



HAL
open science

Phénomènes de transfert de matière lors de la pulvérisation d'eau ozonée et Traitements à l'eau ozonée en conditions contrôlées du mildiou de la vigne, du chou et de l'oidium de la tomate.

Axel Canado

► To cite this version:

Axel Canado. Phénomènes de transfert de matière lors de la pulvérisation d'eau ozonée et Traitements à l'eau ozonée en conditions contrôlées du mildiou de la vigne, du chou et de l'oidium de la tomate.. Chimie organique. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2022. Français. NNT : 2022INPT0047 . tel-04208340

HAL Id: tel-04208340

<https://theses.hal.science/tel-04208340v1>

Submitted on 15 Sep 2023

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.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

Discipline ou spécialité :

Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :

M. AXEL CANADO

le mercredi 8 juin 2022

Titre :

Phénomènes de transfert de matière lors de la pulvérisation d'eau ozonée
et Traitements à l'eau ozonée en conditions contrôlées du mildiou de la
vigne, du chou et de l'oidium de la tomate.

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA)

Directeurs de Thèse :

M. FRÉDÉRIC VIOLLEAU

M. GILLES HÉBRARD

Rapporteurs :

M. MARC BARDIN, INRA AVIGNON

MME DOMINIQUE TOYE, UNIVERSITE DE LIEGE

Membres du jury :

M. CHRISTIAN CHERVIN, TOULOUSE INP, Président

M. FRÉDÉRIC VIOLLEAU, EI PURPAN, Membre

M. GILLES HÉBRARD, INSA TOULOUSE, Membre

MME MARIELLE PAGES-HOMS, EI PURPAN, Membre

MME MARIE TURNER, Vegenov, Membre

M. NICOLAS DIETRICH, INSA TOULOUSE, Invité

M. STÉPHAN BROSILLON, UNIVERSITE DE MONTPELLIER, Membre

M. WILFRIED REMUS-BOREL, Certis Belchim B.V., Invité

REMERCIEMENTS

En recherche, les résultats obtenus sont généralement, pour ne pas dire toujours, le fruit d'une collaboration entre de nombreux acteurs aux compétences variées. Les présents travaux ne dérogent pas à cette règle, je tiens donc à remercier toutes les personnes qui ont permis à cette thèse de voir le jour.

Cela débute bien évidemment par remercier ma direction de thèse, Frédéric VIOLLEAU, Gilles HÉBRARD et Marielle PAGES-HOMS, qui m'ont fait confiance et m'ont laissé m'approprier leurs sujets de recherche qu'ils explorent avec passion depuis tant d'années. Gilles, tu es une personne qui m'inspire énormément, que ce soit sur le plan scientifique ou personnel. Tu es pour moi un exemple de générosité, d'humilité et d'humanité. Savoir que j'allais réaliser une thèse à tes côtés fut une réelle motivation, et je considère cette thèse comme une réussite depuis que je sors de chaque moment d'échange avec toi avec le sourire jusqu'aux oreilles. Fred, les inspirations ne m'ont pas manqué de ton côté non plus. Tu m'as ouvert la porte de tes activités qui sont maintenant éloignées de la paillasse, me permettant de mieux comprendre l'environnement et les interactions dans le domaine de la recherche. L'autonomie que tu m'as laissée m'a permis de prendre confiance en moi, de grandir personnellement et dans mon travail de chercheur. Marielle, je te remercie d'avoir partagé ta problématique de recherche avec moi. Il est certain qu'il n'y aurait pas de questionnements sur la pulvérisation d'eau ozonée sans que tu te sois efforcée à trainer un ozoneur dans les vergers ! Durant nos travaux, tu as veillé à ce que mes lacunes organisationnelles ne me fassent pas défaut, en me chuchotant de nombreuses idées à l'oreille. Et finalement, on l'a fait pousser ce mildiou ! Aussi, merci beaucoup pour le temps que tu as pris ces derniers mois pour mes corrections alors que tu avais d'autres priorités avec ton petit nouveau Thomas.

Je remercie sincèrement Dominique TOYE et Marc BARDIN d'avoir accepté d'examiner ce travail de thèse, ainsi que Marie TURNER, Stéphan BROSILLON, Christian CHERVIN et Nicolas DIETRICH pour leur participation à ce jury de thèse.

Les présents travaux ont pris une dimension supplémentaire en s'inscrivant dans le cadre du projet SOLSTICE. Je ne peux que remercier tous les partenaires du projet pour leur bienveillance à mon égard, les riches discussions (scientifiques ou non) et la remise en contexte permanente des travaux de thèse. J'apporte un remerciement particulier à Wilfried REMUS-BOREL, qui en plus de porter la casquette de chef de file du projet SOLSTICE, a porté plus d'une fois la casquette non officielle de directeur de thèse en m'accompagnant sur de nombreux aspects des travaux.

L'encadrement seul, ne suffit pas à réaliser une thèse, les ressources techniques et humaines sont essentielles. Je remercie donc chaleureusement le personnel de l'école, en allant de l'équipe de restauration aux agents d'entretiens en passant par l'accueil et la maintenance, vous m'avez toujours gratifié de sourires ou de discussions qui ont rendu mon environnement de travail agréable au quotidien. Ces années de thèses ne m'auraient jamais autant apporté sans les interactions avec les acteurs variés de la recherche que l'on rencontre dans les laboratoires. Merci à tous ceux que j'ai tant sollicité et dont l'aide m'a été précieuse : Mireille, Coralie, Flor, François, Mika et Léo. Avec la même reconnaissance, je tiens à dire merci aux équipes de Toulouse Biotechnology Institute qui m'ont accueilli de la meilleure des manières, chaque séjour dans vos locaux était un vrai plaisir. Merci Mei pour ton aide avec ce joli

colorant rose, Claude pour m'avoir initié au domaine passionnant qu'est l'optique, et Ali pour ton soutien technique. Mon séjour en Bretagne, au centre de ressources technologique de Vegenov, a été une très belle expérience, je dis donc un grand merci aux équipes qui m'ont chaudement accueilli et qui se sont démenées pour parvenir à nos fins. J'espère revenir bientôt pour collaborer avec vous et surtout pour voir la vraie Bretagne avec la pluie !

J'aimerais exprimer ma gratitude envers tous ceux qui n'ont pas directement participé à ces travaux, ceux qui ont fait en sorte, du côté personnel, que je sois prêt à relever le défi qu'impose la thèse. Je pense à mes colocs, Cesous et SJ, qui sont venus me sortir d'une période Covid moins facile à vivre. Yohan, Anaïs et maintenant Marceau, merci pour cette bulle remplie d'amour dans laquelle vous m'invitez à chacun de mes retours. Merci à toi Lou pour ton soutien sans faille et pour les longues et nombreuses discussions sur l'essence de la vie, qui ne manquent jamais de m'ouvrir l'esprit. Merci Nounou, ma personnel coach, de me faire prendre confiance en moi, le chemin est encore long - il va en falloir des sessions shopping ! Je remercie mes « gamers » pour les nombreux éclats de rires lors de parties endiablées, je reviens bientôt faire quelques penta, promis. Aussi, il y a des collègues qui sont devenus des amis : Marie, Cyndel, Estelle, Maëlie, Guillaume, Leticia, Chloé, Pénélope, Cécile... Merci pour tous ces moments passés ensemble : repas, apéros, soirées, c'était toujours une bonne dose de good vibes. Vous avez tous contribué à me sortir de l'univers de la thèse pour que j'y revienne plus performant.

Ces remerciements n'auraient aucun sens si je n'accordais pas une mention spéciale à ma binôme de thèse, Ana. C'est une vraie chance d'avoir pu surmonter chaque épreuve de la thèse ensemble, partager nos ressentis, et d'avoir un soutien permanent à ses côtés. Aux rythmes de fous rires, de discussions scientifiques, de potins, de GIF, de litres de café, de spanglish, de kilos de bonbons et de quelques dramas, ces 3 années de thèse sont passées bien trop vite...un peu comme des enfants qui s'amusent ! :GIF d'enfants:

Je vais évidemment terminer par remercier ceux envers qui je suis le plus reconnaissant et qui m'ont permis sans l'ombre d'un doute de m'épanouir au quotidien, ma famille. À mes grands-parents, merci pour ces moments hors du temps que vous m'offrez avec une telle simplicité, vous m'avez soutenu dans ce projet sans forcément comprendre ce que je faisais. Merci LN et Yves, vous vous êtes toujours efforcés à me stimuler intellectuellement, et ce n'était pas gagné avec ma tête de télé... Mais regardez, aujourd'hui c'est moi le moine copiste qui écrit un livre, j'espère qu'une place est réservée en librairie ! À ma mère et à mon père, merci. Merci d'avoir tant donné pour me garder éveillé, pour que je ne manque de rien et que j'ai tous les outils à ma disposition pour m'épanouir dans ce monde où l'on ne née pas avec les mêmes chances. En grandissant je me rends compte du travail d'éducation que vous avez fourni, il est exemplaire et je doute de pouvoir égaler un jour ce que vous avez réussi. À ma sœur, qui n'en finit pas de me rendre fier d'elle et dont la détermination est un exemple pour moi, merci ma Ambre.

J'ai forcément oublié de citer des personnes qui méritent d'être remerciées pour leur participation de près ou de loin à ces travaux. Je m'excuse d'avance mais c'est le jeu de cet exercice de remerciements. J'espère malgré tout que ces 3 pages auront permis de transmettre ma reconnaissance et gratitude à toutes les personnes qui m'ont inspiré durant mon parcours de vie. Par mes expressions et ma façon de réfléchir, une partie de vous tous se retrouve dans cette thèse.

RESUME DE LA THESE

Face à des pressions réglementaires et sociétales grandissantes, de nouvelles stratégies de lutte contre les maladies des plantes doivent être proposées pour substituer partiellement ou totalement les intrants chimiques controversés. Grâce à sa forte réactivité et sa faible rémanence, l'eau ozonée apparaît comme un candidat prometteur pour lutter contre les bioagresseurs des plantes. Cependant l'application d'eau ozonée par pulvérisation semble réduire drastiquement l'efficacité de cette dernière. Les présents travaux de thèse ont pour objectifs (i) d'étudier les phénomènes physico-chimiques qui ont lieu durant la pulvérisation d'eau ozonée afin de comprendre ses limites et (ii) de démontrer l'efficacité de l'eau ozonée sur différents pathosystèmes.

Dans un premier temps, des études globales du spray ont permis d'identifier que la pulvérisation d'eau ozonée était soumise à de forts phénomènes de transferts de matières, qui vident quasi-instantanément le liquide pulvérisé des molécules d'ozone qu'il contenait après saturation. Le développement d'une méthode locale colorimétrique a permis de mettre en évidence que le film liquide formant les gouttes est responsable de la majorité des pertes d'ozone provoquées par le transfert de matière. La complémentarité des études globales et locales a amélioré la compréhension des phénomènes de transfert dans le spray et a permis de modéliser l'évolution de la concentration en ozone dissous dans le liquide pulvérisé. Dans la continuité, un module anti-désorption tenant compte des précédentes modélisations et adaptable aux buses de pulvérisation des exploitants agricoles a été proposé afin de limiter la désorption d'ozone.

Dans un second temps, l'effet de l'eau ozonée a été évalué pour inhiber le développement de *P.viticola*, microorganisme responsable du mildiou de la vigne, à différents niveaux d'études. Le pathosystème mildiou/vigne a aussi permis de prouver l'efficacité du prototype anti-désorption développé lors de ces travaux. Ces résultats positifs quant à l'efficacité de l'eau ozonée sur le mildiou de la vigne ont été étendus avec succès à deux autres pathosystèmes, dans des conditions similaires : le mildiou du chou *Hyaloperonospora parasiticae* et l'oïdium de la tomate *Oidium Neolycopersici*, prouvant une nouvelle fois la non-spécificité de l'eau ozonée.

Les travaux réalisés lors de cette thèse confirment le statut de l'ozone comme candidat prometteur dans la lutte contre les maladies en agriculture et permettent d'envisager des essais pertinents *in situ* de pulvérisation d'eau ozonée grâce au prototype anti-désorption.

ABSTRACT

Faced with increasing regulatory and societal pressures, new strategies for plant disease control must be proposed to partially or totally replace the controversial chemical inputs. Thanks to its high reactivity and low persistence, ozonated water appears to be a promising candidate for the control of plant pests. However, the application of ozonated water by spraying seems to drastically reduce its effectiveness. The present thesis aims to (i) study the physico-chemical phenomena that take place during ozonated water spraying in order to understand its limitations, and (ii) demonstrate the effectiveness of ozonated water on different pathosystems.

First, global spray studies identified that ozonated water spraying is subject to strong mass transfer phenomena, which almost instantaneously empty the sprayed liquid of the ozone molecules it contained after saturation. The development of a local colorimetric method made it possible to demonstrate that the liquid film forming the drops is responsible for the majority of the ozone losses caused by the mass transfer. The complementarity of the global and local studies improved the understanding of the transfer phenomena in the spray and made it possible to model the evolution of the concentration of ozone dissolved in the sprayed liquid. As a follow-up, an anti-desorption module adaptable to farmers' spray nozzles was proposed in order to limit ozone desorption.

In a second phase, the mildew/vine pathosystem was used as a model to carry out a proof of concept on the effectiveness of ozonated water to inhibit the development of *P.viticola*. This downy mildew/vineyard pathosystem was also used to prove the effectiveness of the anti-desorption prototype developed during this work. These positive results regarding the efficacy of ozonated water on grapevine downy mildew were successfully extended to two other pathosystems, under similar conditions: cabbage downy mildew *Hyaloperonospora parasiticae* and tomato powdery mildew *Oidium Neolycopersici*, proving once again the non-specificity of ozonated water.

The work carried out during this thesis confirms the status of ozone as a promising candidate for disease control in agriculture and allows relevant in-situ trials of ozonated water spraying using the anti-desorption prototype.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
RESUME DE LA THESE	7
ABSTRACT	8
TABLE DES MATIERES	9
TABLE DES FIGURES.....	11
TABLE DES TABLEAUX.....	15
PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES AU COURS DE LA THESE	16
INTRODUCTION, L'AGRICULTURE FRANÇAISE ET SES ENJEUX	18
<i>L'évolution de l'Homme avec l'agriculture</i>	18
<i>Les enjeux économiques, sociétaux et environnementaux de l'agriculture en France</i>	19
<i>Les stratégies de lutttes conventionnelles et émergentes</i>	22
<i>Le projet SOLSTICE</i>	24
CHAPITRE 1 : ÉTAT DE L'ART – LES MALADIES DES CULTURES, L'OZONE ET LA PULVERISATION	26
1) LES MILDIOUS ET OÏDIUMS, BIOAGRESSEURS TRES REPANDUS EN AGRICULTURE.....	26
1.1) <i>Symptômes et microorganismes responsables</i>	26
1.1.1) Symptômes et conséquences pour la plante	26
1.1.2) Les microorganismes responsables	28
1.2) <i>Cycles de reproduction</i>	28
1.2.1) <i>Plasmopara viticola</i>	28
1.2.2) <i>Hyaloperonospora parasiticae</i>	30
1.2.3) <i>Oïdium neolycopersici</i>	31
1.3) <i>Conditions d'expérimentations</i>	33
1.3.1) Milieu de culture.....	33
1.3.2) Évaluation de l'efficacité des produits testés	33
2) LA MOLECULE D'OZONE.....	37
2.1) <i>Généralités et intérêt</i>	37
2.1.1) Généralités.....	37
2.1.2) Intérêt	37
2.2) <i>Propriétés physico-chimiques</i>	38
2.3) <i>Formation et production</i>	38
2.4) <i>Stabilité, mécanismes réactionnels</i>	40
2.5) <i>Transfert de l'ozone en phase aqueuse</i>	41
2.6) <i>Méthodes de mesures de l'ozone dissous</i>	42
2.6.1) Absorption UV	42
2.6.2) Méthode indigo	43
2.6.3) Autres méthodes	44
2.7) <i>Propriétés antimicrobiennes</i>	45
2.7.1) L'effet biocide de l'eau ozonée.....	45
2.7.2) Mécanismes d'action	51
3) LA PULVERISATION DE L'EAU OZONEE ET LES PHENOMENES DE TRANSFERT DE MATIERE	53
3.1) <i>Le procédé de pulvérisation</i>	53
3.1.1) Principe de la pulvérisation	53
3.1.2) Paramètres d'intérêts	54
3.1.3) Type de buses	56
3.2) <i>Une diminution de l'efficacité de l'eau ozonée lors de son application par pulvérisation</i>	57
3.3) <i>Des phénomènes de transfert de matière à l'origine des pertes d'ozone par pulvérisation</i>	59
3.3.1) Hypothèse du transfert de matière lors de la pulvérisation	59
3.3.2) Formalisme du transfert de matière.....	60
3.3.3) Modélisation du transfert et des coefficients de transferts	62
3.4) <i>Caractériser le transfert de matière dans un spray</i>	64
3.4.1) Granulométrie, pénétration du spray et vitesses des gouttes.....	65
3.4.2) Détermination des profils de concentration.....	66
OBJECTIFS DE LA THESE	69
CHAPITRE II : PULVERISATION D'EAU OZONEE ET PHENOMENES DE TRANSFERT DE MATIERE	72
1) MATERIELS ET METHODES	73
1.1) <i>Études globales du spray par méthode de collecte</i>	73

1.1.1) Installation expérimentale	73
1.1.2) Hydrodynamique du spray.....	75
1.1.3) Production de l'eau ozonée et mesures de l'ozone dissous	78
1.1.4) Production d'eau désoxygénée et mesures du dioxygène dissous.....	80
1.1.5) Estimation des pertes d'ozone par auto-décomposition	80
1.1.6) Coefficients et modèles de transferts de matière pour le spray.....	81
1.2) <i>Étude locale du film liquide par méthode colorimétrique</i>	84
1.2.1) Stratégie de la méthode	84
1.2.2) Préparation des solutions	86
1.2.3) Système optique	87
1.2.4) Détermination des absorbances & paramètres résultants	88
2) RESULTATS ET DISCUSSIONS	96
2.1) <i>Identification du phénomène de transfert dans le spray par étude globale</i>	96
2.1.1) Étude de l'hydrodynamique des sprays produits.....	96
2.1.2) Profils de concentration en ozone et dioxygène dissous le long du spray.....	99
2.1.3) Estimation des pertes d'ozone dissous par réaction chimique d'auto-décomposition de l'ozone.....	103
2.1.4) Le transfert de matière responsable des pertes d'ozone, avec deux régimes différents dans le spray	104
2.1.5) Coefficients de transfert de matière déterminés avec la méthode globale de collecte	104
2.1.6) Modélisation du transfert de matière dans le spray.....	107
2.2) <i>Étude locale du film liquide</i>	109
2.2.1) Procédure de validation.....	109
2.2.2) Étude hydrodynamique	116
2.2.3) Profils de concentration en dioxygène équivalent	120
2.2.4) Analyse du transfert de matière dans le film liquide	123
2.3) <i>Modélisation du phénomène de transfert et stratégie de réduction de la désorption</i>	129
2.3.1) Modélisation de la globalité du spray.....	129
2.3.2) Stratégie pour la réduction du transfert de matière	130
2.4) <i>Proposition d'une solution technique</i>	134
2.4.1) Première version du prototype.....	134
2.4.2) Seconde version du prototype.....	138
2.4.3) Pistes d'améliorations.....	141
SYNTHESE DU CHAPITRE 2.....	145
CHAPITRE III : L'EAU OZONEE COMME MOYEN DE LUTTE CONTRE LES MALADIES EN AGRICULTURE	148
1) MATERIELS & METHODES	149
1.1) <i>Le modèle d'étude, le pathosystème mildiou/vigne</i>	149
1.1.1) Matériel végétal.....	149
1.1.2) Préparation des inocula	152
1.1.3) Génération d'ozone et production d'eau ozonée	153
1.1.4) Traitements à l'ozone	154
1.1.5) Évaluation des symptômes et efficacité du traitement	160
1.2) <i>Extensions des expérimentations aux mildiou du chou et oïdium de la tomate</i>	162
1.2.1) Matériel végétal & inoculas	162
1.2.2) Préparation des inocula et sites d'inoculations	164
1.2.3) Traitements à l'ozone	165
1.2.4) Évaluation des symptômes et efficacité de traitement	167
2) RESULTATS & DISCUSSION.....	169
2.1) <i>Évaluation de l'efficacité de l'eau ozonée contre le développement de P.viticola</i>	169
2.1.1) Preuve de concept « in vitro »	169
2.1.2) Dépôt gouttes « in planta »	172
2.1.3) Pulvérisation « in planta »	177
2.2) <i>L'eau ozonée sur le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate</i>	179
2.2.1) Traitements sur le mildiou du chou	179
2.2.2) Traitements sur oïdium de la tomate	181
SYNTHESE DU CHAPITRE 3.....	187
CONCLUSION GENERALE	189
PERSPECTIVES	191
ANNEXES.....	196
REFERENCES	199

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : INFOGRAPHIE "LA FERME FRANCE" (SOURCE : AGRESTE / GRAPHAGRI 2020).....	20
FIGURE 2 : LES ACTEURS DU PROJET SOLSTICE	24
FIGURE 3 : SYMPTOMES PROVOQUES PAR PLASMOPARA VITICOLA, HYALOPERONOSPORA PARASITICAE ET OÏDIUM NEOLYCOPERSICI. ADAPTE DE (LEBEDA ET AL, 2014; MOHAMMED ET AL, 2019; ZHANG ET AL, 2017).	27
FIGURE 4 : SCHEMA DU CYCLE DE VIE DE P.VITICOLA. ADAPTE DE (AGRIOS, 1988).	30
FIGURE 5 : SPORANGIOPHORES ET SPORANGES DE P.VITICOLA ET H.PARASITICAE, CONIDIOPHORES ET CONIDIES DE O.NEOLYCOPERSICI. ADAPTE DE (GESSLER ET AL, 2011A; JONES ET AL, 2001; ROBLES-YERENA, 2017)	31
FIGURE 6 : EXEMPLE D'ECHELLE DE NOTATION DE L'INTENSITE D'INFECTION DE P.VITICOLA. ADAPTE DE (GOMEZ-ZELEDON ET AL, 2013A).....	36
FIGURE 7 : STRUCTURE MOLECULAIRE DE L'OZONE (GAUCHE) ET SES DIFFERENTES FORMES DE RESONANCE (DROITE). ADAPTE DE (THE ROYAL SOCIETY, 2008).	37
FIGURE 8 : REACTIONS DE L'OZONE DANS L'EAU PURE (A) ET EN PRESENCE D'UN SOLUTE S (B). ADAPTE DE (BAIG & MOUCHET, 2010; STAEHELIN & HOIGNE, 1985).	41
FIGURE 9 : REACTION DE L'OZONE AVEC L'INDIGO TRISULFONATE PERMETTANT LE TITRAGE D'OZONE DISSOUS DANS UN ECHANTILLON.	44
FIGURE 10 : SCHEMA DE L'ATOMISATION D'UN FILM LIQUIDE EN GOUTTES . ADAPTE DE (ASHGRIZ, 2011) ET (DOMBROWSKI & JOHNS, 1963).	54
FIGURE 11 : PROFILS DE CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS REALISES PAR (FUJIWARA & FUJII, 2004B) A PARTIR D'UNE CONCENTRATION INITIALE EN OZONE DE 1.2MG/L POUR DIFFERENTES BUSES PRODUISANT DES GOUTTES DE DIAMETRES DIFFERENTS (A) ET PAR (PAGES, 2015) AVEC UNE BUSE A INJECTION D'AIR (CARRÉS BLANCS) ET UNE BUSE SANS INJECTION D'AIR (CERCLES NOIRS) (B).	58
FIGURE 12 : SCHEMATISATION DU MODELE DU DOUBLE FILM A L'INTERFACE GAZ-LIQUIDE ET DES DIFFERENTS PARAMETRES MIS EN JEU.	62
FIGURE 13 : EXEMPLE D'IMAGE ACQUISE PAR UNE CAMERA CMOS, AVEC RETROECLAIRAGE DU SPRAY PAR UN ECRAN LED LORS DE LA PRESENTE ETUDE.	65
FIGURE 14 : PHOTOGRAPHIE DE LA BUSE AFX-80-02 (GAUCHE) ET DE LA BUSE ADX-120-02 (DROITE).	73
FIGURE 15 : SCHEMA DE L'INSTALLATION EXPERIMENTALE POUR L'ETUDE GLOBALE DU TRANSFERT DANS UN SPRAY.	74
FIGURE 16 : EXEMPLE DE DETERMINATION DE COORDONNEES POUR LE CALCUL DE VITESSE D'UNE GOUTTE AVEC LE LOGICIEL GIMP. 76	
FIGURE 17 : IMAGES DU FILM LIQUIDE EN ATOMISATION OBTENUES POUR LA DETERMINATION DE SA LARGEUR w , LONGUEUR L ET EPAISSEUR δ	77
FIGURE 18 : METHODOLOGIE DE L'ETUDE GLOBALE POUR DETERMINER DES PROFILS DE CONCENTRATIONS EN SOLUTE DANS UN SPRAY, MESURER L'HYDRODYNAMIQUE DU SPRAY ET REALISER UNE ANALYSE DE TRANSFERT DE MATIERE.....	83
FIGURE 19 : LES ETAPES D'OXYDOREDUCTION DE LA RESAZURINE ET SES DIFFERENTES FORMES REDUITES.	85
FIGURE 20 : INSTALLATION EXPERIMENTALE POUR L'ABSORPTION LUMINEUSE A TRAVERS LE FILM LIQUIDE PRODUIT PAR UNE BUSE AVANT SON ATOMISATION EN GOUTTES. BUSE (1), FENETRE D'ACQUISITION (2), FILM LIQUIDE (3), CAMERA CMOS (4), SYSTEME D'ACQUISITION (5), LENTILLE (6), POMPE (7), PANNEAU LED (8), FILTRE A 550NM (9), BOUTEILLE DE 1,5L (10), ALIMENTATION EN AIR COMPRI ME (11). À NOTER QUE LES ELEMENTS REPRESENTES NE SONT PAS A L'ECHELLE DANS UN SOUCI DE CLARTE.	88
FIGURE 21 : IMAGE DU FILM LIQUIDE OBTENU A 22,6L/H AVEC LA PRESENTE INSTALLATION EXPERIMENTALE ET SES 3 DIFFERENTES REGIONS D'ETUDES.	89

