétés intrinsèques du blé

Condition de traitement	Temps d'exposition
Témoin non exposé	-
Vide : 1 Pa	90 min
MW 150 W	90 min
MW 150 W + RF 100 W	90 min

II.C.1.b. Quantification du taux d'humidité dans les grains et dans la farine

Le taux d'humidité est évalué dans les grains et dans la farine à partir de deux méthodes différentes reposant sur une déshydratation thermique de l'échantillon (*cf.* Chapitre 2 –II.D.1).

Les échantillons témoins présentent un taux d'humidité des grains de 2,07±0,55% et un taux d'humidité de la farine de 10,71±0,19%. Le volume d'un grain de blé étant plus important que celui d'un grain de farine, la dessiccation thermique est plus facile à réaliser pour les échantillons sous forme de farine, entraînant un taux d'humidité plus élevé.

Un traitement plasma à basse pression est susceptible de déshydrater le grain de blé. Le faible taux d'humidité initial estimé sur les grains de blé et la limite de détection du dessiccateur ne permettent pas de quantifier la déshydratation engendrée par le traitement plasma directement sur les grains. Le taux d'humidité de la farine du blé, dont les grains sont broyés après le traitement, est utilisé pour évaluer ces effets (*cf.* Figure II-5). Une exposition des grains de blé à la basse pression entraîne une légère diminution du taux d'humidité de la farine (-1%).

Les traitements plasma réduisent ce taux, de 2% pour la source MW-ECR seule et de 4% lors de l'association des deux sources.

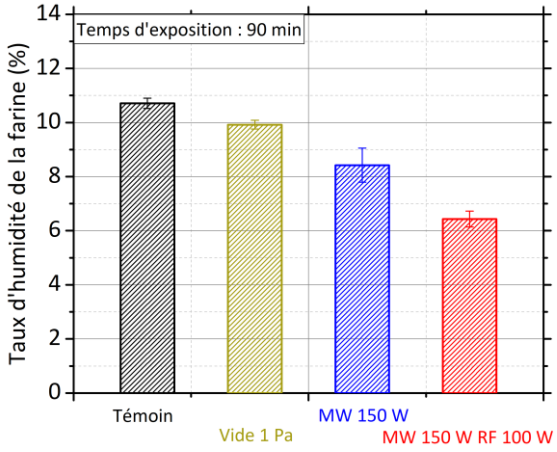


Figure II-5 Taux d'humidité présente dans la farine après broyage des grains de blé

En complément de la diminution de la quantité de molécules par la basse pression, les plasmas peuvent réduire la teneur en eau présente dans les grains par différents processus liés à leur composition. Les plasmas génèrent des espèces chargées et des RONS susceptibles de perméabiliser ou d'éroder la surface des graines (*cf.* Chapitre 1 – IV.A.2). Par exemple, une perméabilisation de la surface de grains de blé est déterminée par Bormashenko *et al.* [252]. Les grains sont exposés à un plasma d'air généré par une source RF-CCP à $6{,}7.10^{-2}$ Pa moins de 2 minutes. Ces phénomènes de surface peuvent alors entraîner une libération des molécules d'eau conservées dans le volume de la graine. Leur production étant favorisée en présence de la source RF-CCP (*cf.* Chapitre 3 – II.A.2), la réduction du taux d'humidité est plus importante pour cette dernière condition. La déshydratation par le plasma des grains de blé destinés à la panification peut être un atout supplémentaire pour la conservation des grains et de la farine dans les zones de stockage. De Lucia *et al.* [253] ont évalué la durée d'entreposage des céréales en fonction du taux d'humidité et de la température de la réserve. Ils constatent que pour une température de 20°C, un taux d'humidité de 13% permet de conserver les grains de blé pendant 180 jours, contre 50 jours à 15% et 35 jours à 17%. Une diminution du taux d'humidité de 4% permet alors de conserver les céréales 145 jours de plus. Cette modification de la composition du grain nécessitera un apport d'eau supplémentaire au moment de la transformation de la farine en produit consommable.

II.C.1.c. Evaluation de la teneur en gluten de la farine

La teneur en gluten humide de l'échantillon témoin de blé est estimée à 33,73±1,48% et celle en gluten sec à 12,56±0,44% à partir de la méthode présentée dans le Chapitre 2 –II.D.2. Ces résultats sont cohérents avec ceux présents dans différentes farines de blé et représentatifs de la qualité de levée du pain [254], [255].

Les échantillons exposés au vide ou aux conditions de plasma ne présentent pas de modification significative de la teneur en gluten, humide ou sec (*cf.* Figure II-6).

Selcuk *et al*. [154] ont réalisé des observations similaires en évaluant le taux de gluten humide (35,4 g/kg) dans la farine issue de grains de blé témoins et traités par un procédé plasma RF-ICP à basse pression dans de l'air.

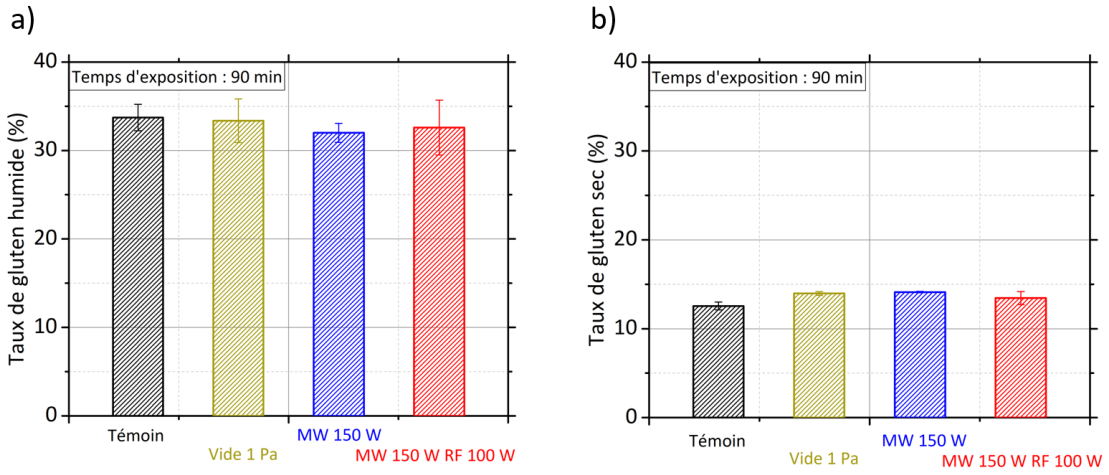


Figure II-6 Teneur en gluten présent dans la farine de blé : a) Taux de gluten humide b) Taux de gluten sec

Les traitements plasma réalisés pour la décontamination fongique des grains de blé entraînent une déshydratation des grains et donc de la farine. Ce phénomène est utile à la conservation du produit avant sa transformation. L'exposition au plasma dans les conditions présentées n'engendre pas de modification significative sur la teneur en gluten, sec ou humide, suggérant une qualité du pain assurée.

II.C.2. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés germinatives du blé

La dernière partie de cette étude consiste à vérifier le taux de germination des grains de blés traités dans les conditions précédentes (*cf*. Chapitre 4 – II.C.1.a) afin d'envisager une culture sur plusieurs générations, dans un souci d'agriculture raisonnée.

La Figure II-7 montre qu'il n'y a pas d'influence du plasma sur le taux de germination des grains de blé évalué à 7 jours selon les normes de l'AOSA (*cf*. Chapitre 2 – II.D.3). Les échantillons témoins et exposés présentent un taux de germination moyen de 96,5%.

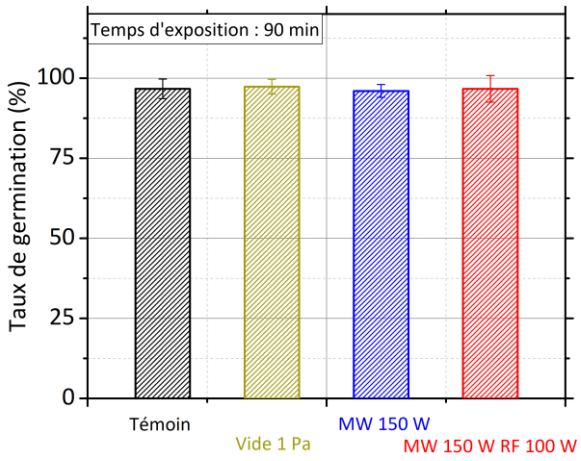


Figure II-7 Taux de germination à 7 jours du blé

Le traitement plasma ne modifie pas le taux de germination du blé et laisse la possibilité à l'agriculteur de planter une semence issue de son champ d'une année sur l'autre.

Les céréales issues d'une agriculture raisonnée, dont la production est réduite en intrants chimiques telles que les blés employés pour la panification étudiés sont plus facilement soumis aux attaques d'agents extérieurs comme des moisissures. Cette étude a relevé une contamination fongique native de l'ordre de 10^4 UFC/g de blé. L'identification des genres de moisissures présentes a mis en avant les contaminants provenant du champ (60%) et ceux issus de la zone de stockage (40%). Le procédé plasma, basé sur deux modes de génération, s'est avéré efficace dans la décontamination fongique de la flore native totale. La source MW-ECR permet une réduction de la survie des moisissures en 90 minutes de traitement de 1-log, expliquée par l'action synergique des espèces du plasma (chargées, UV et RONS). En présence de la source RF-CCP, la production des espèces excitées étant augmentée, l'inactivation des moisissures est améliorée avec une réduction de leur survie à 90 minutes de 1,5-log.

Les contaminants fongiques étant susceptibles de produire des mycotoxines ayant des effets délétères pour le consommateur, la source MW-ECR est également évaluée pour ses capacités de dégradation de ces molécules. L'efficacité du plasma a été mise en évidence en exposant du déoxynivalénol inoculé sur un substrat plan en verre et sur un substrat volumique de blé. La différence de réduction de la concentration en DON sur chaque substrat (98% sur le verre contre 50% sur le blé) a révélé un effet de matrice du substrat dans le processus de dégradation du DON par le plasma, suggérant une dégradation conjointe des RONS et des UV.

Les propriétés intrinsèques du blé traité ont été vérifiées afin d'assurer sa transformation en pain et d'envisager la possibilité de le reproduire pour une agriculture plus raisonnée. Le traitement plasma n'engendre pas d'effet secondaire nuisible à ces deux applications. La teneur en gluten et le taux de germination sont conservés après exposition des grains au plasma.

L'étude sur les grains de blé a montré une conservation du taux de germination après une exposition au plasma pour des graines présentant un taux de germination proche de 100%.

III. Effets du plasma dans la germination des semences de poivron

L'optimisation du rendement des cultures est la problématique centrale de l'industrie agroalimentaire. L'agriculture intensive (les cultures à grande échelle, l'irrigation et l'usage d'intrants chimiques), productive depuis les années 1950, atteint ses limites en termes de ressources des sols. Elle présente des effets négatifs pour la biodiversité et pour la santé humaine. Parmi les pratiques en cours de développement, les semences paysannes possèdent des avantages certains pour le consommateur, avec des produits de haute qualité nutritive ; pour l'agriculteur, au centre du circuit de production et pour la biodiversité. Les faibles taux de germination obtenus actuellement limitent tout de même leur rendement. Cette étude consiste à évaluer les effets du procédé plasma dans l'amélioration des propriétés germinatives de semences paysannes de poivron. L'évolution des différentes espèces composant le plasma d'air est décrite dans le Chapitre 3. Ces espèces sont mises en jeu dans les processus naturels de germination et de dormance des semences. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) peuvent notamment influer sur la proportion des hormones régulatrices de la levée de dormance, permettant d'initier la germination des semences.

La première partie de cette étude consiste à évaluer l'efficacité du procédé plasma, généré soit par la source MW-ECR seule, soit par l'association des deux sources, dans la germination des semences de poivron. Une étude paramétrique est réalisée en fonction de la puissance injectée et du temps d'exposition des graines au plasma.

La deuxième partie met en avant les effets de ces plasmas sur les propriétés intrinsèques des graines à travers l'évaluation de leur taux d'humidité, de la perméabilité de leur membrane et de leur teneur en antioxydants en fonction des conditions d'exposition au plasma.

III.A. Conditions de traitement des semences

Les conditions opératoires extraites de l'étude paramétrique physique des plasmas sont mises en œuvre pour déterminer l'efficacité du procédé plasma dans la germination des semences de poivron et pour appréhender les mécanismes d'interaction entre les agents du plasma et les graines (*cf.* Tableau III-1).

- Une étude paramétrique est effectuée en prenant en compte le mode de génération du plasma, la puissance injectée et le temps d'exposition de l'échantillon. Une condition de puissance dans chaque régime est sélectionnée pour la source MW-ECR et la puissance RF ajoutée est fixée à 100 W compte-tenu des observations réalisées lors de l'étude physique des plasmas.
- Un échantillon témoin, non exposé dans le réacteur est utilisé comme référence pour évaluer l'efficacité des traitements réalisés avec le procédé plasma.

Tableau III-1

Conditions opératoires pour l'évaluation du procédé dans l'amélioration du rendement des cultures

Condition de traitement	Temps d'exposition
Témoin non exposé	-
MW 50 – 100 – 150 W	5 – 15 – 30 – 45 min
MW 50 W + RF 100 W	5 – 15 – 30 – 45 min
MW 100 W + RF 100 W	5 – 15 – 30 – 45 min

III.B. Détermination de l'efficacité du plasma dans le processus de germination

III.B.1. Evaluation des effets du plasma sur la viabilité des semences

Une étude préliminaire est réalisée pour vérifier la viabilité des semences soumises aux différentes conditions de traitement. Celle-ci consiste à relever la présence de dioxygène dans la graine, par réaction avec des sels de tétrazolium (*cf.* Chapitre 2 – III.B.1.a).

La Figure III-1 montre que plus de 90% des graines sont viables, quelles que soient les conditions opératoires mises en œuvre.

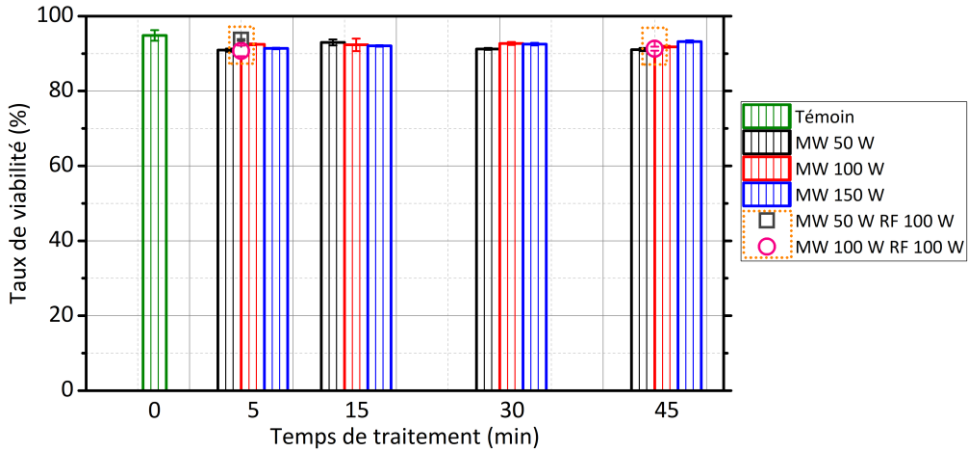


Figure III-1 Taux de viabilité des semences de poivron exposées au plasma

Les traitements n'ayant pas engagé la viabilité des semences, ces conditions sont réemployées dans la suite de cette étude pour évaluer les effets du plasma dans la germination des semences.

III.B.2. Evaluation des effets du plasma sur les propriétés germinatives des semences

Une étude paramétrique en fonction du mode de génération du plasma, de la puissance injectée et du temps d'exposition est réalisée afin d'appréhender les effets du procédé plasma sur la germination des semences de poivron. Ces propriétés germinatives des semences sont évaluées à partir de deux grandeurs extraites d'une même expérience (*cf.* Chapitre 2 – III.B.1.b). Le taux de germination moyen correspond à la proportion finale de graines germées par rapport à un lot donné. Dans le cas des poivrons, il est considéré stable pour être décompté à 14 jours par l'AOSA [211]. La vitesse de germination est établie par le nombre de graines germées chaque jour.

III.B.2.a. Evaluation des effets du plasma sur le taux de germination à 14 jours

La Figure III-2 représente l'évolution des taux de germination obtenus à 14 jours post-traitement dans différentes conditions opératoires de puissance en fonction du temps d'exposition des graines au plasma (entre 0 et 45 minutes). Elle est décomposée en deux figures, permettant de mettre en avant les effets d'un traitement par la source MW-ECR seule (*cf.* Figure III-2a) ou par l'association des deux sources (*cf.* Figure III-2b).

Le taux de germination des échantillons témoins est estimé à 75±10%, cohérent avec celui donné par le fournisseur (76±5%).

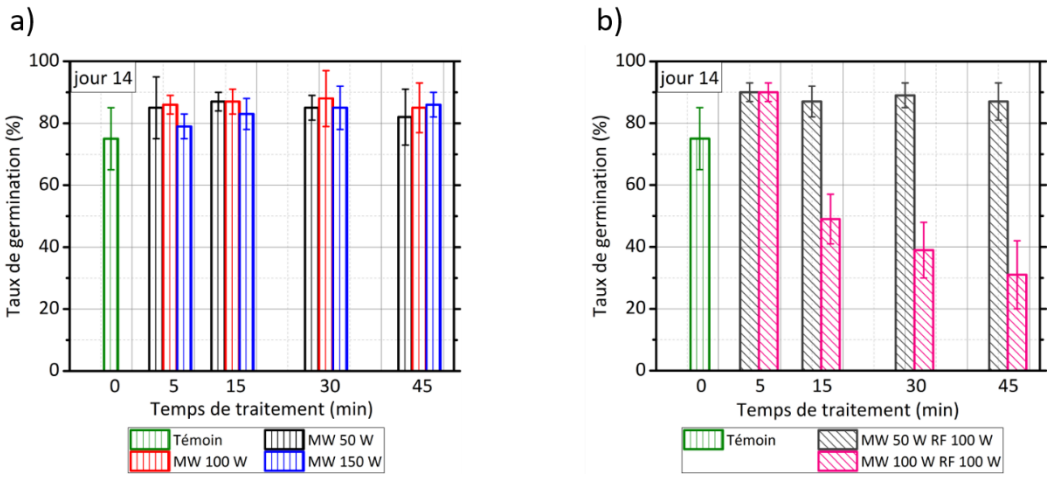


Figure III-2 Taux de germination des semences de poivron exposées au plasma dans différentes conditions : a) Plasma MW b) Plasma MW+RF

Effets du plasma MW – L'exposition des semences de poivron au plasma MW entraîne une augmentation moyenne d'environ 10% du taux de germination évalué à 14 jours, quelles que soient les conditions opératoires (*cf.* Figure III-2a). Aucune différence significative n'est observée en fonction du temps d'exposition et de la puissance MW injectée.