FIGURE 22 : SCHEMA DE LA METHODOLOGIE RELATIVE A L'ETUDE LOCALE DU FILM LIQUIDE POUR MESURER LE PROFIL D'ÉPAISSEUR DU FILM LIQUIDE AINSI QUE LE PROFIL DE DIOXYGENE EQUIVALENT AYANT TRANSFERE DANS LE LIQUIDE ET POUR REALISER UNE ANALYSE DE TRANSFERT DE MATIERE.....	95
FIGURE 23 : IMAGES PRISES DE FACE ET DE COTE POUR LES DEUX BUSES ETUDIEES.	98
FIGURE 24 : ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN SOLUTE DISSOUS AU SEIN DU SPRAY POUR LA BUSE ADX A ASPIRATION D'AIR ET AFX SANS ASPIRATION D'AIR, POUR LA DESORPTION DE L'OZONE (GAUCHE) ET L'ABSORPTION DU DIOXYGENE (DROITE).	100
FIGURE 25 : DEGRE D'ATTEINTE DE L'EQUILIBRE DE HENRY TEL QUE DEFINIT AVEC LES EQUATIONS 44 ET 45 LE LONG DU SPRAY POUR LES DEUX BUSES ETUDIEES.	102
FIGURE 26 : COMPARAISON ENTRE LES PERTES D'OZONE OBSERVEES EXPERIMENTALEMENT (CERCLE NOIRS) ET LA MODELISATION DES PERTES PROVOQUEES PAR AUTO-DECOMPOSITION DE L'OZONE (CARRÉS BLANCS).	103
FIGURE 27 : PROFILS EXPERIMENTAUX (CARRÉS NOIRS) ET MODELISES (LIGNE PLEINE) DE LA CONCENTRATION EN SOLUTE AU SEIN DE LA PHASE LIQUIDE LE LONG DU SPRAY POUR LA BUSE ADX DANS LE CAS DE L'OZONE (GAUCHE) ET DU DIOXYGENE (DROITE).	107
FIGURE 28 : PROFILS EXPERIMENTAUX (CARRÉS NOIRS) ET MODELISES APRES CORRECTION(LIGNE PLEINE) DE LA CONCENTRATION EN SOLUTE AU SEIN DE LA PHASE LIQUIDE LE LONG DU SPRAY POUR LA BUSE ADX DANS LE CAS DE L'OZONE (GAUCHE) ET DU DIOXYGENE (DROITE).....	108
FIGURE 29 : RATIO ENTRE L'INTENSITE LUMINEUSE DU FOND I_0 ET DE L'INTENSITE I_{REF} MESUREE LORS DU PASSAGE DE LA SOLUTION DE REFERENCE A DIFFERENTS DEBITS LE LONG DU FILM LIQUIDE POUR LA BUSE AFX (A). IMAGES AVEC UNE PRISE DE VUE PLUS LARGE POUR OBSERVER ENTIEREMENT LE FILM LIQUIDE DE FACE (B) ET DE COTE (C). LE RECTANGLE ROUGE REPRESENTA LA FENETRE OPTIQUE DEFINIE POUR LE DEBIT DE 22.6L/H.....	110
FIGURE 30 : FENETRES OPTIQUES DEFINIES POUR RESPECTER UNE INCIDENCE NORMALE DE LA LUMIERE A TRAVERS LE FILM LIQUIDE PRODUIT PAR LA BUSE AFX. LES RECTANGLES ROUGES, BLEUS ET NOIRS REPRESENTENT RESPECTIVEMENT LES REGIONS 1, 2 ET 3.	111
FIGURE 31 : PROFILS D'ABSORBANCE DANS LA FENETRE OPTIQUE DEFINIE POUR LE DEBIT DE 22,6L/H, POUR DIFFERENTES SOLUTIONS PULVERISEES DE CONCENTRATION CONSTANTES EN RSO (SOLUTIONS DE CALIBRATIONS) ET POUR UNE SOLUTION DE DHR (EXPERIMENTALE) AVEC LA BUSE AFX.	112
FIGURE 32 : GRAPHIQUE : ABSORBANCES DES SOLUTIONS DE RSO PULVERISEES AVEC LA BUSE AFX EN FONCTION DE LEUR CONCENTRATION, POUR DIFFERENTES POSITIONS DANS LE FILM LIQUIDE POUR UN DEBIT DE 22,6L/H DANS LA REGION 1. ILLUSTRATION : LES DIFFERENTES POSITIONS SONT INDIQUEES SUR L'IMAGE DU FILM LIQUIDE AVEC LEURS SYMBOLES CORRESPONDANTS, ET LE RECTANGLE EN POINTILLES ROUGE REPRESENTA LA FENETRE OPTIQUE POUR LE DEBIT DE 22,6L/H..	114
FIGURE 33: SPECTRES DE SOLUTIONS DE RSO A DIFFERENTES CONCENTRATIONS MESUREES PAR UN SPECTROPHOTOMETRE (GAUCHE) ET LA COURBE D'ETALONNAGE CORRESPONDANTE A 572NM (DROITE).	115
FIGURE 34: IMAGES SUCCESSIVES DU FILM LIQUIDE A DIFFERENTS DEBITS PULVERISES A TRAVERS LA BUSE AFX.....	117
FIGURE 35: ÉVOLUTION DE LA LARGEUR DU FILM LIQUIDE EN FONCTION DE LA DISTANCE DANS LE FILM POUR 3 DEBITS DIFFERENTS AVEC LA BUSE AFX.....	118
FIGURE 36 : PROFILS D'ÉPAISSEUR LE LONG DU FILM LIQUIDE PRODUIT PAR LA BUSE AFX POUR DIFFERENTS DEBITS ET REGIONS D'ÉTUDES.....	119
FIGURE 37: PROFILS EN DIOXYGENE EQUIVALENT LE LONG DU FILM LIQUIDE DETERMINE AVEC L'EQUATION 16 DERIVEE DE LA LOI DE BEER-LAMBERT. LA BUSE AFX REALISE LA PULVERISATION. LES BARRES D'ERREURS REPRESENTENT L'ECART TYPE STANDARD DE 6 ACQUISITIONS POUR LA PULVERISATION DE LA SOLUTION EXPERIMENTALE, ELLES NE SONT REPRESENTEES QUE POUR QUELQUES POINTS PAR SOUCIS DE CLARTE.	121
FIGURE 38: PROFILS DE CONCENTRATION EN DIOXYGENE OBTENU DANS LE CAS D'UNE METHODE GLOBALE PAR COLLECTION DU LIQUIDE PULVERISE AVEC LA BUSE AFX (CARRÉS NOIRS) ET DANS LE CAS DE LA METHODE LOCALE PAR ABSORPTION LUMINEUSE (LIGNE) POUR UNE CONFIGURATION D'UNE ABSORPTION DE DIOXYGENE DANS UN SPRAY.	123
FIGURE 39: COEFFICIENTS DE TRANSFERT COTE LIQUIDE DETERMINES PAR UNE DEMARCHE LOCALE AVEC L'EQUATION 21 POUR DIFFERENTS DEBITS PULVERISES AVEC LA BUSE AFX. CHAQUE POINT REPRESENTA LA VALEUR MOYENNE DE 6 REPETITIONS EXPERIMENTALES. LES ECARTS TYPES STANDARDS SONT REPORTES DANS LE TABLEAU 5 DANS UN SOUCI DE CLARTE.....	124

FIGURE 40 : CORRELATION OBTENUE ENTRE LE NOMBRE DE SHERWOOD (EQUATION 41) ET DE REYNOLDS (EQUATION 42) DETERMINEES A PARTIR DES VALEURS EXPERIMENTALES DE kL ET DE DEBITS Q_L	127
FIGURE 41: PROFILS EXPERIMENTAUX ET MODELISEES D'OZONE DISSOUS DANS LA PHASE LIQUIDE LORS DE LA PULVERISATION D'EAU OZONEE PAR LA BUSE AFX.....	130
FIGURE 42 : PROFILS EXPERIMENTAUX ET MODELISES DE CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS LE LONG DU SPRAY SELON DIFFERENTS SCENARIOS DE CONCENTRATION EN OZONE GAZEUX PROPOSEE AU CONTACT DU FILM PRODUIT PAR LA BUSE AFX.	132
FIGURE 43: DESSIN TECHNIQUE DE LA PREMIERE VERSION DU PROTOTYPE REALISEE EN FORME CONIQUE.....	135
FIGURE 44 : PROFILS EXPERIMENTAUX ET MODELISES DE TAUX DE DESORPTION D'OZONE DISSOUS DANS LE SPRAY AVEC DEUX CONDITIONS DIFFERENTES D'UTILISATION DU PROTOTYPE EQUIPE SUR LA BUSE AFX : SANS INJECTION D'OZONE GAZEUX (CARRÉS NOIRS) ET AVEC INJECTION D'OZONE GAZEUX A 30MG/L (CARRÉS BLEUS).	136
FIGURE 45 : MECANISMES SUPPOSES SE PRODUIRE DANS LE PROTOTYPE POUR EXPLIQUER LA DILUTION RAPIDE DU FLUX D'OZONE GAZEUX APPORTE DANS LE VOLUME CONIQUE.	138
FIGURE 46 : DESSIN TECHNIQUE DE LA SECONDE VERSION DU PROTOTYPE REALISEE AVEC UN VOLUME CONFINE EN FORME DE FIN PARALLELEPIPEDE.	139
FIGURE 47 : PROFILS EXPERIMENTAUX ET MODELISES DU TAUX DE DESORPTION D'OZONE DISSOUS POUR DEUX PROTOTYPES DIFFERENTS ET EN CONSIDERANT DES CONCENTRATIONS GAZEUSES DIFFERENTES AUTOUR DU FILM LIQUIDE PRODUIT PAR LA BUSE AFX. .	140
FIGURE 48 : SCHEMA GENERAL DE LA METHODOLOGIE SUIVIE LORS DE CE CHAPITRE RELATIF A L'ETUDE DES PHENOMENES DE TRANSFERT DANS LES SPRAYS.	144
FIGURE 49 : BOIS DE VIGNES A DEBOURRER DANS LA LAINE DE ROCHE (A) ; BOIS DE VIGNES DEBOURRES (B) ; PLANTS DE VIGNES TOUT JUSTE REMPOTES (C) ; PLANTS DE VIGNES APRES 1 MOIS DE REMPOTAGE (D) ; TENTE DE CULTURE EQUIPEE D'UN HUMIDIFICATEUR ET DE NEONS (E).....	150
FIGURE 50 : EXEMPLE DE DISQUES DE FEUILLES REALISES POUR LES EXPERIMENTATIONS RELATIVES AU PATHOSYSTEME MILDIOU/VIGNE.	151
FIGURE 51 : PHOTOGRAPHIE D'UNE FEUILLE DE VIGNE INFECTEE PAR LE MILDIOU AVEC DES SPORANGIOPHORES SUR SA FACE INFERIEURE.	153
FIGURE 52 : PROTOCOLE POUR LA PREUVE DE CONCEPT « IN VITRO » QUANT A L'EFFET ANTIFONGIQUE DE L'EAU OZONEE SUR DES SPORANGES DE MILDIOU DE LA VIGNE.	155
FIGURE 53 : PROCEDURE DE TRAITEMENT DANS LE CADRE D'APPLICATIONS PAR DEPOT GOUTTES « IN PLANTA » AFIN DE METTRE EN EVIDENCE L'EFFET DE LA CONCENTRATION EN SPORANGES ET EN OZONE SUR LA VIRULENCE DU MILDIOU DE LA VIGNE.	157
FIGURE 54 : SCHEMA EXPLICATIF DE LA TEMPORALITE DES TRAITEMENTS A L'EAU OZONEE APPLIQUES PAR DEPOT GOUTTES « IN PLANTA » AFIN DE METTRE EN EVIDENCE LA FENETRE TEMPORELLE DISPONIBLE POUR TRAITER LE MILDIOU DE LA VIGNE APRES INOCULATION. PAR SOUCIS D'ESPACE, LES TRAITEMENTS A T=4, 5 ET 6H NE SONT PAS REPRESENTES.....	158
FIGURE 55 : SCHEMA DU TRAITEMENT A L'EAU OZONEE REALISE PAR PULVERISATION « IN PLANTA » SUR DES DISQUES DE FEUILLES DE VIGNES, INOCULES DE SUSPENSIONS DE SPORANGES DE MILDIOU.....	159
FIGURE 56 : ÉCHELLE DE NOTATION UTILISEE POUR L'ÉVALUATION DE L'INTENSITE DE SPORULATION DE P.VITICOLA. (LA FLECHE INDIQUE LE SITE CONCERNE PAR LA NOTATION).....	160
FIGURE 57 : PLAQUE DE SEMIS CONTENANT LES PLANTULES DE CHOU POUR ESSAIS DE TRAITEMENTS A L'EAU OZONEE DU MILDIOU DU CHOU.....	163
FIGURE 58 : LES PLANTS DE TOMATES PRODUITS PAR VEGENOV POUR LES EXPERIMENTATIONS AVEC L'OÏDIUM ET L'EAU OZONEE...	163
FIGURE 59 : PLANTS DE TOMATES AVEC SES DIFFERENTES FEUILLES (F1 A F5) ET FOLIOLES (1 A 5) (GAUCHE) ; PLANTULES DE CHOU (DROITE).....	164
FIGURE 60 : ILLUSTRATIONS DES DIFFERENTS SITES D'INOCULATIONS, SUR FOLIOLES DE TOMATES (GAUCHE) ET COTYLEDONS DE CHOU (DROITE).....	165
FIGURE 61 : SCHEMA DU TRAITEMENT PAR PULVERISATION D'EAU OZONEE SUR PLANTS DE TOMATES OU PLANTULES DE CHOU RESPECTIVEMENT INOCULES DE SUSPENSION DE CONIDIES D'OÏDIUM OU DE SPORANGES DE MILDIOU.....	166

FIGURE 62 : EXEMPLES DE FEUILLES DE TOMATES PRESENTANT L'ENSEMBLE DE LEURS SITES D'INOCULATIONS POUR UNE SPORULATION FAIBLE (NOTE DE 10) ET UNE SPORULATION FORTE (NOTE DE 20) D'O.NEOLYCOPERSICI.	167
FIGURE 63 : EFFICACITE DE L'EAU OZONEE EN FONCTION DE SA CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS POUR LIMITER L'INTENSITE DE LA SPORULATION DE P.VITICOLA APRES LEUR MISE EN CONTACT IN VITRO. LA PRESENCE D'UN ASTERISQUE INDIQUE QUE LES NOTATIONS DE LA MODALITE DE TRAITEMENT CONCERNEE SONT SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES DE LA MODALITE TEMOIN ($\alpha < 0,05$).	170
FIGURE 64 : EFFICACITE DE L'EAU OZONEE EN FONCTION DE SA CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS POUR LIMITER LA FREQUENCE DE SPORULATION DE P.VITICOLA APRES LA MISE EN CONTACT OZONE/SPORE IN VITRO.	171
FIGURE 65 : EFFICACITE DES DEPOT GOUTTES « IN PLANTA » D'EAU OZONEE EFFECTUES A DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'OZONE DISSOUS POUR LIMITER L'INTENSITE DU DEVELOPPEMENT DES SPORANGES DE P.VITICOLA INOCULES A DIFFERENTES CONCENTRATIONS (CHAQUE MODALITE CORRESPOND A 3 EXPERIMENTATIONS INDEPENDANTES CONSTITUEES DE 48 NOTATIONS CHACUNE, SOIT N=144). LA PRESENCE D'UN ASTERISQUE INDIQUE QUE LES NOTATIONS DE LA MODALITE CONCERNEE SONT SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES DE CELLES DE LA MODALITE TEMOIN ($\alpha < 0,05$).	173
FIGURE 66 : EFFICACITE DES DEPOTS GOUTTES « IN PLANTA » D'EAU OZONEE POUR LIMITER LEUR INTENSITE DE SPORULATION EN FONCTION DE LA DUREE ENTRE L'INOCULATION DE SPORANGES DE P.VITICOLA ET LE TRAITEMENT (CHAQUE MODALITE CORRESPOND A 3 EXPERIMENTATIONS INDEPENDANTES CONSTITUEES DE 48 NOTATIONS CHACUNE, SOIT N=144). L'ASTERISQUE INDIQUE QUE LES NOTATIONS DES SITES DE SPORULATION DE LA MODALITE DE TRAITEMENT CONCERNEE EST STATISTIQUEMENT DIFFERENTE DES NOTATIONS DE LA MODALITE TEMOIN ($\alpha < 0,05$).	174
FIGURE 67 : CHRONOLOGIE DU CYCLE D'INFECTION SECONDAIRE DU MILDIOU DE LA VIGNE. LES ETAPES DU CYCLE EN VERT REPRESENTENT LES TEMPORALITES OU L'EAU OZONEE A ETE APPLIQUEE AVEC SUCCES POUR REDUIRE L'INTENSITE DE L'INFECTION. L'ETAPE EN ORANGE REPRESENTE LE MOMENT DU CYCLE OU LES STRUCTURES DU MILDIOU SONT AU SEIN DE LA FEUILLE ET OU L'EAU OZONEE SEMBLE NE PLUS POUVOIR INTERVENIR. L'ETAPE EN BLEU REPRESENTE LE MOMENT OU LES STRUCTURES DU MILDIOU SONT A L'EXTERIEUR DE LA FEUILLE ET DONC SUSCEPTIBLES D'ETRE DEGRADEES PAR L'EAU OZONEE, MAIS DONT LES EXPERIMENTATIONS N'ONT PAS ETE REALISEES.	176
FIGURE 68 : EFFICACITE DU TRAITEMENT A L'EAU OZONEE PAR PULVERISATION POUR REDUIRE L'INTENSITE DE SPORULATION DE P.VITICOLA, AVEC OU SANS BUSE EQUIPEE DU PROTOTYPE DE REDUCTION DE LA DESORPTION D'OZONE. $[O_3]_{CUVE}$ INDIQUE LA CONCENTRATION EN OZONE MESUREE DANS LA CUVE AU MOMENT DE LA PULVERISATION ET $[O_3]_{DISQUES}$ INDIQUE LA CONCENTRATION EN OZONE MESUREE 40CM SOUS LA BUSE DE PULVERISATION A L'ENDROIT OU SE TROUVE LES DISQUES DE FEUILLES A TRAITER. LA PRESENCE D'UN ASTERISQUE INDIQUE QUE LES NOTATIONS DE LA MODALITE DE TRAITEMENT SONT STATISTIQUEMENT DIFFERENTES DE CELLES DE LA MODALITE TEMOIN ($\alpha < 0,05$).	177
FIGURE 69 : REPARTITION (EN %) DES PLANTULES DE CHOU DANS CHAQUE CLASSE DE SYMPTOMES DU MILDIOU OBTENUE APRES INOCULATION PAR H.PARASITICAE. LE NOMBRE ENTRE PARENTHESE INDIQUE LE NOMBRE DE NOTATIONS EFFECTUEES PAR MODALITES. TEST DU χ^2 , AU RISQUE ALPHA DE 5%.	179
FIGURE 70 : EFFICACITE DE TRAITEMENTS A L'EAU OZONEE POUR REDUIRE LA FREQUENCE DE SPORULATION DES SITES D'INOCULATIONS DE O.NEOLYCOPERSICI LORS D'UNE EVALUATION REALISEE 6 JOURS APRES L'INOCULATION. POUR LE CAS DE LA PULVERISATION, LA CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS EST CELLE MESUREE 40CM SOUS LA BUSE.	182
FIGURE 71 : EFFICACITE DE TRAITEMENTS A L'EAU OZONEE POUR REDUIRE LA FREQUENCE DE SPORULATION DES SITES D'INOCULATIONS DE O.NEOLYCOPERSICI LORS D'UNE EVALUATION REALISEE 10 JOURS APRES L'INOCULATION. POUR LE CAS DE LA PULVERISATION, LA CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS EST CELLE MESUREE 40CM SOUS LA BUSE.	183
FIGURE 72 : EFFICACITE DE TRAITEMENTS A L'EAU OZONEE POUR REDUIRE L'INTENSITE DE SPORULATION DES SITES D'INOCULATIONS DE O.NEOLYCOPERSICI LORS D'UNE EVALUATION REALISEE 10 JOURS APRES L'INOCULATION. POUR LE CAS DE LA PULVERISATION, LA CONCENTRATION EN OZONE DISSOUS EST CELLE MESUREE 40CM SOUS LA BUSE.	184

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : RECAPITULATIF DES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES TROIS MICROORGANISMES CIBLES POUR LES PRESENTS TRAVAUX	32
TABLEAU 2 : PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA MOLECULE D'OZONE (BAIG & MOUCHET, 2010; ROUSTAN, 2003A; THE ROYAL SOCIETY, 2008).....	38
TABLEAU 3 : RESUME NON-EXHAUSTIF DES ETUDES REALISEES SUR L'EAU OZONEE POUR L'INACTIVATION DES MICROORGANISMES, AVEC LES METHODOLOGIES ET RESULTATS PRINCIPAUX ASSOCIES. LES ETOILES REPRESENTENT LE NIVEAU D'EFFICACITE DE L'EAU OZONEE OBSERVE DANS L'ETUDE (1 ETOILE : EFFET INEXISTANT OU TRES FAIBLE, 2 ETOILES : EFFET PARTIEL, 3 ETOILES : INACTIVATION COMPLETE OU REDUCTION QUASI-TOTALE DE LA POPULATION DE MICROORGANISMES)	51
TABLEAU 4 : LES DIFFERENTS TYPES D'INJECTEURS QUE L'ON PEUT RENCONTRER POUR REALISER UN PROCEDE DE PULVERISATION. LA LISTE EST NON-EXHAUSTIVE. *LE TERME ATOMISATION DESIGNE ICI LE PROCEDE DE FABRICATION DE PARTICULES SOLIDES.	56
TABLEAU 5 : CORRELATIONS POUR LA DETERMINATION DU COEFFICIENT DE TRANSFERT COTE LIQUIDE DANS LE CAS D'ECHANGES ENTRE UNE GOUTTE LIQUIDE ET UNE PHASE GAZEUSE (ROUSTAN, 2003A).	63
TABLEAU 6 : COMPOSITION DES SOLUTIONS PREPAREES ET PULVERISEES	86
TABLEAU 7 : RECAPITULATIF DES PARAMETRES HYDRODYNAMIQUES DETERMINES POUR LES BUSES ADX ET AFX A 35L/H.....	96
TABLEAU 8 : RECAPITULATIF DES PARAMETRES DE TRANSFERT DETERMINES A PARTIR DES PROFILS DE CONCENTRATIONS DANS LE SPRAY POUR UN DEBIT DE 35 L/H.	105
TABLEAU 9 : PARAMETRES UTILISEES POUR LA DETERMINATION DE kL ET SES VALEURS CALCULEES AVEC L'EQUATION 21. LES VALEURS REPRESENTENT LA MOYENNE DES 6 REPETITIONS EXPERIMENTALES, ET LES ECARTS TYPES STANDARDS SONT INDIQUES ENTRE PARENTHESES.	125
TABLEAU 10 : PARAMETRES UTILISEES POUR LA DETERMINATION DE (k_L) ET SES VALEURS CALCULEES AVEC L'EQUATION 22.	126

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES AU COURS DE LA THESE

➤ **Publications**

Canado, A., Tournois, M., Pages, M., Roustan, M., Remus-Borel, W., Dietrich, N., Violleau, F., Hébrard, G. (2020). **Sudden Decrease of the Dissolved Ozone Concentration in Sprays: A Mass Transfer Phenomenon?** *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59(33), 14914–14924. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c03216>

Canado, A., Lemen, C., Pages, M., Violleau, F., Dietrich, N., & Hébrard, G. (2022). **Gas-liquid mass transfer characterization in a thin shrinking film at an atomization nozzle.** *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 189, 122672.

<https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2022.122672>

➤ **Communications**

Canado, A., Tournois, M., Pages, M., Roustan, M., Remus-Borel, W., Dietrich, N., Violleau, F., Hébrard, G. **Ozone mass transfer in spray column.** Communication orale au 24^{ème} Congrès International sur l’ozone – International Ozone Association (IOA) – Nice, octobre 2019

➤ **Brevet**

Procédure de rédaction d’un brevet « BUZOTOP » relatif au module anti-désorption de l’ozone lors de la pulvérisation d’eau ozonée – accompagnement par Toulouse Tech Transfer (TTT).

➤ **Articles de vulgarisation**

« Saviez-vous que l’ozone est un sérieux candidat pour substituer certains produits phytosanitaires en agronomie ? » Par Sophie BROCARD et Sophie YVON pour le *blog France Agro*³ – 18 juin 2021

« L’ozone fait de la résistance » Par Xavier DELBECQUE pour *Réussir Vigne n°293* – mars 2022

INTRODUCTION, L'AGRICULTURE FRANÇAISE ET SES ENJEUX

L'évolution de l'Homme avec l'agriculture

L'agriculture, depuis son apparition il y a une dizaine de milliers d'années avant notre ère, a considérablement influé et changé les modes de vies des Hommes qui se trouvaient sur Terre. Dans un contexte de fin de période glaciaire, les chasseurs-cueilleurs nomades disposaient enfin de conditions favorables au développement de l'agriculture (température, ensoleillement). La domestication des plantes (épeautre, blé, orge) et des animaux (loup/chien, chèvres, bovins) devint l'occupation principale des Hommes. Ils consacrèrent la majorité de leur temps et de leur énergie à ces activités, modifiant profondément l'organisation sociétale de ces néo-cultivateurs. Frontières, protections des terres, hiérarchies, trocs, conflits, croyances... L'agriculture alimenta et fit émerger de nombreuses caractéristiques de notre société, toujours valables actuellement (Harari, 2015; Demoule, 2017; Mazoyer & Roudart, 2002).

Ainsi il serait réducteur de penser l'agriculture comme une activité qui apporte simplement de la nourriture dans l'assiette, mais il s'agit plutôt d'une activité qui a contribué à l'évolution de l'Homme tout au long de son histoire et dont les progrès techniques et nouvelles pratiques exercent une influence certaine sur le mode de vie de l'Homme. Cette influence est telle, que l'activité agricole sera constamment régulée (Néron, 2014).

En France, par exemple, à la fin de la seconde guerre mondiale, l'état décide de faire de l'agriculture un des leviers de relance de l'économie pour reconstruire le pays. Avec l'aide de programmes d'investissement, comme le plan Marshall ou la politique agricole commune, les politiques souhaitent une intensification de la production afin d'atteindre une autosuffisance alimentaire. Soutenu par les instituts de recherche agronomique comme l'INRA, les fermes de la petite paysannerie laissent place à des exploitations agricoles aux rendements et productivité sans précédents obtenus grâce à la disponibilité énergétique offerte par le pétrole, aux progrès techniques en mécanisation, à l'apport massif d'intrants de synthèses et à la spécialisation de la production (Néron, 2014). Aussi, les paysages et territoires sont modifiés avec le retrait des haies et le regroupement de parcelles. De plus, la mécanisation a entraîné une baisse drastique du nombre de travailleurs agricoles, provoquant un exode rural massif

(Demotes-Mainard & Bourgeois, 2000). Cette période illustre l'influence que peut avoir l'activité agricole sur les territoires et la société, et comment les politiques tentent d'en réguler les pratiques, avec des intérêts économiques et politiques importants, et des enjeux sociétaux et environnementaux majeurs.

Les enjeux économiques, sociétaux et environnementaux de l'agriculture en France

Sur le plan économique, la filière agricole française joue un rôle de premier plan. Les bonnes performances de l'agriculture française sur les marchés mondiaux en 2020 sont représentées par l'excédent commercial qui a atteint 6,2 milliards d'euros, soit le troisième secteur derrière l'aéronautique et l'industrie pharmaceutique française (Agreste & Eurostat, 2020).

En effet, en 2020, les exploitations agricoles françaises produisaient pour 68 milliards d'euros de produits agricoles, soit 18% de la valeur produite par l'Union européenne, faisant de la France le premier producteur européen devant l'Allemagne, l'Italie et l'Espagne (qui comptent pour 55% des productions totale de l'UE, à eux 4). Ainsi, au sein de l'UE, la France est le premier producteur de viande bovine, de céréales, de graines oléagineuses, d'œuf et autres (Agreste, 2021a). La France se distingue mondialement par sa capacité d'exportation, d'où l'apparition du terme de « Ferme France » comme proposé par l'infographie de la figure 1, en étant le premier exportateur mondial de vins et spiritueux, de pommes de terre, de malt et de semences agricoles ; c'est le 6^{ème} exportateur mondial tout produits agroalimentaires confondus.



Figure 1 : Infographie "La Ferme France" (Source : Agreste / Graphagri 2020)

En 2016, plus de 400 000 exploitations agricoles étaient présentes sur le territoire français avec plus de 800 000 travailleurs dans des structures agricoles. La filière fruit et légumes comporte à elle seule environ 450 000 emplois répartis dans 75 000 entreprises. Si l'on considère toutes les activités de production et de transformation liées à l'agriculture, ce sont plus de 1,4 million de salariés soit 5% de l'emploi total national qui y sont employés (Agreste & Eurostat, 2020).

La situation géographique, pédologique et climatique du territoire est très favorable à l'agriculture, et le leadership agricole du pays est notamment dû à la mise à disposition de nombreuses surfaces pour l'agriculture. Le territoire métropolitain est composé à 52% de surfaces agricoles, dont presque la moitié est consacrée aux grandes cultures (céréales, oléagineux, protéagineux...). Cette prédominance a également été atteinte grâce à l'utilisation intensive de produits phytosanitaires durant les dernières décennies, permettant d'augmenter les rendements et la régularité des productions. Portée par les avancées en recherche agronomique, l'agriculture française, de manière plus marquée que d'autres pays, s'est fondée sur l'utilisation de ces produits de synthèse et en reste dépendante. La France est le troisième consommateur mondial de produits de protections des plantes (Agreste, 2021b). Pourtant, ce statut risque d'être amené à changer notamment par l'émergence de consciences environnementales et de nouvelles exigences des consommateurs qui tendent à la réduction de l'usage de produits phytosanitaires.

En effet, l'utilisation de nombreux produits phytosanitaires est de plus en plus contestée par la société, en particulier pour les effets dangereux de certaines molécules sur l'environnement et la santé pour l'homme. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de types perturbateurs endocriniens ont été prouvés chez des animaux, légitimant les questionnements sur les risques pour l'Homme. Les produits de synthèses sont également mis en cause dans la dégradation de l'état écologique des cours d'eaux, de la réduction de la biodiversité des zones agricoles ou bien encore de la mortalité des abeilles (Aubertot *et al*, 2005; Momas *et al*, 2004).

Cette inquiétude est d'autant plus prononcée que le territoire français propose plus de la moitié de sa surface à l'agriculture, que de nombreux travailleurs de la filière sont directement exposés à ces problématiques, et que de nombreux riverains vivent à proximité de terres agricoles. Il semble donc cohérent que ces aspects soient pris en compte dans les politiques et pratiques relatives à l'activité agricole. En effet, ces dernières années ont vu l'apparition de nombreuses réglementations sanitaires et environnementales telles que le plan Ecophyto, les directives Nitrates, les zones de non-traitement (ZNT), les labels d'agriculture biologique, etc. Ces réglementations, encouragées par la prise de conscience sanitaire et écologique de la population, entraînent l'émergence de nouvelles stratégies de protection des plantes plus respectueuses de l'environnement que certaines plus conventionnelles.

Les stratégies de lutttes conventionnelles et émergentes

Avant l'apparition des produits de protection des plantes, les agriculteurs s'appuyaient sur les connaissances des besoins des cultures en éléments minéraux et la maîtrise de la fertilisation pour assurer le meilleur compromis entre risque phytosanitaire et potentiel de production des cultures. Mais avec l'introduction malencontreuse de pathogènes depuis les Amériques, tels que l'oïdium, phylloxera, et le mildiou, ces façons de protéger les cultures furent insuffisantes. La bouillie bordelaise découverte à la fin du 19^{ème} siècle permit de lutter contre les champignons responsables de ces maladies profitant de l'essor de la chimie minérale. Après la seconde guerre mondiale, les premiers herbicides de synthèses permettant de supprimer la concurrence des mauvaises herbes – adventices – se sont répandus, tout comme les insecticides puis les fongicides à partir de 1970, modifiant profondément les systèmes de cultures. Les exploitants disposaient de moyens directs d'action sur les principaux bioagresseurs des cultures, leur permettant de maximiser les potentiels de production. Profitant d'un coût relativement faible, d'une facilité d'utilisation, d'un marché agricole favorable et d'une sous-estimation des conséquences environnementales de leur usage, les produits phytosanitaires de synthèse se sont imposés comme la méthode de lutte principale en agriculture (Aubertot *et al*, 2005).

L'utilisation intensive de cette méthode de lutte chimique mène à des problématiques environnementales et sanitaires, mais également à l'émergence d'une autre problématique liée au mode d'action mono-site des molécules, celle de la résistance des pathogènes aux produits de protection des plantes (Lucas *et al*, 2015; Hawkins *et al*, 2019; Bass *et al*, 2015). Tout comme c'est le cas chez les Hommes, avec l'évolution de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques, ici les pathogènes (insectes et microorganismes) évoluent sous la pression imposée sur leur environnement par les produits phytosanitaires, et développent des gènes de résistances permettant généralement de contrecarrer le mode d'action de la solution active (World Health Organization, 2014).

La méthode de lutte conventionnelle fait donc apparaître des contraintes à son utilisation, et met en lumière la nécessité de proposer des méthodes de lutttes alternatives pour réduire les intrants de synthèses dans les exploitations agricoles, que ce soit pour la santé de l'Homme, la qualité de l'environnement ou la résistance des pathogènes aux produits phytosanitaires. Agriculteurs et chercheurs ont souvent proposé des méthodes alternatives pour réduire les populations de bioagresseurs, dont la plupart

commencent à rendre compte de résultats prometteurs (Postali Parra & Coelho, 2019; Kulimushi *et al*, 2018). Parmi ces alternatives, on retrouve plusieurs stratégies de lutte mécanique ou biologique (Guichard *et al*, 2017; Butault *et al*, 2010):

- Le développement de variétés de végétaux résistantes aux maladies, voire l'association de différentes espèces et variétés dans une même culture pour complexifier l'adaptation des pathogènes. Ces variétés résistantes peuvent être obtenues par croisements génétiques, ou bien par modification génétique de l'organisme tel que les OGM.
- La rotation des cultures, afin de faire varier l'environnement des bioagresseurs et gêner leur adaptation au milieu cultural.
- Le désherbage mécanique permettant généralement de réduire l'humidité nécessaire au développement des maladies fongiques et de réduire la concurrence avec les mauvaises herbes.
- L'utilisation de produits de biocontrôle, défini comme « un produit qui utilise des mécanismes naturels pour protéger les végétaux ou renforcer leurs défenses naturelles contre les organismes nuisibles, grâce à des macroorganismes, ou des produits phytopharmaceutiques comprenant des médiateurs chimiques, des substances naturelles d'origine végétale, animale ou minérale, ou identiques à celles-ci, et des substances de base, tout en présentant un niveau élevé de sécurité pour la santé publique et l'environnement » (Chomienne *et al*, 2017).

Ces alternatives, soucieuses de l'environnement et de la santé des utilisateurs et consommateurs, ne peuvent pas à elles seules prétendre atteindre les efficacités de traitements obtenues par voie chimique, bien que certains produits de biocontrôle semblent très efficaces (Kulimushi *et al*, 2018; Postali Parra & Coelho, 2019). Le recours à ces alternatives demande de repenser l'ensemble des itinéraires techniques et culturels tels qu'on les connaît aujourd'hui, conçus pour les pratiques de lutte chimique. Actuellement, l'offre de produits de biocontrôle sur le marché est relativement limitée en nombre et méconnue du fait du manque de références sur les conditions d'utilisation de ces produits. L'absence d'une filière experte dans le domaine du biocontrôle, capable de coordonner depuis la recherche de

solutions jusqu'à l'homologation du produit et sa commercialisation, peut freiner le déploiement de ces solutions (Chomienne *et al*, 2017). Il est donc nécessaire aujourd'hui d'appuyer l'émergence des solutions alternatives pour lutter contre les bioagresseurs des cultures, de manière à limiter l'usage des produits chimiques rémanents et de disposer de nouvelles solutions en cas d'évolution et de résistance des pathogènes aux intrants phytosanitaires.

Le projet SOLSTICE

De telles ambitions sont visées par le projet SOLSTICE, porté par Belchim Crop Protection, avec le double objectif de mettre sur le marché de nouveaux produits de biocontrôle reposant sur des substances naturelles, aux modes d'action innovants, ainsi que des techniques d'applications inédites adaptées aux contraintes des produits de biocontrôle. Concrètement, le projet doit proposer plusieurs couples produits/méthodes d'applications pour les marchés professionnels et amateurs contre les maladies de la vigne, des plantes ornementales et des légumes (mildious, oïdiums et maladies du bois). Ce projet, soutenu par BPI France, s'articule autour d'un consortium de 7 acteurs académiques et industriels pour couvrir la filière depuis la recherche fondamentale jusqu'à la commercialisation des produits de biocontrôle, en passant par la formulation et l'homologation des solutions, ainsi que des méthodes d'applications innovantes (figure 2).

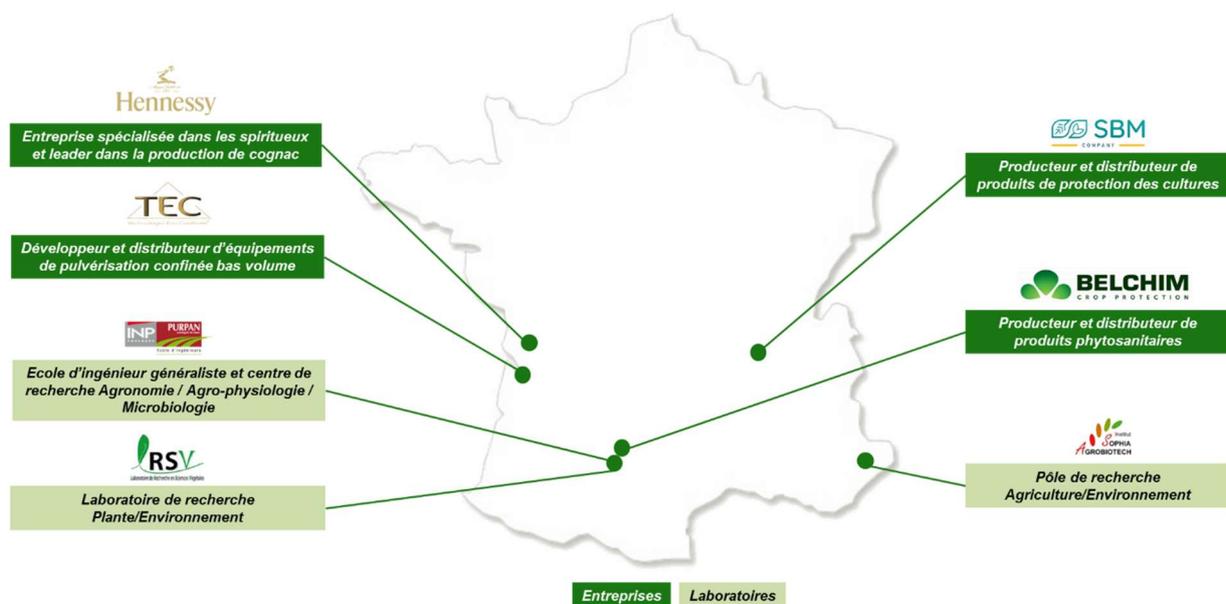


Figure 2 : Les acteurs du projet SOLSTICE.

Au sein de ce consortium, l'École d'Ingénieurs de Purpan a la mission d'étudier l'application d'eau ozonée en protection des cultures, fort de ses connaissances obtenues dans ses activités de recherche relatives à l'utilisation de l'ozone dans le domaine agroalimentaire. En effet, la molécule d'ozone semble être un sérieux candidat comme substitut aux intrants chimiques car elle dispose d'une forte réactivité avec les matrices organiques, dont les bactéries et champignons (O'Donnell *et al*, 2012).

Contrairement aux produits phytosanitaires conventionnels, la rémanence de la molécule d'ozone est très faible puisqu'elle se décompose très rapidement en dioxygène, non dangereux pour l'environnement et la santé. Toutefois son application devra être réfléchie car les procédés de pulvérisation conventionnels ont été identifiés comme réduisant l'efficacité de l'eau ozonée (Tournois *et al*, 2015; Pages, 2015; Fujiwara & Fujii, 2004). Une méthode d'application adaptée doit être développée pour répondre aux conditions particulières qu'impose la molécule d'ozone et ses propriétés physico-chimiques.

Afin de préparer le lecteur à la compréhension des sujets développés dans cette thèse, il s'agit dans un premier temps dans le chapitre 1, de faire l'état des lieux des connaissances relatives aux pathogènes étudiés, à la production et utilisation de l'eau ozonée, et à son application par pulvérisation. Le chapitre 2 de la thèse porte sur la compréhension des phénomènes physico-chimiques lors de la pulvérisation d'eau ozonée et sur l'optimisation des techniques pour sa pulvérisation. Le chapitre 3 quant à lui porte sur le traitement du mildiou de la vigne par l'eau ozonée. Les résultats obtenus pour le mildiou de la vigne sont ensuite étendus à d'autres pathosystèmes tels que le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate.

CHAPITRE 1 : ÉTAT DE L'ART – LES MALADIES DES CULTURES, **L'OZONE ET LA PULVERISATION**

1) LES MILDIOUS ET OÏDIUMS, BIOAGRESSEURS TRÈS REPANDUS EN AGRICULTURE

1.1) Symptômes et microorganismes responsables

Parmi les maladies qui peuvent être rencontrées par l'agriculteur, le mildiou et l'oïdium sont les plus répandues. En viticulture par exemple, le mildiou représente 43% des interventions réalisées dans le vignoble bordelais afin de limiter son développement (Chen, 2019; Agreste, 2021b). Les appellations « mildiou » et « oïdium » font référence à des maladies cryptogamiques qui affectent de très nombreuses espèces de végétaux, et dont les épidémies ont été, et sont toujours problématiques en agriculture (Gessler *et al*, 2011; Salinari *et al*, 2006; Dagostin *et al*, 2011; Jones *et al*, 2001). Originaires d'Amérique du Nord, ces maladies sont apparues en Europe au milieu du XIXème siècle, très certainement transportées par les marchandises des navires commerciaux. Elles provoquent dès leur arrivée sur le continent européen des conséquences dramatiques sur les récoltes, le pire exemple connu étant en Irlande, où le mildiou de la pomme de terre anéantit la quasi-totalité des monocultures de l'île, provoquant ainsi, avec l'appui de politiques désastreuses, la plus grande famine européenne (Ó'Gráda, 1995).

1.1.1) Symptômes et conséquences pour la plante

Le mildiou se traduit par l'apparition de taches brunes aussi appelées « taches d'huiles » sur la face supérieure de la feuille et le développement d'un duvet blanchâtre et cotonneux sur la face inférieure, mais également sur les fruits des végétaux. Ces symptômes aboutissent généralement au flétrissement des feuilles voire de la plante, et au pourrissement des fruits ou tubercules. L'oïdium, pour sa part, provoque l'apparition de pustules sur les organes aériens qui se développent et forment également un feutrage blanc, sur la face supérieure de la feuille cette fois, qui se distingue du mildiou par son aspect « poudreux ». Ces symptômes présentés en figure 3, apparaissent généralement au printemps, entre avril et juin, lorsque la météo est encore humide et que les premières chaleurs émergent. Ils persistent jusqu'à la fin de l'automne et le début de l'hiver avec la chute des organes aériens des végétaux. Les spores de

ces microorganismes peuvent rester en dormance jusqu'au printemps suivant pour recontaminer les cultures lors du retour de conditions favorables.

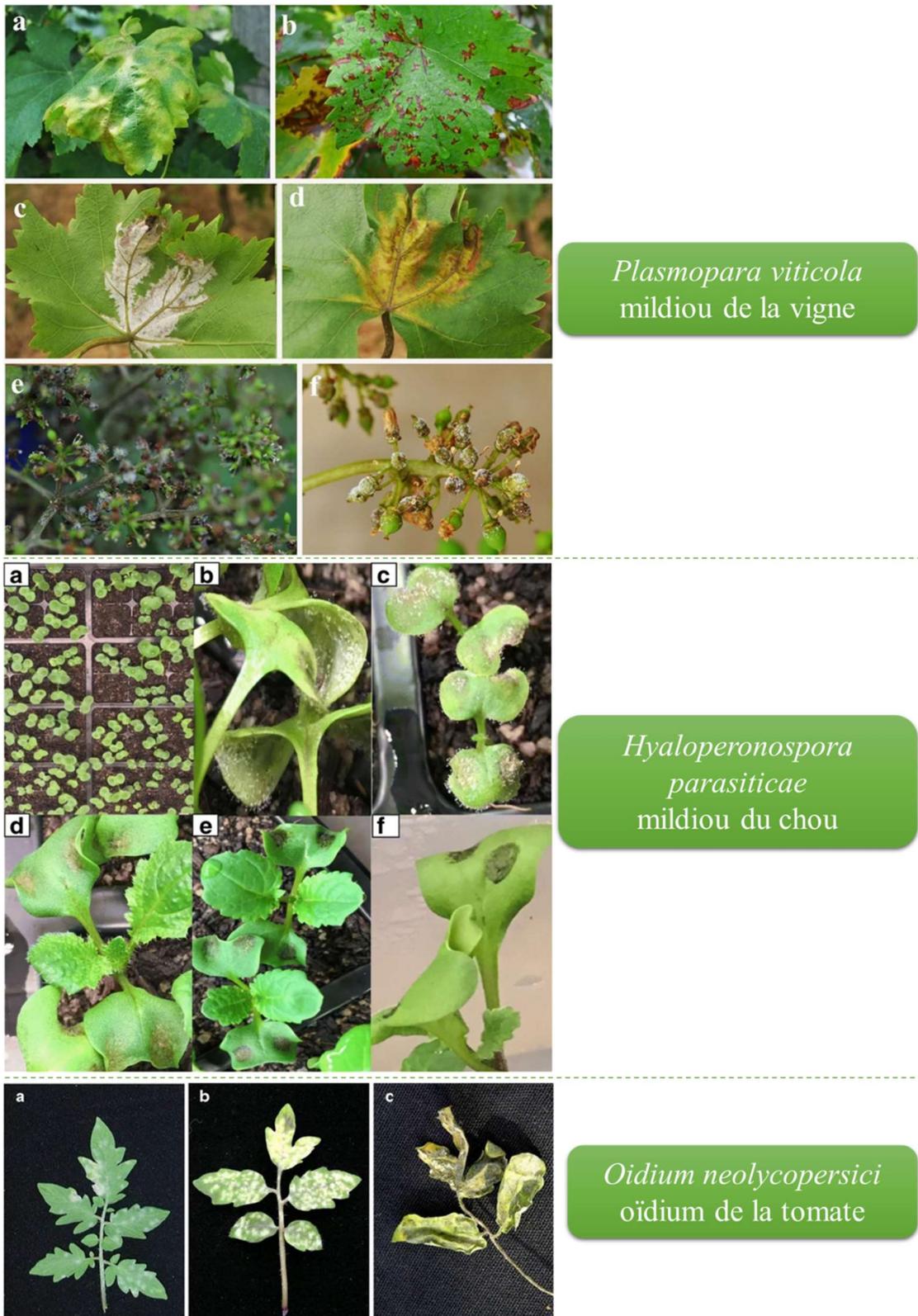


Figure 3 : Symptômes provoqués par *Plasmopara viticola*, *Hyaloperonospora parasiticae* et *Oidium neolycopersici*. Adapté de (Lebeda et al, 2014; Mohammed et al, 2019; Zhang et al, 2017).

1.1.2) Les microorganismes responsables

Les mildious et oïdiums regroupent une multitude de microorganismes, chacun étant spécifique d'un végétal en particulier, l'oïdium par exemple compte plus de 400 espèces capables d'infecter plus de 40 000 espèces de plantes (Rogerson & Amano, 1987). Ces maladies sont provoquées par des microorganismes différents selon les espèces de végétaux rencontrées, ceux provoquant le mildiou sont des oomycètes rattachés au règne *Chromista*, tandis que les responsables de l'oïdium sont des ascomycètes du règne *Fungi* (Gessler *et al*, 2011; Jones *et al*, 2001). *Plasmopara viticola*, responsable du mildiou de la vigne est choisi comme modèle dans cette étude. Il est responsable de pertes considérables en viticulture si les traitements phytosanitaires ne sont pas rigoureusement appliqués (Gessler *et al*, 2011). L'année 2021 a d'ailleurs été particulièrement marquée par le fort développement du mildiou dans les vignes, malgré les traitements appliqués (Montigaud, 2021).

Hyaloperonospora parasiticae et *Oidium neolycopersici*, respectivement mildiou du chou et oïdium de la tomate, sont également étudiées dans le cadre des présents travaux. Cela permettra de montrer une non-spécificité du traitement à l'eau ozonée dans le traitement des mildious et oïdiums en général.

1.2) Cycles de reproduction

Les cycles de reproduction des trois microorganismes à étudier sont globalement similaires, avec des légères différences selon les espèces considérées. La connaissance du cycle de ces pathogènes est capitale pour la mise en place de stratégies de luttés pour protéger la plante hôte.

1.2.1) *Plasmopara viticola*

Le mildiou de la vigne, possède un cycle de reproduction offrant deux scénarios d'infections de la vigne, une infection primaire due aux sporanges issus de la reproduction sexuée de *P.viticola*, et une infection secondaire réalisée par les sporanges asexués.

En automne, des oospores « dormantes » se développent dans les tissus des feuilles infectées la saison précédente. Ces oospores résistantes passent généralement l'hiver sur le sol des vignobles, au sein de feuilles en décomposition. À l'arrivée du printemps, entre avril et juin, avec les premières chaleurs (entre 13°C et 24°C) et les épisodes de pluies, ces oospores germent et produisent des sporanges. Avec le vent et les précipitations, ces sporanges sont dispersés depuis le sol jusqu'aux troncs et feuilles des vignes

naissantes. Une fois sur une feuille de vigne, ils relâchent des zoospores flagellées dès que l'humidité (98%), la température (19°C) et la luminosité (obscurité de la nuit) sont idéales. Lorsque relâchées et en l'espace de 3h, ces zoospores "nagent" jusqu'à un stomate sur la face inférieure de la feuille et s'attachent au bord du stomate en développant un appressorium. Les zoospores perdent leurs flagelles et se transforment en vésicule sous la cavité stomatique. Cette vésicule crée des haustorium et des hyphes qui permettent au champignon de se nourrir et de coloniser l'espace intercellulaire du limbe de la feuille. C'est à partir de ce moment-là que deux scénarios se dessinent.

1.2.1.a) Reproduction asexuée

Une fois le limbe de la feuille colonisé par les hyphes et les haustorium de *P.viticola*, le procédé de sporulation débute. Quatre à cinq jours après, des sporangiophores, sorte d'arbuscules ramifiés, poussent depuis la structure mycélienne développée dans la feuille, et sortent par les stomates. Ce sont ces structures qui sont responsables de l'aspect duveteux de la feuille infectée par le mildiou, et uniquement sur la face inférieure du fait de la présence de stomates. Elles forment des taches brunes de l'autre côté de la feuille. Les sporangiophores produits portent à leur extrémité des sporangies, qui enveloppent de nombreuses zoospores. Avec les épisodes de pluies, ces sporangies sont détachés des sporangiophores et transportés sur de nouvelles feuilles de vignes saines. Ces sporangies libèrent les zoospores contenues en leur sein lorsque l'humidité et la température le permettent, et ces dernières vont s'installer aux bords des stomates pour réaliser le cycle d'infection décrit précédemment. Lorsque les zoospores sont issues de sporangies produits au cours de la même saison, c'est-à-dire sans reproduction sexuée, on parle d'infection secondaire. Ce type d'infection se déroule durant toute la saison printanière et estivale (Gessler *et al*, 2011; Burruano, 2000)

1.2.1.b) Reproduction sexuée

À l'arrivée de l'automne, dans le mycélium qui se développe dans l'espace intercellulaire de la feuille de vigne, des organes sexués font leur apparition : les spermatocystes et les oogones. Les spermatocystes « fécondent » des oosphères contenues dans les oogones via des tubes copulateurs pour former des oospores. Ces derniers disposent d'une enveloppe double qui leur permet de survivre aux conditions hivernales difficiles, contrairement aux sporangies qui ne survivront pas à cette période. Ces oospores, continuent de mûrir, attendant au sol du vignoble l'arrivée du prochain printemps et les conditions

propices à l'infection d'une feuille de vigne. On parle d'infection primaire lorsque les zoospores issues des oospores infecteront de nouvelles feuilles la saison suivante (Gessler *et al*, 2011; Burruano, 2000). La figure 4 permet de schématiser le processus d'infection du mildiou de la vigne, et de différencier les deux types d'infections primaire et secondaires.

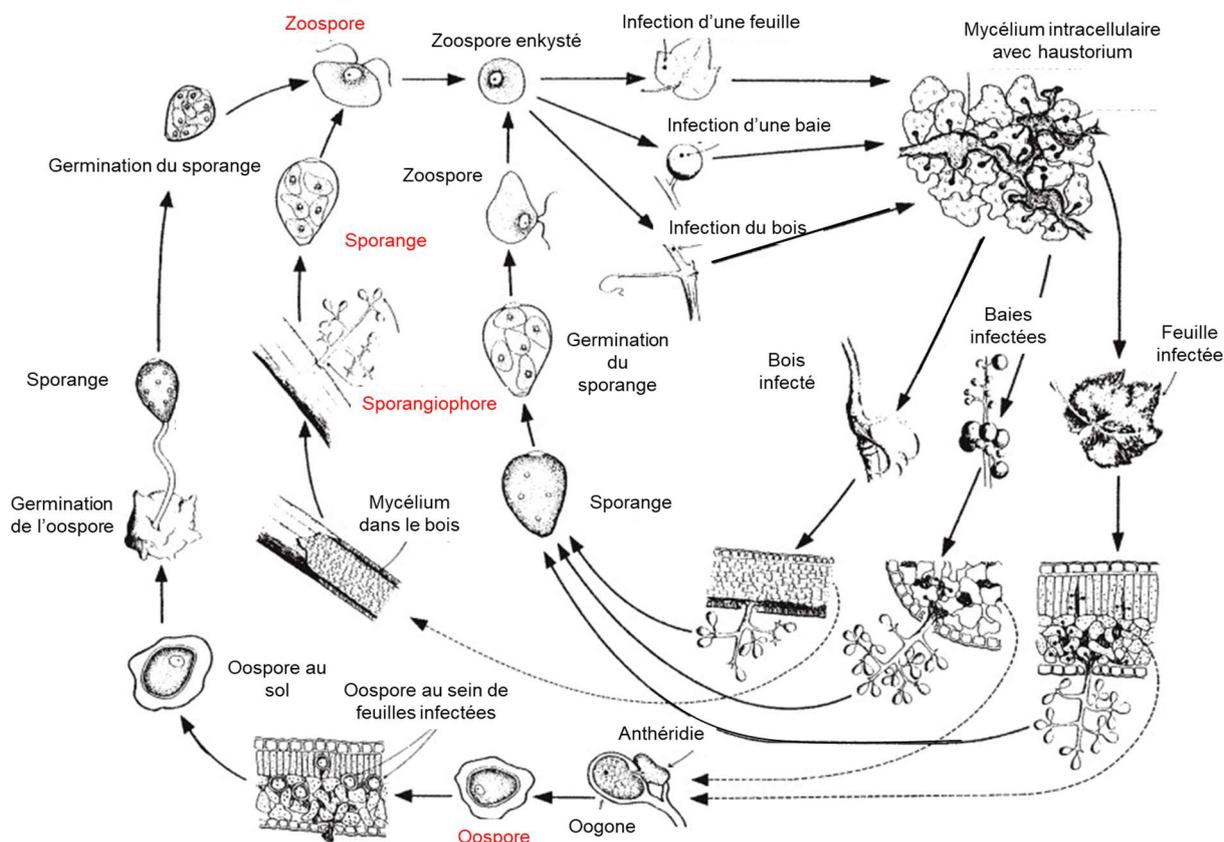


Figure 4 : Schéma du cycle de vie de *P.viticola*. Adapté de (Agrios, 1988).

1.2.2) *Hyaloperonospora parasiticae*

H.parasiticae, responsable du mildiou du chou, dispose d'un cycle d'infection quasiment similaire à celui de *P.viticola*. Cependant, le duvet blanchâtre que l'on retrouve sur les cotylédons du chou est composé de conidiophores, qui portent des conidies. Ces derniers sont responsables de la reproduction asexuée. Au lieu de libérer des zoospores comme les sporanges du mildiou de la vigne, ces conidies font pousser un tube germinatif dès lors que les conditions sont favorables (19°C – 98%HR) en moins de 4 heures. Ce tube germinatif va s'accrocher à la surface de la plante par un appressorium, à l'intersection des cellules épidermiques de la feuille. Entre ces cellules se développent des haustorium qui alimenteront la croissance d'hyphes dans l'espace intercellulaire de l'hôte. La reproduction asexuée sera assurée par la croissance de conidiophores et la production de conidies. Quatre à cinq jours après la

germination de ces conidies, de nouveaux conidiophores seront produits permettant de faire perdurer les infections secondaires. Au sein du limbe de la feuille, la reproduction sexuée sera réalisée à l'approche de l'hiver pour produire des oospores résistantes afin de permettre l'infection l'année suivante (Robles-Yerena, 2017; Lee *et al*, 2019; Choi *et al*, 2012; Slusarenko & Schlaich, 2003).