Ce phénomène peut être corrélé au mode de génération du plasma MW impliquant la répartition des espèces du plasma dans l'enceinte. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) sont mises en jeu dans les processus de germination (*cf.* Chapitre 1 – II.B et IV.A.2). Elles sont majoritairement produites par impact électronique dans la zone de RCE, puis diffusées dans l'enceinte : en volume pour des puissances MW inférieures à 100 W ; en

direction des parois pour des puissances MW supérieures à 100 W. Ce phénomène de diffusion implique une diminution de leurs intensités d'émission en s'éloignant de la région de RCE. A la position Y = 14 cm, là où sont disposées les graines, les intensités des émissions des espèces réactives du plasma sont faibles quelle que soit la puissance MW (*cf.* Chapitre 3 – I.B.3). Leur présence est néanmoins notable et peut conduire à cette augmentation du taux moyen de germination des semences.

Effets du plasma MW+RF – La Figure III-2b montre qu'une exposition au plasma MW+RF peut entraîner un effet positif ou un effet négatif sur le taux de germination, dépendant de la puissance injectée et du temps d'exposition.

- Dans le cas où la puissance MW est de 50 W, une augmentation moyenne de 15% est observée par rapport à l'échantillon témoin, quel que soit le temps d'exposition.
- Le traitement $MW\ 100\ W\ RF\ 100\ W$ entraîne une même augmentation du taux de germination uniquement pour une exposition de 5 minutes. Une augmentation du temps d'exposition des graines au plasma induit ensuite un effet délétère pour ces dernières. Une décroissance de 25% du taux de germination est obtenue dès 15 minutes de traitement avec un taux de germination moyen des semences de 50% seulement. Au bout de 45 minutes de traitement, le taux de germination moyen est de 30%.

Cette observation remet en question la mesure du taux de viabilité des semences réalisées dans la section précédente (*cf.* Chapitre 4 – III.B.1). Cette dernière annonce la viabilité de 91% des graines exposées pendant 45 minutes à cette condition de puissance. L'absence de germination peut alors être expliquée de plusieurs manières.

- La première hypothèse concerne la validité du test de viabilité. Un échantillon de graines est soumis à un traitement à l'autoclave (121°C – 15 min), la viabilité de cet échantillon est estimée à 0,0±2,8%. La mesure est cohérente avec une mortalité importante et avérée des graines exposées aux conditions extrêmes de l'autoclave [256]. La validité de l'expérience ne semble alors pas compromise.
- La deuxième hypothèse consiste à considérer que les graines sont bien viables, mais en état de dormance, impliquant qu'elles ne germent pas (*cf.* Chapitre 1 – II.B.2).

  Au sein d'une cellule, les RONS sont assimilées à des messagers [257]. Elles signalent aux différents constituants de la cellule si son environnement est favorable à son développement ou s'il lui est néfaste. En fonction du signal reçu, la cellule met en place le processus de germination ou conserve son état latent (quiescent ou dormant).
  - Le monoxyde d'azote NO s'avère être un transmetteur responsable de la levée de dormance [56].
  - Un excès de RONS, notamment de ROS dans la cellule peut, au contraire, engendrer un stress oxydatif de la cellule, conduisant à son inactivation [52].

Les émissions des RONS du plasma dans les diverses conditions d'exposition sont présentées dans le Chapitre 3 – II.A.2. En présence de la source RF-CCP, la proportion des espèces réactives augmente à la position Y = 14 cm, correspondant à la position des graines. L'intensité de NO est maximale à la condition $MW\ 100\ W\ RF\ 100\ W$ en comparant uniquement les conditions employées pour le traitement des semences de poivron.

Il est alors envisageable qu'en présence de la source MW-ECR seule, la quantité de RONS, notamment celle de NO soit suffisante pour entraîner la levée de dormance. En ajoutant la source RF-CCP, pendant des temps d'exposition supérieurs à 5 minutes, la quantité de RONS devient trop importante et peut engendrer un stress oxydatif susceptible de conduire à l'inactivation de la semence ou du moins d'endommager les pousses [139], pouvant alors conduire à un retard de la germination. Ces hypothèses sont vérifiées en partie par l'estimation de l'activité antioxydante des graines de poivron dans le Chapitre 4 – III.B.3.

Plusieurs auteurs ont constaté cette différence d'évolution liée au mode de génération du plasma, au couple puissance-temps de traitement et à la nature de la graine. Une fois le taux maximum de germination obtenu pour un couple puissance-temps de traitement, une augmentation du temps de traitement conduit à une diminution du taux de germination. La plupart associent l'absence de germination à un effet délétère du plasma sur les semences. Sera *et al*. [258] ont évalué l'efficacité d'une post-décharge micro-ondes, générée dans de la vapeur d'eau, sur des graines de chanvre. Leur étude montre que la germination augmente après 5 minutes de traitement puis diminue après 10 minutes (98% et 90% respectivement). Puac *et al*. [259] ont étudié les effets d'un plasma d'air à 200 mTorr (25 Pa) généré par une source RF-CCP asymétrique, sur des graines de paulownia. Ils constatent un décalage de l'efficacité maximale en fonction de la puissance et du temps de traitement. A une puissance de 100 W, le taux maximum de germination est obtenu pour 7,5 minutes alors qu'il est atteint en 1 minutes pour une puissance de 200 W. Au-delà de cet optimum, le taux de germination diminue et conduit à l'inhibition de la graine. Nalwa *et al*. [260] ont évalué l'efficacité d'un plasma d'oxygène généré à 0,05 mbar (5 Pa) dans la germination de graines de poivron. Ils obtiennent un taux de germination à 14 jours de 80% après une exposition de 15 minutes, pour un taux de 72% attribué à l'échantillon témoin.

Les deux modes de génération du plasma entraînent une modification du taux moyen de germination final des graines de poivron. En utilisant la source MW-ECR seule, une augmentation de 10% est obtenue quelles que soient les conditions opératoires. En ajoutant la source RF-CCP, le taux de germination moyen augmente de 15% pour un traitement de 5 minutes. Il subit ensuite une décroissance exponentielle en fonction du temps de traitement.

Le monoxyde d'azote NO, en quantité suffisante peut engager le processus de germination des semences. En excès, les RONS, dont NO, conduisent à l'inactivation des cellules. L'augmentation de la proportion de NO générée par les plasmas à plus forte puissance (MW+RF) pourrait constituer un élément de réponse quant à cette évolution du taux de germination.

III.B.2.b. Evaluation des effets du plasma sur la vitesse de germination

Les effets du plasma sur la vitesse de germination sont présentés sur la Figure III-3.

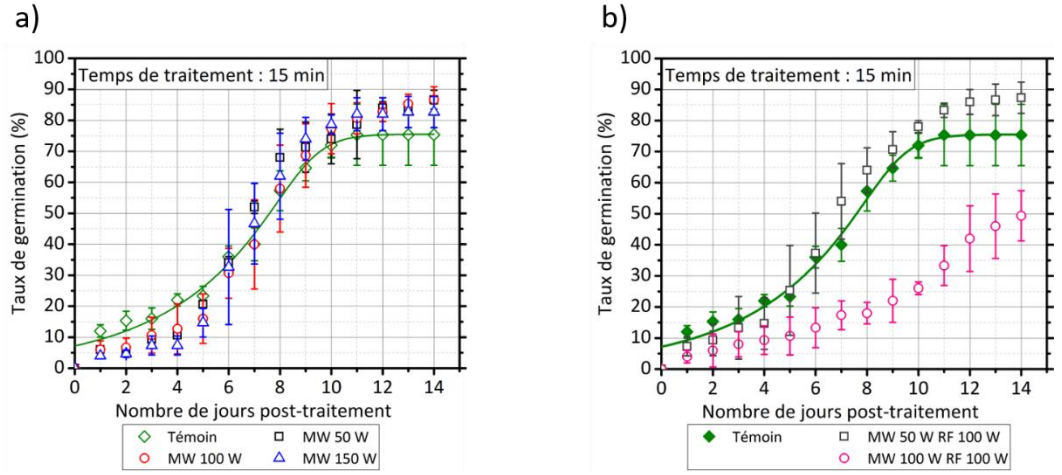


Figure III-3 Taux de germination des semences de poivron en fonction des jours post-traitement plasma dans différentes conditions : a) Plasma MW b) Plasma MW+RF

Observations des effets du plasma MW – L'exposition des semences de poivron au plasma entraîne un retard à la germination de quelques jours. Le processus de germination est ensuite accéléré permettant d'atteindre le taux de germination à 14 jours du témoin (75%) dès le neuvième jour pour un traitement à 150 W et au dixième jour pour les expositions à 50 et à 100 W (*cf.* Figure III-3a).

Observations des effets du plasma MW+RF – Une différence est observée lors de l'exposition des semences au plasmas MW+RF en fonction de la puissance totale injectée dans le plasma. La puissance RF est fixée à 100 W.

- Lorsque la puissance MW est de 50 W, l'évolution du taux de germination moyen en fonction des jours post-traitement suit celle du plasma MW, conduisant tout de même à un taux final supérieur (*cf.* Chapitre 4 – III.B.2.a).
- Lorsque la puissance MW vaut 100 W également, le taux moyen à 14 jours est réduit à 50%. La cinétique d'évolution de la germination présente un retard important par rapport au témoin et aux conditions plasma précédentes. Cette décélération peut être expliquée par un stress oxydatif important des RONS sur le plasma, conduisant à l'inactivation cellulaire (*cf.* Chapitre 4 – III.B.2.a).

Origines possibles des effets des plasmas – Le retard initial observé peut être expliqué par la déshydratation de la graine lors du traitement (*cf.* Figure III-4). Le taux d'humidité présente dans les graines témoins est de 8,2±0,6%. Il devient inférieur à 6% quel que soit le traitement plasma appliqué sur les graines. Une même quantité d'eau est ajoutée pour chaque échantillon au moment de leur préparation pour la germination (*cf.* Chapitre 2 – III.B.1.b). Les échantillons traités sont alors mis à germer avec une plus faible teneur initiale. Le processus de germination des graines est démarré par leur imbibition [54] (*cf.* Chapitre 1 – II.B). Un taux d'humidité plus faible dans les semences traitées au moment de l'imbibition peut alors expliquer ce léger retard de germination.

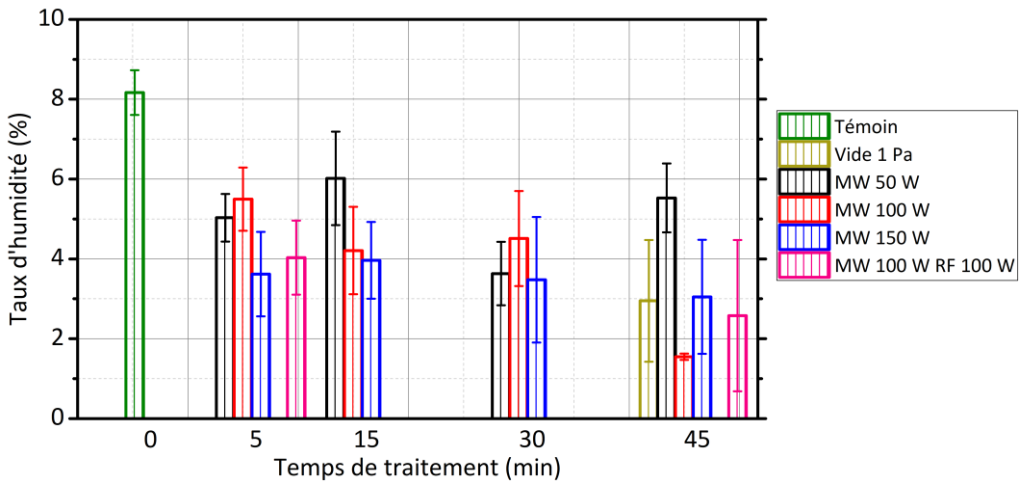


Figure III-4 Taux d'humidité des semences de poivron exposées au plasma dans différentes conditions

L'accélération qui suit peut être corrélée aux effets des agents constitutifs du plasma sur les graines. Le plasma a été reconnu pour sa capacité à modifier la surface des graines, par enrobage, par gravure ou par fonctionnalisation [167]. Parmi ces actions, la gravure favorise l'imbibition de la graine. Bormashenko *et al*. [252], [261] ont observé une corrélation entre le traitement de graines de lentilles, de pois et de blé par un plasma d'air généré par une source RF-ICP à $6{,}7.10^{-2}$ Pa et l'augmentation de la mouillabilité de leur surface. Quel que soit le temps de traitement utilisé pour appliquer le plasma (de 15 s à 2 min), une hydrophilisation de la surface est constatée.

A travers ces deux études, basées sur des mesures d'angle de contact par goniométrie, des observations par microscopie électronique à balayage (MEB) ainsi qu'une caractérisation de l'imbibition et de la vitesse de germination des graines, ils mettent en avant plusieurs aspects permettant d'appréhender les effets du plasma sur les graines.

- La basse pression ne modifie par les propriétés de mouillabilité de la surface des graines.
- Les rayonnements UV-C à 254 nm produits par une lampe UV-C n'ont pas d'influence sur l'hydrophobicité de la surface des graines.
- Le plasma conduit à une réduction de l'angle de contact mesuré en surface des graines corrélée à une augmentation de leur imbibition.
- Le plasma d'air utilisé dans leur cas induit une fonctionnalisation de la surface des graines avec des groupes oxygénés et azotés, détectés par spectrométrie de masse. Cela permet d'augmenter la mouillabilité de la surface, les composés oxygénés étant connus pour ce phénomène sur des surfaces organiques [262].
- Une hydrophilisation de la surface externe des pois est observée après une exposition au plasma contrairement à la surface interne et au cotylédon vérifiés également [261]. Ils en concluent que l'énergie des ions est atténuée en pénétrant la surface de la graine. Le plasma réalise une érosion efficace de la surface externe seulement, les effets du flux d'ions s'amenuisant en entrant dans son volume.

Ils obtiennent un même taux de germination final quel que soit le traitement appliqué. Ils établissent alors un lien entre l'imbibition engendrée par le plasma et l'accélération du processus de germination. Ils attribuent l'efficacité du plasma dans l'hydrophilisation de la

surface des graines à l'action des ions, entraînant une gravure et une oxydation de la surface favorisant ensuite l'imbibition, propice à la germination. Une étude précédente a été menée sur des graines de lentilles exposées à la source MW-ECR pendant 20 minutes à 150 W et pendant 5 minutes à 50 W [263]. Dans les deux cas, une hydrophilisation de la surface par le plasma est constatée après une mesure d'angle de contact réalisée au goniomètre (modèle DSA 30 Kruss - IMT Mines d'Albi). Aucune érosion de surface n'est observée sur les images de MEB (modèle Quanta 250 FEG du CMEAB, Toulouse). Ces deux observations semblent favoriser une fonctionnalisation de la surface des graines par les RONS générés dans le plasma. La surface des graines de lentilles est différente de celle des poivrons, ce phénomène ne constitue qu'une hypothèse pour les semences de poivron pour lesquelles aucun indicateur ne montre qu'elles se comportent de la même manière face à un même plasma sans avoir réalisé les observations au MEB et défini la mouillabilité de leur surface. Les observations au MEB n'ont pas été effectuées sur les semences de poivron au cours de cette étude.

La mouillabilité de la surface des graines de poivron exposées au plasma est évaluée à partir d'une mesure de l'étalement de la surface d'une goutte de bleu de méthylène sur les graines (*cf.* Chapitre 2 – III.B.2.b). Le mode de génération du plasma n'influence pas la mouillabilité de surface dans ce cas, une même valeur de l'étalement de la goutte en surface des graines étant obtenue avec le plasma MW seul ou en combinant les plasmas MW et RF. Chaque traitement présente une augmentation de la surface d'étalement de la goutte, caractéristique de son hydrophilisation (*cf.* Figure III-5). Celle-ci dépend du temps de traitement. La mouillabilité de la surface est doublée pour le traitement réalisé à 45 minutes par rapport à une exposition de 5 minutes au plasma.

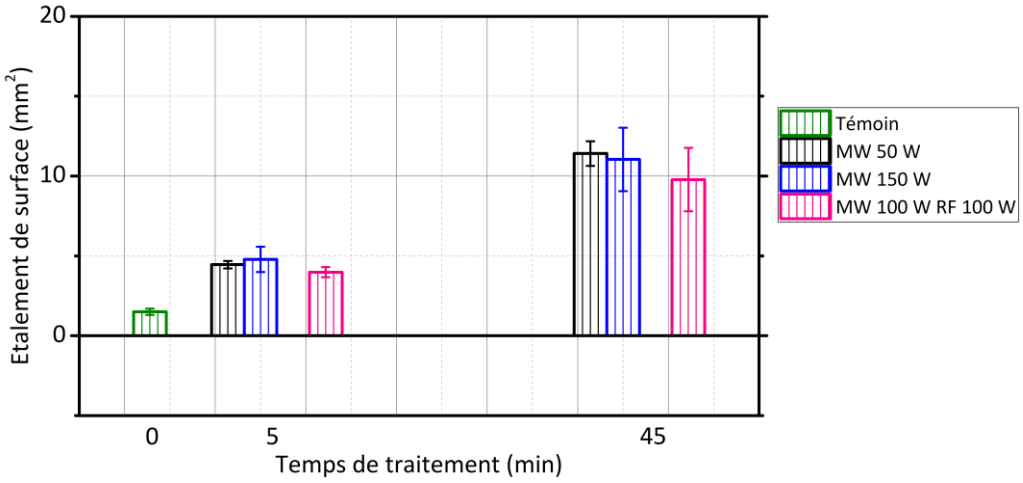


Figure III-5 Etalement de surface d'une goutte sur les graines exposées au plasma

Des observations précédentes, il est supposé que les RONS et les ions du plasma sont responsables de ces modifications de surface. Une exposition de courte durée (5 minutes) permet probablement de perméabiliser la membrane suffisamment pour favoriser l'imbibition et la germination des semences. Une exposition de longue durée (45 minutes) entraînerait alors une accumulation trop importante de ces espèces, conduisant ainsi à l'inactivation cellulaire.