1.2.3) *Oïdium neolycopersici*

Contrairement aux mildious, l'oïdium de la tomate développe des conidies sur la face supérieure de la feuille. Tout comme *H.parasiticae*, ces conidies vont produire un tube germinatif qui s'accroche à la surface de la feuille grâce à un appressorium, généralement entre 3 cellules épidermiques, visible sur la figure 5(C). À partir de cet appressorium et du tube germinatif, un réseau d'hyphes se développe uniquement sur la surface de la feuille. De ces hyphes seront produits des conidiophores, chacun portant une chaîne de conidies, qui matérialisent la forme de reproduction asexuée durant la saison (Jones *et al*, 2001; Nonomura *et al*, 2009). À ce jour, la reproduction sexuée de *O.neolycopersici* n'a pas été mise en évidence.

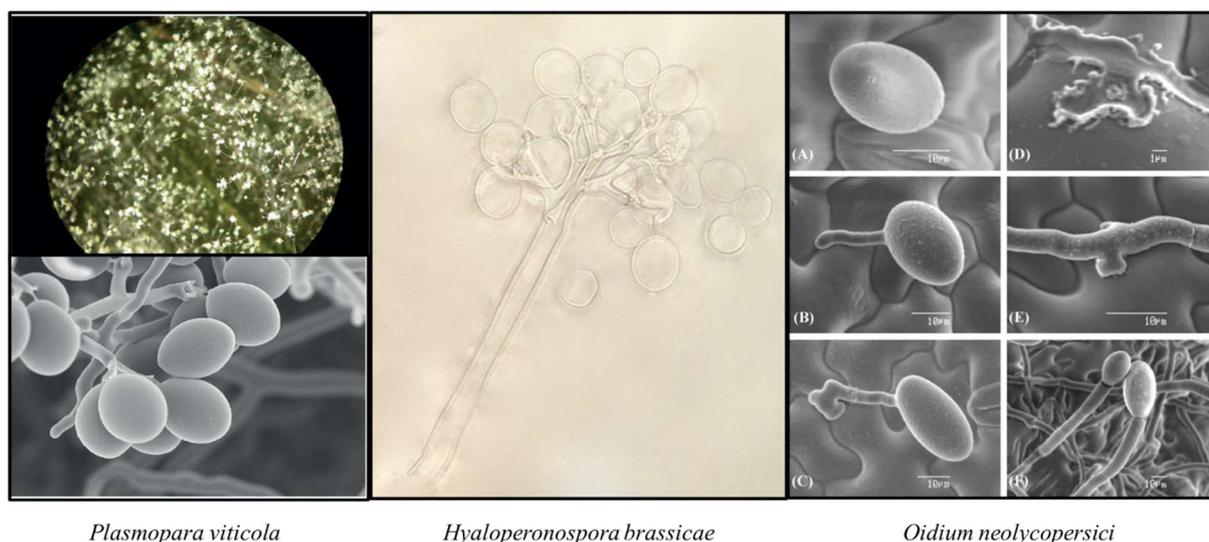


Figure 5 : Sporangioophores et sporanges de *P.viticola* et *H.parasiticae*, conidiophores et conidies de *O.neolycopersici*. Adapté de (Gessler *et al*, 2011; Jones *et al*, 2001; Robles-Yerena, 2017).

Les mildious et oïdiums sont donc des maladies qui colonisent la surface mais également l'intérieur des feuilles des végétaux, avec des organes sexués et asexués relativement similaires comme le montre la figure 5. La production de spores infectieuses, sporanges et conidies, est réalisée durant toute la saison via une reproduction asexuée tandis que la reproduction sexuée permet de générer les structures de survie en fin de saison, les oospores, qui vont passer l'hiver et infecter les plantes à la saison suivante.

Les conditions de germination des sporanges et les temporalités de croissance de ces maladies sont relativement similaires. Les traitements appliqués au cours de la saison pour lutter contre le développement de ces maladies doivent donc agir sur tous les types de structures des champignons pour limiter le potentiel d'infection de la maladie régit par le cycle asexué de ces microorganismes. Et pour éradiquer totalement la maladie, il est nécessaire que le traitement empêche de nouvelles sporulations de sporanges et conidies. Le tableau 1 récapitule les principales caractéristiques des trois pathogènes ciblés.

Nom scientifique	<i>Plasmopara viticola</i>	<i>Hyaloperonospora parasiticae</i>	<i>Oidium Neolycopersici</i>
Nom commun	Mildiou de la vigne	Mildiou du chou	Oïdium de la tomate
Règne	Chromista	Chromista	Fungi
Division	Oomycètes	Oomycètes	Ascomycètes
Symptômes	<ul style="list-style-type: none"> • Taches d'huiles sur la face supérieure des feuilles • Duvet blanchâtre sur la face inférieure • Flétrissement et pourriture de la feuille aux stades avancés 		<ul style="list-style-type: none"> • Feutrage blanc sur la face supérieure • Aspect poudreux sur la face supérieure de la feuille
Localisation du mycélium	Sous l'épiderme de la feuille, dans l'espace intercellulaire.		Dans l'épiderme de la feuille
Localisation des structures asexuées	Sur l'épiderme de la feuille		Sur l'épiderme de la feuille
Durée du cycle de reproduction	4 à 5 jours		5 à 7 jours
Temps de pénétration dans la feuille	1 à 3h		1 à 3h
Organe et période sexué	Oospores Automne - Hiver	Oospores Automne - Hiver	-
Organe et période asexué	Sporanges Printemps – Été	Conidie Printemps - Été	Conidie Toute l'année

Tableau 1 : Récapitulatif des principales caractéristiques des trois microorganismes ciblés pour les présents travaux

1.3) Conditions d'expérimentations

Différentes études ont été réalisées pour évaluer le potentiel d'inactivation de produits de protection des plantes face à *P.viticola*, *H.parasiticae* et *O.neolycopersici*. Il s'agit dans cette section de préciser les spécificités à prendre en compte pour ce type d'expérimentation, et les standards d'expérimentation.

1.3.1) Milieu de culture

Contrairement à la majorité des expériences microbiologiques où les microorganismes sont cultivés sur milieu nutritionnel gélosé, les trois microorganismes de notre étude ont la particularité d'être biotrophe obligatoires. Cela signifie qu'ils se développent uniquement en présence de leur hôte cible. Autrement dit, *P. viticola* se développera que sur feuille de vigne, *H.parasiticae* sur cotylédons de chou et *O. neolycopersici* sur feuilles de tomates. Ainsi la multiplication des microorganismes est réalisée par infection de feuilles ou morceaux de feuilles plutôt que par étalement sur boîte de Pétri gélosée contenant les nutriments spécifiques aux microorganismes que l'on veut voir croître. Cette spécificité ajoute de la variabilité aux résultats obtenus puisque les feuilles disposent de différences biologiques entre elles, alors que des milieux de culture gélosés sont identiques. Pour réduire cette variabilité, une même feuille peut être découpée en plusieurs morceaux, généralement des disques de feuilles, afin de disposer de supports identiques pour le développement du microorganisme. On retrouve ces conditions d'expérimentations, entre autres, dans les études réalisées par (Aziz *et al*, 2003; Wong *et al*, 2001; Allègre *et al*, 2007; Mohammed *et al*, 2019; Lebeda *et al*, 2014).

1.3.2) Évaluation de l'efficacité des produits testés

Lorsque les oomycètes et ascomycètes responsables des mildious et oïdiums interagissent avec la plante hôte pour procéder à son infection, le pathosystème plante/microorganisme produit des réponses spécifiques qu'il est possible d'observer pour évaluer le degré d'infection de la plante. Ces réponses interviennent à différents niveaux d'observations : initialement à l'échelle microscopique avec la présence de quelques zoospores sur les feuilles, et finalement à l'échelle macroscopique après le développement des sporanges en structures mycéliennes.

1.3.2.a) À l'échelle microscopique

Les études relatives aux microorganismes proposent très souvent des observations microscopiques pour obtenir des informations qualitatives quant au développement d'un pathogène (Aziz *et al*, 2003; Robles-Yerena, 2017). De l'observation à la loupe binoculaire pour les grosses structures (sporangiophores) jusqu'au microscope électronique à balayage pour les plus petites structures (zoospores et mycélium), l'évolution du développement du pathogène peut-être suivi. L'altération morphologique des microorganismes peut être observée pour valider l'effet d'une solution sur le pathogène (Pages, 2015). Les informations obtenues par observation microscopique sont généralement qualitatives, bien que certaines études réalisent des comptages sur hématimètres pour évaluer les quantités de sporanges présentes dans un échantillon (Gómez-Zeledón *et al*, 2013; Wong *et al*, 2001)

Une façon d'obtenir une quantification des microorganismes présents dans un échantillon est d'avoir recours à l'amplification et quantification des séquences ADN des pathogènes étudiés. Ces méthodes s'appliquent pour détecter et quantifier l'ADN du pathogène présent dans un échantillon de plante infecté. En comparant le nombre de copies de l'ADN (ou ARN) du microorganisme présent dans un échantillon témoin et dans un échantillon traité avec une solution d'intérêt, l'efficacité de cette dernière peut être évaluée (Pierron *et al*, 2015). Cela permet de connaître le degré d'infection d'un échantillon.

Les techniques d'extraction d'ADN et ARN, suivies d'amplification et quantification par PCR permettent également de mettre en évidence une réaction de la plante face à son agresseur, et de quantifier le degré de défense de la plante. En effet, les premières réponses observables du pathosystème sont de l'ordre génétique. Les gènes de défenses de la plante vont être surexprimés, pour établir des mécanismes de défenses contre les pathogènes : production de métabolites de défenses (par exemple chez la vigne : acide salicylique, laminarine, viniferin, resveratrol..), réorganisation morphologique, etc (Pierron *et al*, 2015; Aziz *et al*, 2003; Pezet *et al*, 2004; Dercks & Creasy, 1989).

Ces méthodes, basées sur la génétique, sont coûteuses et relativement complexes à maîtriser, mais ont l'avantage de proposer une bonne précision de mesure, une détection précoce de l'infection et communiquent une information au niveau génomique des organismes étudiés. Les observations microscopiques sont plus facilement réalisables, excepté dans le cas du microscope à balayage.

1.3.2.b) À l'échelle macroscopique

La méthode d'évaluation du degré d'infection d'une plante par un pathogène la plus répandue est l'observation visuelle des symptômes de la plante. Dans le cas de nos microorganismes d'intérêt, il s'agit d'observer le développement du mycélium, des conidiophores et sporangiophores à l'œil nu. En fonction du développement des structures duveteuses (pour les mildious) ou poudreuses (pour les oïdiums), une notation est effectuée pour chaque échantillon infecté. En effet, à inoculation simultanée, les sporanges inactivées par le traitement ne donneront pas lieu (ou moins lieu) à la naissance de conidiophores ou sporangiophores, ce qui résulte en des symptômes visibles moins présents. Les notes sont comparées entre les différentes conditions d'expérimentations et les témoins pour mettre en évidence des différences d'infection. Bien que les notations restent relativement dépendantes de l'observateur et différentes selon les études, des descripteurs existent pour tenter de normaliser ces méthodes d'observation (descripteurs OIV, cf. annexe 1).

Un exemple de notation issue de l'étude de (Gómez-Zeledón *et al*, 2013) est présenté dans la figure 6. On y remarque la présence de morceau de feuilles, nécessaires à la croissance de l'oomycète biotrophe, *P.viticola*. Les symptômes observés sont répartis en plusieurs classe : A) nécrose et sporulation denses, B) nécrose et sporulation modérées localisées sur le site d'inoculation, C) nécrose et sporulation éparées, D) faible nécrose et faible sporulation, E) ni nécrose ni sporulation. Dans l'étude de (Gómez-Zeledón *et al*, 2013), cette notation fait intervenir des classes donnant lieu à des variables qualitatives. Des notations quantitatives peuvent également être réalisées sur le même principe. Cela permet de réaliser différents types d'analyses statistiques afin de vérifier la significativité des tendances obtenues par évaluation visuelle. Ces observations visuelles permettent de caractériser la fréquence d'apparition des symptômes ainsi que leur intensité. Ce sont deux facteurs principaux permettant de décrire une infection chez les plantes.

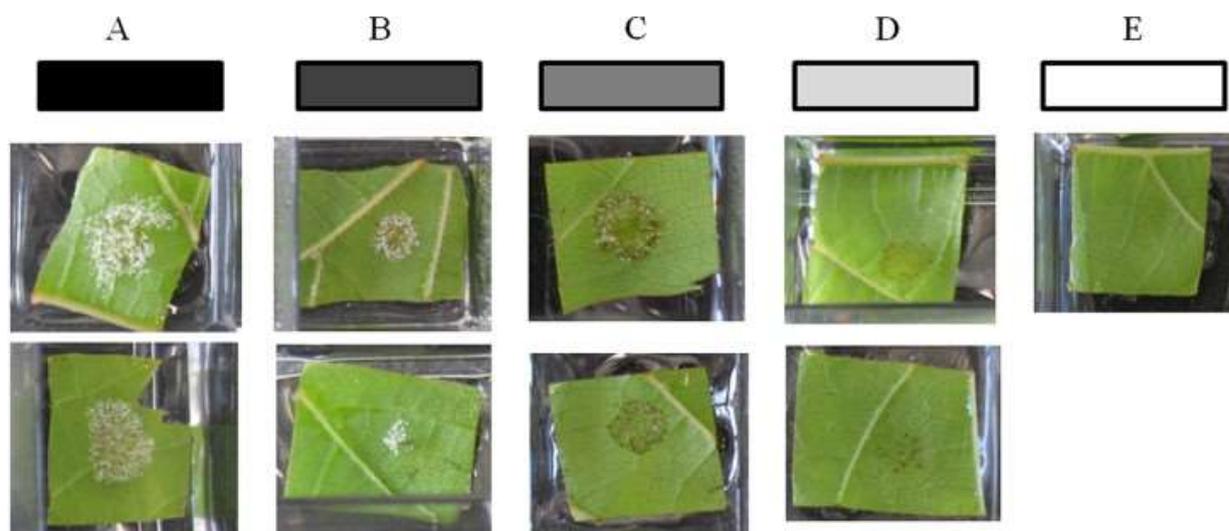


Figure 6 : Exemple d'échelle de notation de l'intensité d'infection de *P. viticola*. Adapté de (Gómez-Zeledón *et al*, 2013).

Cette méthode pragmatique d'évaluation a l'avantage d'être simple, mais est dépendante de l'observateur et n'est possible qu'à partir de l'apparition macroscopiques de symptômes, généralement 4 à 5 jours après inoculation des pathogènes sur les plantes. C'est le type d'évaluation que nous réaliserons dans ces travaux de thèse.

Pour résumer, les mildious et oïdiums sont des maladies ayant de vraies conséquences économiques et sociétales relativement bien renseignées dans la littérature et ayant fait l'objet de nombreuses études, notamment sur l'évaluation d'efficacité de produits de protections des plantes. Elles nécessitent obligatoirement une croissance sur feuilles, et l'évaluation de la virulence de l'infection de la maladie peut être réalisée grâce à des observations visuelles. Il s'agira donc de réaliser des expériences conformes avec les expériences rencontrées dans la littérature pour évaluer l'effet de l'eau ozonée sur l'inactivation des microorganismes d'intérêts. Toutefois, ces expériences devront prendre en compte les conditions particulières qu'imposent la molécule d'ozone et ses propriétés physico-chimiques, autant que la spécificité des mildious et oïdiums étudiés.

2) LA MOLECULE D'OZONE

2.1) Généralités et intérêt

2.1.1) Généralités

La molécule d'ozone se compose de trois atomes d'oxygène, que l'on retrouve naturellement sous forme gazeuse dans notre atmosphère à très faible concentration. Celle-ci est plus élevée dans la stratosphère, où elle joue le rôle de filtre protecteur pour la terre en absorbant les radiations UVC nocives pour l'Homme. En conditions normales, l'ozone est un gaz instable, comme l'illustre ses formes de résonance à la figure 7, de couleur bleue lorsque suffisamment concentré, et dont l'odeur est si caractéristique que cela lui a valu son nom, *ozein* en grec qui signifie « exhaler une odeur ». Chez l'humain, l'exposition à l'ozone gazeux peut provoquer des lésions des muqueuses respiratoires et oculaires, mais aucun effet cancérogène ou sur la reproduction n'a été identifié. Une valeur limite d'exposition de 0,1ppm sur 8h a été défini par l'INRS pour cette molécule (cf annexe 2, fiche toxicologique ozone).

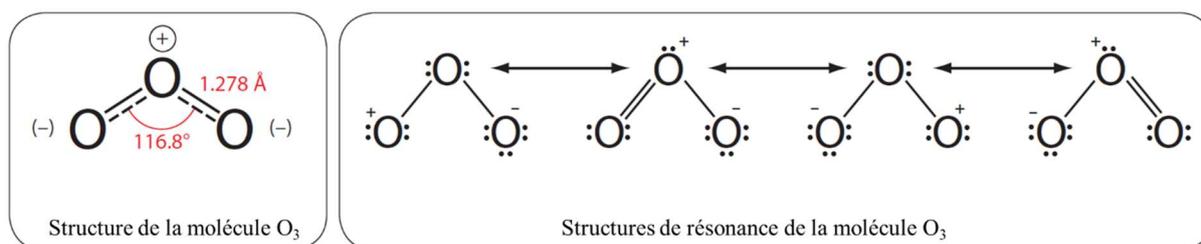


Figure 7 : Structure moléculaire de l'ozone (gauche) et ses différentes formes de résonance (droite). Adapté de (The Royal Society, 2008).

2.1.2) Intérêt

L'intérêt majeur pour l'utilisation de l'ozone provient de son fort potentiel oxydant issu de sa capacité à céder un atome d'oxygène, lui offrant une très forte réactivité avec de nombreuses matrices et justifiant sa large utilisation dans le domaine du traitement des eaux depuis plus d'un siècle (Loeb *et al*, 2012). Son autre caractéristique intéressante est due au fait que l'ozone soit produit à partir de dioxygène (O₂) et que la majorité de ses schémas de décomposition aboutissent à la formation de dioxygène (Stahelin & Hoigne, 1985). La molécule d'ozone est donc un agent très réactif, non rémanent et dont les sous-produits ne présentent pas de risques pour la santé ou l'environnement, propriétés recherchées pour un substitut aux produits phytosanitaires.

2.2) Propriétés physico-chimiques

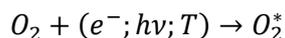
Les principales propriétés physico-chimiques de l'ozone sont présentées dans le tableau 2. Parmi celles-ci, la très faible température d'ébullition (-112°C) justifiant l'état gazeux de la molécule d'ozone en conditions normales. Son fort potentiel d'oxydation est également remarquable, il est plus élevé que celui du chlore (1,36V) largement répandu justement pour son pouvoir oxydant. Aussi le tableau 2 permet de noter les faibles temps de demi-vie de la molécule d'ozone, notamment en phase aqueuse où 20min suffisent pour voir la concentration d'ozone divisée par deux.

Masse molaire	47,998 g/mol	Diffusion dans l'air à 20°C	$1,70 \times 10^{-5} \text{ m}^2/\text{s}^{-1}$
Température de fusion	-192,7°C	Diffusion dans l'eau à 20°C	$1,76 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}^{-1}$
Température d'ébullition	-111,9°C	Constante de Henry à 20°C	$5,21 \times 10^8 \text{ Pa}$
Masse volumique (gaz)	1,99 kg/m ³	Demi-vie dans l'eau à 20°C	20 min
Densité par rapport à l'air	1,65	Demi-vie dans l'air à 20°C	3 jours
Enthalpie libre de formation à 25°C	+142,12 kJ/mol	Potentiel d'oxydation standard	2,06 V

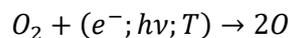
Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques de la molécule d'ozone (Baig & Mouchet, 2010; Roustan, 2003; The Royal Society, 2008).

2.3) Formation et production

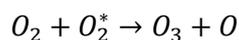
Sa formation est due à la rupture, par apport d'énergie, d'une molécule de dioxygène en deux atomes d'oxygène seuls, l'atome d'oxygène seul se recombinaut ensuite avec une molécule d'O₂ pour former l'O₃. C'est une réaction endothermique qui nécessite une certaine énergie pour initier la rupture des molécules de dioxygène, comme l'atteste la valeur positive d'enthalpie libre de formation reportée dans le tableau 2. Le schéma général de formation de l'ozone est présenté avec les équations 1 à 4. Un apport d'énergie est possible par excitation électronique (e⁻), rayonnement (hν) ou chaleur (T).



Équation 1



Équation 2



Équation 3



Équation 4

Avec M une des nombreuses espèces chimiques catalysant la réaction de formation d' O_3 .

Différentes méthodes d'apport d'énergie permettent d'initier la rupture de la molécule d' O_2 afin de former la molécule d'ozone (Baig & Mouchet, 2010):

- Par décharge corona, où des molécules d' O_2 sont envoyées à travers un champ électrique qui rompt le dioxygène en atome d'oxygène, ce dernier se combinant avec les molécules d' O_2 encore intactes pour former l'ozone O_3 . C'est le même principe que la production naturelle d'ozone lors d'un orage, où la foudre traverse l'air composé de dioxygène, formant de l'ozone. Cette méthode est la plus répandue et permet d'atteindre des hauts rendements de production d'ozone.
- Par radiation ultraviolet (UV), en envoyant un rayonnement aux alentours de 180nm pour spécifiquement exciter la liaison O-O du dioxygène. C'est le phénomène qui se produit dans la stratosphère, où se trouve la couche d'ozone, les rayonnements du soleil à cette longueur d'onde précise permettent la formation d'ozone à partir du dioxygène.
- Par électrolyse de l'eau, où l'application d'un potentiel électrique entre une anode et une cathode permet la production d' O_2 , d' H_2 et également d' O_3 .

2.4) Stabilité, mécanismes réactionnels

L'ozone peut être utilisé de deux manières, soit directement sous forme gazeuse pour agir dans une atmosphère contrôlée, ou bien par dissolution dans un solvant qui sera mis en contact avec la matrice à traiter. Si l'ozone est relativement instable à l'état gazeux, il l'est extrêmement lorsque dissous en phase aqueuse, comme l'atteste leur différence de demi-vie reportées dans le tableau 2. Lorsque l'ozone est en phase aqueuse, sa stabilité dépend surtout de la température, mais également du pH et de la qualité de l'eau. C'est une considération importante à prendre en compte, car cette instabilité implique l'impossibilité de stocker et transporter de l'eau ozonée, nécessitant obligatoirement la production *in situ* d'ozone. Cependant, la dissolution de l'ozone dans l'eau a l'avantage de proposer des mécanismes réactionnels variés (Baig & Mouchet, 2010):

- Réaction directe ou dite « moléculaire », qui correspond à l'oxydoréduction d'un composé M par la molécule d'ozone tel que $O_3 + M \rightarrow M_{ox} + O_2$. Différents sites moléculaires peuvent être attaqués par l'ozone. Sa polarité facilite la réaction avec les liaisons éthyléniques, selon une cycloaddition appelée « mécanisme de Criegee », menant à la formation d'aldéhydes, de cétones et de peroxyde d'hydrogène. Des attaques électrophiles peuvent aussi survenir dans les cycles aromatiques pour substituer les sites électrodonneurs, généralement menant à la formation de composés hydroxylés (-OH) sur le cycle, dont l'oxydation totale permet l'ouverture du cycle et la production d'aldéhydes, cétones et acides carboxyliques. Théoriquement, des attaques nucléophiles pourraient également avoir lieu, mais cela n'a jamais été mis en évidence expérimentalement. L'ozone gazeux respecte également ces mécanismes.
- Réaction indirecte ou dite « radicalaire », qui repose sur la décomposition de l'ozone en radicaux libres dans le milieu réactionnel. Cette décomposition est généralement initiée par les ions hydroxyde de l'eau à pH élevé, générant une multitude de radicaux ($O_3^{\circ-}$; $O_2^{\circ-}$; HO° ; HO_2°), dont la réactivité est plus importante et la sélectivité moindre. Le radical hydroxyle y joue un rôle important en tant que précurseurs de nombreuses réactions radicalaires, permettant d'atteindre des états d'oxydations très avancés que l'ozone ne peut réaliser. En effet, la vitesse de réaction du radical HO° est un million de fois supérieure à celle de l'ozone et le radical dispose d'un potentiel oxydant

plus important ($E_{OH^\bullet}=2,8V$)(Baig & Mouchet, 2010). On parle de procédés d'oxydation avancée (AOP) lorsque la production de ces radicaux est favorisée. Ces mécanismes sont bien plus présents lorsque l'ozone est en phase aqueuse plutôt qu'en phase gaz, du fait de l'omniprésence des ions OH^- dans l'eau pour initier la production des radicaux libres.

Dans tous les cas, les chemins réactionnels de l'ozone dans l'eau mènent à la formation de dioxygène comme illustré avec la figure 8 (Staehelin & Hoigne, 1985).

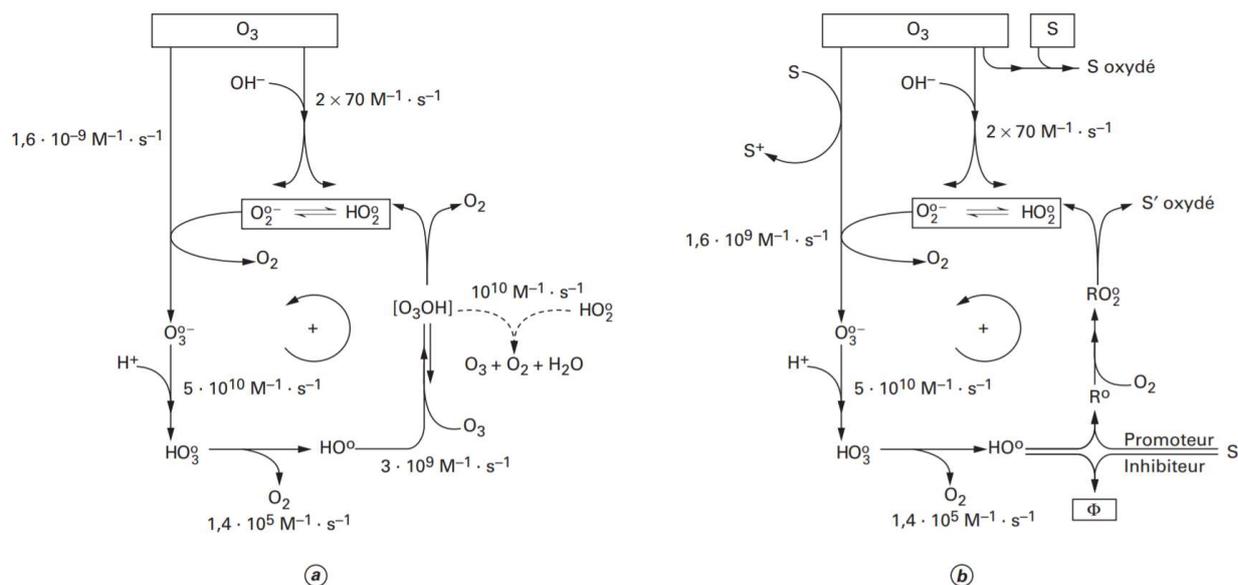


Figure 8 : Réactions de l'ozone dans l'eau pure (a) et en présence d'un soluté S (b). Adapté de (Baig & Mouchet, 2010; Staehelin & Hoigne, 1985).