Lorsque le plasma améliore la germination des semences, il induit une accélération du processus de germination. Celle-ci est causée par les interactions de surface entre les espèces réactives du plasma et les graines. Les RONS et les flux d'ions, présents en quantité suffisantes entraînent une perméabilisation de la surface qui favorise l'imbibition et accélère le processus de germination.

Dans le cas contraire, lorsque le plasma dégrade la germination des semences, l'accumulation des ions et des RONS en surface des graines s'est avérée trop importante. Celle-ci conduit alors à la dégradation des cellules jusqu'à leur inactivation.

III.B.3. Evaluation des effets sur l'activité antioxydante des semences

Une étude préliminaire des effets du plasma sur l'activité antioxydante dans les graines exposées au plasma est évaluée par la méthode du piégeage par le radical DPPH (*cf.* Chapitre 2 – III.B.3.b). Les antioxydants sont présents dans les graines pour équilibrer la quantité de RONS dans leurs différents constituants. L'activité antioxydante mesurée est alors corrélée à la présence de RONS [214].

- Tant que les RONS sont présents en quantité raisonnable, les antioxydants sont capables de les neutraliser au fur et à mesure, une augmentation de la densité des RONS induit alors une augmentation de l'activité antioxydante.
- Lorsque la proportion de RONS est trop importante, les antioxydants sont insuffisants pour les neutraliser, le système (la cellule) subit un processus de stress oxydatif. Une augmentation de la densité des RONS conduit à une diminution de l'activité antioxydante.

La Figure III-6 présente les activités antioxydantes relatives obtenues pour les conditions opératoires établies pour la germination des poivrons. Les échantillons témoins présentent une activité antioxydante nulle. Une augmentation de l'activité antioxydante, supérieure à 10% par rapport au témoin, est détectée quel que soit le traitement plasma effectué. Dans toutes les conditions plasma, l'augmentation de l'activité antioxydante observée est de 2 à 3 fois supérieure après une exposition de 45 min qu'après une exposition de 5 minutes.

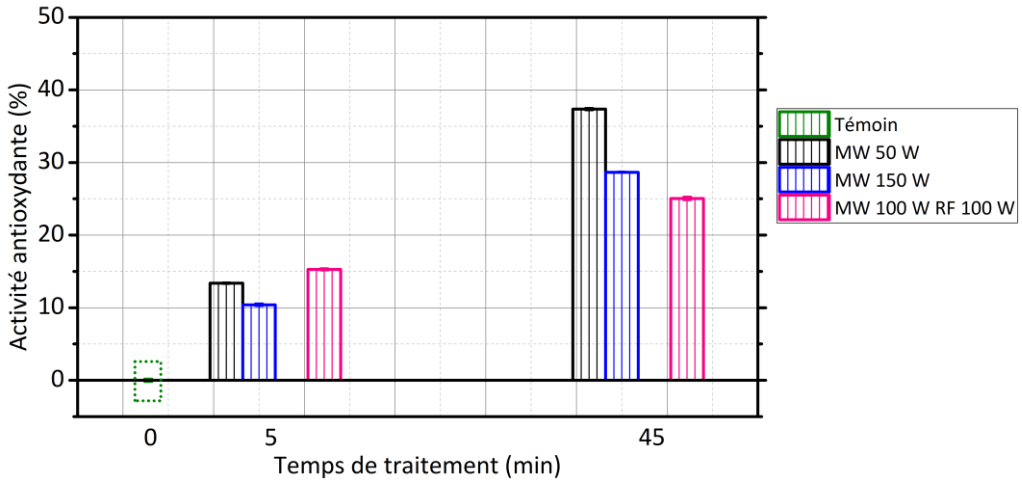


Figure III-6 Activité antioxydante des graines évaluée par la méthode du piégeage du radical DPPH

Observations des effets du plasma MW – L'activité antioxydante est diminuée en augmentant la puissance MW. En se basant sur les émissions optiques de NO et O, la proportion de RONS générés par le plasma entre 50 et 150 W de puissance MW est quasiment doublée. Les intensités de ces émissions sont tout de même faibles, et les propriétés de germination des graines de poivron dans ces conditions ne sont pas modifiées (*cf.* Chapitre 4 – III.B.2). Il est alors supposé que la quantité de RONS formées par le plasma MW atteignant la grille où sont disposées les graines n'est pas suffisante pour engendrer un stress oxydatif et une inactivation des cellules dégradant les semences mais suffisant pour accélérer la germination comme observé dans l'étude de la vitesse de germination (*cf.* Chapitre 4 – III.B.2.b).

Observations des effets du plasma MW+RF – Un apport de 100 W de puissance RF pendant 5 minutes entraîne une faible augmentation de l'activité antioxydante. Un traitement de 45 minutes réduit l'activité antioxydante. Ces deux observations semblent cohérentes avec l'évolution des propriétés germinatives des graines observées dans le Chapitre 4 – III.B.2.

Cette analyse seule ne permet pas de conclure sur les effets des RONS sur l'évolution des propriétés biochimiques internes des semences lors de la germination des semences (levée de dormance ou stress oxydatif). Park *et al.* [264] évaluent les effets d'une source DBD surfacique sur les propriétés biochimiques de graines d'orge par cette même méthode. Ils constatent une légère diminution de l'activité antioxydante avec une augmentation du temps de traitement. Cette diminution se retrouve pour les essais de germination qu'ils ont effectué. Ils ne concluent pas non plus sur les mécanismes d'action du plasma sur les antioxydants avec cette technique et proposent d'analyser le taux de l'hormone gibbérelline, responsable de la levée de dormance susceptible de réagir au monoxyde d'azote NO [56]. Plusieurs études se sont intéressées plutôt à l'action du plasma sur la teneur en antioxydants enzymatiques dans les plantules ou dans les graines. Rahman *et al.* [171] observent une augmentation de l'activité de la catalase, associée à une augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène dans des graines de blé et à une augmentation de leur taux de germination après un traitement plasma dans de l'argon-oxygène.

L'analyse de l'activité antioxydante réalisée ne permet pas d'assurer l'influence des RONS sur la germination des semences. La réduction de l'activité antioxydante observée pour la condition *MW 100 W RF 100 W* semble être cohérente avec une diminution du taux de germination en fonction du temps d'exposition.

Les propriétés germinatives des semences de poivrons sont modifiées par le traitement au plasma. Le plasma MW entraîne une augmentation du taux de germination final et une accélération du processus de germination, causée par la perméabilisation légère de la surface des graines par les espèces chargées et réactives du plasma d'air. Un ajout de puissance RF à différentes valeurs de puissance MW (50 ou 100 W) et à des temps d'exposition supérieurs à 5 minutes peut entraîner une dégradation des capacités germinatives des graines. Celle-ci peut être corrélée à une érosion ionique trop importante de la surface, conduisant à une libération des composés cellulaires ou à une accumulation des RONS en surface, qui engendrent ensuite un stress oxydatif et l'inactivation des cellules. La corrélation entre les agents du plasma et les propriétés biochimiques des graines n'a pas été réalisée bien qu'il semblerait que les conditions ne permettant pas la germination puissent s'associer à une diminution de l'activité antioxydante.

IV. Conclusions sur les effets du procédé plasma pour le traitement de semences

Une étude de faisabilité est réalisée pour évaluer le procédé plasma dans le contexte agroalimentaire actuel.

La partie I constitue une étude préliminaire permettant de déterminer l'influence de la présence des graines dans le réacteur sur les propriétés physiques des plasmas. Les caractéristiques électriques du plasma sont conservées et les émissions optiques faiblement modifiées. Ces observations valident l'utilisation des propriétés physiques décrites dans le Chapitre 3 pour interpréter les phénomènes mis en jeu lors de l'interaction entre le plasma et les graines. Elles permettent également de déterminer les conditions opératoires favorables à l'application souhaitée sur les graines.

La partie II est axée sur l'étude du plasma comme procédé de décontamination fongique et de dégradation de mycotoxines présentes sur des grains de blé utilisés pour la fabrication de pain et produits dans le cadre d'une agriculture raisonnée. La contamination fongique native présente en surface et à l'intérieur des graines a été estimée et identifiée. Cette distinction est corrélée à la provenance des contaminants. Les moisissures sont issues du champ pour les genres *Fusarium spp*. et *Alternaria spp*. majoritairement retrouvés à l'intérieur des graines, ou de la réserve pour les genres *Aspergillus spp*. et *Penicillium spp*. présents en surface.

- L'efficacité fongicide de la source MW-ECR a été montrée avec une réduction de la survie des moisissures natives de 1-log en 90 minutes de traitement, justifiée par une action synergique des UV, des RONS et des espèces chargées. L'ajout de la source RF-CCP entraînant une production accrue de ces espèces, l'efficacité du traitement avec les deux sources s'est avérée supérieure (1,5-log).
- Le plasma généré par la source MW-ECR s'avère également capable de dégrader les mycotoxines qui peuvent être produites par les moisissures précédentes. Une dégradation de 98% du déoxynivalénol inoculé sur un substrat de verre et une dégradation de 50% de celui inoculé sur un substrat de blé ont été observées. La rupture des liaisons carbone de ces molécules peut être attribuée à l'action des RONS et des UV du plasma, moins efficaces sur les grains de blé, présentant une matrice volumique et rugueuse dans laquelle l'accès aux mycotoxines est plus difficile pour ces espèces.
- Les propriétés intrinsèques des graines de blé sont conservées après ces différents traitements plasma, permettant d'assurer un pain de qualité et d'envisager la possibilité de les semer sur plusieurs générations.

La partie III est basée sur une évaluation des effets de ces plasmas dans la germination de semences de poivron. Chaque traitement évalué a conduit à une modification des propriétés germinatives des semences, du taux ou de la vitesse de germination, positive ou négative. Ces différentes actions sont corrélées à une perméabilisation de la surface des graines, permettant une meilleure imbibition. Les espèces réactives (chargées ou RONS) du plasma contribuent à ce phénomène, présentes en faible quantité dans le plasma MW, elles améliorent la germination. En excès, elles entraînent un stress oxydatif susceptible d'endommager et d'inactiver les cellules, nuisant ainsi à la germination. L'activité antioxydante dans les graines a été évaluée mais des études plus détaillées sont nécessaires pour valider l'action des agents du plasma.

Conclusion

Cette thèse a consisté en l'étude, la caractérisation et l'optimisation de procédés plasma à basse pression en vue d'une application au traitement de semences. Une caractérisation physique des différents plasmas a été réalisée en premier lieu pour déterminer leurs propriétés fondamentales et les paramètres variables pour une optimisation du traitement des semences en fonction de l'effet souhaité. Une étude de faisabilité du traitement de semences par ces procédés plasmas a été effectuée en deux temps, correspondant à deux problématiques agricoles importantes : la conservation des céréales et l'augmentation du rendement des cultures.

Une source micro-ondes à résonance cyclo-électronique (MW-ECR) à 2,45 GHz est utilisée seule ou associée à une source radiofréquence à couplage capacitif (RF-CCP) à 13,56 MHz pour générer un plasma d'air à basse pression (1 Pa).

- Une étude paramétrique des caractéristiques du plasma généré par la source MW-ECR seule a permis de déterminer deux régimes de fonctionnement de la décharge aux propriétés différentes, dépendants de la puissance MW injectée. Dans les deux cas, une densité importante d'électrons (> 10^{16} m^{-3}) est générée dans la zone de résonance cyclo-électronique (RCE) entraînant la formation des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène (RONS) par impact électronique direct. Le régime à faible puissance (< 100 W) permet ensuite une diffusion de ces espèces réactives dans le volume de l'enceinte. A haute puissance (> 100 W), la densité électronique excède la densité critique, entraînant une diffusion des espèces réactives vers les parois du réacteur. Les collisions entre neutres se mettent en place dans le volume, par l'intermédiaire du niveau métastable du diazote notamment, contribuant alors à l'augmentation de la densité de ces espèces dans le volume.

- Une caractérisation des propriétés physiques des plasmas est réalisée ensuite en couplant la source MW-ECR à la source RF-CCP et en variant les contributions de puissance de chacune des sources. Leur influence sur les densités des espèces réactives et des électrons dépend de la position dans l'enceinte.
  - La source MW-ECR étant située dans la partie supérieure du réacteur, les propriétés du plasma évaluées à proximité de celle-ci (Y = 6 cm) sont peu modifiées en présence de la source RF-CCP.
  - A l'opposé, la source RF-CCP étant située dans la partie inférieure de l'enceinte, son influence est importante à la position Y = 22 cm. La source MW-ECR n'intervient pas dans les processus de formation des espèces dans cette région. Une augmentation de la puissance RF injectée entraîne une augmentation de l'énergie moyenne à cette position. Une production plus importante des espèces N_2 et NO est alors possible par les collisions entre espèces neutres.
  - Au centre du réacteur (Y = 14 cm), les contributions de chaque source s'équilibrent pour permettre de générer des densités importantes de RONS et un flux d'ions important. Ce phénomène est intéressant pour le traitement des semences, étant donné que cette zone correspond à la position de la grille porte-substrat et que les espèces produites par le plasma sont susceptibles d'interagir efficacement avec les semences.

Deux problématiques agricoles sont ensuite abordées lors de l'étude de faisabilité du procédé plasma pour le traitement de semences.

- Le plasma est appliqué sur des grains de blé produits pour la panification afin d'évaluer l'efficacité du procédé plasma dans la décontamination fongique des graines et dans la dégradation d'une mycotoxine. La conservation des céréales est limitée par la présence de moisissures sur celles-ci. En provenance du sol ou des réserves, les contaminants fongiques se nourrissent des nutriments des céréales et détériorent les stocks. Les moisissures sont également capables de produire des mycotoxines toxiques pour le consommateur.
  - Le procédé plasma s'avère efficace dans la décontamination fongique des grains de blé présentant une réduction de 1-log pour le plasma MW seul et de 1,5-log pour le plasma MW+RF au bout de 90 minutes d'exposition. La cinétique d'inactivation semble corrélée à une action cumulée des UV et des espèces réactives du plasma (RONS et ions).
  - La source MW-ECR possède la capacité de dégrader le déoxynivalénol (DON). L'étude a été réalisée sur différents substrats (verre plan et grain de blé) afin de mettre en avant l'influence du substrat sur l'action du plasma. Une réduction de la concentration de 98% du DON sur le verre, réduite à 50% sur les grains de blé, montre que les espèces du plasma (RONS et UV) n'atteignent pas l'ensemble des mycotoxines présentes sur les grains de blé au bout de 60 minutes d'exposition compte-tenu de ses aspérités de surface.
  - Les propriétés intrinsèques des blés liées à leur utilisation future ont été vérifiées. La teneur en gluten, sec et humide, n'est pas modifiée par le traitement plasma suggérant une préservation des qualités du pain. Le taux de germination des graines de blé est équivalent avec ou sans traitement plasma. Ces graines, cultivées dans le cadre d'une agriculture raisonnée, peuvent alors être plantées sur plusieurs générations.

- Le plasma est appliqué sur des semences paysannes de poivron pour évaluer son potentiel d'action sur la germination des semences. Les semences paysannes, partagées entre agriculteurs limitant l'usage d'intrants et l'hybridation des semences, présentent souvent des rendements inférieurs aux semences industrielles actuelles. Les espèces réactives de l'azote et de l'oxygène (RONS), notamment le monoxyde d'azote NO, sont présentes au sein des graines constituant les cellules végétales. Elles agissent comme messagers pour signaler des conditions environnementales favorables ou défavorables au développement de la cellule. Les plasmas produisant ces espèces peuvent alors influencer les propriétés germinatives des semences, de manière positive ou négative.
  - Le plasma MW présente de faibles densités de RONS au niveau de la grille porte-substrat, quelle que soit la puissance MW injectée et le temps d'exposition des semences au plasma. Cette quantité semble suffisante pour accélérer le processus de germination des semences de poivron et augmenter le taux de germination final de 10%. La surface des graines est perméabilisée dans ce cas, favorisant l'imbibition de la graine et initiant la germination.
  - Les effets du plasma MW+RF dépendent de la puissance injectée et du temps d'exposition. Les traitements de 5 minutes présentent des résultats similaires au plasma MW seul, augmentant encore le taux de germination final, de 15% par rapport au témoin. Une réduction du taux de germination et de la vitesse de germination est observée pour un traitement supérieur à 5 minutes dans la condition *MW 100 W RF 100 W*. Dans ce cas, les intensités des RONS, notamment celle de NO, sont augmentées et maximales par

rapport aux autres conditions envisagées. Ces taux semblent alors engendrer un stress oxydatif, endommageant la graine. La perméabilisation de la membrane ne semble pas plus importante compte-tenu de l'étalement de surface mais l'activité antioxydante évoluant en sens opposé avec l'intensité des RONS pourrait conforter la présence d'un stress oxydatif à cette condition.

Perspectives

Le procédé plasma étudié s'est avéré efficace pour le traitement de semences dans les deux problématiques étudiées. Certains aspects restent à développer notamment pour comprendre les mécanismes d'interaction entre le plasma et les semences en fonction des effets observés.

La caractérisation physique du plasma pourrait être complétée par l'évaluation des densités des espèces neutres et ioniques. Dans cette étude, l'évolution des densités en fonction des paramètres de la décharge est évaluée à partir des intensités des émissions détectées par spectroscopie d'émission optique. La densité des espèces moléculaires et atomiques de l'azote et de l'oxygène pourrait être déterminée par actinométrie, en ajoutant une faible quantité (< 5%) d'argon dans la décharge. Par exemple, l'azote atomique peut constituer un apport de nutriments pour la plante. Une analyse plus directe des ions présents au niveau de la grille porte-substrat, par spectrométrie de masse ou spectrométrie photoélectronique, pourrait permettre d'évaluer leur contribution au niveau de la surface des substrats. Une détection d'ion potassium par exemple serait caractéristique d'un échange électrique entre les éléments internes d'une graine et les ions du plasma.

L'étude de l'efficacité du plasma dans la décontamination fongique pourrait être complétée par une évaluation de la sélectivité du plasma en fonction de la cible fongique et de sa localisation sur le grain. Une décontamination de la flore native totale a été observée sans distinction du genre des moisissures inactivées.

- La résistance de ces contaminants fongiques au plasma peut être différente selon leur genre.
- Les interactions du plasma avec les graines étant majoritairement réalisées à leur surface, les contaminants provenant du sol, présents à l'intérieur de la graine, sont susceptibles d'être moins affectés lors d'un traitement au plasma.

Une isolation des espèces qui ont résisté au traitement plasma pourrait permettre d'optimiser les paramètres plasma de manière sélective par rapport à chaque genre et en fonction du substrat à décontaminer.

La dégradation de mycotoxines a été abordée avec le déoxynivalénol par une technique immuno-enzymatique compétitive non conventionnelle. Une analyse par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (HPLCMS) permettrait d'affiner l'étude et notamment d'évaluer les effets du plasma sur les contaminations natives des grains. La mycotoxine DON est majoritairement présente dans les moisissures du genre *Fusarium spp*., provenant du sol. Le plasma semblant interagir de manière privilégiée avec la surface des

graines, les moisissures des genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*. y sont plus directement exposées. Une étude de l'efficacité du plasma sur les aflatoxines ou les ochratoxines permettrait à la fois d'appréhender la sélectivité du traitement plasma et d'évaluer l'amélioration de la sécurité sanitaire du consommateur si l'efficacité est révélée. Des analyses de spectrométrie photoélectronique pourraient également donner des informations sur la nature des liaisons carbone rompues par le plasma.

L'étude des effets du plasma sur les propriétés germinatives des semences pourrait être complétée par des analyses biochimiques des antioxydants présents dans les graines mais également dans les plantules et racines afin d'évaluer les effets des RONS. Une analyse de la teneur en hormone gibbérelline, responsable de la levée de dormance, pourrait également permettre de mieux comprendre l'interaction du plasma avec les graines et d'interpréter les résultats obtenus en termes de germination.

Les caractéristiques géométriques et techniques du réacteur dans lequel sont générés les plasmas limitent la quantité d'échantillon pouvant être traité à une centaine de grammes. Une première solution envisageable pour augmenter la surface de traitement consiste à disposer plusieurs sources MW-ECR sur la partie haute de l'enceinte. Cela entraîne également une augmentation du nombre de générateurs pour les alimenter. A l'échelle industrielle, ce procédé reste alors coûteux pour traiter des céréales, produites en masse mais pourrait être pertinent sur des produits niches, ayant une plus-value importante (*e.g*. le safran).

Annexes

I. Fonctions de distribution en énergie

Cette annexe présente l'échelle mésoscopique du plasma qui établit les fonctions de distribution en énergie (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1) et les principales fonctions décrivant la distribution des particules dans un plasma froid.

Avec une approche mésoscopique, la cinétique des particules dans le plasma est régie par la statistique de Boltzmann. Un groupe de particules contenues dans un volume d^3rd^3v à un instant t est distribué selon une loi de probabilité dans l'espace des phases, repéré par une position $\vec{r}$ à une vitesse $\vec{v}$. Cette probabilité est représentée mathématiquement par leur fonction de distribution en vitesse $F(\vec{r},\vec{v},t)$. Le nombre de particules $dN(\vec{r},\vec{v},t)$ à un instant t autour d'une position $\vec{r}$ à d^3r près en mouvement à une vitesse $(\vec{v},d^3v)$ est établi par l'Equation 53.

$$dN(\vec{r},\vec{v},t) = F(\vec{r},\vec{v},t)d^3rd^3v \qquad \text{Equation 53}$$

Les grandeurs macroscopiques du plasma sont déterminées en intégrant les fonctions de distribution dans l'espace des vitesses. La densité moyenne de particules est alors définie à partir de la fonction de distribution en vitesse comme le montre l'Equation 54.

$$n(\vec{r},t) = \int_{\vec{v}} F(\vec{r},\vec{v},t)d^3v \qquad \text{Equation 54}$$

La probabilité d'avoir une particule de vitesse $\vec{v}$ à la position $(\vec{r},d^3r)$ consiste à normaliser l'Equation 54. La fonction de distribution normée est donnée par $f(\vec{r},\vec{v},t) = \frac{F(\vec{r},\vec{v},t)}{n(\vec{r},t)}$ telle que $\int_{\vec{v}} F(\vec{r},\vec{v},t)d^3v = 1$. Cela permet de définir la vitesse moyenne dans l'Equation 55.

$$\langle\vec{v}\rangle = \int_{\vec{v}} \vec{v}\, f(\vec{r},\vec{v},t)d^3v \qquad \text{Equation 55}$$

En considérant que les électrons du plasma respectent un équilibre de Boltzmann, leur vitesse moyenne traduit l'évolution de leur énergie cinétique $\langle\varepsilon\rangle$ par la relation $\langle\varepsilon\rangle = \frac{1}{2}m_e\langle\vec{v}^2\rangle$. La fonction de distribution en énergie est alors déterminée à partir d'un changement de variable $(\vec{v} \rightarrow \varepsilon)$ par l'expression donnée dans l'Equation 56.

$$f(\vec{r},\varepsilon,t) = 4\pi\sqrt{\frac{2\varepsilon}{m_e^3}}\, f(\vec{r},\vec{v},t) \qquad \text{Equation 56}$$

Différentes fonctions de distribution peuvent être établies selon la répartition des électrons en énergie (*cf.* Equation 56).

Fonction de distribution de Maxwell – Dans le cas d'un équilibre de Boltzmann, la probabilité de présence des électrons dans le plasma suit une distribution de Maxwell $f_M(\varepsilon)$, présentée dans l'Equation 57.

$$f_M(\varepsilon) = 2\sqrt{\frac{\varepsilon}{\pi}}\,\frac{1}{(k_B T_e)^{3/2}}\exp\left(-\frac{\varepsilon}{k_B T_e}\right) \qquad \text{Equation 57}$$

La densité électronique n_e est exprimée à partir de l'Equation 54 avec $F_M(\varepsilon) = n_e\, f_M(\varepsilon)$.

La température électronique T_e peut également être décrite à partir de la fonction de distribution (*cf.* Equation 58) en considérant la vitesse des électrons comme un vecteur de leur agitation thermique : $\langle\varepsilon\rangle = \frac{1}{2} m_e \langle\vec{v}^2\rangle = \frac{3}{2}\, k_B T_e$.

$$k_B T_e = \frac{2}{3}\int_{\varepsilon} \varepsilon\, f_M(\varepsilon) d\varepsilon \qquad \text{Equation 58}$$

Lorsque l'équilibre thermodynamique n'est pas vérifié, la fonction de distribution ne suit pas la loi de Maxwell-Boltzmann (*cf.* Equation 57). Dans le cas des plasmas hors équilibre thermodynamique, l'énergie des électrons est supérieure à celle des ions et des neutres. Deux fonctions analytiques sont communément utilisées pour décrire la répartition des électrons à partir des conditions opératoires : la pression, la puissance et la source de plasma [265], [266].

Fonction de distribution de Druyvesteyn – La fonction de distribution de Druyvesteyn $f_D(\varepsilon)$ [267] est appliquée lorsque les collisions élastiques (électron-neutre) sont prépondérantes sur les collisions inélastiques (excitation et ionisation) et sur les collisions électron-électron. Les sections efficaces de collisions électron-neutre ne dépendent pas de l'énergie des électrons.

Fonction de distribution bi-maxwellienne – La fonction de distribution bi-maxwellienne $f_{bM}(\varepsilon)$ est composée d'une somme de deux fonctions de Maxwell. La plupart des distributions électroniques hors équilibre présentent deux populations d'électrons pour lesquelles la densité et la température électroniques diffèrent :

- La première correspond aux électrons dont l'énergie est inférieure au seuil d'ionisation. Elle est caractérisée par une basse température et une forte densité électronique représentative des électrons « froids » du plasma. Cette population gouverne la densité électronique, le flux ionique et le potentiel ambipolaire.
- La seconde a une énergie supérieure au seuil d'ionisation. Ses densités plus faibles et ses températures électroniques plus élevées traduisent la répartition de ses électrons « chauds ». Elle est responsable du taux d'ionisation et de la chute de tension dans les gaines.

II. Théories de collection des ions par sonde de Langmuir

Cette annexe reporte les théories de collection des ions par sonde de Langmuir (*cf.* Chapitre 2 – I.C.1) et leurs critères de sélection permettant de calculer les paramètres électroniques du plasma. Les différentes théories de collection des ions appliquées reposent sur des critères prenant en compte l'épaisseur de la gaine et son caractère collisionnel.

Théorie classique (cas idéal) – La sonde est plane et sa gaine, non-collisionnelle, est suffisamment fine pour que toutes les particules soient absorbées à sa surface. Autrement dit, les ions possèdent tous une vitesse supérieure à la vitesse de Bohm et aucune émission électronique secondaire n'est permise. Les particules respectent une loi de distribution de Maxwell-Boltzmann isotrope. Une sonde cylindrique (ou sphérique) peut être assimilée à une sonde plane si la gaine est fine devant le rayon de la sonde r_s. Avec une épaisseur de gaine de l'ordre de 740 µm et un rayon de 115 µm, la sonde utilisée pour cette étude ne peut être assimilée à une sonde plane.

Lorsque la gaine est épaisse, les zones de saturation (électronique ou ionique) ne sont pas atteintes par la mesure. Trois théories sont alors envisageables pour décrire ces régions et calculer les paramètres plasma.

Théorie du mouvement orbital limite (OML) – La théorie présentée par Mott-Smith et Langmuir en 1926 [196] tient compte uniquement du mouvement orbital des ions autour du potentiel de la sonde. La gaine est très épaisse ($\xi_r \to 0$) ce qui ne permet pas d'atteindre la saturation ionique. La pression est suffisamment faible dans la décharge pour considérer qu'il n'y a pas de collision avant la collection d'une particule par la sonde ($\lambda_{e0} \gg \lambda_D$ et $\lambda_{e0} \gg r_s$). Les particules respectent une distribution de type maxwellienne en lisière de gaine puisque le mouvement des particules arrivant sur la sonde ne dépend que de leur énergie thermique. Ceci est souvent vérifié pour les électrons dont la température est élevée mais rarement pour les ions. La variation du potentiel plasma est lente et ne prend pas en compte le mouvement radial des particules.

Théorie du mouvement radial (ABRC) – En 1957, Allen, Boyd et Reynolds [268] mettent en place une théorie pour les sondes sphériques où la gaine est épaisse et collisionnelle. Elle est adaptée aux sondes cylindriques par Chen en 1965 [269]. Les ions ne présentent alors plus un mouvement orbital ($T_i \to 0$) mais un mouvement radial en direction de celle-ci. Les électrons suivent une distribution de Maxwell-Boltzmann.

Théorie couplée (BRL) – Cette théorie est la première à prendre en compte à la fois le mouvement orbital des ions et la distribution du potentiel dans le cas d'une gaine épaisse non collisionnelle. En 1959, Bernstein et Rabinowitz [270] décrivent la saturation ionique pour les ions dont l'énergie est supérieure à la barrière de potentiel formée par le mouvement orbital. Laframboise [271] complète cette théorie en 1966 dans le cas d'une distribution maxwellienne des ions.

III. Imagerie ICCD filtrée en présence des deux sources

Cette annexe consiste à visualiser la distribution des espèces azotées et oxygénées du plasma MW+RF avec la caméra ICCD filtrée. Les images filtrées sont normalisées par rapport à l'intensité maximale détectée dans l'image acquise sans filtre (*cf.* Figure III-1). Ces mesures viennent compléter celles réalisées par SEO (*cf.* Chapitre 3 – II.A.2).

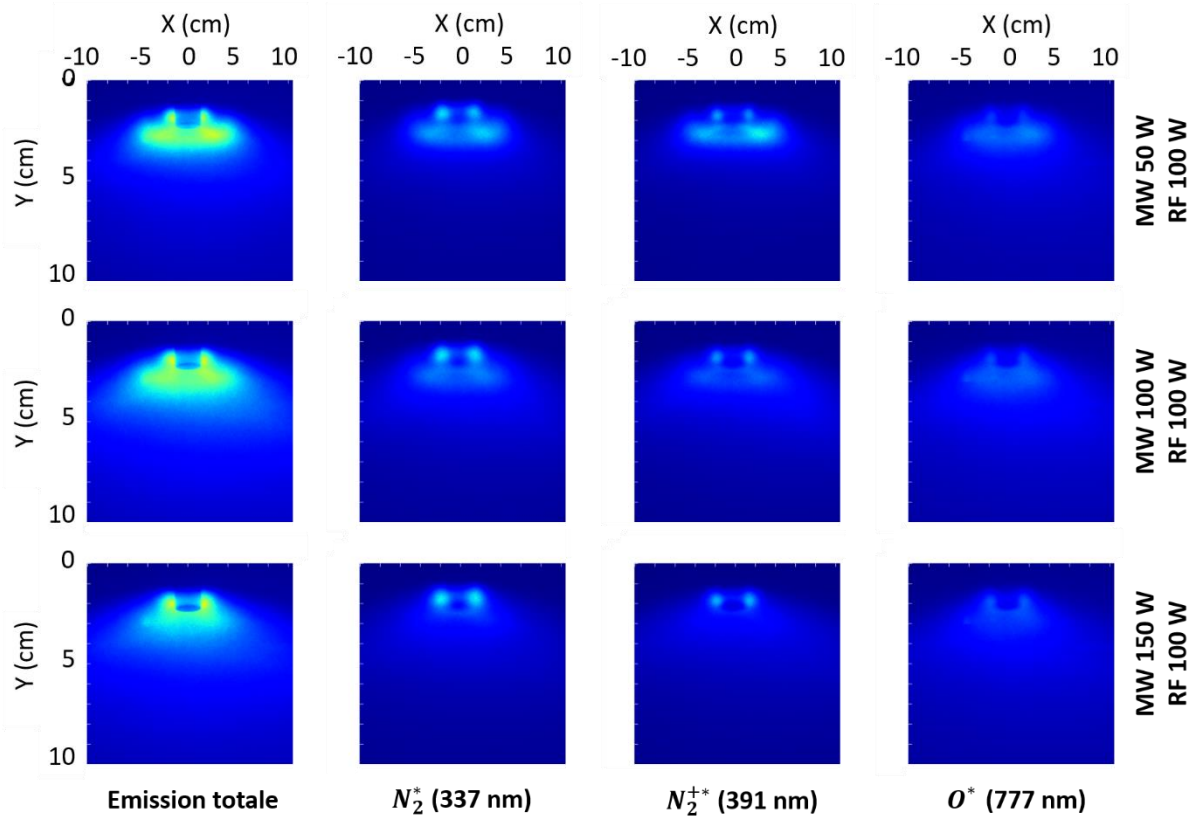


Figure III-1 Distribution du plasma et de ses espèces caractéristiques dans les trois régimes de puissance MW pour une puissance RF de 100 W : a) Emission totale b) N_2 à 337 nm c) N_2^+ à 391 nm d) O à 777 nm

Observations en fonction des positions X et Y – La répartition des espèces dans l'enceinte est cohérente avec celle observée pour l'émission totale. Les espèces sont toutes distribuées dans le volume depuis la tête de l'applicateur MW-ECR. La source RF-CCP semble favoriser la diffusion des espèces azotées pour lesquelles cette propagation en volume n'apparaît pas dans le cas du plasma généré par la source MW-ECR seule. En présence de la source RF-CCP, la concentration d'une forte intensité lumineuse des émissions totales en Y = 2,5±0,5 cm se retrouve dans la distribution des espèces. Elle correspond à la zone de RCE en sortie de la tête de l'applicateur MW-ECR, régie par des électrons énergétiques qui entrent en collision avec les neutres du gaz pour l'ioniser. Cette zone est plus étendue en présence de la source RF-CCP. Ce phénomène peut s'expliquer par une diminution de la densité électronique. Elle devient inférieure à la densité critique et guide l'onde dans le volume du réacteur plutôt qu'en surface du plasma.

Observations en fonction de la puissance MW – L'influence du régime de puissance MW sur la répartition des espèces dans l'enceinte est atténuée par la présence de la source RF-CCP. Celle-ci favorise les collisions dans le volume du réacteur et non dans une région ciblée.

- La distribution des espèces est similaire à 50 et à 100 W de puissance MW. La zone de forte intensité lumineuse, étalée suivant l'axe X, est visible en Y = 3 cm, correspondant à la sortie de la tête de l'applicateur MW-ECR, quelle que soit l'espèce.
- A une puissance MW de 150 W, cette zone n'apparaît plus que pour l'oxygène atomique. L'apport d'une puissance RF inférieure à la puissance MW montre une contribution dominante de la source MW-ECR dans la distribution des espèces. Ce phénomène est observé dans le cas *MW 150 W RF 100 W* où la diffusion des espèces azotées dans l'enceinte est réduite et l'intensité se concentre autour de la tête de l'applicateur MW-ECR.

Les images à puissance MW fixe et à puissance RF variable (50, 100, 150 W) ne sont pas affichées. La répartition des espèces du plasma est de forme similaire quelle que soit la puissance RF. L'hypothèse d'un apport d'intensité lumineuse constant suivant X à une position Y et à une puissance MW donnée semble se confirmer. Une croissance de la puissance RF peut entraîner une augmentation linéaire de cette valeur, cohérente avec l'émission totale du plasma.

IV. Mesures et incertitudes

Chaque condition expérimentale de traitement de graine (témoin, à pression réduite, plasma) est réalisée en triplicata pour assurer une évaluation statistique du mesurande. Un duplicata de chaque analyse est effectué pour vérifier la qualité de la manipulation. Les résultats sont présentés sous forme de valeur moyenne associée à son écart-type. La dispersion statistique des résultats est évaluée en utilisant la méthode ANOVA à un facteur avec une significativité p de 0,05.

V. Substances chimiques

Les substances chimiques utilisées dans l'étude des plasmas appliqués au traitement de semences sont répertoriées dans le Tableau V-1.