2.5) Transfert de l'ozone en phase aqueuse

Pour obtenir de l'ozone en phase aqueuse, solution que l'on appelle « eau ozonée », il est nécessaire de dissoudre l'ozone gazeux dans de l'eau. L'ozone est peu soluble dans l'eau (0,31mgO₃/L d'eau par mgO₃/L de gaz apporté), le transfert de l'ozone depuis la phase gaz jusqu'au sein du liquide doit donc être réalisé par un contacteur de dissolution relativement efficace, selon les quantités à produire ou à traiter. Le but est de promouvoir l'absorption des molécules d'O₃, présentes dans la phase gaz, par la phase liquide. En général, les colonnes à bulles ou les colonnes à garnissage sont les contacteurs fréquemment rencontrés pour de telles opérations, même si d'autres technologies sont également utilisées selon les caractéristiques du transfert à réaliser (quantités, vitesses, prix). On peut par exemple rencontrer de simples injecteurs Venturi, des mélangeurs statiques, des tubes en U ou même des diffuseurs radiaux (Roustan, 2003).

Une solubilité maximale du soluté existe dans la phase liquide et varie selon les conditions opératoires du procédé de transfert (température et pression essentiellement). Cette solubilité maximale peut être atteinte plus ou moins rapidement selon l'efficacité des contacteurs utilisés. La solubilité théorique atteignable par un soluté dans une phase est définie par l'équation de Henry.

$$x_{O_3} H_{O_3/H_2O} = y_{O_3} P$$

Équation 5

Avec x_{O_3} la fraction molaire d'ozone dissous dans le liquide (-), y_{O_3} la fraction molaire d'ozone dans la phase gaz (-), P la pression du système (Pa) et H_{O_3/H_2O} la constante de Henry pour l'ozone dans l'eau (Pa).

Cette équation 5 peut s'écrire de manière plus simplifiée :

$$C_{O_3}^{L,*} = \alpha C_{O_3}^G$$

Équation 6

Avec $C_{O_3}^{L,*}$ la concentration en ozone à laquelle serait la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse de concentration réelle $C_{O_3}^G$ (mg/L), et α la constante d'équilibre (-).

Autrement dit, la concentration théorique atteignable dans une phase est proportionnelle à la concentration réelle dans l'autre phase. Cette proportionnalité varie selon la température, la pression du système, le pH et la composition de la phase liquide.

La mesure de la concentration en ozone dissous dans le liquide permet de suivre l'évolution du transfert et de s'assurer de l'atteinte ou non de la concentration à saturation.

2.6) Méthodes de mesures de l'ozone dissous

La mesure de la concentration en ozone dissous dans la phase liquide peut-être réalisée de plusieurs façons.

2.6.1) Absorption UV

La technique la plus répandue, fiable et précise est la technique d'absorption lumineuse à 254nm. Cette méthode, initialement développée pour la mesure de la concentration en ozone gazeux dans l'air, repose sur le fait que la molécule absorbe spécifiquement les rayonnements UV à 254nm. Elle peut s'appliquer

à la mesure d'ozone dissous dans l'eau car à cette longueur d'onde, l'air, l'eau et le dioxygène sont « transparents », ils laissent passer ce rayonnement. Ainsi, en connaissant l'épaisseur d'échantillon traversée par le rayonnement, l'intensité incidente et résultante de l'échantillon, ainsi que le coefficient d'extinction molaire de l'ozone à 254nm, l'utilisation de la loi de Beer-Lambert permet la détermination de la concentration en ozone dissous dans le liquide (Parrish, 2000; van den Broeke *et al*, 2008).

Bien qu'elle ne craigne pas réellement les problèmes d'interférences avec d'autres espèces chimiques, cette méthode est sensible à la présence de bulles ou impuretés dans l'eau, nécessitant une filtration préalable tout en évitant le dégazage de l'ozone. Ces opérations peuvent créer un délai entre l'échantillonnage et la mesure de l'ozone dissous dans l'échantillon, si la mesure n'est pas réalisée en ligne. De plus, la lecture d'absorbance UV nécessite également un contenant ou une chambre d'analyse en quartz.

2.6.2) Méthode indigo

L'autre méthode que l'on retrouve communément après l'absorption UV pour déterminer la concentration d'ozone dissous en phase liquide est la méthode colorimétrique. Le colorant indigo trisulfonate (N°CAS : 482-89-3), bleu en solution, dispose d'une double liaison dans sa structure moléculaire qui permet à l'ozone de réagir spécifiquement avec cette insaturation pour produire deux sous-produits incolores, comme illustré avec la figure 9. La décoloration de la solution peut être linéairement reliée à la concentration d'ozone dissous ayant réagi avec l'indigo, grâce à une mesure d'absorbance à 600nm. L'avantage de cette technique est qu'elle est relativement simple d'utilisation, et ne craint pas les interférences avec d'autres espèces chimiques (Grunwell *et al*, 1983; Bader & Hoigné, 1981). La réaction de l'ozone avec l'indigo est quasi-instantanée à partir du moment où l'échantillon d'eau ozonée a été mis en contact avec le volume d'indigo. La mesure en ligne n'est pas réellement réalisable avec cette méthode, mais de nombreux kits prêts à l'emploi et ne nécessitant pas de calibration préalable existent pour faciliter et normaliser cette méthode de mesure.

L'exemple de la molécule d'indigo trisulfonate a été présenté, mais plusieurs molécules colorées présentant un site d'attaque spécifique à l'ozone existent et peuvent substituer l'indigo trisulfonate : le DDPD (N,N-diethyl-p-phenylenediamine) et les dérivées de l'indigo (indigo carmine, disulfonate).

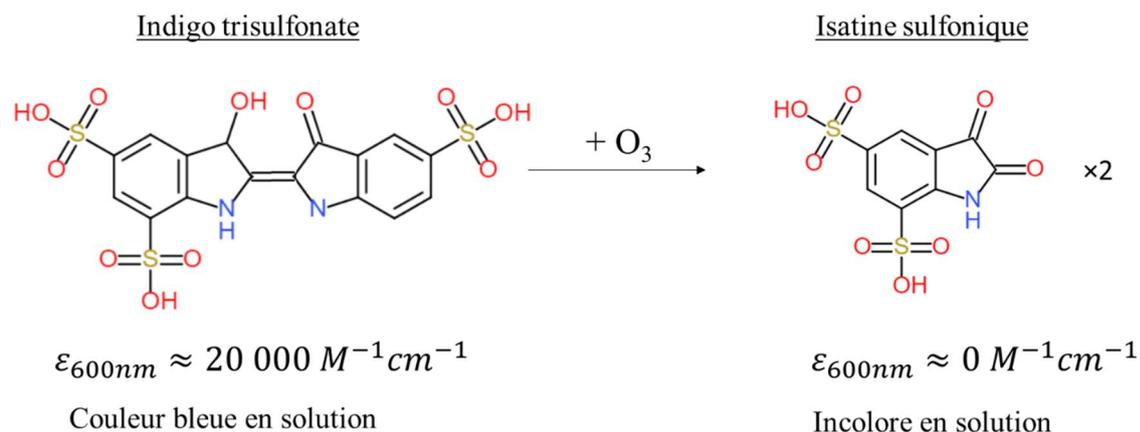


Figure 9 : Réaction de l'ozone avec l'indigo trisulfonate permettant le titrage d'ozone dissous dans un échantillon.

2.6.3) Autres méthodes

Des méthodes électrochimiques existent également pour déterminer la concentration en oxydants dans l'eau (O'Donnell *et al*, 2012). En lisant le potentiel entre une cathode et une anode dans une solution d'eau ozonée, le potentiel d'oxydo-réduction de la solution est relié linéairement à la concentration d'oxydant dissous, et donc à l'ozone s'il est le seul oxydant présent dans la solution. Cette méthode peut-être également améliorée en ajoutant une membrane perméable spécifiquement à l'ozone au niveau de la cathode, le potentiel produit étant dû seulement aux molécules d'ozone.

On peut également trouver des méthodes de dégazage de l'eau ozonée pour mesurer en phase gazeuse la quantité d'ozone qui était dissous au sein du liquide. Mais l'essentiel des mesures réalisées et des standards proposés concernent les méthodes d'absorption UV et colorimétriques.

La maîtrise du transfert de l'ozone gazeux en phase liquide pour produire de l'eau ozonée et la bonne détermination des concentrations en ozone dissous sont des étapes essentielles dans l'étude de l'effet antimicrobien de l'eau ozonée, où les doses appliquées jouent un rôle très important sur l'inactivation des microorganismes.

2.7) Propriétés antimicrobiennes

La molécule d'ozone a été testée sur de nombreux pathosystèmes mettant en évidence un effet biocide certain. On retrouve dans la littérature deux types d'application de l'ozone : l'application directe d'ozone gazeux dans une atmosphère contrôlée et l'application d'eau ozonée sur les matrices cibles. L'utilisation d'ozone gazeux étant plutôt réservée aux procédés où les atmosphères en contact des matrices cibles peuvent être contrôlées, son utilisation dans de vastes espaces ouverts que l'on retrouve en agriculture, semble compromise. En effet, une phase gazeuse avec sa nature non condensée est plus facilement dispersable dans l'environnement contrairement aux phases condensées liquides. La diffusion des molécules est toujours plus aisée en phase gaz qu'en phase liquide comme le montre le tableau 2. Ainsi la gestion d'un flux gazeux d'ozone en plein air est soumise aux mouvements de convections de l'air, autrement dit le vent. La dissolution de l'ozone dans l'eau pour transporter l'eau ozonée sur les cibles à traiter semble plus pertinente pour les systèmes agricoles actuels, ces derniers disposant déjà de moyens de gestion de flux liquide (irrigation, pulvérisation de bouillie). Il s'agit donc de dresser le potentiel biocide de l'eau ozonée vis-à-vis des familles de pathogènes que l'on peut rencontrer en agriculture.

2.7.1) L'effet biocide de l'eau ozonée

2.7.1.a) *Études In vitro* :

Les articles de revue relativement complets de (Khadre *et al*, 2001; Guzel-Seydim *et al*, 2004; O'Donnell *et al*, 2012) dressent un état des lieux des expérimentations réalisées *in vitro* avec l'ozone et l'eau ozonée sur des microorganismes rencontrés en agroalimentaire. Parmi elles, l'étude de référence de (Restaino *et al*, 1995) a mis en évidence l'effet biocide de l'eau ozonée sur 11 espèces de microorganismes réparties entre bactéries à gram négatif, bactéries à gram positif, levures et spores fongiques. Cette étude a ouvert le pas à de nombreux essais concluants et démontre une certaine universalité de l'efficacité de l'eau ozonée à inhiber le développement de microorganismes (Freitas-Silva *et al*, 2013).

L'effet biocide de l'eau ozonée a également été rapporté pour de nombreuses familles de virus dans des expérimentations *in vitro* (Bolton *et al*, 1982; Akey & Walton, 1985). Les études les plus récentes se sont naturellement portées vers la capacité de l'eau ozonée à inactiver le SARS-Cov-2 (Hu *et al*, 2021;

Inagaki *et al*, 2021; Martins *et al*, 2021). Ces dernières mettent en évidence l'effet virucide certain de l'ozone quant au SARS-Cov-2.

L'étude de (Khadre & Yousef, 2001) a mis en évidence la réduction de spores viables pour différentes espèces de *Bacillus* après mise en contact des spores bactériennes avec l'eau ozonée à 11mg/L pendant 1min à 22°C. Une comparaison a été effectuée avec le peroxyde d'hydrogène, montrant que l'ozone a une efficacité 100 fois supérieure à celle du H₂O₂, pour une concentration identique. L'eau ozonée a eu un effet sporicide sur toutes les espèces de *Bacillus* testées, certes avec des degrés de sensibilité différents.

La majorité des expériences *in vitro* révèle un effet dose certain de l'ozone, son efficacité s'améliorant avec la quantité d'ozone apportée. Elles montrent également une quasi-instantanéité réactionnelle de l'ozone, l'effet du temps d'exposition n'étant pas essentiel dès lors qu'assez d'ozone est apporté pour l'inactivation des microorganismes (Khadre *et al*, 2001).

2.7.1.b) Études In planta :

À la vue des résultats *in vitro* relatés dans la littérature, il est logique de voir l'apparition d'expérimentations impliquant de l'eau ozonée sur des pathogènes lorsqu'ils sont présents sur la plante. Le terme « *in planta* » est donc ici utilisé pour faire référence à ce niveau d'étude où la mise en contact contrôlée d'eau ozonée avec le pathogène est réalisé directement sur la matrice végétale en question. Ainsi (Fujiwara & Fujii, 2002) ont pulvérisé de l'eau ozonée sur des feuilles de concombres, ce qui a permis de contraindre le développement de l'oïdium du concombre. Aucune phytotoxicité n'a été signalée pour ces expérimentations, bien que certaines études mettent en évidence des symptômes de toxicité chez la plante lors de l'exposition à de l'ozone gazeux (Khan *et al*, 2021; Sandermann Jr, 1996; J.Saitanis *et al*, 2015). Cependant, ils préviennent que l'ozone a contenu le développement de la maladie, mais cette dernière reste présente et sera toujours capable de se développer sans futurs traitements. (Karaca & Velioglu, 2014) ont vu la charge microbienne de *Escherichia coli* et *Listeria innocua* réduire de 2 log chez les épinards, la salade et les persils en effectuant des bains de 15 min dans de l'eau ozonée à 12mg/L. Les auteurs ont également noté une efficacité aussi importante entre les bains à l'eau ozonée et ceux réalisés avec du chlore. Aucun symptôme négatif n'a été observé sur ces végétaux.

En viticulture, (Pierron *et al*, 2015) ont appliqué de l'eau ozonée sur blessure de bois de vigne au moment de l'inoculation de *Phaeoacremonium aleophilum*, un des agents pathogènes responsables de l'esca, maladie du bois particulièrement ravageuse. L'application de l'eau ozonée dans la blessure a permis de réduire le développement fongique de la maladie de 50%, ouvrant un large champ d'applications de l'ozone pour désinfecter les plaies de tailles chez les végétaux. En effet, une récente étude prône l'utilisation de l'eau ozonée pour la lutte contre ces mêmes maladies de la vigne en pépinière (Romeo-Oliván *et al*, 2021).

(Veronico *et al*, 2017) ont réussi à réduire l'infection de plants de tomates par des nématodes situées dans le système racinaire de la plante par irrigation du substrat, avec de l'eau ozonée. L'eau ozonée aurait d'ailleurs permis d'obtenir des racines plus développées en longueur. Ce résultat a également été mis en évidence par (Romeo-Oliván *et al*, 2021), où un effet stimulant pour la croissance de la plante a également été démontré en plus de l'effet biocide de l'eau ozonée.

2.7.1.c) Études In situ :

Certains chercheurs se sont lancés dans l'expérimentation de l'eau ozonée pour le traitement de maladies directement sur sites, en conditions réelles de cultures des plantes, où les traitements sont appliqués par pulvérisation. Ce sont notamment les cultures arboricoles et vignes qui ont bénéficié de ces essais. (Raio *et al*, 2016) ont évalué les populations de bactéries, champignons et levures sur feuilles et grappes après traitements à l'eau ozonée sur une quarantaine de plants de vignes, en Italie entre avril et août. La pulvérisation d'eau ozonée a permis la réduction de la population bactérienne avec la même efficacité qu'un traitement conventionnel chimique. Chez les espèces fongiques, l'eau ozonée a dépassé l'effet de traitement conventionnel en proposant une meilleure réduction de la population de champignons. Cependant, aucune efficacité n'a été révélée chez les levures.

Ce résultat a été contrasté par (Modesti *et al*, 2019) qui ont appliqué par pulvérisation des traitements hebdomadaires d'eau ozonée d'avril à juillet sur 4 rangs de vignes et ont comparé les populations microbiennes présentes sur les feuilles après l'application de tous les traitements. Ces traitements à l'eau ozonée ont uniquement induit une réduction de la population fongique, mais étonnamment une augmentation du nombre de bactéries et levures a été mesurée. Cette étude a également permis la mesure des paramètres olfactifs des grappes (acidité, sucrosité, phénols) et d'identifier une modification des

propriétés organoleptiques du raisin par un traitement à l'eau ozonée. Ce résultat a d'ailleurs fait l'objet de plusieurs études complètes, mettant en évidence un changement des propriétés gustatives du raisin et du vin produit après des traitements à l'eau ozonée (Campayo *et al*, 2019, 2020).

(Steffen & Rice, 2008a, 2008b) ont développé un pulvérisateur qui combine trois modes d'actions pour traiter la rouille du soja. Il permet d'appliquer, de l'eau électrolysée pour traiter les insectes, de l'eau ozonée pour les maladies fongiques et des radiations UV pour stimuler les défenses des plantes. De nombreux programmes de traitements ont été testés sur plus de 40 hectares de cultures de soja répartis en une dizaine de rangs. Les auteurs concluent que le traitement avec ce prototype a permis de contenir la rouille du soja avec la même efficacité que les produits chimiques conventionnels.

(Spotts, 1992; Chawla *et al*, 2007) ont comparé l'effet d'un procédé d'immersion avec un procédé de pulvérisation d'eau ozonée, respectivement sur des crevettes et des poires, afin d'observer l'efficacité sur la réduction des charges microbiennes de ces aliments. Les deux études ont montré une meilleure efficacité d'au moins 20% du procédé d'immersion, pointant du doigt des doses plus faibles appliquées par pulvérisation.

En arboriculture, (Pages, 2015) a expérimenté la pulvérisation d'eau ozonée pour traiter les maladies fongiques du pommiers. Malgré des résultats *in planta* très concluants quant à l'efficacité de l'eau ozonée, l'application *in situ* par pulvérisation d'eau ozonée n'a montré aucun effet significatif, il semblerait même que cela ait augmenté la pression fongique du verger. (Grieshop *et al*, 2020) ont testé l'efficacité d'un pulvérisateur d'eau ozonée conçu par Agriozein, pour la protection des pommiers contre les insectes et maladies. Quarante traitements ont été appliqués par pulvérisation entre avril et septembre, sur 20 hectares de cultures. Des observations visuelles portant sur les dégâts causés par les insectes et les maladies des pommiers, ont été réalisées sur plus de 400 fruits et feuilles répartis sur plus d'une vingtaine d'arbres par modalités. Les auteurs concluent que l'eau ozonée n'a pas d'effets notable quant à la lutte contre les bioagresseurs des pommiers. Ils spécifient que les concentrations d'ozone mesurées en sortie de buse étaient très faibles comparées à la concentration produite dans la cuve du pulvérisateur. Selon eux, c'est une raison qui pourrait expliquer le manque d'efficacité du traitement à l'eau ozonée appliquée dans cette étude.

L'effet biocide de l'eau ozonée semble certain lors des nombreuses études *in vitro*, mais les études *in planta* et *in situ* montrent des résultats plus discutables. Le tableau 3 relate les études évoquées précédemment, avec les cibles visées, l'efficacité obtenue et le stade de l'étude (*in vitro*, *in planta* ou *in situ*). Il permet de mettre en évidence une baisse considérable de l'efficacité biocide de l'eau ozonée, dès que les conditions ne sont plus idéalement contrôlées.

Références	Microorganismes cibles	Méthodologie	Résultats et commentaires
(Restaino <i>et al</i> , 1995) - In vitro ★★★★	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • <i>E. coli</i>, • <i>S. typhimurium</i>, • <i>S. aureus</i>, • <i>B. cereus</i>, • <i>Listeria monocytogenes</i>, • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Yersinia enterocolitica</i>, • <i>Candida albicans</i>, • <i>Zygosaccharomyces bailii</i>, • <i>Aspergillus niger</i> 	Ajout d'un inoculum dans un réacteur d'1L (10 ⁶ cellules/mL), ozonation pendant 5min, puis soutirage du milieu réactionnel et inoculation sur boîte pour évaluation	Au bout de 5min, toutes les cultures ont atteint une réduction de 6 log, excepté les spores de <i>aspergillus niger</i> .
(Khadre & Yousef, 2001) - In vitro ★★★★	<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. subtilis</i> OSU 494, • <i>B. subtilis</i> OSU 848, • <i>B. subtilis</i> var niger, • <i>B. subtilis</i> ATCC 19659, • <i>B. cereus</i>, • <i>B. polymyxa</i>, • <i>B. megaterium</i>, • <i>B. stearothermophilus</i> 	Ajout d'un inoculum (0,2mL à 10 ⁹ spores/mL) dans 20mL d'eau ozonée à 11mg/L pendant 1min. Soutirage du milieu pour évaluation sur boîte	Réduction de 2 à 6 log, <i>B.cereus</i> et <i>B.subtilis</i> étant le plus sensible et <i>B.stearothermophilus</i> le plus résistant. L'eau ozonée est plus efficace que le traitement H ₂ O ₂ testé.
(Freitas-Silva <i>et al</i> , 2013) - In vitro ★★★★	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Aspergillus flavus</i> 	Ajout d'un inoculum (0,1mL à 10 ⁷ spores/mL) dans 20mL d'eau ozonée (30mg/L) avec une durée allant de 2 à 90min. Évaluation sur boîte.	L'action de l'eau ozonée est quasi immédiate, seule la concentration initiale en spores et en ozone jouent un rôle sur l'efficacité du traitement.
(Akey & Walton, 1985) - In vitro ★★★★	<ul style="list-style-type: none"> • Virus de l'encéphalite équine vénézuélienne 	Bullage d'ozone dans un tube contenant 10 ⁷ virus/mL, pendant 7 à 70min. La concentration d'ozone était de 0,025mg/L en moyenne.	Des réductions de l'ordre de 6 log ont été obtenues.
(Martins <i>et al</i> , 2021) - In vitro ★★★☆	<ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2 Brazil/SPBR-02/2020 	Dilution de 1% d'une solution de virus à 10 ⁶ /100µL dans de l'eau ozonée à 0,8mg/L pendant 1min. Quantification par qPCR.	Réduction de 2 à 3 log. Le génome des virus n'ayant pas été affecté, les auteurs concluent que seule la structure du virus est touchée par l'ozone.

<p>(Bolton <i>et al</i>, 1982) - In vitro ★★★★</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vesicular stomatitis virus • Influenza A virus • Infectious bovine rhinotracheitis virus • Polio virus type I • Canine hepatitis virus 	<p>Ozonation continue (0,64ppm gaz) d'une suspension de virus dans une bouteille en rotation, avec dénombrement sur plaques durant une cinétique de 72h.</p>	<p>Les virus subissent une réduction de 6 log en moyenne après 3 jours d'ozonation. Seuls le polio virus et le canine hepatitis virus semblent résistants.</p>
<p>(Fujiwara & Fujii, 2002) - In planta ★★☆</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sphaerotheca fuliginea</i> 	<p>4 pulvérisations de 150mL d'eau ozonée (à 4mg/L) répartis sur 10 jours. Chaque modalité est répétée 6 fois. Une observation visuelle est réalisée pour évaluation des symptômes.</p>	<p>Réduction significative des symptômes, mais la maladie n'est pas totalement traitée. Aucune phytotoxicité n'a été signalée.</p>
<p>(Karaca & Velioglu, 2014) - In planta ★★☆</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>E.coli</i> • <i>L.innocua</i> 	<p>Les légumes (épinards, persils, laitues) sont immergés dans 1L d'eau ozonée (12mg/L) en ozonation continue (15min).</p>	<p>Une réduction de 2 log est observée pour chaque microorganisme. Et les propriétés chimiques gustatives sont inchangées.</p>
<p>(Pierron <i>et al</i>, 2015) - In planta ★★☆</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> 	<p>Inoculation de 20µL à 10⁷ spores/mL, et ajout direct de 20µL d'eau ozonée à 13,5mg/L, dans une lésion de bois de vigne. Quantification de l'infection par qPCR.</p>	<p>9 semaines après l'inoculation du pathogène, l'infection était réduite de 50% comparé au témoin. Les gènes de défense de la plante ne semblent pas avoir été modifiés.</p>
<p>(Veronico <i>et al</i>, 2017) - In planta ★★☆</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Meloidogyne incognita</i> 	<p>Irrigation quotidienne à l'eau ozonée (10mg/L) du substrat des plants de tomates 4 jours après inoculation des nématodes dans le système racinaire.</p>	<p>La population de nématodes a été réduite par 4 dans le cas de l'irrigation à l'eau ozonée par rapport aux témoins.</p>
<p>(Raio <i>et al</i>, 2016) - In situ ★★☆☆</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Populations bactériennes, fongiques et de levures 	<p>Traitements d'eau ozonée appliquées par pulvérisation en 4 mois. Récolte de feuilles et baies, puis broyage et culture sur milieu nutritifs spécifiques aux bactéries, levures et champignons.</p>	<p>Comparé aux témoins, la population bactérienne et fongique a été réduite dans le cas de l'ozone mais pas celle des levures. À noter que les principaux pathogènes fongiques de la vigne (mildiou et oïdium) ne poussent pas in vitro.</p>

(Modesti <i>et al</i> , 2019) - In situ ★☆☆	<ul style="list-style-type: none"> • Populations bactériennes, fongiques et de levures 	Traitements d'eau ozonée appliquées par pulvérisation sur 3 mois. Récolte de feuilles et baies, puis broyage et culture sur milieu nutritifs spécifiques aux bactéries, levures et champignons.	Réduction de moitié de la population fongique mais augmentation de la population bactérienne et de levure.
(Steffen & Rice, 2008a, 2008b) - In situ ★★★	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phakopsora pachyrhizi</i> • <i>Anticarsia gemmatilis</i> 	Une dizaine de traitement à l'eau ozonée (6mg/L) répartis sur 1 mois. Observation visuelle des symptômes sur feuilles.	Efficacité du traitement similaire à celle des produits chimiques conventionnels. Cependant les traitements appliqués combinent l'utilisation de l'eau ozonée et celle d'eau électrolysée et de rayonnement UV.
(Pages, 2015) - In situ ★☆☆	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Venturia inaequalis</i> 	Pulvérisation d'eau ozonée dans le verger, 24h après la pluie.	Pas d'effet de réduction fongique observé de l'eau ozonée. L'auteure pointe du doigt les faibles quantités d'ozone dissous qui atteignent les feuilles.
(Grieshop <i>et al</i> , 2020) - In situ ★☆☆	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Cydia pomonella</i> • <i>Conotrachelus nenuphar</i> • <i>Venturia inaequalis</i> 	40 traitements de pulvérisation d'eau ozonée (0,85mg/L) répartis entre avril et septembre.	Les auteurs concluent que l'eau ozonée n'a pas d'efficacité insecticide ni fongicide, du moins avec les doses d'ozone appliquées.

Tableau 3 : Résumé non-exhaustif des études réalisées sur l'eau ozonée pour l'inactivation des microorganismes, avec les méthodologies et résultats principaux associés. Les étoiles représentent le niveau d'efficacité de l'eau ozonée observé dans l'étude (1 étoile : effet inexistant ou très faible ; 2 étoiles : effet partiel ; 3 étoiles : inactivation complète ou réduction quasi-totale de la population de microorganismes)

2.7.2) Mécanismes d'action

Il a été vu précédemment que la molécule d'ozone disposait de propriétés antimicrobiennes valables pour un large spectre de microorganismes. Ces propriétés proviennent du fort potentiel oxydant de la molécule d'ozone et de ses sous-produits radicalaires. D'après les études réalisées jusqu'à présent, un consensus semble se créer pour dire que l'ozone moléculaire est le principal responsable de l'inactivation des microorganismes. Les radicaux libres formés par l'ozone sont très probablement

impliqués dans la destruction des microorganismes, mais cela n'a pas encore été clairement identifié par les chercheurs et fait toujours débat dans la communauté (Pirani, 2011; Khadre *et al*, 2001).

Le mécanisme d'inactivation des microorganismes par la molécule d'ozone est un phénomène complexe qui dépend essentiellement des constituants cellulaires composant le microorganisme. Les chercheurs s'accordent à dire que la destruction de la membrane cellulaire est le facteur principal causant l'inactivation des microorganismes. En effet, l'ozone réagit en premier lieu avec les acides gras, les phospholipides et peptidoglycanes présent au niveau des parois et membranes cellulaires, affectant la perméabilité de la membrane et le transport des protéines au sein de la cellule. En fonction de la durée d'exposition et de la quantité d'ozone apporté, ce mécanisme provoque la rupture de l'enveloppe cellulaire et la lyse de la cellule. La molécule d'ozone peut également réagir avec les groupements thiols et amines très présent chez les biomolécules (protéines, enzymes, peptides), perturbant la signalisation et la machinerie cellulaire (Victorin, 1992; Brodowska *et al*, 2018).