Tableau V-1

Substances chimiques utilisées dans la caractérisation des effets du plasma sur les semences

Composé	Fournisseur	CAS
2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 95+%	VWR	1898-66-4
Agar	Fisher Scientific	BP1423-500
Azote liquide	Linde	
Bleu de lactophénol	Ral Diagnostics	363060
Bleu de méthylène 1% (m/v)	Fisher Scientific	42771
Chloramphénicol (poudre)	Fisher Scientific	BP904-100
Chlorure de potassium (KCl) 99+%	Fisher Scientific	7447-40-7
Chlorure de tétrazolium (2,3,5-triphenyl-2H-terazolium chloride) 98%	Fisher Scientific	298-96-4
D-glucose anhydre	Fisher Scientific	50-99-7
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) 95%	Fisher Scientific	B24283
D-sucrose 99+%	Fisher Scientific	57-50-1
Ethanol 96%	VWR	64-17-5
Extrait de levure Bacto™	ThermoFisher	288620
Glycérol 99+%, extra pur	Fisher Scientific	158920025
L-acide ascorbique 99%	Fisher Scientific	50-81-7

Composé	Fournisseur	CAS
Méthanol 99,8+%	VWR	67-56-1
Mycotoxine Déoxynivalénol (DON)	Sigma-Aldrich	51481-10-8
Nitrate de sodium ($NaNO_3$) 99+%	Sigma Aldrich	S8170
Peptone	Fisher Scientific	BP1420-500
Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4) 99+%	Fisher Scientific	7778-77-0
Sulfate de cuivre pintahydraté ($CuSO_4,5H_2O$) 99+%	Fisher Scientific	7758-99-8
Sulfate de fer heptahydraté ($FeSO_4,7H_2O$) 95%	Fisher Scientific	7782-63-0
Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4,7H_2O$) 95%	VWR	10034-99-8
Sulfate de zinc heptahydraté ($ZnS\ O_4,7H_2O$) 99,5%	Fisher Scientific	7446-20-0
Tampon phosphate (2 mmol/ml – pH 6,6)	VWR	7558-80-7

VI. Milieux de culture biologique

Différents milieux sont utilisés pour cultiver les moisissures, permettre le dénombrement des contaminations et leur identification. Ils sont stérilisés à l'autoclave (121°C – 15 min).

Dichloran 18 agar (DG18) – Ce milieu, développé par Hocking et Pitt [272], est sélectif pour les moisissures et les levures xénophiles présentes dans les aliments à faible taux d'humidité (noix, graines, farines et épices). Il favorise, entre autres, la croissance de champignons des genres *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* et *Fusarium spp.*

Il est complémenté avec du chloramphénicol, un antibiotique permettant de réduire la prolifération des bactéries et conservant sa stabilité à l'autoclave. Les réactifs utilisés sont repris à partir du manuel de bactériologie analytique [273] et présentés dans le Tableau VI-1. Le pH final est de 5,6 et l'activité de l'eau est de 0,955.

Tableau VI-1

Composition du milieu de culture DG18

Composé	Quantité pour 1 l de milieu
D-glucose anhydre	10,0 g
Peptone	5,0 g
Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4) 99+%	1,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4,7H_2O$) 95%	0,5 g
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) 95%	1,0 ml – 0,2% (m/v) dans éthanol
Chloramphénicol (poudre)	0,1 g
Agar	15,0 g
Eau distillée	800 ml
Glycérol 99+%, extra pur	220 g

Potato Dextrose Agar (PDA) – Le milieu de culture PDA (Difco™ Potato Dextrose Agar – *cf.* Tableau VI-2) est le standard utilisé de manière conventionnelle pour la quantification des moisissures dans l'agroalimentaire. Son pH de 3,5 réduit l'inhibition du développement des bactéries et peut s'avérer toxique pour les cellules endommagées.

Malt Extract Agar (MEA) – Le milieu de culture MEA est utilisé comme milieu de culture générique pour dénombrer et isoler les moisissures et les levures dans les produits alimentaires et pharmaceutiques. Le pH final est de 5,6.

Tableau VI-2

Composition des milieux de culture commerciaux PDA et MEA

Composé	Quantité pour 1 l de milieu
PDA	
Amidon de pomme de terre (infusé)	4 g
Dextrose	20 g
Agar	15 g
Eau distillée	1 l
MEA	
Extrait de malt (poudre)	20 g
Peptone	1 g
D-glucose anhydre	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1 l

Czapek Yeast extract Agar (CYA) – Ce milieu est utilisé pour l'identification des moisissures pour sa capacité à favoriser le développement de certaines moisissures, des genres *Penicillium spp*. et *Aspergillus spp*., en fonction de la température d'incubation du milieu. Ses constituants sont répertoriés dans le Tableau VI-3. Le pH final est de 6,7.

Tableau VI-3

Composition du milieu CYA, du concentré de Czapek et de la solution de métal trace

Composé	Quantité pour 1 l de milieu
CYA	
Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4) 99+%	1 g
Concentré de Czapek	10 ml
Solution de métal trace	1 ml
Extrait de levure Bacto™	5 g
D-sucrose 99+%	30 g
Agar	15 g
Eau distillée	1 l

Concentré de Czapek	
Nitrate de sodium ($NaNO_3$) 99+%	30 g
Chlorure de potassium (KCl) 99+%	5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4,7H_2O$) 95%	5 g
Sulfate de fer heptahydraté ($FeSO_4,7H_2O$) 95%	0,1 g
Eau distillée	100 ml
Solution de métal trace	
Sulfate de cuivre pintahydraté ($CuSO_4,5H_2O$) 99+%	0,5 g
Sulfate de zinc heptahydraté ($ZnS\ O_4,7H_2O$) 99,5%	0,1 g
Eau distillée	100 ml

25% Glycerol Nitrate agar (G25N) – Ce milieu de culture correspond à un ajustement du milieu précédent, plus spécifique au genre *Penicillium spp*. Il présente un taux d'humidité inférieure à 1%. Ses constituants sont répertoriés dans le Tableau VI-4. Le pH final est de 7,0.

Tableau VI-4

Composition du milieu de culture G25N

Composé	Quantité pour 1 l de milieu
Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4) 99+%	0,75 g
Concentré de Czapek	7,5 ml
Extrait de levure Bacto™	3,7 g
Glycérol 99+%, extra pur	250 g
Agar	12 g
Eau distillée	750 ml

Références

[1] P. Giraldo, E. Benavente, F. Manzano-Agugliaro, and E. Gimenez, "Worldwide Research Trends on Wheat and Barley: A Bibliometric Comparative Analysis," *Agronomy*, vol. 9, no. 7, Art. no. 7, Jul. 2019, doi: 10.3390/agronomy9070352.

[2] "FAO Cereal Supply and Demand Brief | World Food Situation | Food and Agriculture Organization of the United Nations." http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/ (accessed Aug. 30, 2020).

[3] Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, "La statistique, l'évaluation et la prospective agricole - Grandes cultures." http://agreste.agriculture.gouv.fr/conjoncture/grandes-cultures-et-fourrages/ (accessed Jan. 07, 2020).

[4] P. R. Shewry and S. J. Hey, "The contribution of wheat to human diet and health," *Food Energy Secur.*, vol. 4, no. 3, pp. 178–202, Oct. 2015, doi: 10.1002/fes3.64.

[5] P. R. Shewry, Y. Wan, M. J. Hawkesford, and P. Tosi, "Spatial distribution of functional components in the starchy endosperm of wheat grains," *J. Cereal Sci.*, vol. 91, p. 102869, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.jcs.2019.102869.

[6] R. C. Hoseney and D. E. Rogers, "The formation and properties of wheat flour doughs," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 29, no. 2, pp. 73–93, Jan. 1990, doi: 10.1080/10408399009527517.

[7] R. H. Whittaker, "New Concepts of Kingdoms of Organisms," *Science*, vol. 163, no. 3863, pp. 150–160, Jan. 1969, doi: 10.1126/science.163.3863.150.

[8] J. I. Pitt and A. D. Hocking, *Fungi and Food Spoilage*, 3rd ed. Springer US, 2009.

[9] A. J. Fontana, "D: Minimum Water Activity Limits for Growth of Microorganisms," in *Water Activity in Foods*, John Wiley & Sons, Ltd, 2020, pp. 571–572.

[10] "Fiches sur les moisissures," *INSPQ*. https://www.inspq.qc.ca/es/node/397 (accessed Sep. 26, 2020).

[11] E. Conkova, A. Laciakova, I. Styriak, L. Czerwiecki, and G. Wilczynska, "Fungal contamination and the levels of mycotoxins (DON and OTA) in cereal samples from Poland and East Slovakia," *Czech J. Food Sci. - UZPI Czech Repub.*, 2006, Accessed: Sep. 06, 2020. [Online]. Available: https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CZ2006000652.

[12] G. Bai and G. Shaner, "Management and Resistance in Wheat and Barley to Fusarium Head Blight," *Annu. Rev. Phytopathol.*, vol. 42, no. 1, pp. 135–161, 2004, doi: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140340.

[13] D. M. Vergnes, M.-E. Renard, E. Duveiller, and H. Maraite, "Identification of Alternaria spp. on wheat by pathogenicity assays and sequencing," *Plant Pathol.*, vol. 55, no. 4, pp. 485–493, 2006, doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01391.x.

[14] N. Magan, R. Hope, V. Cairns, and D. Aldred, "Post-Harvest Fungal Ecology: Impact of Fungal Growth and Mycotoxin Accumulation in Stored Grain," *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 109, no. 7, pp. 723–730, Sep. 2003, doi: 10.1023/A:1026082425177.

[15] J. G. Cappuccino and N. Sherman, *Microbiology A laboratory manual*, 10th ed. Pearson.

[16] H. S. Hussein and J. M. Brasel, “Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals,” *Toxicology*, vol. 167, no. 2, pp. 101–134, Oct. 2001, doi: 10.1016/S0300-483X(01)00471-1.

[17] G. Reboux, “Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d’autres composants organiques,” *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.*, vol. 46, no. 3, pp. 208–212, Apr. 2006, doi: 10.1016/j.allerg.2006.01.036.

[18] F. Cheli, L. Pinotti, M. Novacco, M. Ottoboni, M. Tretola, and V. Dell’Orto, “Mycotoxins in Wheat and Mitigation Measures,” *Wheat Improv. Manag. Util.*, May 2017, doi: 10.5772/67240.

[19] S. Agriopoulou, E. Stamatelopoulou, and T. Varzakas, “Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods,” *Foods*, vol. 9, no. 2, Art. no. 2, Feb. 2020, doi: 10.3390/foods9020137.

[20] E. E. Creppy, “Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe,” *Toxicol. Lett.*, vol. 127, no. 1, pp. 19–28, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0378-4274(01)00479-9.

[21] J. L. Richard, “Discovery of Aflatoxins and Significant Historical Features,” *Toxin Rev.*, vol. 27, no. 3–4, pp. 171–201, Jan. 2008, doi: 10.1080/15569540802462040.

[22] R. Bhat, Y. Ramakrishna, S. Beedu, and K. L. Munshi, “OUTBREAK OF TRICHOTHECENE MYCOTOXICOSIS ASSOCIATED WITH CONSUMPTION OF MOULD-DAMAGED WHEAT PRODUCTS IN KASHMIR VALLEY, INDIA,” *The Lancet*, vol. 333, no. 8628, pp. 35–37, Jan. 1989, doi: 10.1016/S0140-6736(89)91684-X.

[23] World Health Organization International Agency for Research on Cancer, “Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins.,” *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum.*, vol. 56, 1993, Accessed: Oct. 07, 2020. [Online]. Available: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19952006807.

[24] M. S. Bonnet, J. Roux, L. Mounien, M. Dallaporta, and J.-D. Troadec, “Advances in deoxynivalenol toxicity mechanisms: the brain as a target,” *Toxins*, vol. 4, no. 11, pp. 1120–1138, Nov. 2012, doi: 10.3390/toxins4111120.

[25] Y. Ueno, “Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes,” *Fundam. Appl. Toxicol.*, vol. 4, no. 2, Part 2, pp. S124–S132, Apr. 1984, doi: 10.1016/0272-0590(84)90144-1.

[26] P. Kumar, D. K. Mahato, M. Kamle, T. K. Mohanta, and S. G. Kang, “Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, p. 2170, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.02170.

[27] I. P. Oswald, D. E. Marin, S. Bouhet, P. Pinton, I. Taranu, and F. Accensi, “Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals,” *Food Addit. Contam.*, vol. 22, no. 4, pp. 354–360, Apr. 2005, doi: 10.1080/02652030500058320.

[28] M. Kamle, D. K. Mahato, S. Devi, K. E. Lee, S. G. Kang, and P. Kumar, “Fumonisins: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and their Management Strategies,” *Toxins*, vol. 11, no. 6, Art. no. 6, Jun. 2019, doi: 10.3390/toxins11060328.

[29] W. F. Marasas, “Fumonisins: history, world-wide occurrence and impact,” *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 392, pp. 1–17, 1996, doi: 10.1007/978-1-4899-1379-1_1.

[30] T. R. Bui-Klimke and F. Wu, “Ochratoxin A and Human Health Risk: A Review of the Evidence,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 55, no. 13, pp. 1860–1869, Nov. 2015, doi: 10.1080/10408398.2012.724480.

[31] E. O'Brien and D. R. Dietrich, "Ochratoxin A: The Continuing Enigma," *Crit. Rev. Toxicol.*, vol. 35, no. 1, pp. 33–60, Jan. 2005, doi: 10.1080/10408440590905948.

[32] A. Alshannaq and J.-H. Yu, "Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food," *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 14, no. 6, Jun. 2017, doi: 10.3390/ijerph14060632.

[33] J. R. Lamichhane, M. P. You, V. Laudinot, M. J. Barbetti, and J.-N. Aubertot, "Revisiting Sustainability of Fungicide Seed Treatments for Field Crops," *Plant Dis.*, vol. 104, no. 3, pp. 610–623, Sep. 2019, doi: 10.1094/PDIS-06-19-1157-FE.

[34] K. A. Khanzada, M. A. Rajput, G. S. Shah, A. M. Lodhi, and F. Mehboob, "Effect of Seed Dressing Fungicides for the Control of Seedborne Mycoflora of Wheat," *Asian J. Plant Sci.*, 2002, Accessed: Sep. 09, 2020. [Online]. Available: https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012049583.

[35] N. Lisker, "Improving wheat seedling emergence by seed-protectant fungicides," *Crop Prot.*, vol. 9, no. 6, pp. 439–445, Dec. 1990, doi: 10.1016/0261-2194(90)90134-S.

[36] N. F. Poole and M. E. Arnaudin, "The role of fungicides for effective disease management in cereal crops," *Can. J. Plant Pathol.*, vol. 36, no. 1, pp. 1–11, Jan. 2014, doi: 10.1080/07060661.2013.870230.

[37] S. N. Wegulo *et al.*, "Effects of Integrating Cultivar Resistance and Fungicide Application on Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol in Winter Wheat," *Plant Dis.*, vol. 95, no. 5, pp. 554–560, Dec. 2010, doi: 10.1094/PDIS-07-10-0495.

[38] R. J. W. Cremlyn, "Systemic fungicides," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 12, no. 12, pp. 805–812, 1961, doi: 10.1002/jsfa.2740121201.

[39] K. Fenner, S. Canonica, L. P. Wackett, and M. Elsner, "Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities," *Science*, vol. 341, no. 6147, pp. 752–758, Aug. 2013, doi: 10.1126/science.1236281.

[40] M. W. Aktar, D. Sengupta, and A. Chowdhury, "Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards," *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–12, Mar. 2009, doi: 10.2478/v10102-009-0001-7.

[41] D. Pereira, B. A. McDonald, and D. Croll, "The genetic architecture of emerging fungicide resistance in populations of a global wheat pathogen," *bioRxiv*, p. 2020.03.26.010199, Mar. 2020, doi: 10.1101/2020.03.26.010199.

[42] C. S. Tibola, J. M. C. Fernandes, and E. M. Guarienti, "Effect of cleaning, sorting and milling processes in wheat mycotoxin content," *Food Control*, vol. 60, pp. 174–179, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.foodcont.2015.07.031.

[43] P. Karlovsky *et al.*, "Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination," *Mycotoxin Res.*, vol. 32, no. 4, pp. 179–205, Nov. 2016, doi: 10.1007/s12550-016-0257-7.

[44] H. K. Abbas, C. J. Mirocha, R. J. Pawlosky, and D. J. Pusch, "Effect of cleaning, milling, and baking on deoxynivalenol in wheat.," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 50, no. 2, pp. 482–486, Aug. 1985.

[45] L. M. Seitz, W. D. Eustace, H. E. Mohr, M. D. Shogren, and W. T. Yamazaki, "Cleaning, milling, and baking tests with hard red winter wheat containing deoxynivalenol," *Cereal Chem. USA*, 1986, Accessed: Sep. 10, 2020. [Online]. Available: https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8644258.

[46] V. H. Tournas and N. S. Niazi, "Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products," *J. Food Saf.*, vol. 38, no. 1, p. e12422, 2018, doi: 10.1111/jfs.12422.

[47] "Seeds," *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. http://www.fao.org/seeds/en/ (accessed Sep. 11, 2020).
[48] R. R. Finkelstein, "The Role of Hormones during Seed Development and Germination," in *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!*, P. J. Davies, Ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010, pp. 549–573.
[49] M. Villegente, "Caractérisation biochimique et moléculaire de mécanismes de la germination d'espèces endémiques de Nouvelle-Calédonie," These de doctorat, Nouvelle Calédonie, 2013.
[50] E. Nambara, M. Okamoto, K. Tatematsu, R. Yano, M. Seo, and Y. Kamiya, "Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination," *Seed Sci. Res.*, vol. 20, no. 2, pp. 55–67, Jun. 2010, doi: 10.1017/S0960258510000012.
[51] P. R. Shewry, J. A. Napier, and A. S. Tatham, "Seed storage proteins: structures and biosynthesis.," *Plant Cell*, vol. 7, no. 7, pp. 945–956, Jul. 1995.
[52] C. Bailly, "Active oxygen species and antioxidants in seed biology," *Seed Sci. Res.*, vol. 14, no. 2, pp. 93–107, May 2004, doi: 10.1079/SSR2004159.
[53] M. Miransari and D. L. Smith, "Plant hormones and seed germination," *Environ. Exp. Bot.*, vol. 99, no. Supplement C, pp. 110–121, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.11.005.
[54] J. D. Bewley, "Seed Germination and Dormancy.," *Plant Cell*, vol. 9, no. 7, pp. 1055–1066, Jul. 1997, doi: 10.1105/tpc.9.7.1055.
[55] S. Ali-Rachedi *et al.*, "Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of Arabidopsis thaliana," *Planta*, vol. 219, no. 3, pp. 479–488, Jul. 2004, doi: 10.1007/s00425-004-1251-4.
[56] E. Arc, M. Galland, B. Godin, G. Cueff, and L. Rajjou, "Nitric oxide implication in the control of seed dormancy and germination," *Front. Plant Sci.*, vol. 4, Sep. 2013, doi: 10.3389/fpls.2013.00346.
[57] D. Soriano, S. Alvarado-López, E. Zúñiga-Sánchez, A. Orozco-Segovia, and A. Gamboa-deBuen, "Analysis of nitrogen seed reserves of ten tree species of the tropical dry forest," *South Afr. J. Bot.*, vol. 97, pp. 149–153, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.sajb.2015.01.003.
[58] F. Haber and R. L. Rossignol, "Production of ammonia," US1202995A, Oct. 31, 1916.
[59] K. G. Cassman, "Ecological intensification of cereal production systems: Yield potential, soil quality, and precision agriculture," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 96, no. 11, pp. 5952–5959, May 1999, doi: 10.1073/pnas.96.11.5952.
[60] U. Bajwa and K. S. Sandhu, "Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 51, no. 2, pp. 201–220, Feb. 2014, doi: 10.1007/s13197-011-0499-5.
[61] P. L. Daubenmire, "Genetically Modified Organisms as a Food Source: History, Controversy, and Hope," in *Chemistry's Role in Food Production and Sustainability: Past and Present*, vol. 1314, 0 vols., American Chemical Society, 2019, pp. 203–209.
[62] L. Horrigan, R. S. Lawrence, and P. Walker, "How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture.," *Environ. Health Perspect.*, vol. 110, no. 5, pp. 445–456, May 2002.
[63] P. Ponce, A. Molina, P. Cepeda, E. Lugo, and B. MacCleery, *Greenhouse Design and Control*. CRC Press, 2014.