L'efficacité de l'eau ozonée pour inactiver des microorganismes dépend donc du couple type de microorganisme ciblé et conditions d'exposition à l'ozone. En effet, selon le type de couple, la quantité et le stade de développement du microorganisme, un plus grand nombre de constituants à oxyder peut être présent, demandant plus de molécules d'ozone pour permettre une inactivation du microorganisme.

La maîtrise des propriétés physico-chimiques de l'ozone et microbiologiques des microorganismes étudiés est donc essentielle pour établir une stratégie de lutte efficace. Cependant, la maîtrise du mode d'application de l'ozone semble d'une importance capitale comme l'ont montré les études *in situ*, où l'efficacité de l'ozone en tant qu'agent antimicrobien est très variable. Pour cela il est nécessaire d'appréhender le principe de fonctionnement d'une buse de pulvérisation et de comprendre les paramètres et grandeurs qui contrôlent les phénomènes ayant lieu au sein du spray produit.

3) LA PULVERISATION DE L'EAU OZONEE ET LES PHENOMENES DE TRANSFERT DE MATIERE

3.1) Le procédé de pulvérisation

La désintégration d'un volume de liquide en particules de plus petits volumes et proposant une plus grande surface totale est l'objectif premier de tout procédé de pulvérisation. Il se retrouve dans de nombreux domaines tels que la combustion, le génie chimique, l'agriculture, le traitement de surface de matériaux, la médecine, la cosmétique, etc. Il est également utilisé en agriculture pour traiter un maximum de surface de végétaux tout en utilisant le moins de volume de solution active possible (Lefebvre & Mcdonell, 2017; Ashgriz, 2011).

Le principe est de donner une forte énergie cinétique au liquide de façon à ce que la différence relative de vitesse entre les phases liquide et gazeuse soit grande pour créer des phénomènes de frottements entre les deux phases. La cohésion du liquide étant uniquement assurée par les forces de tension de surface dès lors que le liquide n'est plus contenu dans un orifice, la rupture du liquide se produit lorsque les forces de frottements excèdent celles de tension de surface. L'addition d'énergie mécanique par l'utilisation de dispositif rotatifs ou vibrants favorise également la désintégration du liquide.

3.1.1) Principe de la pulvérisation

C'est Lord Rayleigh qui proposa les premiers mécanismes d'atomisation d'un liquide, en s'intéressant aux instabilités d'un jet liquide (Rayleigh, 1878). Lors du passage d'un liquide par une petite section, un orifice, la vitesse de liquide est accélérée. À la sortie de cet orifice, le liquide prend la forme d'un jet ou d'un film à forte vitesse (figure 10). L'atmosphère gazeuse immobile aux alentours de l'orifice freine le liquide grâce aux phénomènes de frottements entre les deux phases. Ces frottements produisent des mouvements ondulatoires dans le liquide que l'on appelle instabilités. L'amplitude de ces instabilités au sein du liquide augmente en s'éloignant de l'orifice, déformant considérablement le jet ou le film liquide. Lorsque ces amplitudes deviennent suffisamment grandes, c'est-à-dire lorsque les forces s'exerçant sur le liquide dépassent celles des tensions de surfaces, le volume continu de jet ou film se désintègre en forme de rubans. Sous l'effet des forces de tensions de surfaces, ces rubans se replient sur eux même pour former des cylindres appelées ligaments. Ces derniers sont également sujet aux instabilités dues aux frottements avec la phase gazeuse, et se rompent en particules relativement sphériques, des gouttes.

C'est ce que l'on appelle l'atomisation primaire, et la figure 10 propose un schéma explicatif de ce mécanisme. Les gouttes produites par l'atomisation primaire, peuvent entrer en collision et coalescer ou bien subir une division en gouttelettes plus fines, on parle alors d'atomisation secondaire. C'est la façon dont ces mécanismes vont se produire, selon le dispositif de pulvérisation utilisé, qui va définir les paramètres globaux du spray produit (Dumouchel, 2008).

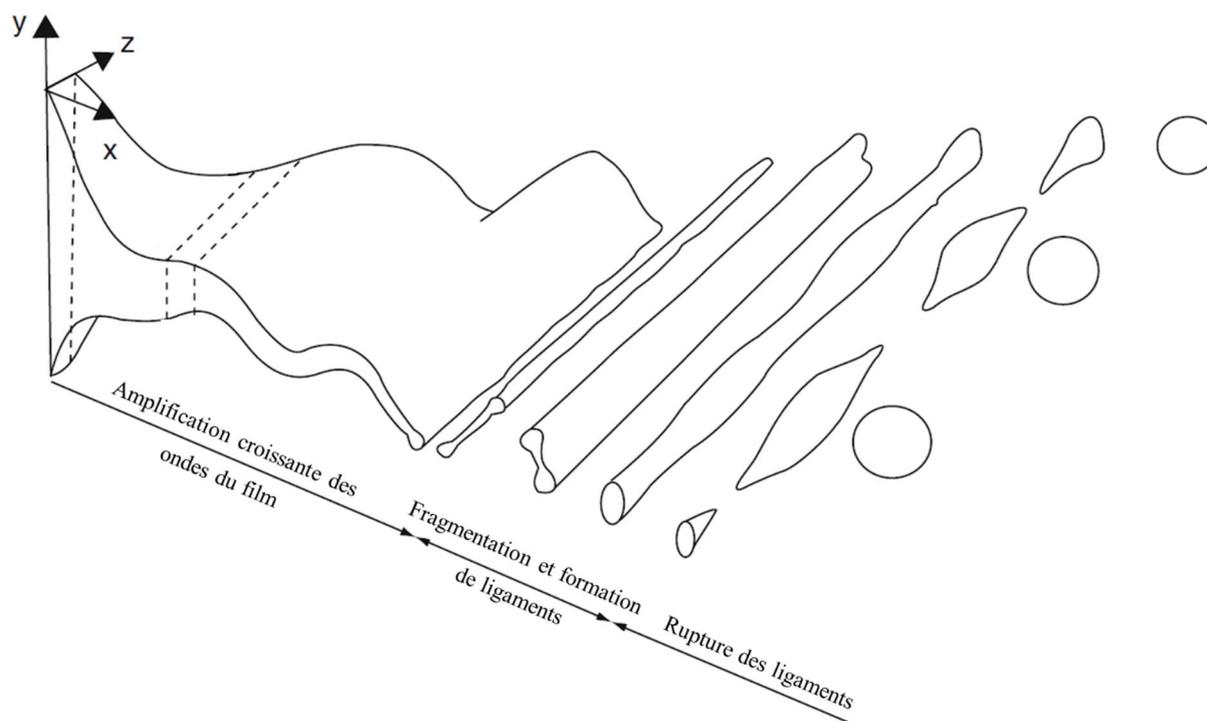


Figure 10 : Schéma de l'atomisation d'un film liquide en gouttes . Adapté de (Ashgriz, 2011) et (Dombrowski & Johns, 1963).

3.1.2) Paramètres d'intérêts

Généralement, les procédés de pulvérisation vont être caractérisés par la taille des gouttes produites, leur homogénéité et leur répartition spatiale dans le spray. On parle aussi de granulométrie et de pénétration du spray. L'angle formé par le liquide en sortie de buse, l'angle d'ouverture, est également une caractéristique principale du spray. Selon les applications envisagées, les paramètres recherchés pour le spray seront différents. En traitement de surface par exemple, l'intérêt est de produire des gouttes uniformes et homogènement distribuées dans le spray, dans l'idée d'avoir une couverture régulière du matériau à traiter. La taille des gouttes ne joue pas un rôle prépondérant. Mais en agriculture, l'homogénéité sera moins recherchée, privilégiant une bonne distribution du spray pour toucher un

maximum de surface végétale à traiter, et des tailles de gouttes ni trop petites pour éviter la dérive des produits pulvérisés par le vent, ni trop grosses pour que les gouttes pulvérisées restent sur les végétaux sans ruisseler (Decourselle, 2013).

Afin d'atteindre les caractéristiques de spray souhaitées, les propriétés physico-chimiques des fluides entrent en jeu. La viscosité des fluides jouera un rôle essentiel, notamment pour le liquide, car elle modère les instabilités au sein du liquide, retardant l'atomisation et produisant des gouttes plus grosses. La densité des fluides, quant à elle, agit sur les forces de frottements. Le liquide pulvérisé subira plus de frottements dans une atmosphère dense que vide (Lefebvre, 1989).

Certains domaines, comme en combustion ou en génie chimique, où l'on s'intéresse aux transferts de matière et chaleur dans les sprays, nécessitent la mesure de paramètres plus difficiles d'accès. La vitesse des gouttes produites, leur excentricité, leur concentration en colloïdes ou soluté, et le taux d'évaporation des gouttes permettent la compréhension de phénomènes complexes pour maîtriser certains procédés ayant recours à l'atomisation (Wongwailikhit, 2019; Yeh & Rochelle, 2003).

Bien que le choix des fluides reste d'une importance majeure sur les caractéristiques résultantes du spray, ce sont généralement les types de buses réalisant l'atomisation et les conditions opératoires associées qui vont déterminer les caractéristiques majeures du spray.

3.1.3) Type de buses

De très nombreux types d'atomiseurs, également appelés buses de pulvérisation, existent et permettent d'atteindre des objectifs de pulvérisation variés. On les distingue en fonction du mode d'atomisation utilisés : les injecteurs pressions, les atomiseurs à deux fluides, les atomiseurs rotatifs, et les atomiseurs spécifiques (Le Moyne, 2010). Ils permettent d'obtenir des paramètres de spray différents et ont généralement des domaines d'applications bien spécifiques. Le tableau 4 récapitule les atomiseurs les plus rencontrés et leurs caractéristiques associées.

Appellation	Fonctionnement	Spécificité	Domaine d'applications
Pulvérisateur pression	Liquide sous pression à travers un orifice rond, ovale ou plat	Simplicité, et différentes formes de spray (cône plein, cône creux jet plat)	Agriculture, injection moteur, combustion, turbines à gaz, four industriels
Pulvérisateur à deux fluides	Atomisation du liquide sous pression assisté par un flux gazeux	Atomisation précoce et production de gouttes très fines	Injection moteur, combustion, turbines à gaz, four industriels, peinture
Pulvérisateur rotatif	L'accélération du liquide est produite par la force centrifuge d'un disque en rotation	Uniformité des gouttes produites et travail sans mise en pression du liquide	Agriculture, atomisation*, traitement de surface
Pulvérisateur électrostatique	Différence de potentiel électrique appliquée lors de la formation des gouttes pour s'ajouter aux interactions aérodynamiques et favoriser la rupture du liquide	Production de gouttes très fines et homogènes	Combustion, peinture, impression, atomisation, traitement de surface
Pulvérisateur à vibrations	Vibrations mécaniques synchronisées avec les instabilités grandissantes dans le jet ou film en atomisation	Homogénéité des gouttes produites	Médecine, humidification

Tableau 4 : Les différents types d'injecteurs que l'on peut rencontrer pour réaliser un procédé de pulvérisation. La liste est non-exhaustive. *Le terme atomisation désigne ici le procédé de fabrication de particules solides.

3.2) Une diminution de l'efficacité de l'eau ozonée lors de son application par pulvérisation

L'application d'eau ozonée par pulvérisation a été étudiée à plusieurs reprises dans les domaines de l'agroalimentaire et l'agriculture. Précédemment, il a été observé que les essais *in situ*, où l'eau ozonée était pulvérisée sur des végétaux, ne montraient pas d'efficacité frappante. Aux vues des résultats obtenus lors de la comparaison entre des bains ou de la pulvérisation d'eau ozonée, le procédé de pulvérisation semble pointé du doigt pour expliquer la baisse d'efficacité du traitement O₃ pour l'inactivation des microorganismes.

Ainsi des auteurs se sont intéressés à l'évolution de la concentration en ozone dissous au sein du liquide lors de son parcours dans le spray. En collectant l'eau ozonée à différentes distances après la buse, et en mesurant la concentration d'ozone dans le liquide collecté, (Fujiwara & Fujii, 2004) ont mis en évidence une perte d'ozone dissous lors du procédé de pulvérisation comme illustré par la figure 11A. En effet, le liquide collecté voit sa concentration en ozone dissous diminuer en s'éloignant de la buse. Les pertes étaient d'autant plus fortes que les gouttes produites par les buses étaient petites. En voulant évaluer la phytotoxicité de l'eau ozonée sur différentes variétés de plantes, (Graham *et al*, 2009) ont mesuré une différence de concentration en ozone dans l'eau récoltée à la sortie directe de la buse et celle récoltée à 50cm en aval de la buse, de l'ordre de 73%, comparé à la concentration initialement préparée. Dans ses travaux de thèse, (Pages, 2015) a noté une inefficacité totale de l'eau ozonée *in situ* alors que l'efficacité *in vitro* ne faisait aucun doute. Son étude a posteriori, de la pulvérisation d'eau ozonée, a mis en évidence des pertes d'ozone allant de 36% à 70% en collectant l'eau ozonée pulvérisée 5cm après la buse comme le montre la figure 11B, ces pertes augmentant avec la pression appliquée à la buse. Plus récemment, lors de leurs essais *in situ*, (Grieshop *et al*, 2020) ont également remarqué que la concentration en ozone mesurée en sortie de buse était de 56% inférieure à celle produite dans la cuve du pulvérisateur.

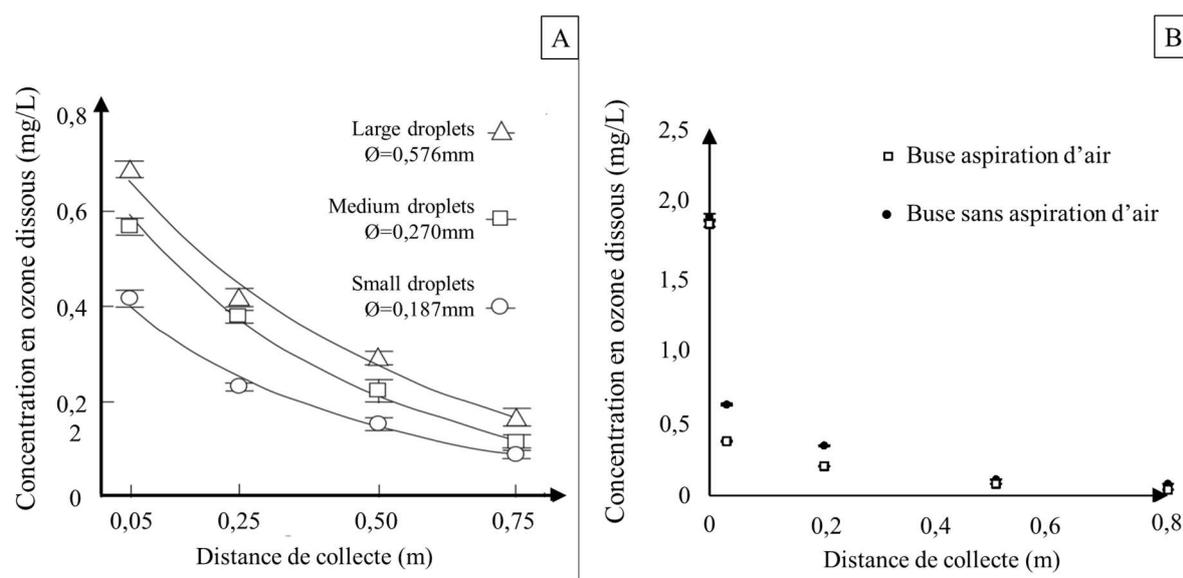


Figure 11 : Profils de concentration en ozone dissous réalisés par (Fujiwara & Fujii, 2004) à partir d'une concentration initiale en ozone de 1.2mg/L pour différentes buses produisant des gouttes de diamètres différents (A) et par (Pages, 2015) avec deux types de buses (B).

Ces dernières études permettent de dire que l'inefficacité de l'eau ozonée appliquée *in situ* par pulvérisation provient de la perte de molécules d'ozone dissoutes au sein du liquide, perte qui semble provoquée par le procédé de pulvérisation lui-même. En effet, si l'eau ozonée voit sa concentration en ozone diminuer avec la distance parcourue dans le spray, alors les doses appliquées d'eau ozonée par pulvérisation sont insuffisantes pour provoquer l'inactivation de microorganismes. Selon (Pages, 2015; Fujiwara & Fujii, 2004), ces pertes seraient provoquées par diffusion des molécules d'ozone depuis la phase liquide vers la phase gazeuse, dues notamment à des phénomènes de pression à la buse. (Fujiwara & Fujii, 2004) proposent également une auto-décomposition de l'ozone en dioxygène pour expliquer le haut niveau de pertes atteint.

Les deux profils obtenus par (Pages, 2015; Fujiwara & Fujii, 2004) décrivent de très fortes pertes dans les premiers centimètres après la buse, et des pertes plus faibles dans le reste du spray. Dans ces premiers centimètres se trouve un film liquide très fin et très rapide qui s'atomise en gouttes. Il semblerait que cette zone de formation des gouttes soit propice à la perte des molécules d'ozone dissoutes, mais seules quelques études ont relaté ce même phénomène (Simpson & Lynn, 1977; Lin *et al*, 1977; Yeh & Rochelle, 2003). Cependant, les méthodes de mesures par collecte d'échantillons utilisées dans ces études ne sont pas les plus précises pour décrire localement les pertes mesurées. Il s'agira donc de développer une méthode permettant de caractériser cette région de formation de gouttes.

3.3) Des phénomènes de transfert de matière à l'origine des pertes d'ozone par pulvérisation

3.3.1) Hypothèse du transfert de matière lors de la pulvérisation

L'hypothèse la plus probable qui pourrait expliquer la disparition des molécules d'ozone dissoutes dans la phase liquide, est leur diffusion vers la phase gazeuse, on parle de désorption d'ozone – l'opposée d'une absorption par la phase liquide. Cette diffusion serait provoquée pour respecter l'équilibre de Henry tel que défini auparavant à l'équation 5. Il s'agit en fait d'homogénéiser les concentrations d'une espèce dans les deux phases pour que les potentiels chimiques (fugacités) de cette espèce soient égaux de part et d'autre de l'interface gaz-liquide. Autrement dit, c'est la tendance spontanée d'un système chimique à vouloir rendre ce potentiel uniforme qui provoque un transport de molécules à travers l'interface. On parle aussi de transfert de matière.

Dans le cas de la pulvérisation d'eau ozonée dans l'air, il existe bien une différence de concentration à homogénéiser entre la phase aqueuse riche en ozone et la phase gazeuse dépourvue d'ozone (la concentration en ozone dans l'air étant résiduelle). Il se produit donc spontanément une mise à l'équilibre dès lors que l'eau pulvérisée entre en contact avec l'air en sortie de buse, et qui se poursuit tant que l'équilibre de Henry n'est pas atteint. La concentration théorique à atteindre dans la phase liquide $C_{O_3}^{L,*}$ est proportionnelle à la concentration réelle en ozone dans le gaz $C_{O_3}^G$, comme illustré avec l'équation 4. Avec une concentration quasi nulle dans la phase gazeuse, $C_{O_3}^G = 0$ mg/L, la concentration attendue dans la phase liquide est également nulle $C_{O_3}^{L,*} = \alpha C_{O_3}^G = 0$ mg/L. On remarque ainsi que les profils de concentration en ozone dissous dans le spray de la figure 11 évoluent vers cette concentration d'équilibre.

3.3.2) Formalisme du transfert de matière

En utilisant le modèle du double film développé par Lewis et Whitman (Lewis & Whitman, 1924), le flux transféré par unité de temps à travers l'interface des deux phases pour établir l'équilibre de Henry est formalisé de la manière suivante à l'équation 7 en faisant intervenir directement les concentrations volumiques :

$$\varphi_{O_3} = K_L a (C_{O_3}^{L,*} - C_{O_3}^L) V_L = K_G a (C_{O_3}^G - C_{O_3}^{G,*}) V_L$$

Équation 7

Avec φ_{O_3} le flux d'ozone transféré à travers l'interface gaz-liquide (g/s), K_L et K_G respectivement les coefficients globaux de transfert coté liquide ou gaz (m/s), a l'aire interfaciale du système gaz-liquide (m^2/m^3), et V_L le volume de liquide considéré (m^3).

Associé à des bilans matières, ce flux transféré permet de modéliser l'évolution en molécules dissoutes au sein d'une phase lors de phénomènes de transfert, ou bien de caractériser expérimentalement un contacteur de transfert gaz/liquide. Il fait intervenir 3 paramètres majeurs du transfert, le coefficient global de transfert (K_L ou K_G), l'aire interfaciale (a) et le potentiel d'échange ($C_{O_3}^{L,*} - C_{O_3}^L$) ou ($C_{O_3}^G - C_{O_3}^{G,*}$).

3.3.2.a) *Le potentiel d'échange*

Le potentiel d'échange indique la différence entre la concentration théorique attendue $C_{O_3}^{L,*}$ et la concentration réelle $C_{O_3}^L$ au sein du liquide. C'est la force motrice du transfert de matière comme on vient de l'expliquer précédemment. Plus cet écart sera grand, plus le transfert sera fort. À contrario, lorsque le système s'approche de l'équilibre, le transfert sera moins fort. Le signe de ce potentiel d'échange indique également le sens du transfert, un potentiel négatif traduit une perte de soluté depuis la phase d'intérêt, tandis qu'un enrichissement en soluté a lieu si ce gradient de concentration est positif.

3.3.2.b) *L'aire interfaciale*

L'aire interfaciale représente la surface d'interface gaz-liquide disponible pour la diffusion des molécules d'une phase vers l'autre. Plus le système propose de surface de contact entre le liquide et le gaz, plus le transfert est favorisé. Afin de pouvoir comparer ces aires interfaciales, elles sont souvent exprimées en surface disponible par volume de liquide, notée a (m^2 de surface / m^3 de liquide) ou par

volume de réacteur notée a^0 (m^2 de surface / m^3 de réacteur). La pulvérisation est un procédé qui a pour but de produire une grande surface de liquide en utilisant le moins de volume possible. C'est donc un procédé qui dispose d'une forte aire interfaciale.

3.3.2.c) Coefficients de transfert de matières

La théorie du double-film stipule que deux films de faible épaisseur existent de part et d'autre de l'interface où seule la diffusion règne pour le déplacement des molécules à transférer. À chaque film peut être associé une conductivité des molécules, k_L ou k_G , respectivement pour le film coté liquide et gaz. Cette conductivité caractérise la vitesse à laquelle les molécules traversent le film en question. Un coefficient global de transfert K_L (ou K_G) permet de représenter la vitesse totale du transfert à travers l'interface en combinant la conductivité des deux films :

$$\frac{1}{K_L} = \frac{1}{k_L} + \frac{1}{\frac{H}{P}k_G}$$

Équation 8

Dans le cas de composés peu solubles dans l'eau (c'est le cas de l'ozone), la constante de Henry H est très grande, ce qui mène à :

$$\frac{1}{K_L} = \frac{1}{k_L}$$

Équation 9

Autrement dit, la résistance au transfert est alors localisée dans le film liquide, c'est cette vitesse limitante de diffusion des molécules à travers ce film qui contrôle le transfert gaz-liquide. Il est généralement admis que ce coefficient k_L est proportionnel à la diffusion et inversement proportionnel à l'épaisseur du film :

$$k_L \approx \frac{D_{A/B}}{\delta_{liquide}}$$

Équation 10

En ce sens, les grandeurs agissant positivement sur le coefficient de diffusion (température, viscosité, force ionique) améliorent la conductivité k_L des molécules à travers le film. Les mouvements de convections et de recirculation au sein de la phase liquide permettent de réduire l'épaisseur $\delta_{liquide}$ de

la couche limite, et participent donc également à une augmentation du coefficient k_L . Un schéma explicatif du profil de concentration à l'interface d'un liquide en contact avec l'air est présenté à la figure 12.

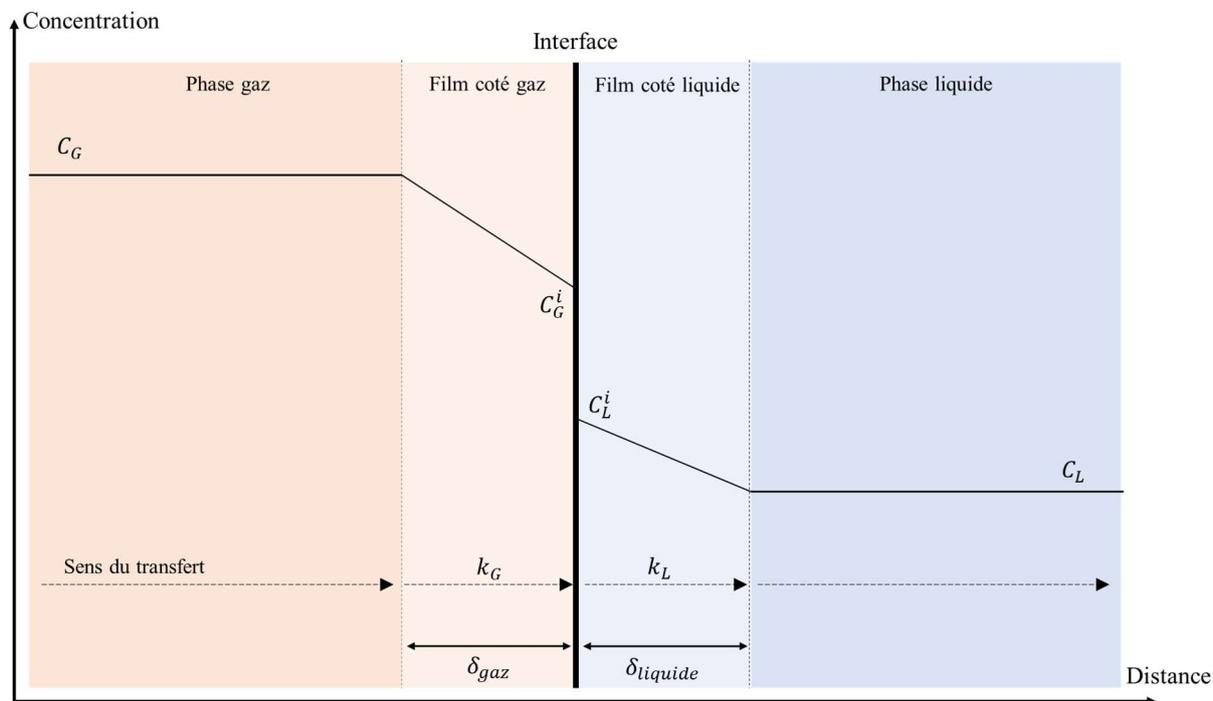


Figure 12 : Schématisation du modèle du double film à l'interface gaz-liquide et des différents paramètres mis en jeu.

3.3.3) Modélisation du transfert et des coefficients de transferts

La détermination du coefficient de transfert peut se faire à partir de modèles théoriques s'appuyant sur les mécanismes de diffusion à l'interface, dont les solutions analytiques existent généralement que pour des écoulements bien définis et non turbulents. Parmi ces modèles on retrouve celui du double-film, le modèle d'Higbie (Higbie, 1934), de Danckwerts (Danckwerts, 1951), de la goutte rigide ou bien encore du film tombant en écoulement laminaire (Roustan, 2003). Ces modèles diffèrent dans les hypothèses de calculs et sont plus ou moins adaptés selon les conditions d'écoulement des fluides d'intérêt. L'autre manière de déterminer ce coefficient de transfert est d'utiliser des corrélations, généralement présentées sous forme de nombres adimensionnels et issues de résultats expérimentaux.