[64] J. A. Aznar-Sánchez, J. F. Velasco-Muñoz, B. López-Felices, and I. M. Román-Sánchez, "An Analysis of Global Research Trends on Greenhouse Technology: Towards a Sustainable Agriculture," *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 17, no. 2, Art. no. 2, Jan. 2020, doi: 10.3390/ijerph17020664.

[65] C. Gevers, H. F. M. W. van Rijswick, and J. Swart, "Peasant Seeds in France: Fostering A More Resilient Agriculture," *Sustainability*, vol. 11, no. 11, p. 3014, Jan. 2019, doi: 10.3390/su11113014.

[66] I. Langmuir, "Oscillations in Ionized Gases," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 14, no. 8, pp. 627–637, Aug. 1928.

[67] A. Bers and J.-L. Delcroix, *Physique des plasmas. 1*. EDP Sciences, 2012.

[68] A. V. Phelps and L. C. Pitchford, "Anisotropic scattering of electrons by N 2 and its effect on electron transport," *Phys. Rev. A*, vol. 31, no. 5, pp. 2932–2949, May 1985, doi: 10.1103/PhysRevA.31.2932.

[69] H. Conrads and M. Schmidt, "Plasma generation and plasma sources," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 9, no. 4, p. 441, 2000.

[70] M. Klute, H.-E. E. Porteanu, I. Stefanovic, W. Heinrich, P. Awakowicz, and R. P. Brinkmann, "Theoretical investigation of a miniature microwave driven plasma jet," *Plasma Sources Sci. Technol.*, 2020, doi: 10.1088/1361-6595/ab9483.

[71] Y. A. Lebedev, "Microwave discharges at low pressures and peculiarities of the processes in strongly non-uniform plasma," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 24, no. 5, p. 053001, Aug. 2015, doi: 10.1088/0963-0252/24/5/053001.

[72] I. Adamovich *et al.*, "The 2017 Plasma Roadmap: Low temperature plasma science and technology," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 32, p. 323001, Jul. 2017, doi: 10.1088/1361-6463/aa76f5.

[73] M. Moisan, C. Beaudry, and P. Lepprince, "A new HF device for the production of long plasma columns at a high electron density," *Phys. Lett. A*, vol. 50, no. 2, pp. 125–126, Nov. 1974, doi: 10.1016/0375-9601(74)90903-7.

[74] H. Sugai *et al.*, "Electron energy distribution functions and the influence on fluorocarbon plasma chemistry," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 10, no. 2, pp. 378–385, May 2001, doi: 10.1088/0963-0252/10/2/327.

[75] F. C. Fehsenfeld, K. M. Evenson, and H. P. Broida, "Microwave Discharge Cavities Operating at 2450 MHz," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 36, no. 3, pp. 294–298, Mar. 1965, doi: 10.1063/1.1719557.

[76] F. Silva, K. Hassouni, X. Bonnin, and A. Gicquel, "Microwave engineering of plasma-assisted CVD reactors for diamond deposition," *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 21, no. 36, p. 364202, Aug. 2009, doi: 10.1088/0953-8984/21/36/364202.

[77] M. Pichot, A. Durandet, J. Pelletier, Y. Arnal, and L. Vallier, "Microwave multipolar plasmas excited by distributed electron cyclotron resonance: Concept and performance," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 59, no. 7, pp. 1072–1075, Jul. 1988, doi: 10.1063/1.1139728.

[78] L. Latrasse, A. Lacoste, J. Sirou, and J. Pelletier, "High density distributed microwave plasma sources in a matrix configuration: concept, design and performance," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 16, no. 1, pp. 7–12, Oct. 2006, doi: 10.1088/0963-0252/16/1/002.

[79] A. Lacoste, T. Lagarde, S. B. chu, Y. Arnal, and J. Pelletier, "Multi-dipolar plasmas for uniform processing: physics, design and performance," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 11, no. 4, pp. 407–412, Sep. 2002, doi: 10.1088/0963-0252/11/4/307.

[80] L. Latrasse, M. Radoiu, J. Lo, and P. Guillot, “2.45-GHz microwave plasma sources using solid-state microwave generators. ECR-type plasma source,” *J. Microw. Power Electromagn. Energy*, vol. 50, no. 4, pp. 308–321, Oct. 2016, doi: 10.1080/08327823.2016.1260880.

[81] L. Latrasse, M. Radoiu, J. Lo, and P. Guillot, “2.45-GHz microwave plasma sources using solid-state microwave generators. Collisional-type plasma source,” *J. Microw. Power Electromagn. Energy*, vol. 51, no. 1, pp. 43–58, Jan. 2017, doi: 10.1080/08327823.2017.1293589.

[82] L. Latrasse, “Conception, caractérisation et applications des plasmas micro-onde en configuration matricielle,” These de doctorat, Grenoble 1, 2006.

[83] T. V. Tran, “Caractérisation et modélisation des plasmas micro-onde multi-dipolaires : application à la pulvérisation assistée par plasma multi-dipolaire,” These de doctorat, Grenoble 1, 2006.

[84] C. M. Ferreira and M. Moisan, Eds., *Microwave Discharges: Fundamentals and Applications*. Springer US, 1993.

[85] M. Moisan and J. Pelletier, *Physique des plasmas collisionnels: application aux décharges haute fréquence*. EDP Sciences, 2006.

[86] J. Asmussen, “Electron cyclotron resonance microwave discharges for etching and thin-film deposition,” *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 7, no. 3, pp. 883–893, May 1989, doi: 10.1116/1.575815.

[87] J. Margot and M. Moisan, “Electromagnetic surface waves for a new approach to the investigation of plasmas produced at electron cyclotron resonance (ECR),” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 24, no. 10, pp. 1765–1788, Oct. 1991, doi: 10.1088/0022-3727/24/10/011.

[88] I. Pérès and J. Margot, “The power balance of a magnetically confined surface-wave plasma column,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 5, no. 4, pp. 653–661, Nov. 1996, doi: 10.1088/0963-0252/5/4/007.

[89] M. Tuda and K. Ono, “New-type microwave plasma source excited by azimuthally symmetric surface waves with magnetic multicusp fields,” *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 16, no. 5, pp. 2832–2839, Sep. 1998, doi: 10.1116/1.581428.

[90] R. Anghelova, E. Benova, I. Koleva, P. Staikov, T. Stoychev, and I. Zhelyazkov, “An experimental study of the axial structure of a gas discharge sustained by a surface electromagnetic wave in the presence of a uniform external magnetic field,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 21, no. 9, pp. 1371–1376, Sep. 1988, doi: 10.1088/0022-3727/21/9/009.

[91] F. C. Sze, D. K. Reinhard, B. Musson, J. Asmussen, and M. Dahimene, “Experimental performance of a large-diameter multipolar microwave plasma disk reactor,” *J. Vac. Sci. Technol. B Microelectron. Process. Phenom.*, vol. 8, no. 6, pp. 1759–1762, Nov. 1990, doi: 10.1116/1.585154.

[92] S. Samukawa, S. Mori, and M. Sasaki, “Ion current density and its uniformity at the electron cyclotron resonance position in electron cyclotron resonance plasma,” *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 9, no. 1, pp. 85–90, Jan. 1991, doi: 10.1116/1.577135.

[93] D. T. Tran, T. A. Grotjohn, D. K. Reinhard, and J. Asmussen, “Microwave plasma-assisted etching of diamond,” *Diam. Relat. Mater.*, vol. 17, no. 4, pp. 717–721, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.diamond.2007.12.067.

[94] T. Roppel, D. K. Reinhard, and J. Asmussen, “Low temperature oxidation of silicon using a microwave plasma disk source,” *J. Vac. Sci. Technol. B Microelectron. Process. Phenom.*, vol. 4, no. 1, pp. 295–298, Jan. 1986, doi: 10.1116/1.583316.

[95] J. Pelletier, A. Lacoste, Y. Arnal, T. Lagarde, C. Lincot, and D. Hertz, “New trends in DECR plasma technology: applications to novel duplex treatments and process combinations with extreme plasma specifications,” *Surf. Coat. Technol.*, vol. 139, no. 2, pp. 222–232, May 2001, doi: 10.1016/S0257-8972(01)01020-9.

[96] G. J. M. Hagelaar, K. Makasheva, L. Garrigues, and J.-P. Boeuf, “Modelling of a dipolar microwave plasma sustained by electron cyclotron resonance,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 42, no. 19, p. 194019, Sep. 2009, doi: 10.1088/0022-3727/42/19/194019.

[97] L. Latrasse and M. Radoiu, “Elementary Device for Applying a Microwave Energy with Coaxial Applicator,” Apr. 13, 2017.

[98] M. A. Lieberman and A. J. Lichtenberg, *Principles of Plasma Discharges and Materials Processing*. John Wiley & Sons, 2005.

[99] K. L. Mittal and T. Ahsan, *Adhesion in Microelectronics*. John Wiley & Sons, 2014.

[100] D. J. Economou, “Modeling and simulation of plasma etching reactors for microelectronics,” *Thin Solid Films*, vol. 365, no. 2, pp. 348–367, Apr. 2000, doi: 10.1016/S0040-6090(99)01056-1.

[101] D. Bohm and E. P. Gross, “Theory of Plasma Oscillations. A. Origin of Medium-Like Behavior,” *Phys. Rev.*, vol. 75, no. 12, pp. 1851–1864, Jun. 1949, doi: 10.1103/PhysRev.75.1851.

[102] M. Mehdizadeh, *Microwave/RF Applicators and Probes*. Elsevier, 2015.

[103] J.-M. Mermet, “Fundamental Principles of Inductively Coupled Plasmas,” in *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, 2007, pp. 27–60.

[104] F. F. Chen and H. Torreblanca, “Large-area helicon plasma source with permanent magnets,” *Plasma Phys. Control. Fusion*, vol. 49, no. 5A, pp. A81–A93, Mar. 2007, doi: 10.1088/0741-3335/49/5A/S07.

[105] T. Lafleur and P. Chabert, “Is collisionless heating in capacitively coupled plasmas really collisionless?,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 24, no. 4, p. 044002, Jun. 2015, doi: 10.1088/0963-0252/24/4/044002.

[106] I. D. Kaganovich, V. I. Kolobov, and L. D. Tsendin, “Stochastic electron heating in bounded radio-frequency plasmas,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 69, no. 25, pp. 3818–3820, Dec. 1996, doi: 10.1063/1.117115.

[107] M. Surendra and D. B. Graves, “Capacitively coupled glow discharges at frequencies above 13.56 MHz,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 59, no. 17, pp. 2091–2093, Oct. 1991, doi: 10.1063/1.106112.

[108] A. Perret, P. Chabert, J. Jolly, and J.-P. Booth, “Ion energy uniformity in high-frequency capacitive discharges,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 86, no. 2, p. 021501, Dec. 2004, doi: 10.1063/1.1848183.

[109] S. Salimian, C. M. Heller, and L. Li, “Dual-frequency capacitively-coupled plasma reactor for materials processing,” US5656123A, Aug. 12, 1997.

[110] M. M. Turner and P. Chabert, “Electron heating mode transitions in dual frequency capacitive discharges,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 89, no. 23, p. 231502, Dec. 2006, doi: 10.1063/1.2402226.

[111] E. Kawamura, M. A. Lieberman, and A. J. Lichtenberg, “Stochastic heating in single and dual frequency capacitive discharges,” *Phys. Plasmas*, vol. 13, no. 5, p. 053506, May 2006, doi: 10.1063/1.2203949.

[112] P. C. Boyle, A. R. Ellingboe, and M. M. Turner, “Independent control of ion current and ion impact energy onto electrodes in dual frequency plasma devices,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 37, no. 5, pp. 697–701, Feb. 2004, doi: 10.1088/0022-3727/37/5/008.
[113] J. Robiche, P. C. Boyle, M. M. Turner, and A. R. Ellingboe, “Analytical model of a dual frequency capacitive sheath,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 36, pp. 1810–1816, Aug. 2003, doi: 10.1088/0022-3727/36/15/311.
[114] P. C. Boyle, A. R. Ellingboe, and M. M. Turner, “Electrostatic modelling of dual frequency rf plasma discharges,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 13, no. 3, pp. 493–503, Jul. 2004, doi: 10.1088/0963-0252/13/3/016.
[115] E. Semmler, P. Awakowicz, and A. von Keudell, “Heating of a dual frequency capacitively coupled plasma via the plasma series resonance,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 16, no. 4, pp. 839–848, Oct. 2007, doi: 10.1088/0963-0252/16/4/020.
[116] E. Schüngel, J. Schulze, Z. Donkó, and U. Czarnetzki, “Power absorption in electrically asymmetric dual frequency capacitive radio frequency discharges,” *Phys. Plasmas*, vol. 18, no. 1, p. 013503, Jan. 2011, doi: 10.1063/1.3535542.
[117] S. Rauf and M. J. Kushner, “Nonlinear dynamics of radio frequency plasma processing reactors powered by multifrequency sources,” 1999, doi: 10.1109/27.799809.
[118] H. H. Goto, H. Löwe, and T. Ohmi, “Dual excitation reactive ion etcher for low energy plasma processing,” *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 10, no. 5, pp. 3048–3054, Sep. 1992, doi: 10.1116/1.577863.
[119] H. Löwe, H. H. Goto, and T. Ohmi, “Control of ion energy and flux in a dual radio frequency excitation magnetron sputtering discharge,” *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 9, no. 6, pp. 3090–3099, Nov. 1991, doi: 10.1116/1.577178.
[120] V. J. Minkiewicz and B. N. Chapman, “Triode plasma etching,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 34, no. 3, pp. 192–193, Feb. 1979, doi: 10.1063/1.90746.
[121] L. Martinu, J. E. Klemberg-Sapieha, and M. R. Wertheimer, “Dual-mode microwave/radio frequency plasma deposition of dielectric thin films,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 54, no. 26, pp. 2645–2647, Jun. 1989, doi: 10.1063/1.101566.
[122] S. K. Noh, K. Ishibashi, Y. Aoyagi, S. Namba, and Y. Yoshizako, “Effects of radio-frequency bias on GaAs surfaces etched by Ar-electron-cyclotron-resonance plasma,” *J. Appl. Phys.*, vol. 67, no. 5, pp. 2591–2595, Mar. 1990, doi: 10.1063/1.345489.
[123] J. E. Klemberg-Sapieha, O. M. Küttel, L. Martinu, and M. R. Wertheimer, “Dual microwave-r.f. plasma deposition of functional coatings,” *Thin Solid Films*, vol. 193–194, pp. 965–972, Dec. 1990, doi: 10.1016/0040-6090(90)90251-8.
[124] K. Kamata, T. Inoue, K. Maruyama, and I. Tanabe, “Additional Bias Effects on the Formation of Amorphous Hydrogenated Carbon Films by ECR,” *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 29, no. 7A, p. L1203, Jul. 1990, doi: 10.1143/JJAP.29.L1203.
[125] C. Constantine, C. Barratt, S. J. Pearton, F. Ren, and J. R. Lothian, “Smooth, low-bias plasma etching of InP in microwave Cl2/CH4/H2 mixtures,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 61, no. 24, pp. 2899–2901, Dec. 1992, doi: 10.1063/1.108042.
[126] M. Moisan and M. R. Wertheimer, “Comparison of microwave and r.f. plasmas: fundamentals and applications,” *Surf. Coat. Technol.*, vol. 59, no. 1, pp. 1–13, Oct. 1993, doi: 10.1016/0257-8972(93)90047-R.
[127] S. J. Pearton, C. R. Abernathy, and F. Ren, “Low bias electron cyclotron resonance plasma etching of GaN, AlN, and InN,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 64, no. 17, pp. 2294–2296, Apr. 1994, doi: 10.1063/1.111648.

[128] P. Reinke, S. Bureau, J. E. Klemberg-Sapieha, and L. Martinu, “Ion energy distributions in dual- and single-mode microwave/radio-frequency plasma,” *J. Appl. Phys.*, vol. 78, no. 8, pp. 4855–4858, Oct. 1995, doi: 10.1063/1.359772.

[129] N. Novikova *et al.*, “Survival of dormant organisms after long-term exposure to the space environment,” *Acta Astronaut.*, vol. 68, no. 9, pp. 1574–1580, May 2011, doi: 10.1016/j.actaastro.2010.05.019.

[130] J. Gilbert, S. M. Woods, T. K. Turkington, and A. Tekauz, “Effect of heat treatment to control Fusarium graminearum in wheat seed,” *Can. J. Plant Pathol.*, vol. 27, no. 3, pp. 448–452, Sep. 2005, doi: 10.1080/07060660509507244.

[131] M. Laroussi, D. A. Mendis, and M. Rosenberg, “Plasma interaction with microbes,” *New J. Phys.*, vol. 5, pp. 41–41, Apr. 2003, doi: 10.1088/1367-2630/5/1/341.

[132] J. Teissie, M. Golzio, and M. P. Rols, “Mechanisms of cell membrane electropermeabilization: A minireview of our present (lack of ?) knowledge,” *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 1724, no. 3, pp. 270–280, Aug. 2005, doi: 10.1016/j.bbagen.2005.05.006.

[133] J.-D. Moon and H.-S. Chung, “Acceleration of germination of tomato seed by applying AC electric and magnetic fields,” *J. Electrost.*, vol. 48, no. 2, pp. 103–114, Jan. 2000, doi: 10.1016/S0304-3886(99)00054-6.

[134] W. Kowalski, *Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook: UVGI for Air and Surface Disinfection*. Springer Science & Business Media, 2010.

[135] S. Y. Park, N.-Y. Lee, S.-H. Kim, J.-I. Cho, H.-J. Lee, and S.-D. Ha, “Effect of ultraviolet radiation on the reduction of major food spoilage molds and sensory quality of the surface of dried filefish (Stephanolepis cirrhifer) fillets,” *Food Res. Int.*, vol. 62, pp. 1108–1112, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.foodres.2014.05.060.

[136] M. Moisan, J. Barbeau, M.-C. Crevier, J. Pelletier, N. Philip, and B. Saoudi, “Plasma sterilization. Methods and mechanisms,” *Pure Appl. Chem.*, vol. 74, no. 3, pp. 349–358, Jan. 2002, doi: 10.1351/pac200274030349.

[137] C. Parent, N. Capelli, and J. Dat, “Formes réactives de l’oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes,” *C. R. Biol.*, vol. 331, no. 4, pp. 255–261, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.crvi.2008.02.001.

[138] K. Das and A. Roychoudhury, “Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants,” *Front. Environ. Sci.*, vol. 2, 2014, doi: 10.3389/fenvs.2014.00053.

[139] C. Bailly, H. El-Maarouf-Bouteau, and F. Corbineau, “From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology,” *C. R. Biol.*, vol. 331, no. 10, pp. 806–814, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.crvi.2008.07.022.

[140] J. C. Begara-Morales *et al.*, “Nitric oxide buffering and conditional nitric oxide release in stress response,” *J. Exp. Bot.*, vol. 69, no. 14, pp. 3425–3438, Jun. 2018, doi: 10.1093/jxb/ery072.

[141] W. Czarnocka and S. Karpiński, “Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 122, pp. 4–20, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011.

[142] B. Halliwell, “Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life,” *Plant Physiol.*, vol. 141, no. 2, pp. 312–322, Jun. 2006, doi: 10.1104/pp.106.077073.

[143] A. Gómez-Ramírez *et al.*, “Surface chemistry and germination improvement of Quinoa seeds subjected to plasma activation,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 5924, 19 2017, doi: 10.1038/s41598-017-06164-5.

[144] K. Suhem, N. Matan, M. Nisoa, and N. Matan, “Inhibition of Aspergillus flavus on agar media and brown rice cereal bars using cold atmospheric plasma treatment,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 161, no. 2, pp. 107–111, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.002.

[145] A. Zahoranová *et al.*, “Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on the Wheat Seedlings Vigor and on the Inactivation of Microorganisms on the Seeds Surface,” *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 36, no. 2, pp. 397–414, Mar. 2016, doi: 10.1007/s11090-015-9684-z.

[146] M. Świecimska *et al.*, “Non-Thermal Plasma Can Be Used in Disinfection of Scots Pine (Pinus sylvestris L.) Seeds Infected with Fusarium oxysporum,” *Forests*, vol. 11, no. 8, Art. no. 8, Aug. 2020, doi: 10.3390/f11080837.

[147] A. Los *et al.*, “Improving microbiological safety and quality characteristics of wheat and barley by high voltage atmospheric cold plasma closed processing,” *Food Res. Int.*, vol. 106, pp. 509–521, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.009.

[148] R. Thirumdas *et al.*, “Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 77, pp. 21–31, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.tifs.2018.05.007.

[149] R. Zhou, J. Li, R. Zhou, X. Zhang, and S. Yang, “Atmospheric-pressure plasma treated water for seed germination and seedling growth of mung bean and its sterilization effect on mung bean sprouts,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.ifset.2018.08.006.

[150] M. Bafoil *et al.*, “Effects of low temperature plasmas and plasma activated waters on Arabidopsis thaliana germination and growth,” *PLOS ONE*, vol. 13, no. 4, p. e0195512, Apr. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195512.

[151] C. Bradu, K. Kutasi, M. Magureanu, N. Puač, and S. Živković, “Reactive nitrogen species in plasma-activated water: generation, chemistry and application in agriculture,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 53, no. 22, p. 223001, Apr. 2020, doi: 10.1088/1361-6463/ab795a.

[152] N. N. Misra, O. Schlüter, and P. J. Cullen, *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*. Academic Press, 2016.

[153] B. J. Park *et al.*, “Sterilization using a microwave-induced argon plasma system at atmospheric pressure,” *Phys. Plasmas*, vol. 10, no. 11, pp. 4539–4544, Oct. 2003, doi: 10.1063/1.1613655.

[154] M. Selcuk, L. Oksuz, and P. Basaran, “Decontamination of grains and legumes infected with Aspergillus spp. and Penicillum spp. by cold plasma treatment,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 11, pp. 5104–5109, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.09.076.

[155] P. Basaran, N. Basaran-Akgul, and L. Oksuz, “Elimination of Aspergillus parasiticus from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment,” *Food Microbiol.*, vol. 25, no. 4, pp. 626–632, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.fm.2007.12.005.

[156] Y. Devi, R. Thirumdas, C. Sarangapani, R. R. Deshmukh, and U. S. Annapure, “Influence of cold plasma on fungal growth and aflatoxins production on groundnuts,” *Food Control*, vol. 77, no. Supplement C, pp. 187–191, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.foodcont.2017.02.019.

[157] I. Filatova, V. Azharonok, A. Shik, A. Antoniuk, and N. Terletskaya, “Fungicidal Effects of Plasma and Radio-Wave Pre-treatments on Seeds of Grain Crops and Legumes,” in

Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security, Dordrecht, 2012, pp. 469–479, doi: 10.1007/978-94-007-2852-3_36.

[158] L. ten Bosch, K. Pfohl, G. Avramidis, S. Wieneke, W. Viöl, and P. Karlovsky, "Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by Fusarium, Aspergillus and Alternaria Species," *Toxins*, vol. 9, no. 3, Mar. 2017, doi: 10.3390/toxins9030097.

[159] N. Hojnik, M. Modic, G. Tavčar-Kalcher, J. Babič, J. L. Walsh, and U. Cvelbar, "Mycotoxin Decontamination Efficacy of Atmospheric Pressure Air Plasma," *Toxins*, vol. 11, no. 4, Art. no. 4, Apr. 2019, doi: 10.3390/toxins11040219.

[160] N. Hojnik, U. Cvelbar, G. Tavčar-Kalcher, J. L. Walsh, and I. Križaj, "Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus 'Classic' Decontamination," *Toxins*, vol. 9, no. 5, Apr. 2017, doi: 10.3390/toxins9050151.

[161] B. Adhikari, M. Adhikari, and G. Park, "The Effects of Plasma on Plant Growth, Development, and Sustainability," *Appl. Sci.*, vol. 10, no. 17, Art. no. 17, Jan. 2020, doi: 10.3390/app10176045.

[162] D. Bermudez-Aguirre, "Chapter 2 - Advances in the inactivation of microorganisms and viruses in food and model systems using cold plasma," in *Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation*, D. Bermudez-Aguirre, Ed. Academic Press, 2020, pp. 49–91.

[163] N. N. Misra, B. Yadav, M. S. Roopesh, and C. Jo, "Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 18, no. 1, pp. 106–120, 2019, doi: 10.1111/1541-4337.12398.

[164] V. Scholtz, B. Šerá, J. Khun, M. Šerý, and J. Julák, "Effects of Nonthermal Plasma on Wheat Grains and Products," *Journal of Food Quality*, Jun. 12, 2019. https://www.hindawi.com/journals/jfq/2019/7917825/ (accessed Sep. 22, 2020).

[165] J. Volin, F. S. Denes, R. A. Young, and S. M. T. Park, "Modification of seed germination performance through cold plasma chemistry technology," *Crop Sci.*, vol. 40, pp. 1706–1718, Nov. 2000.

[166] A. E. Dubinov, E. R. Lazarenko, and V. D. Selemir, "Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed," *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 28, no. 1, pp. 180–183, Feb. 2000, doi: 10.1109/27.842898.

[167] S. Živković, N. Puač, Z. Giba, D. Grubišić, and Z. Lj. Petrović, "The stimulatory effect of non-equilibrium (low temperature) air plasma pretreatment on light-induced germination of Paulownia tomentosa seeds," *Seed Sci. Technol.*, vol. 32, no. 3, pp. 693–701, Oct. 2004, doi: 10.15258/sst.2004.32.3.05.

[168] B. Será, V. Stranák, M. Serý, M. Tichý, and P. Spatenka, "Germination of Chenopodium Album in Response to Microwave Plasma Treatment," *Plasma Sci. Technol.*, vol. 10, no. 4, pp. 506–511, Aug. 2008, doi: 10.1088/1009-0630/10/4/22.

[169] B. Šerá, M. Šerý, V. Štrañák, P. Špatenka, and M. tichý, "Does Cold Plasma Affect Breaking Dormancy and Seed Germination? A Study on Seeds of Lamb\textquotesingles Quarters (Chenopodium album agg.)," *Plasma Sci. Technol.*, vol. 11, no. 6, pp. 750–754, Dec. 2009, doi: 10.1088/1009-0630/11/6/22.

[170] B. Sera, P. Spatenka, M. Sery, N. Vrchotova, and I. Hruskova, "Influence of Plasma Treatment on Wheat and Oat Germination and Early Growth," *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 38, no. 10, pp. 2963–2968, Oct. 2010, doi: 10.1109/TPS.2010.2060728.

[171] M. M. Rahman *et al.*, “Mechanisms and Signaling Associated with LPDBD Plasma Mediated Growth Improvement in Wheat,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, Art. no. 1, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-28960-3.

[172] R. Singh, P. Prasad, R. Mohan, M. K. Verma, and B. Kumar, “Radiofrequency cold plasma treatment enhances seed germination and seedling growth in variety CIM-Saumya of sweet basil (Ocimum basilicum L.),” *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants*, vol. 12, pp. 78–81, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.jarmap.2018.11.005.

[173] V. Mildažienė *et al.*, “Treatment of Common Sunflower (Helianthus annus L.) Seeds with Radio-frequency Electromagnetic Field and Cold Plasma Induces Changes in Seed Phytohormone Balance, Seedling Development and Leaf Protein Expression,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, Art. no. 1, Apr. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-42893-5.

[174] L. Latrasse, M. Radoiu, T. Nelis, and O. Antonin, “Self-matching plasma sources using 2.45 GHz solid-state generators: microwave design and operating performance,” *J. Microw. Power Electromagn. Energy*, vol. 51, no. 4, pp. 237–258, Oct. 2017, doi: 10.1080/08327823.2017.1388338.

[175] M. M. Salem, J.-F. Loiseau, and B. Held, “Impedance matching for optimization of power transfer in a capacitively excited RF plasma reactor,” *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, vol. 3, no. 1, Art. no. 1, Jul. 1998, doi: 10.1051/epjap:1998208.

[176] K. Köhler, J. W. Coburn, D. E. Horne, E. Kay, and J. H. Keller, “Plasma potentials of 13.56-MHz rf argon glow discharges in a planar system,” *J. Appl. Phys.*, vol. 57, no. 1, pp. 59–66, Jan. 1985, doi: 10.1063/1.335396.

[177] U. Fantz, “Basics of plasma spectroscopy,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 15, no. 4, pp. S137–S147, Oct. 2006, doi: 10.1088/0963-0252/15/4/S01.

[178] A. Kais, J. Lo, L. Thérèse, and Ph. Guillot, “Heating power at the substrate, electron temperature, and electron density in 2.45 GHz low-pressure microwave plasma,” *Phys. Plasmas*, vol. 25, no. 1, p. 013504, Jan. 2018, doi: 10.1063/1.5005592.

[179] X.-M. Zhu and Y.-K. Pu, “Optical emission spectroscopy in low-temperature plasmas containing argon and nitrogen: determination of the electron temperature and density by the line-ratio method,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 43, no. 40, p. 403001, Sep. 2010, doi: 10.1088/0022-3727/43/40/403001.

[180] D. V. Lopaev, A. V. Volynets, S. M. Zyryanov, A. I. Zotovich, and A. T. Rakhimov, “Actinometry of O, N and F atoms,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 7, p. 075202, Jan. 2017, doi: 10.1088/1361-6463/50/7/075202.

[181] C. O. Laux, R. J. Gessman, C. H. Kruger, F. Roux, F. Michaud, and S. P. Davis, “Rotational temperature measurements in air and nitrogen plasmas using the first negative system of N2+,” *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 68, no. 4, pp. 473–482, Feb. 2001, doi: 10.1016/S0022-4073(00)00083-2.

[182] H. Griem, *Spectral Line Broadening by Plasmas*. Elsevier, 2012.

[183] M. Czerny and A. F. Turner, “Über den Astigmatismus bei Spiegelspektrometern,” *Z. Für Phys.*, vol. 61, no. 11, pp. 792–797, Nov. 1930, doi: 10.1007/BF01340206.

[184] NIST, “Atomic Spectra Database Lines Data,” http://physics.nist.gov/cgi-bin/ASD/lines1.pl.

[185] R. W. B. Pearse and A. G. Gaydon, *The identification of molecular spectra. Third Edition*, 3rd edition. John Wiley & Sons, 1963.

[186] Q. Wang, F. Doll, V. M. Donnelly, D. J. Economou, N. Sadeghi, and G. F. Franz, “Experimental and theoretical study of the effect of gas flow on gas temperature in an

atmospheric pressure microplasma," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 40, no. 14, pp. 4202–4211, Jun. 2007, doi: 10.1088/0022-3727/40/14/015.

[187] M. D. Simon, R. F. Wuerker, and A. Y. Wong, "Measurement of the C 3 Pi u radiative lifetime of N2 by laser-induced fluorescence," *Phys. Rev. At. Mol. Opt. Phys.*, vol. 50, no. 4, pp. 2978–2980, Oct. 1994, doi: 10.1103/physreva.50.2978.

[188] N. A. Popov, "Fast gas heating in a nitrogen–oxygen discharge plasma: I. Kinetic mechanism," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 44, no. 28, p. 285201, Jun. 2011, doi: 10.1088/0022-3727/44/28/285201.

[189] C. O. Laux, "Optical Diagnostics and Radiative Emission of Air Plasmas," *PhD Thesis*, 1993, Accessed: Nov. 29, 2018. [Online]. Available: http://adsabs.harvard.edu/abs/1993PhDT.....206L.

[190] P. Valentini, C. Zhang, and T. E. Schwartzentruber, "Molecular dynamics simulation of rotational relaxation in nitrogen: Implications for rotational collision number models," *Phys. Fluids*, vol. 24, no. 10, p. 106101, Oct. 2012, doi: 10.1063/1.4757119.

[191] P. C. Jain, "Rotational collision number for nitrogen," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 13, no. 1, pp. 25–28, Jan. 1980, doi: 10.1088/0022-3727/13/1/010.

[192] M. Capitelli, C. M. Ferreira, B. F. Gordiets, and A. I. Osipov, *Plasma Kinetics in Atmospheric Gases*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2000.

[193] V. V. Riabov, "Estimations of Rotational Relaxation Parameters in Diatomic Gases," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1333, no. 1, pp. 1257–1262, May 2011, doi: 10.1063/1.3562816.

[194] P. J. Bruggeman, N. Sadeghi, D. C. Schram, and V. Linss, "Gas temperature determination from rotational lines in non-equilibrium plasmas: a review," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 23, no. 2, p. 023001, Apr. 2014, doi: 10.1088/0963-0252/23/2/023001.

[195] C. O. Laux, T. G. Spence, C. H. Kruger, and R. N. Zare, "Optical diagnostics of atmospheric pressure air plasmas," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 12, no. 2, pp. 125–138, May 2003, doi: 10.1088/0963-0252/12/2/301.

[196] H. M. Mott-Smith and I. Langmuir, "The Theory of Collectors in Gaseous Discharges," *Phys. Rev.*, vol. 28, no. 4, pp. 727–763, Oct. 1926, doi: 10.1103/PhysRev.28.727.

[197] V. A. Godyak and V. I. Demidov, "Probe measurements of electron-energy distributions in plasmas: what can we measure and how can we achieve reliable results?," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 44, no. 26, p. 269501, Jul. 2011, doi: 10.1088/0022-3727/44/26/269501.

[198] N. Itagaki, Y. Ueda, N. Ishii, and Y. Kawai, "Production of low electron temperature ECR plasma for thin film deposition," *Surf. Coat. Technol.*, vol. 142–144, pp. 546–550, Jul. 2001, doi: 10.1016/S0257-8972(01)01204-X.

[199] G. Asch, *Les capteurs en instrumentation industrielle*. Dunod, 2006.

[200] R. Piejak, V. Godyak, B. Alexandrovich, and N. Tishchenko, "Surface temperature and thermal balance of probes immersed in high density plasma," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 7, no. 4, pp. 590–598, Nov. 1998, doi: 10.1088/0963-0252/7/4/016.

[201] M. Stahl, T. Trottenberg, and H. Kersten, "A calorimetric probe for plasma diagnostics," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 81, no. 2, p. 023504, Feb. 2010, doi: 10.1063/1.3276707.

[202] H. Kersten, H. Deutsch, H. Steffen, G. M. W. Kroesen, and R. Hippler, "The energy balance at substrate surfaces during plasma processing," *Vacuum*, vol. 63, no. 3, pp. 385–431, Aug. 2001, doi: 10.1016/S0042-207X(01)00350-5.

[203] N. W. Turner, H. Bramhmbhatt, M. Szabo-Vezse, A. Poma, R. Coker, and S. A. Piletsky, "Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014)," *Anal. Chim. Acta*, vol. 901, pp. 12–33, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.aca.2015.10.013.

[204] E. Beltrán, M. Ibáñez, J. V. Sancho, M. Á. Cortés, V. Yusà, and F. Hernández, "UHPLC–MS/MS highly sensitive determination of aflatoxins, the aflatoxin metabolite M1 and ochratoxin A in baby food and milk," *Food Chem.*, vol. 126, no. 2, pp. 737–744, May 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.056.

[205] M. Z. Zheng, J. L. Richard, and J. Binder, "A Review of Rapid Methods for the Analysis of Mycotoxins," *Mycopathologia*, vol. 161, no. 5, pp. 261–273, May 2006, doi: 10.1007/s11046-006-0215-6.