Pour ces corrélations, il est fréquent de relier la vitesse du transfert (k_L) à l'hydrodynamique des phases en contact. Ainsi on trouve de nombreuses relations manipulant des nombres adimensionnels tels que le nombre de Reynold qui indique la nature d'un écoulement (laminaire, turbulent, transitoire) et compare

les effets d'inertie aux effets visqueux, le nombre de Sherwood comparant les mouvements de convection à ceux par diffusion, ou encore le nombre de Schmidt qui compare les effets diffusifs aux effets visqueux (équations 11).

$$Re = \frac{L_C U \rho}{\mu} ; Sh = \frac{k_L L_C}{D_{A/B}} ; Sc = \frac{\nu}{D_{A/B}}$$

Équation 11a, 11b et 11c

Avec L_C la longueur caractéristique choisie (m), U la vitesse du fluide (m/s), ρ la masse volumique du fluide (kg/m^3), et μ la viscosité du fluide (Pa.s).

On trouve ainsi dans la littérature des corrélations permettant de prédire le coefficient de transfert au sein d'un spray. Elles s'appuient sur le transfert au sein d'une goutte lors de son passage dans une phase gazeuse. Selon le nombre de Reynolds calculé de la goutte, le coefficient de transfert coté liquide k_L peut être déterminé de plusieurs façons (Roustan, 2003) regroupées dans le tableau 5.

Goutte rigide sans circulation $Re_g < 1$ $X = \frac{D_{AB} t_C}{d_g^2}$	$k_L = \frac{2\pi^2 D_{AB}}{3d_g} - \frac{d_g}{6t_C} \ln\left(\frac{6}{\pi^2}\right)$	Si $X > 0,05$
	$k_L = \frac{2\pi^2 D_{AB}}{3d_g}$	Si $X > 1$
	$k_L = 2 \sqrt{\frac{D_{AB}}{\pi t_C}}$	Si $X < 4 \times 10^{-3}$
Goutte à circulation laminaire - circulation de Hadamard $Re_g = 1$	$k_L = 2,25 \frac{2\pi^2 D_{AB}}{3d_g}$	Pour des temps de contact t_C importants
Goutte à circulation turbulente + comportement oscillant $Re_g > 100$	$k_L = \frac{3,75 \times 10^{-3} U_g}{1 + \frac{\mu_L \rho_G}{\rho_L \mu_G}}$	Pour des valeurs élevées de t_C

Tableau 5 : Corrélations pour la détermination du coefficient de transfert coté liquide dans le cas d'échanges entre une goutte liquide et une phase gazeuse (Roustan, 2003).

Une corrélation générale permettant d'intégrer les différents modes de circulation dans la goutte a été proposée par (Saboni, 1991) :

$$Sh = 0,8 Re_i^{0.5} Sc^{0.5}$$

Équation 12

Ces corrélations ont généralement été confrontées avec succès à de nombreuses études relatives à des nuages de gouttes en phase gazeuse. Cependant il n'existe aujourd'hui aucune corrélation permettant de prédire le coefficient de transfert présent dans la zone de formation des gouttes où le film liquide s'atomise. Pourtant ce dernier semble être responsable d'un fort transfert de matière comme l'ont montré les profils de désorption obtenus à la figure 11.

Ce formalisme de transfert de matière permet de représenter le flux de soluté (dans notre cas l'ozone) transféré à travers l'interface gaz-liquide. Il peut être déterminé à partir de modèles ou corrélations, ou bien mesuré expérimentalement en suivant les concentrations en soluté d'intérêt au sein des phases et en mesurant l'aire interfaciale du système gaz-liquide. À partir de mesures expérimentales, les paramètres de transfert, k_L notamment, peuvent généralement être déterminés. Cela permet de caractériser des contacteurs gaz-liquide et de réaliser leur dimensionnement en fonction des objectifs de concentration à atteindre dans chaque phase. Il est donc nécessaire de disposer de techniques de mesures d'aire interfaciale et de concentration au sein du spray pour caractériser le transfert qui s'y produit.

3.4) Caractériser le transfert de matière dans un spray

La caractérisation expérimentale du transfert de matière requiert l'étude de l'évolution de la concentration en soluté dans les différentes phases, ainsi que la mesure des aires interfaciales du système gaz-liquide. Il s'agit donc ici de dresser un rapide récapitulatif des méthodes existantes pour déterminer ces grandeurs dans le spray.

3.4.1) Granulométrie, pénétration du spray et vitesses des gouttes

3.4.1.a) Par analyse d'images

La méthode actuelle la plus répandue pour caractériser un spray est l'analyse d'image. Avec les progrès de l'électronique, des caméras à acquisition rapide permettent aujourd'hui de prendre des images nettes d'un spray dynamique de gouttelettes, comme illustré par l'image prise lors des présentes expériences à la figure 13. Avec une source lumineuse conséquente et des temps d'exposition relativement faibles ($< 1\mu s$), l'acquisition de ces images permet à posteriori de mesurer la taille des gouttes, la distribution de leurs tailles, leur forme et également leur répartition spatiale, généralement à l'aide de logiciels ou algorithmes de traitements d'images (Fansler & Parrish, 2015).

En faisant varier la position et la taille de la fenêtre d'acquisition, une analyse spatiale d'un grand échantillon de particules dans le spray est possible. Cela permet également l'observation de la zone d'atomisation du liquide à proximité de la buse, permettant la détermination de l'angle du spray mais également la détermination de la géométrie du jet ou film liquide s'atomisant en gouttes.

Les caméras à haute cadence d'acquisition, synchronisées avec des lasers aux pulses lumineux intenses et très courts (nanosecondes), permettent également la mesure des champs de vitesses des particules dans le spray.

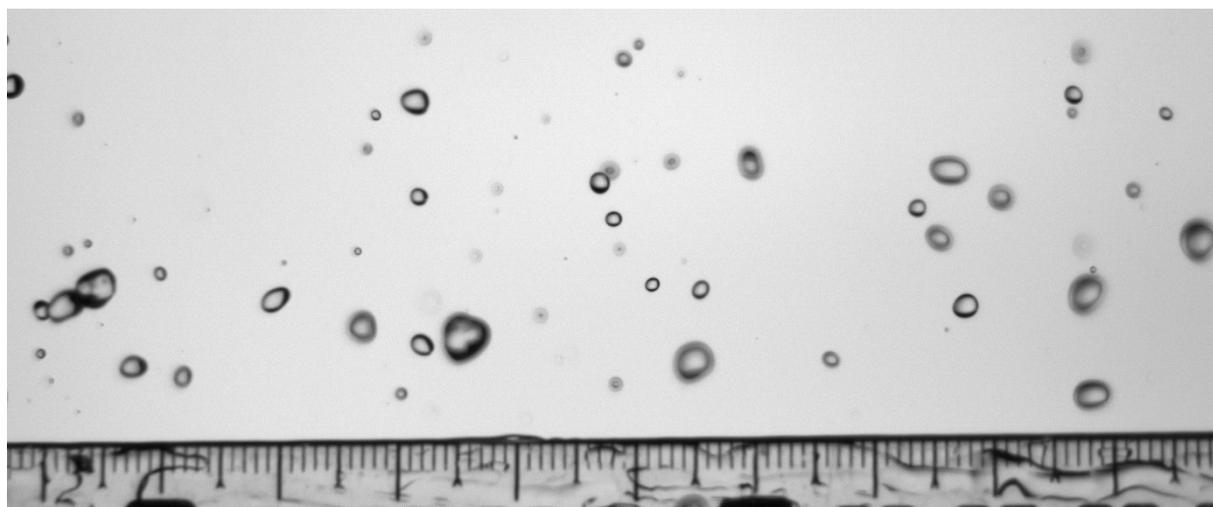


Figure 13 : Exemple d'image acquise par une caméra CMOS, avec rétroéclairage du spray par un écran LED lors de la présente étude.

Les méthodes photographiques ont l'avantage de ne pas perturber l'hydrodynamique du spray, pour représenter fidèlement le spray à un instant donné. Elles s'adaptent facilement aux différentes régions d'atomisation du spray (primaire ou secondaire, jet, films ou gouttes), et le compromis entre résolution,

champ de vision et temps d'exposition permet l'obtention plus ou moins précise des paramètres cités précédemment. Les limites de l'analyse d'images résident dans les propriétés de la caméra utilisée. Les petites gouttes (généralement $<5\mu\text{m}$) ne sont pas détectées pour les résolutions d'images trop faibles, les gouttes en dehors du plan focal de la caméra ne peuvent être mesurées. Enfin, le temps d'exposition minimal de la caméra ne permet pas la mesure des particules trop rapides ($> 100\text{m/s}$) (Le Moynes, 2010). Bien que la technique fournisse de nombreuses informations sur le spray global, elle ne permet pas de produire des mesures à l'intérieur de la goutte, notamment à cause des propriétés optiques de cette dernière due à sa sphéricité. Toutefois, l'analyse d'image est sans doute l'outil numéro 1 pour les expérimentateurs cherchant à caractériser un spray, il permet d'obtenir la majorité des paramètres nécessaires à la détermination de l'aire interfaciale (diamètres et vitesses de gouttes, angle du spray, géométrie du film liquide, etc.).

3.4.1.b) Autres méthodes

Les méthodes permettant d'accéder à la taille ou la vitesse des gouttes ne manquent pas dans la littérature. Des méthodes mécaniques telles que la collecte de gouttes avec un solvant immiscible ou bien encore la cristallisation de particules dans une atmosphère très froide permettent d'obtenir des particules après pulvérisation, et de mesurer à posteriori leur taille. Elles sont limitées par les phénomènes de coalescence (Lefebvre & McDonnell, 2017).

Des sondes peuvent également être insérées dans le spray pour avoir une mesure locale des tailles de gouttes et de leurs vitesses. Des anémomètres à fils chauds permettent la mesure des diamètres de gouttes grâce à la baisse de résistance produite par la goutte lors de son passage sur le fil chaud. Récemment, l'utilisation de fibres optiques a permis d'obtenir des tailles et vitesses de gouttes dans le spray (Wongwailikhit *et al*, 2019).

Des méthodes lasers plus délicates à mettre en place permettent l'obtention des diamètres de gouttes et de leur forme, et peuvent permettre avec l'ajout de certains réactifs d'obtenir des informations à l'intérieur de la goutte (Yeh & Rochelle, 2003).

3.4.2) Détermination des profils de concentration

Pour décrire les pertes d'ozone observées lors de la pulvérisation, il faut être capable d'accéder à la concentration à l'intérieur du liquide le long du spray. Bien que les méthodes précédemment citées aient

permis de caractériser la répartition et l'évolution de l'interface liquide dans l'atmosphère gazeuse à partir d'informations comme l'angle du spray, la taille des gouttes, leur répartition dans le spray et leur vitesse, ces méthodes permettent rarement d'obtenir des informations sur l'intérieur du liquide, notamment la concentration en soluté.

3.4.2.a) Les méthodes de collecte

Les expériences qui ont permis d'obtenir les concentrations en ozone dans le liquide en fonction de la distance depuis la buse reposent sur un même principe : la collecte et la mesure de concentration de la solution. (Fujiwara & Fujii, 2004; Pages, 2015; Graham *et al*, 2009) ont placé des collecteurs (bêchers) à différentes distances de la buse pour récupérer les gouttes pulvérisées. Un volume connu de la solution collectée est ensuite titré par la méthode colorimétrique de l'indigo pour déterminer la concentration en ozone dissous dans l'échantillon collecté (Bader & Hoigné, 1981). La concentration déterminée après titrage est considérée comme la concentration dans les gouttes au moment et au lieu de collection.

Cependant, l'étape de collecte du liquide perturbe l'écoulement du spray, du fait de l'impact des gouttes sur les parois et avec le liquide déjà collecté dans le bûcher. Cet échantillonnage ne représente donc pas l'état de la goutte tel qu'il est lors de la pulvérisation. Aussi, la hauteur d'eau s'accumulant dans le collecteur apporte une imprécision de quelques centimètres sur la hauteur des gouttes collectées, limitant la résolution spatiale de la méthode. De plus, le titrage chimique de la solution par l'indigo implique un délai entre la collecte de l'eau ozonée et sa mise en contact avec la solution d'indigo. Durant ce délai, les pertes d'ozone dissous peuvent se poursuivre, provoquant une surestimation des pertes en ozone durant le trajet de la goutte. Ainsi, le fort transfert mesuré en sortie de buse est difficilement associable au film liquide en atomisation à cause de ces imprécisions de mesure liées au processus de collecte. Malgré tout, les profils obtenus par tous ces expérimentateurs sont cohérents et mettent en évidence des pertes certaines d'ozone le long du spray.

3.4.2.b) Méthodes lasers et caméra

Les méthodes qui donnent accès à la concentration en soluté d'un liquide sans étape de collecte sont peu nombreuses et demandent une mise en œuvre souvent complexe. La réfractométrie arc-en-ciel globale permet de déterminer les teneurs d'un mélange binaire ou bien encore la concentration en particules solides, dans un nuage de gouttes, grâce aux phénomènes de réfraction de la lumière qui varient selon

la composition de la goutte. Cependant, aucune étude utilisant la réfractométrie n'a permis de mesurer un soluté dissous dans la phase aqueuse (Lemoine & Castanet, 2013).

La spectrométrie Raman, qui repose sur la diffusion de la lumière en fonction des espèces moléculaires présentes dans le liquide est une méthode prometteuse pour la mesure de la concentration en espèces chimiques dissoutes. Cependant, jusqu'à présent, aucune quantification de soluté n'a été réalisée en conditions réelles de spray, seules des évaluations quantitatives dans des conditions très contrôlées ont été réalisées (goutte unique en lévitation acoustique), loin des conditions « chaotiques » d'un spray (Schweiger, 1990).

Il est possible de quantifier des espèces fluorescentes par fluorescence induite par laser. Cette méthode a permis de nombreuses mesures non-intrusives de concentrations dans des liquides, de manière directe ou indirecte (Lebrun *et al*, 2021). Les applications dans des configurations de spray se sont toutefois limitées à la détermination de fraction eau/alcool, et majoritairement à la mesure de température dans les gouttes (Lemoine & Castanet, 2013).

Récemment, (Dietrich *et al*, 2013) ont développé une méthode basée sur l'utilisation d'un colorant réactif avec le dioxygène, la resazurine, pour visualiser des champs de concentrations en dioxygène dissous en solution. Les flux de transfert peuvent ensuite être déterminés à partir de ces champs de concentrations. Cette méthode a été appliquée à de nombreuses géométries de contacteurs avec succès, et pourrait être adaptée à la mesure de soluté durant la pulvérisation (Dietrich & Hébrard, 2018; Yang *et al*, 2017; Dietrich *et al*, 2019). Cette technique dispose de l'avantage d'être réalisée avec des caméras et sans l'utilisation de lasers et leur mise en place complexe. Elle est donc très prometteuse pour la caractérisation du transfert de matière se déroulant au sein d'un liquide, notamment pour l'étude du film liquide en sortie de buse.

Finalement, il semblerait donc que les méthodes non-intrusives soient limitées pour la quantification de soluté dans un spray de gouttes, du fait de la dynamique et des propriétés optiques des gouttes. Elles pourraient plutôt être appliquées dans les régions du spray où les gouttes ne sont pas encore formées telles que le film liquide quittant la buse. Les techniques de collecte et titrage semblent quant à elles les plus pragmatiques pour décrire l'évolution de concentration du soluté dans le liquide pulvérisé, même si elles souffrent d'imprécisions et d'incertitudes de mesure, comme indiqué précédemment.

OBJECTIFS DE LA THESE

L'état de l'art précédent a résumé les caractéristiques principales des pathogènes d'intérêts dans cette étude (*P.viticola*, *H.parasiticae*, *O.neolycopersici*) ainsi que les propriétés de l'ozone et l'eau ozonée, notamment d'un point de vue antimicrobien et de ses propriétés physico-chimiques.

Les éléments recueillis ont montré une efficacité certaine de l'eau ozonée pour inactiver une large gamme de bactéries, champignons, levures, virus et spores, essentiellement en conditions contrôlées *in vitro*. *P.viticola*, *H.parasiticae* et *O.neolycopersici*, en tant qu'oomycètes et ascomycètes, possèdent des propriétés très proches des champignons, on parle même de « pseudo-champignons ». Il est donc fort probable que l'eau ozonée puisse empêcher le développement de ces microorganismes. Mais pour l'heure, aucune étude n'a confronté l'eau ozonée à ces pathogènes.

Il a également été mis en évidence dans cet état de l'art, que l'eau ozonée subissait des pertes d'ozone dissous lors de son application par pulvérisation, réduisant considérablement son potentiel antimicrobien dans les études *in situ*. Ces pertes semblent provoquées par transfert de matière pour équilibrer les concentrations entre la phase aqueuse pulvérisée riche en ozone et la phase gazeuse dépourvue d'ozone. En effet, le procédé de pulvérisation d'eau ozonée réalisé dans l'air ambiant semble proposer un fort potentiel d'échange et une grande aire interfaciale promouvant fortement la désorption de l'ozone dissous. La zone de formation des gouttes, le film liquide, semble exacerber ce transfert dans les premiers centimètres en sortie de buse, mais très peu d'études se sont intéressées à cette région.

Comme mentionnée dans l'introduction, les présents travaux sont intégrés au projet SOLSTICE, qui vise à développer des approches novatrices de protection des cultures. Ces travaux de thèse ont pour objectif de répondre à deux problématiques principales : (i) la possibilité d'appliquer par pulvérisation l'eau ozonée et (ii) l'action de l'eau ozonée sur différents pathosystèmes.

Premièrement, il s'agit de mieux comprendre l'application d'eau ozonée par pulvérisation, pour identifier les phénomènes responsables des pertes d'ozone dissous qui se produisent au sein du spray. Une étude globale du spray est donc réalisée et complétée par une étude locale inédite permettant d'étudier la région de formation des gouttes, le film liquide. Ces études du spray permettront de modéliser les phénomènes étudiés pour déterminer les paramètres clés régissant les pertes des molécules

d'ozone de la phase aqueuse vers la phase gazeuse. À partir des connaissances acquises par la modélisation, une proposition technique de modification de buses de pulvérisation conventionnelles sera présentée et expérimentée pour réduire les pertes observées au cours de la pulvérisation.

Dans un second temps, l'objectif des travaux est de prouver l'effet antifongique de l'eau ozonée sur *P.viticola*, *H.parasiticae* et *O.neolycopersici* en conditions contrôlées. Une preuve de concept est réalisée « *in vitro* » avec *P.viticola* pour mettre en évidence l'effet des concentrations en ozone et en spores sur l'inactivation de cet oomycète responsable du mildiou de la vigne. Cette preuve de concept est ensuite étendue « *in planta* » pour les 3 microorganismes d'intérêts, avec des applications d'eau effectuées de manière contrôlées ou par pulvérisation. Ainsi le présent manuscrit est divisé en 2 parties : la première relative à l'étude physico-chimique de la pulvérisation d'eau ozonée et la seconde relative à l'étude microbiologique et phytopathologique de l'eau ozonée pour le traitement du mildiou de la vigne, du chou et de l'oïdium de la tomate. Ces deux parties de la thèse permettront *in fine* de statuer sur le mode de pulvérisation de l'eau ozonée à privilégier pour le traitement des pathosystèmes étudiés.

CHAPITRE II : PULVERISATION D'EAU OZONEE ET PHENOMENES DE TRANSFERT DE MATIERE

Ce second chapitre se consacre à l'étude de la pulvérisation d'eau ozonée et aux phénomènes de transfert de matière associés. L'expertise relative au transfert de matière a été apporté par Toulouse Biotechnology Institute (TBI) via l'encadrement de cette thèse, et toutes les expériences relatives au transfert du dioxygène ont été réalisées au sein du TBI. L'objectif de cette partie est de comprendre l'origine des pertes des molécules d'ozone dissous au sein de la phase liquide lorsque cette dernière est pulvérisée.

Pour cela des mesures de transfert de matière gaz/liquide sont réalisées dans un spray à l'échelle globale puis locale. Ces mesures de transferts sont effectuées d'une part avec l'ozone comme soluté, mais également avec du dioxygène d'autre part. Le dioxygène a l'avantage de subir uniquement des phénomènes de transfert physique, contrairement à l'ozone qui subit une réaction chimique d'auto-décomposition. Comme la solubilité et la diffusion de l'ozone et du dioxygène sont relativement similaires, les résultats obtenus sont aisément comparables d'un soluté à l'autre et permettent de connaître la contribution du transfert et de l'auto-décomposition dans les pertes d'ozone observées lors de la pulvérisation.

Les différentes approches de caractérisation du transfert de matière sont décrites dans la section matériel et méthode suivante, puis les analyses qui en découlent sont présentées et discutées dans la section résultats et discussions. Un effort de schématisation de la méthodologie est proposé le long de ce chapitre pour garder à l'esprit l'objectif de ces expérimentations.

1) MATERIELS ET METHODES

1.1) Études globales du spray par méthode de collecte

1.1.1) Installation expérimentale

L'installation expérimentale est conçue pour caractériser à la fois l'hydrodynamique du spray (tailles et vitesses des gouttes) et également le profil de concentration en soluté dissous (ozone ou dioxygène) dans le liquide le long du spray.

La pulvérisation : elle est produite par la mise en pression d'eau déminéralisée présente dans une cuve au moyen d'une pompe (WT3000-1JA, Longer precision pump Co. Ltd, Chine) à travers une buse à fente plate. Deux types de buses à fente plate produisant un spray plat sont testées : la buse ADX-120-02 à aspiration d'air, et la buse AFX-080-02 sans injection d'air. Leurs orifices ont des diamètres respectifs de 1,08mm et 1,00mm. Ces buses, photographiées à la figure 14, sont commercialisées par NOZAL, un distributeur de buses très présent sur le marché agricole.



Figure 14 : Photographie de la buse AFX-80-02 (gauche) et de la buse ADX-120-02 (droite).

Les buses à aspiration d'air disposent d'un orifice qui pompe de l'air par effet venturi lors du passage du liquide dans la buse. Elles produisent des gouttes plus grosses, moins sensibles à la dérive par le vent en conditions réelles au champ. L'angle du spray est également plus large pour la buse à aspiration d'air, avec 120° d'angle contre 80° pour la seconde buse. Ces différences sont visualisables sur la figure 15B et 15C. Les pulvérisations sont réalisées avec un débit de 35L/h, ce dernier permettant une atomisation de qualité pour les deux buses et représentant le type de débit rencontré lors de pulvérisations agricoles.

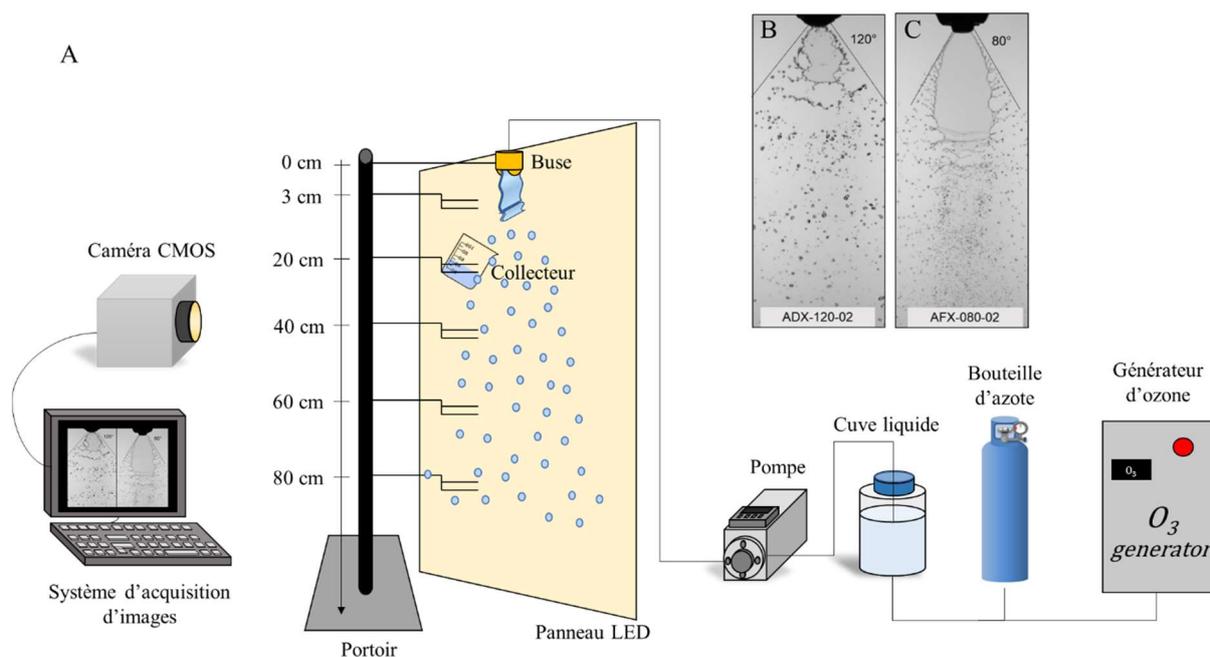


Figure 15 : Schéma de l'installation expérimentale pour l'étude globale du transfert dans un spray.

L'eau ozonée : Un générateur d'ozone équipé d'un analyseur de concentration gazeuse produit de l'ozone gazeux pour dissolution via un fritté dans la cuve liquide afin de générer de l'eau ozonée à pulvériser. Ainsi, un transfert depuis la phase aqueuse pulvérisée riche en ozone vers la phase gazeuse dépourvue d'ozone est rendu possible pour la mesure des coefficients de transfert de matière.

L'eau dépourvue d'oxygène : L'insufflation d'azote inerte dans la cuve liquide permet de désorber le dioxygène dissous dans l'eau déminéralisée, la pulvérisation de cette eau via les buses rendra possible le suivi du transfert d'oxygène de l'air vers l'eau permettant ainsi la mesure des coefficients de transfert. En effet, en retirant le dioxygène dissous de la phase liquide et en pulvérisant cette eau désoxygénée dans l'air riche en dioxygène, le potentiel d'échange est inversé et l'absorption des molécules d' O_2 depuis l'air vers le liquide est attendue.

Les profils de concentration le long du spray : ils sont quant à eux déterminés par la méthode de collecte et dosage comme mentionné lors de l'état de l'art. Un portoir muni de bras mécaniques est placé proche de la buse de pulvérisation, de telle sorte que des collecteurs puissent être placés sur les bras mécaniques pour collecter la pulvérisation produite en amont. Ces bras sont placés à différentes distances de la buse pour réaliser le profil de concentration au sein du spray.

L'installation expérimentale permet ainsi de réaliser deux types d'expérience de transfert de matière : la désorption de l'ozone ou l'absorption de dioxygène.

1.1.2) Hydrodynamique du spray

Elle est caractérisée grâce à l'acquisition et l'analyse d'images. Une caméra rapide (APX Photron) équipée d'une lentille (AF Micro-Nikkor, Nikon) acquiert des images, à 2000 images par secondes avec un temps d'exposition de 1/75000 seconde, du spray rétroéclairé par un panneau LED (LitePad HO LED, Rosco). La caméra est connectée à un ordinateur muni d'un logiciel d'acquisition associé à la caméra (Photron FastCam Viewer).

1.1.2.a) *Diamètres des gouttes et aire interfaciale*

Les diamètres équivalents d_{eq} de toutes les particules identifiables par algorithme de détection de bords (Canny, 1986) ont été déterminés sur 300 images, à partir de A l'aire projetée de chaque particule :

$$d_{eq} = \sqrt{\frac{4A}{\pi}}$$

Équation 13

Ensuite, un diamètre de Sauter d_{32} est déterminé à partir de tous les diamètres équivalents évalués précédemment pour fournir une valeur moyenne représentative du spray (Babinsky & Sojka, 2002):

$$d_{32} = \frac{\sum d_{eq,i}^3}{\sum d_{eq,i}^2}$$

Équation 14

À partir du diamètre de Sauter, l'aire interfaciale des gouttes formées par volume de liquide peut être calculée de la sorte :

$$a_{gouttes} = \frac{S_L}{V_L} = \frac{N_{goutte} S_{1gout}}{V_L} = \frac{\frac{V_L}{V_{1goutte}} S_{1goutte}}{V_L} = \frac{S_{1gout}}{V_{1goutte}} = \frac{6}{d_{32}}$$

Équation 15

Avec S_L la surface totale des gouttes produites (m^2), N_{goutte} le nombre de gouttes dans le spray, $S_{1goutte}$ la surface d'une goutte (m^2) et $V_{1goutte}$ le volume d'une goutte du spray (m^3).