[206] "Règlement CE n°1881/2006," *Journal officiel de l'Union Européenne*, 2006.

[207] Z. Zheng, C. W. Humphrey, R. S. King, and J. L. Richard, "Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC," *Mycopathologia*, vol. 159, no. 2, pp. 255–263, Feb. 2005, doi: 10.1007/s11046-004-8666-0.

[208] M. S. Klarić, Z. Cvetnić, S. Pepeljnjak, and I. Kosalec, "Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, and zearalenone in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography," *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, vol. 60, no. 4, pp. 427–434, Dec. 2009, doi: 10.2478/10004-1254-60-2009-1975.

[209] G. Ríos, L. Pinson-Gadais, J. Abecassis, N. Zakhia-Rozis, and V. Lullien-Pellerin, "Assessment of dehulling efficiency to reduce deoxynivalenol and Fusarium level in durum wheat grains," *J. Cereal Sci.*, vol. 49, no. 3, pp. 387–392, May 2009, doi: 10.1016/j.jcs.2009.01.003.

[210] S. R. O. Serna Saldívar, *Cereal grains: laboratory reference and procedures manual*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2012.

[211] Association of Official Seed Analysts (AOSA), *Rules for testing seeds*, vol. 1. Principles and Procedures. 2016.

[212] M. A. O. Santos, A. D. L. C. Novembre, and J. Marcos-Filho, "Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds," *Seed Sci. Technol.*, vol. 35, no. 1, pp. 213–223, Apr. 2007, doi: 10.15258/sst.2007.35.1.19.

[213] P. Verma and M. Majee, "Seed Germination and Viability Test in Tetrazolium (TZ) Assay," *Bio-Protoc.*, vol. 3, no. 17, pp. e884–e884, Sep. 2013.

[214] U. L. Sahitya, M. S. R. Krishna, R. S. Deepthi, G. S. Prasad, and D. P. Kasim, "Seed Antioxidants Interplay with Drought Stress Tolerance Indices in Chilli (Capsicum annuum L) Seedlings," *BioMed Res. Int.*, vol. 2018, p. 1605096, 2018, doi: 10.1155/2018/1605096.

[215] P. Baële, S. Béchu, A. Bès, J. Pelletier, and A. Lacoste, "An open-ended coaxial plasma source with extended operating parameters: plasma impedance, coupling and energy efficiency," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 23, no. 6, p. 064006, 2014, doi: 10.1088/0963-0252/23/6/064006.

[216] F. F. Chen, "Langmuir probe analysis for high density plasmas," *Phys. Plasmas*, vol. 8, no. 6, pp. 3029–3041, May 2001, doi: 10.1063/1.1368874.

[217] F. F. Chen, J. D. Evans, and W. Zawalski, "Calibration of Langmuir probes against microwaves and plasma oscillation probes," *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, no. 5, p. 055002, Aug. 2012, doi: 10.1088/0963-0252/21/5/055002.

[218] Y. Itikawa, "Cross Sections for Electron Collisions with Nitrogen Molecules," *J. Phys. Chem. Ref. Data*, vol. 35, no. 1, pp. 31–53, Dec. 2005, doi: 10.1063/1.1937426.

[219] Y. Itikawa, "Cross Sections for Electron Collisions with Oxygen Molecules," *J. Phys. Chem. Ref. Data*, vol. 38, no. 1, pp. 1–20, Dec. 2008, doi: 10.1063/1.3025886.

[220] S. Boivin, X. Glad, L. Latrasse, A. Sarkissian, and L. Stafford, “Probing suprathermal electrons by trace rare gases optical emission spectroscopy in low pressure dipolar microwave plasmas excited at the electron cyclotron resonance,” *Phys. Plasmas*, vol. 25, no. 9, p. 093511, Sep. 2018, doi: 10.1063/1.5045348.

[221] V. M. Donnelly, “Plasma electron temperatures and electron energy distributions measured by trace rare gases optical emission spectroscopy,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 37, no. 19, pp. R217–R236, Sep. 2004, doi: 10.1088/0022-3727/37/19/R01.

[222] T. Lagarde, Y. Arnal, A. Lacoste, and J. Pelletier, “Determination of the EEDF by Langmuir probe diagnostics in a plasma excited at ECR above a multipolar magnetic field,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 10, no. 2, pp. 181–190, Apr. 2001, doi: 10.1088/0963-0252/10/2/308.

[223] S. B. Singh, N. Chand, and D. S. Patil, “Langmuir probe diagnostics of microwave electron cyclotron resonance (ECR) plasma,” *Vacuum*, vol. 83, no. 2, pp. 372–377, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.vacuum.2008.05.030.

[224] S.-L. Fu, J.-F. Chen, S.-J. Hu, X.-Q. Wu, Y. Lee, and S.-L. Fan, “Study on the characteristics of ECR plasma spatial distribution,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 15, no. 2, pp. 187–192, Feb. 2006, doi: 10.1088/0963-0252/15/2/003.

[225] A. Brockhaus, D. Korzec, F. Werner, Y. Yuan, and J. Engemann, “Characterization of a microwave plasma by in situ diagnostics,” *Surf. Coat. Technol.*, vol. 74–75, pp. 431–442, Sep. 1995, doi: 10.1016/0257-8972(95)08217-4.

[226] N. Britun, M. Gaillard, A. Ricard, Y. M. Kim, K. S. Kim, and J. G. Han, “Determination of the vibrational, rotational and electron temperatures in N2and Ar–N2rf discharge,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 40, no. 4, pp. 1022–1029, Feb. 2007, doi: 10.1088/0022-3727/40/4/016.

[227] M. L. Passow, M. L. Brake, P. Lopez, W. B. McColl, and T. E. Repetti, “Microwave resonant-cavity-produced air discharges,” *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 19, no. 2, pp. 219–228, Apr. 1991, doi: 10.1109/27.106817.

[228] V. Guerra, P. A. Sá, and J. Loureiro, “Kinetic modeling of low-pressure nitrogen discharges and post-discharges,” *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, vol. 28, no. 2, Art. no. 2, Nov. 2004, doi: 10.1051/epjap:2004188.

[229] V. Guerra, A. Tejero-del-Caz, C. D. Pintassilgo, and L. L. Alves, “Modelling N2–O2 plasmas: volume and surface kinetics,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 28, no. 7, p. 073001, Jul. 2019, doi: 10.1088/1361-6595/ab252c.

[230] V. Guerra and J. Loureiro, “Kinetic model of a low-pressure microwave discharge in O2-H2including the effects of O-ions on the characteristics for plasma maintenance,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 8, no. 1, pp. 110–124, Jan. 1999, doi: 10.1088/0963-0252/8/1/014.

[231] L. V. Gatilova *et al.*, “NO formation mechanisms studied by infrared laser absorption in a single low-pressure plasma pulse,” *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 16, no. 1, pp. S107–S114, Jan. 2007, doi: 10.1088/0963-0252/16/1/S12.

[232] G. D’Ammando, G. Colonna, M. Capitelli, and A. Laricchiuta, “Superelastic collisions under low temperature plasma and afterglow conditions: A golden rule to estimate their quantitative effects,” *Phys. Plasmas*, vol. 22, no. 3, p. 034501, Mar. 2015, doi: 10.1063/1.4913670.

[233] C. Gorse, M. Cacciatore, M. Capitelli, S. De Benedictis, and G. Dilecce, “Electron energy distribution functions under N2 discharge and post-discharge conditions: A self-consistent

approach," *Chem. Phys.*, vol. 119, no. 1, pp. 63–70, Jan. 1988, doi: 10.1016/0301-0104(88)80006-5.

[234] A. Qayyum, S. Zeb, S. Ali, A. Waheed, and M. Zakaullah, "Optical Emission Spectroscopy of Abnormal Glow Region in Nitrogen Plasma," *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 25, no. 5, pp. 551–564, Oct. 2005, doi: 10.1007/s11090-005-4999-9.

[235] E. J. H. Collart, J. a. G. Baggerman, and R. J. Visser, "Excitation mechanisms of oxygen atoms in a low pressure O2 radio-frequency plasma," *J. Appl. Phys.*, vol. 70, no. 10, pp. 5278–5281, Nov. 1991, doi: 10.1063/1.350237.

[236] L. F. Phillips, "The lifetime of the state of n2," *Can. J. Chem.*, vol. 43, no. 2, pp. 369–374, Feb. 1965, doi: 10.1139/v65-048.

[237] M. Uddi, N. Jiang, I. V. Adamovich, and W. R. Lempert, "Nitric oxide density measurements in air and air/fuel nanosecond pulse discharges by laser induced fluorescence," *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 42, no. 7, p. 075205, Mar. 2009, doi: 10.1088/0022-3727/42/7/075205.

[238] V. Guerra, P. A. Sá, and J. Loureiro, "Role played by the N2(A3${upSigma," *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 34, no. 12, pp. 1745–1755, Jun. 2001, doi: 10.1088/0022-3727/34/12/301.

[239] X.-Z. Jiang *et al.*, "Spatially resolved measurements of ion density and electron temperature in a dual-frequency capacitively coupled plasma by complete floating double probe technique," *J. Vac. Sci. Technol. A*, vol. 29, no. 1, p. 011006, Jan. 2011, doi: 10.1116/1.3520644.

[240] B. B. Sahu, S. B. Jin, and J. G. Han, "Development and characterization of a multi-electrode cold atmospheric pressure DBD plasma jet aiming plasma application," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 32, no. 4, pp. 782–795, Apr. 2017, doi: 10.1039/C6JA00419A.

[241] D. R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition*. CRC Press, 2004.

[242] J. D. Mason, M. T. Cone, and E. S. Fry, "Ultraviolet (250–550 nm) absorption spectrum of pure water," *Appl. Opt.*, vol. 55, no. 25, pp. 7163–7172, Sep. 2016, doi: 10.1364/AO.55.007163.

[243] "European legislation EC 1881/2006."

[244] J. M. Boyce, P. A. Farrel, D. Towle, R. Fekieta, and M. Aniskiewicz, "Impact of Room Location on UV-C Irradiance and UV-C Dosage and Antimicrobial Effect Delivered by a Mobile UV-C Light Device," *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 37, no. 6, pp. 667–672, Jun. 2016, doi: 10.1017/ice.2016.35.

[245] M. Soulier, A. Kais, C. Muja, J. Lo, and P. Guillot, "Comparison between the sporocidal efficacy of two coaxial micro-waves plasma sources for spices decontamination," in *International Workshop On Plasma Agriculture 2*, Takayama, Japon, Mar. 2018, vol. 1, p. 70.

[246] B. J. Park *et al.*, "Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure," *Surf. Coat. Technol.*, vol. 201, no. 9, pp. 5733–5737, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.surfcoat.2006.07.092.

[247] A. Sakudo, Y. Toyokawa, T. Misawa, and Y. Imanishi, "Degradation and detoxification of aflatoxin B1 using nitrogen gas plasma generated by a static induction thyristor as a pulsed power supply," *Food Control*, vol. 73, pp. 619–626, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.09.014.

[248] P. Kriz *et al.*, "Influence of Plasma Treatment in Open Air on Mycotoxin Content and Grain Nutriments," *Plasma Med.*, vol. 5, no. 2–4, 2015, doi: 10.1615/PlasmaMed.2016015752.

[249] S.-Q. Wang, G.-Q. Huang, Y.-P. Li, J.-X. Xiao, Y. Zhang, and W.-L. Jiang, “Degradation of aflatoxin B1 by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 241, no. 1, pp. 103–113, Jul. 2015, doi: 10.1007/s00217-015-2439-5.

[250] O. G. G. Knox, M. J. McHugh, J. M. Fountaine, and N. D. Havis, “Effects of microwaves on fungal pathogens of wheat seed,” *Crop Prot.*, vol. 50, pp. 12–16, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.cropro.2013.03.009.

[251] K. A. Scudamore, R. C. E. Guy, B. Kelleher, and S. J. MacDonald, “Fate of Fusarium mycotoxins in maize flour and grits during extrusion cooking,” *Food Addit. Contam. Part A*, vol. 25, no. 11, pp. 1374–1384, Nov. 2008, doi: 10.1080/02652030802136188.

[252] E. Bormashenko, R. Grynyov, Y. Bormashenko, and E. Drori, “Cold Radiofrequency Plasma Treatment Modifies Wettability and Germination Speed of Plant Seeds,” *Sci. Rep.*, vol. 2, Oct. 2012, doi: 10.1038/srep00741.

[253] M. De Lucia and A. Assennato, “L’après-récolte des grains - Stockage, Controle des grains.” http://www.fao.org/3/t0522f/t0522f04.htm (accessed Oct. 04, 2020).

[254] R. Kaushik, N. Kumar, M. K. Sihag, and A. Ray, “Isolation, characterization of wheat gluten and its regeneration properties,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 9, pp. 5930–5937, Sep. 2015, doi: 10.1007/s13197-014-1690-2.

[255] C. N. Popa, R. M. Tamba-Berehoiu, A. Huțan, and S. Popescu, “The significance of some flour quality parameters as quality predictors of bread.,” *Sci. Bull. Ser. F Biotechnol.*, vol. 18, pp. 135–140, 2014.

[256] L. Lopez Del Egido, D. Navarro-Miró, V. Martinez-Heredia, P. E. Toorop, and P. P. M. Iannetta, “A Spectrophotometric Assay for Robust Viability Testing of Seed Batches Using 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride: Using Hordeum vulgare L. as a Model,” *Front. Plant Sci.*, vol. 8, 2017, doi: 10.3389/fpls.2017.00747.

[257] S. P. Jeevan Kumar, S. Rajendra Prasad, R. Banerjee, and C. Thammineni, “Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology,” *Ann. Bot.*, vol. 116, no. 4, pp. 663–668, Sep. 2015, doi: 10.1093/aob/mcv098.

[258] B. Šerá, I. Gajdovâ, B. Gavril, E. Hnatiuc, M. Šerý, and P. Špatenka, “Hemp (Cannabis sativa L.) seeds after plasma treatment,” in *2012 13th International Conference on Optimization of Electrical and Electronic Equipment (OPTIM)*, May 2012, pp. 1371–1374, doi: 10.1109/OPTIM.2012.6231981.

[259] N. Puač, Z. L. Petrović, S. Živković, Z. Giba, D. Grubišić, and A. R. Đorđević, “Low-Temperature Plasma Treatment of Dry Empress-Tree Seeds,” in *Plasma Processes and Polymers*, John Wiley & Sons, Ltd, 2005, pp. 193–203.

[260] C. Nalwa, A. K. Thakur, A. Vikram, R. Rane, and A. Vaid, “Studies on plasma treatment and priming of seeds of bell pepper (Capsicum annuum L.),” *J. Appl. Nat. Sci.*, vol. 9, no. 3, Art. no. 3, Sep. 2017, doi: 10.31018/jans.v9i3.1392.

[261] E. Bormashenko, Y. Shapira, R. Grynyov, G. Whyman, Y. Bormashenko, and E. Drori, “Interaction of cold radiofrequency plasma with seeds of beans (Phaseolus vulgaris),” *J. Exp. Bot.*, vol. 66, no. 13, pp. 4013–4021, Jul. 2015, doi: 10.1093/jxb/erv206.

[262] E. Occhiello, M. Morra, F. Garbassi, D. Johnson, and P. Humphrey, “SSIMS studies of hydrophobic recovery: Oxygen plasma treated PS,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 47, no. 3, pp. 235–242, Apr. 1991, doi: 10.1016/0169-4332(91)90037-K.

[263] M. Soulier, T. Maho, C. Muja, P. Belenguer, J. Lo, and P. Guillot, “Spatial distribution of an ECR microwave plasma coupled with a CCP radiofrequency plasma acting on seed

surface modification," presented at the 1st International Conference on Renewable Energy and Energy Conversion, Oran, Algeria, Nov. 2019, [Online]. Available: https://icreec2019.wixsite.com/icreec2019.

[264] Y. Park *et al.*, "The biological effects of surface dielectric barrier discharge on seed germination and plant growth with barley," *Plasma Process. Polym.*, vol. 15, no. 2, p. 1600056, 2018, doi: 10.1002/ppap.201600056.

[265] V. A. Godyak, V. P. Meytlis, and H. R. Strauss, "Tonks-Langmuir problem for a bi-Maxwellian plasma," *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 23, no. 4, pp. 728–734, Aug. 1995, doi: 10.1109/27.467995.

[266] V. A. Godyak and R. B. Piejak, "Abnormally low electron energy and heating-mode transition in a low-pressure argon rf discharge at 13.56 MHz," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 65, no. 8, pp. 996–999, Aug. 1990, doi: 10.1103/PhysRevLett.65.996.

[267] M. J. Druyvesteyn and F. M. Penning, "The Mechanism of Electrical Discharges in Gases of Low Pressure," *Rev. Mod. Phys.*, vol. 12, no. 2, pp. 87–174, Apr. 1940, doi: 10.1103/RevModPhys.12.87.

[268] J. E. Allen, R. L. F. Boyd, and P. Reynolds, "The Collection of Positive Ions by a Probe Immersed in a Plasma," *Proc. Phys. Soc. Sect. B*, vol. 70, no. 3, pp. 297–304, Mar. 1957, doi: 10.1088/0370-1301/70/3/303.

[269] F. F. Chen, "Saturation Ion Currents to Langmuir Probes," *J. Appl. Phys.*, vol. 36, no. 3, pp. 675–678, Mar. 1965, doi: 10.1063/1.1714200.

[270] I. B. Bernstein and I. N. Rabinowitz, "Theory of Electrostatic Probes in a Low-Density Plasma," *Phys. Fluids*, vol. 2, no. 2, pp. 112–121, Mar. 1959, doi: 10.1063/1.1705900.

[271] J. G. Laframboise, "THEORY OF SPHERICAL AND CYLINDRICAL LANGMUIR PROBES IN A COLLISIONLESS, MAXWELLIAN PLASMA AT REST.," 1966, Jan. 1966. Accessed: May 06, 2020. [Online]. Available: https://www.osti.gov/biblio/4566728-theory-spherical-cylindrical-langmuir-probes-collisionless-maxwellian-plasma-rest.

[272] A. D. Hocking and J. I. Pitt, "Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods.," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 39, no. 3, pp. 488–492, Mar. 1980.

[273] V. Tournas, *Bacteriological Analytical Manual Chapter 18*, vol. 1. 2019.