On peut aussi définir une aire interfaciale de gouttes par volume de réacteur :

$$a_{gouttes}^0 = \frac{S_L}{H\Omega} = \frac{\frac{6}{d_{32}} V_L}{H\Omega} = \frac{\frac{6}{d_{32}} Q_L \tau}{H\Omega} = \frac{\frac{6}{d_{32}} Q_L U_{gouttes}}{\Omega}$$

Équation 16

Avec H la hauteur du réacteur considérée (m), Ω la section du réacteur considéré (m^2), τ le temps de contact des gouttes avec la phase gaz dans le réacteur (s), Q_L le débit volumique de liquide pulvérisé (m^3/s) et $U_{gouttes}$ la vitesse des gouttes du spray (m/s).

1.1.2.b) Vitesses des gouttes et vitesses à l'orifice

La détermination de la vitesse des gouttes dans le spray repose sur l'identification du déplacement d'une même goutte entre deux prises d'images. Ces identifications ont été réalisées sur 20 images qui ont permis de suivre et donc d'identifier une goutte. À partir des coordonnées x et y de la goutte sur les deux images il est possible de calculer le déplacement D de la goutte, et connaissant l'intervalle de temps Δt entre deux acquisitions de la caméra, la vitesse de la goutte $U_{gouttes}$ peut être déterminée ainsi :

$$U_{gouttes} = \frac{D}{\Delta t} = \frac{\sqrt{(y_2 - y_1)^2 + (x_2 - x_1)^2}}{\Delta t}$$

Équation 17

La moyenne des vitesses obtenues sera considérée comme la valeur de vitesse moyenne des gouttes du spray. Les coordonnées des gouttes ont été extraites en utilisant le logiciel de traitement d'image GIMP, comme illustré avec la figure 16 :

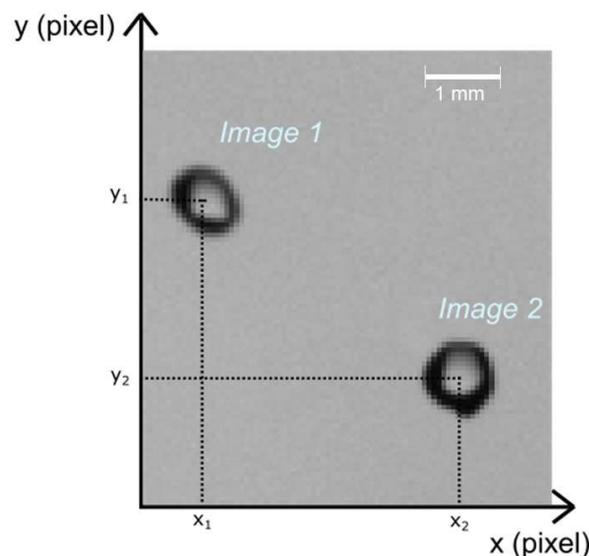


Figure 16 : Exemple de détermination de coordonnées pour le calcul de vitesse d'une goutte avec le logiciel GIMP.

En considérant une certaine distance Z parcourue par les gouttes à la vitesse $U_{gouttes}$, le temps de séjour τ passé par les gouttes en contact avec la phase gaz peut être estimé avec l'équation 18 :

$$\tau = \frac{Z}{U_{gouttes}}$$

Équation 18

Aussi, une vitesse théorique d'éjection du liquide à la sortie directe de l'orifice est estimée d'après la conservation de quantité de mouvement :

$$U_{orifice} = \frac{Q_L}{\frac{\pi d_{orifice}^2}{4}}$$

Équation 19

Avec $d_{orifice}$ le diamètre de l'orifice de sortie de la buse.

1.1.2.c) Géométrie du film liquide formant les gouttes

La géométrie du film liquide en sortie de buse avant l'atomisation en gouttelettes peut être estimée à partir d'images prises dans ce but précis. En considérant que ce film liquide se rapproche d'un parallélépipède rectangle, il est possible de déterminer sa largeur l , sa longueur L et son épaisseur δ . Ces grandeurs sont mesurées directement sur l'image comme illustré avec la figure 17, et moyennées sur 5 images par buse.

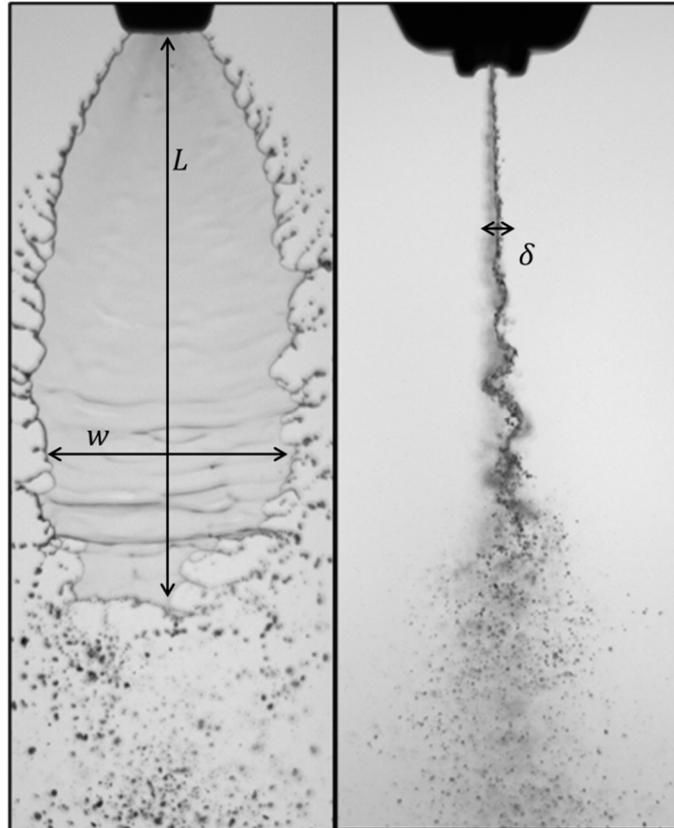


Figure 17 : Images du film liquide en atomisation obtenues pour la détermination de sa largeur w , longueur L et épaisseur δ .

À partir de ces paramètres, l'aire interfaciale associée au film peut être calculée :

$$a_{film} = \frac{S_L}{V_L} = \frac{2 L w + 4(L \delta)}{\delta L w}$$

Équation 20

Ou bien encore selon le volume de réacteur :

$$a_{film}^0 = \frac{S_L}{H\Omega} = \frac{2 L w + 4(L \delta)}{H\Omega}$$

Équation 21

1.1.3) Production de l'eau ozonée et mesures de l'ozone dissous

Pour la réalisation du profil de concentration en ozone dissous au sein du spray, la production et la pulvérisation d'eau ozonée est nécessaire. De l'ozone gazeux est produit par un générateur d'ozone à décharge corona (Ozonias CFS1– Suez) alimenté en dioxygène pur (99,9998%), dont la concentration est mesurée avec un analyseur UV en phase gazeuse (Ozone Analyzer BMT 964 BT – BMT). Cet ozone gazeux est envoyé vers la cuve liquide pour dissolution pendant une trentaine de minute à travers un fritté poreux de taille 0 (pores entre 160 et 250µm), avec un débit d'environ 100L/h.

La détermination de la concentration en ozone dissous dans un échantillon d'eau ozonée est réalisée grâce à la méthode indigo telle que décrite par (Bader & Hoigné, 1981). Il s'agit de mettre en contact un volume connu d'eau ozonée à titrer ($V_{\text{échantillon}} = 5\text{mL}$) avec un volume connu de solution d'indigo, ($V_{\text{indigo}}=5\text{mL}$) soit un volume total de 10mL. La solution d'indigo est réalisée à la concentration de travail proposée par (Bader & Hoigné, 1981), soit 0,06g d'indigo/L. Les molécules d'ozone dissous dans l'échantillon réagissent avec les molécules de la solution d'indigo, résultant en une décoloration de la solution. La mesure de l'absorbance à 600nm permet donc la détermination de la concentration en ozone dissous dans l'échantillon, après la réalisation d'un blanc et en prenant en compte la dilution dans le volume total :

$$[O_3] = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{\varepsilon_{\text{indigo}}} \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{échantillon}}}$$

Équation 22

Avec A_{blanc} l'absorbance mesurée d'un échantillon d'indigo ayant reçu de l'eau déminéralisée plutôt que l'eau ozonée à titrer, $A_{échantillon}$ l'absorbance mesurée d'un échantillon d'indigo ayant reçu l'eau ozonée à titrer, $V_{échantillon}$ le volume d'eau ozonée ajouté à l'indigo et V_{total} le volume total ($V_{indigo} + V_{échantillon}$).

Cette mesure d'absorbance est réalisée avec un spectrophotomètre UV/Visible (TECAN) sur des plaques de 96 puits de 200 μ L de volume de travail (Greiner).

L'échantillon d'eau ozonée que l'on met en contact avec la solution d'indigo peut être prélevé de la cuve liquide et représenter la concentration initiale du spray, ou prélevé du béccher de collecte pour représenter la concentration au sein du spray. À noter que l'étape d'échantillonnage depuis le collecteur jusqu'aux tubes indigo implique un délai et des pertes d'ozone qui ne permettent pas de représenter fidèlement la concentration en ozone dissous dans le collecteur.

Cette méthode a été corrigée pour le reste de l'étude globale du transfert, afin de s'affranchir de l'étape de prélèvement à l'origine d'imprécisions de mesures. Pour cela, les bécchers de collecte sont remplacés par des coupelles en verre de 50mL préalablement remplies de 10mL de solution d'indigo. Les gouttes d'eau ozonée pulvérisées tombent directement dans la solution d'indigo qui « enregistre » instantanément la concentration en ozone dans les gouttes collectées. En mesurant par pesée le volume d'eau ozonée collecté ($V_{échantillon}$), la concentration en ozone dans l'échantillon est déterminée par absorbance de la même manière que précédemment.

Pour l'étude globale comparative entre le profil d'ozone et de dioxygène, les mesures ont été réalisées 3 fois pour chaque hauteur, avec une étape d'échantillonnage de l'eau ozonée collectée pour titrage dans des tubes à essais d'indigo. Pour le reste de l'étude globale, 10 mesures par hauteur ont été réalisées, sans étape d'échantillonnage car l'eau ozonée tombe directement dans la coupelle de solution d'indigo. Ces répétitions de mesures permettent notamment de s'affranchir des rares phénomènes d'éclaboussures qui sont provoqués par la chute de grosses gouttes produites par coalescence progressive sur la buse de pulvérisation. À une distance d'environ 60cm, ces grosses gouttes obtiennent suffisamment de vitesses lors de leur chute pour provoquer des éclaboussures d'indigo hors de la coupelle.

1.1.4) Production d'eau désoxygénée et mesures du dioxygène dissous

Toujours dans l'idée d'inverser le potentiel d'échange pour promouvoir l'absorption d'O₂ par de l'eau pulvérisée dans l'air riche en dioxygène et ainsi pouvoir mesurer les coefficients de transfert, il est nécessaire de retirer au préalable le dioxygène dissous dans l'eau avant pulvérisation. Cette étape est réalisée par bullage d'azote gazeux dans la cuve liquide contenant de l'eau déminéralisée. Le barbotage d'azote se fait avec le même fritté poreux de taille 0 que lors de la dissolution d'ozone. Il s'agit ici de proposer des bulles de gaz quasiment pures en azote et donc dépourvues de dioxygène en leur sein. Le dioxygène dissous dans la phase aqueuse est donc amené à diffuser dans ces bulles en ascension qui finissent leurs voyages à la surface du liquide, en libérant leur contenu dans l'air. En une dizaine de minutes de barbotage, les molécules de dioxygène présentes dans la phase liquide sont éliminées.

Le suivi en dioxygène dissous dans la phase liquide est réalisé par une sonde optique à oxygène (HACH - Intellical LDO101 Laboratory Luminescent/Optical Dissolved Oxygen Sensor). Après immersion dans la solution, elle permet après dix secondes de stabilisation d'obtenir la concentration en dioxygène dissous, avec une précision de $\pm 0,1 \text{ mgO}_2/\text{L}$. La sonde est immergée dans la cuve liquide lors du bullage de l'azote pour s'assurer d'une concentration initiale quasi nulle en dioxygène avant de lancer l'expérience de pulvérisation pour la mesure du transfert. Pour les mesures de concentration dans le spray, les collecteurs au sein du spray sont légèrement penchés, laissant s'échapper par débordement le liquide collecté lorsqu'un volume conséquent ($\approx 20 \text{ mL}$) s'accumule dans le collecteur. Cela permet de s'assurer du renouvellement de la solution dans le collecteur et d'avoir une concentration stationnaire en oxygène lors de la mesure par immersion de la sonde optique. La procédure de collecte et mesure a été répétée 3 fois par hauteur dans le spray.

1.1.5) Estimation des pertes d'ozone par auto-décomposition

Afin de connaître la contribution des pertes d'ozone provoquées par l'auto-décomposition de l'ozone dans la phase liquide, la vitesse de réaction de l'auto-décomposition de l'ozone doit être déterminée. Le taux de décomposition de l'ozone dépend fortement du pH, des forces ioniques et de la température. Une constante de vitesse du premier ordre par rapport à l'ozone est utilisée pour de l'eau déminéralisée à 20°C et pH=7, soit $k_D = 0,001 \text{ s}^{-1}$ (Gardoni *et al*, 2012), afin de modéliser l'évolution de concentration en ozone dans un liquide :

$$\frac{dC_{O_3}^L}{dt} = k_d C_{O_3}^L$$

Équation 23

Avec k_d la constante de vitesse de la réaction d'auto-décomposition de l'ozone dissous (s^{-1}).

En intégrant l'équation 23 et en considérant le temps de séjour passé par les gouttes dans l'air τ , l'évolution de la concentration en ozone dans le liquide en fonction du temps peut être déterminée.

1.1.6) Coefficients et modèles de transferts de matière pour le spray

1.1.6.a) Détermination expérimentale des coefficients volumétriques de transferts $k_L a$

La caractérisation du transfert de matière, se fait généralement par la détermination de coefficients de transfert de matières. En raisonnant avec un bilan matière sur la phase liquide, la quantité d'espèces j traversant l'interface d'un élément de liquide chaque seconde s'exprime de la manière suivante :

$$\frac{dC_j^L}{dt} = k_L a (C_j^{L,*} - C_j^L)$$

Équation 24

En intégrant l'équation précédente, il est ainsi possible de déterminer expérimentalement le coefficient volumétrique de transfert coté liquide $k_L a$ à partir du profil temporel de concentration dissous pour chaque soluté et chaque buse de pulvérisation :

$$k_L a = \ln \left(\frac{C_j^{L,*} - C_j^L}{C_j^{L,*} - C_{j,0}^L} \right) \frac{Z}{U}$$

Équation 25

Avec Z la distance parcourue par le liquide dans la région concernée, et U la vitesse du liquide dans cette région.

La détermination expérimentale des $k_L a$ est effectuée pour la région du film liquide et pour la région des gouttes :

- Le coefficient $(k_L a)_{film}$ associé à la région du film liquide est calculé en considérant une distance Z de 3cm et la concentration associée à cette distance ($C_{j,z=3c}^L$), et la vitesse $U_{orifice}$.

La concentration initiale $C_j^{L,0}$ est la concentration dans la cuve avant pulvérisation.

- Concernant le coefficient $(k_L a)_{gouttes}$ pour la région du nuage de gouttes, la distance considérée est $Z=77\text{cm}$, et la concentration initiale des gouttes dans cette zone est ici la concentration en sortie de film ($C_j^{L,0} = C_j^{L,Z=3\text{cm}}$). La vitesse considérée est $U_{gouttes}$.

À partir de ces coefficients de transferts, le flux transféré (g/s) d'un soluté j dans une région du spray est déterminé de la manière suivante :

$$\varphi_i = k_L a (C_j^{L,*} - C_j^L) V_L$$

Équation 26

Avec selon la région ou la configuration concernée :

$$V_{film} = Lw\delta \quad ; \quad V_{gouttes} = \frac{Q_L}{\tau_{77\text{cm}}} \quad ; \quad C_{O_3}^{L,*} = 0 \text{ mg/L} \quad ; \quad C_{O_2}^{L,*} = 9 \text{ mg/L}$$

Équation 27a, 27b, 27c et 27d

Avec $\tau_{77\text{cm}}$ le temps de contact (s) des gouttes évalué grâce à l'équation 18 et en considérant une distance parcourue Z de 77cm.

1.1.6.b) Modélisation du profil de concentration à partir des mesures hydrodynamiques

L'équation 24 peut également être réarrangée pour prédire le profil de concentration en soluté le long du spray C_j^L en fonction de la distance z :

$$C_j^L(z) = C_j^{L,*} - (C_j^{L,*} - C_j^{L,0}) \exp\left(-k_L a \frac{Z}{U}\right)$$

Équation 28

En introduisant un coefficient de transfert de matière k_L dans le profil calculé avec l'équation 28, une modélisation du transfert global peut être réalisée. Ce coefficient de transfert est déterminé en utilisant la corrélation générale valable pour le transfert de matière pour une goutte qui chute dans une phase gazeuse défini à l'équation 12 (Amokrane *et al*, 1994; Lépinasse *et al*, 2012; Kelbaliyev, 2011; Hariz *et al*, 2017). Elle nécessite uniquement les paramètres hydrodynamiques du spray, soit le diamètre des gouttes d_{32} et leur vitesses $U_{gouttes}$:

$$Sh = \frac{k_L d_{32}}{D_{j/H_2O}} = 0,8 Re^{0.5} Sc^{0.5}$$

Équation 12

Avec

$$Re = \frac{U_{gouttes} d_{32}}{\nu} ; Sc = \frac{\nu}{D_{j/H_2O}}$$

Équation 29a et 29b

Avec ν la viscosité cinématique de l'eau (m²/s).

C'est donc dans ces conditions qu'ont été réalisées les études globales de transfert de matière relatives au spray de gouttes, donnant accès aux paramètres hydrodynamiques et aux profils de concentration en soluté le long du spray. La figure 18 récapitule schématiquement la méthodologie de cette étude globale, et ses aboutissements.

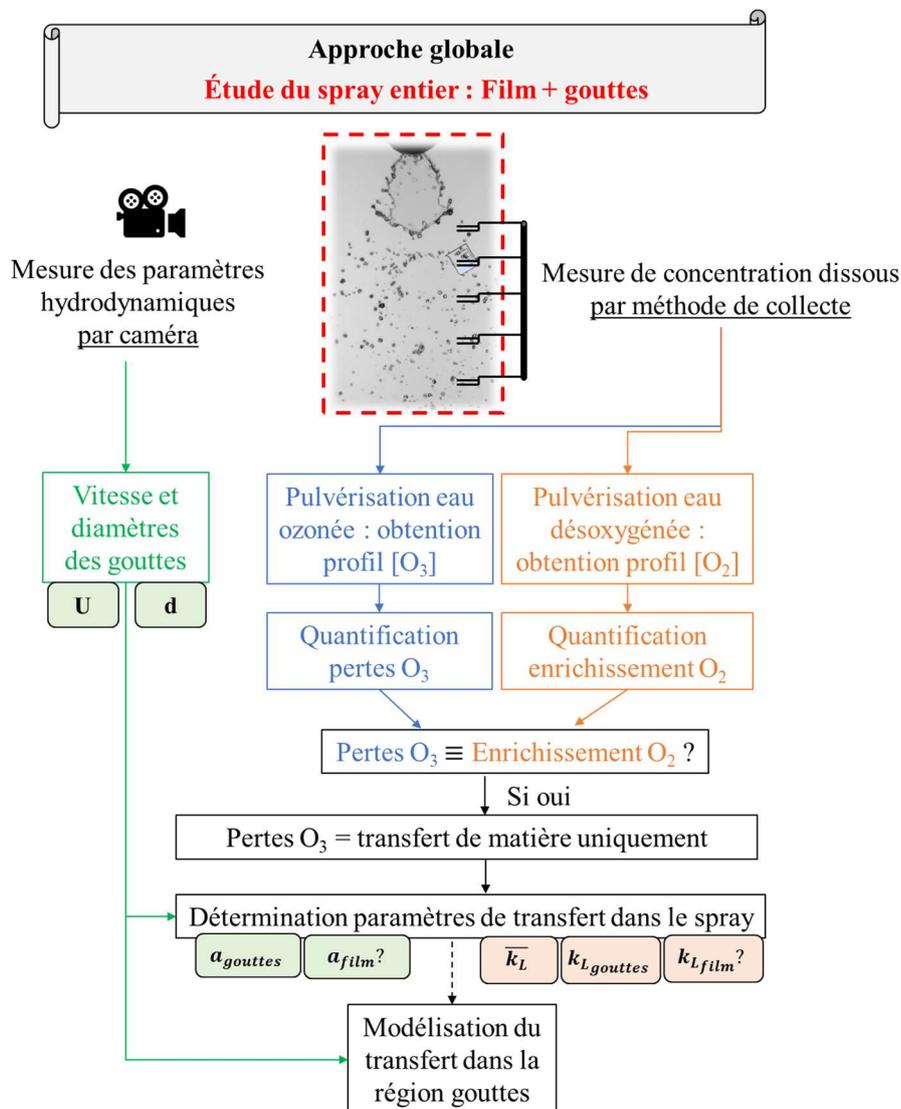


Figure 18: Méthodologie de l'étude globale pour déterminer des profils de concentrations en soluté dans un spray, mesurer l'hydrodynamique du spray et réaliser une analyse de transfert de matière

1.2) Étude locale du film liquide par méthode colorimétrique

Les études globales sont insuffisantes pour décrire le film liquide qui s'atomise en gouttelettes à la sortie de la buse et le transfert qui lui correspond. La résolution des images est insuffisante et l'épaisseur de ce film n'est pas précisément mesurable par prise de vue de côté, où les bords du film semblent plus épais que le cœur du film, amenant à une surestimation de l'épaisseur. De plus, l'évolution spatiale de la concentration en soluté dans le film, obtenue par méthode globale des prélèvements est impossible.

Une méthode optique non-invasive a donc été développée pour mesurer à la fois l'épaisseur du film liquide et également la concentration en soluté en son sein. Elle repose sur l'absorption lumineuse à travers le film liquide par un colorant réactif avec le dioxygène.

1.2.1) Stratégie de la méthode

La présente méthode est basée sur l'utilisation d'un colorant sensible à l'oxydation, la resazurine (CAS n°62758-13-8). Cette molécule chimique possède une propriété intéressante : lorsque soumise à une réaction d'oxydoréduction, sa forme oxydée produit une couleur intense en solution tandis que sa forme réduite est incolore. De plus, la réaction d'oxydation est extrêmement rapide comparée à la lente réaction de réduction (Yang *et al*, 2017).

Initialement, une solution de resazurine (RZ) dans l'eau donne une couleur bleu foncé, comme illustré sur la figure 19. En présence de glucose et de soude, la resazurine est réduite à sa forme de resorufine (RSO) qui apparaît rose en solution. Cette étape de réduction est très lente et ne peut pas se produire dans l'autre sens par oxydation. En laissant la réaction de réduction se poursuivre, la resorufine devient la dihydroresorufine (DHR) qui est incolore en solution et extrêmement sujette à oxydation.

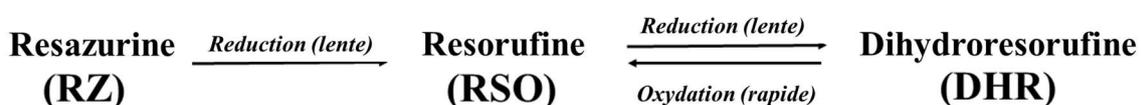
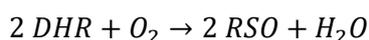


Figure 19 : Les étapes d'oxydoréduction de la resazurine et ses différentes formes réduites.

La présence de molécules de dioxygène dans la solution va produire une réaction d'oxydation de la DHR pour produire la RSO et sa couleur rose correspondante, tel qu'on peut le voir à la surface de la fiole de DHR sur la figure 19 où le dioxygène présent dans l'air diffuse dans le liquide et produit instantanément une couche rose de RSO. En ce sens, la quantification de la RSO présente en solution permet de déterminer la quantité de dioxygène ayant diffusé dans le liquide et réagi avec la DHR, dès lors que l'on connaît la stœchiométrie de la réaction :



Équation 30

La quantification de la RSO produite par oxydation peut être réalisée par absorption lumineuse visible puisque la molécule à quantifier présente des propriétés colorées. En pulvérisant une solution de DHR dans l'air, le dioxygène de la phase gazeuse est supposé diffuser dans la solution et produire par réaction de la RSO rose. La présente méthode vise donc à quantifier, par absorption lumineuse dans le visible, le « rose » produit par l'apparition de RSO le long du film liquide.

1.2.2) Préparation des solutions

Le tableau 6 suivant liste les différentes solutions préparées et pulvérisées pour réaliser une répétition complète de l'expérience.

Nom de la solution	[Rz] (mg/L)	[Glucose] (g/L)	[NaOH] (g/L)	Aération avant pulvérisation
Ref	0	10	10	Non
Expérimentale	200	10	10	Non
Calibration-10 mgO ₂ ^{eq} /L	200	10	10	Oui
Calibration-6 mgO ₂ ^{eq} /L	120	6	6	Oui
Calibration-3 mgO ₂ ^{eq} /L	54	2,7	2,7	Oui
Calibration-2 mgO ₂ ^{eq} /L	40	2	2	Oui

Tableau 6 : Composition des solutions préparées et pulvérisées

La solution de référence « Ref » est composée de 10g/L de glucose et de 10g/L de soude dissous dans de l'eau déminéralisée, comme l'ensemble des solutions, excepté qu'elle ne contient pas de colorant (resazurine). Cette solution est donc incolore. Elle permet de déterminer la part de l'intensité lumineuse perdue par les seuls phénomènes de réflexion/réfraction lors du passage de la lumière dans le film liquide.

La solution « Expérimentale » est préparée en dissolvant 200mg de RZ, 10g de NaOH et 10g de glucose dans de l'eau déminéralisée en utilisant une fiole jaugée de 1L. Environ une heure après, la solution passe d'une couleur bleue à incolore. À ce stade, la solution incolore de DHR est très réactive avec le dioxygène. Quand cette solution est pulvérisée, le dioxygène atmosphérique diffusant au sein du film liquide convertit la DHR incolore en RSO rose. C'est cette solution qui va « enregistrer » le transfert se produisant dans le film.

Les solutions de « Calibration-XmgO₂^{eq}/L » sont préparées de la même manière que la solution « Expérimentale » mais sont totalement oxydées par bullage d'air avant de procéder à leur pulvérisation, dans le but de convertir toute la DHR présente dans la solution en RSO. Avec des concentrations initiales de DHR différentes, le bullage d'air produit des solutions de RSO de concentrations différentes dont les intensités de « rose » correspondent à plusieurs niveaux de dioxygènes équivalents au sein de la solution.

Ces solutions permettent donc de réaliser une courbe d'étalonnage de l'absorbance à travers le film en fonction de la concentration en RSO, autrement dit de l'absorbance en fonction du dioxygène équivalent ayant transféré dans la solution.

Par soucis d'économie, la solution « Calibration-10mgO₂^{eq}/L » est récupérée par des béciers après sa pulvérisation pour réaliser les solutions restantes de calibrations par dilution.

Il faut noter que la concentration de ces solutions est exprimée en « O₂^{eq} ». Cela fait référence à la stœchiométrie de la réaction, par exemple 120mg/L de DHR nécessite le transfert et la réaction de 6mg/L de dioxygène dans le liquide pour totalement oxyder la DHR présente dans la solution. Le terme « équivalent » signifie qu'en réalité aucune molécules de dioxygène n'est présente dans le liquide puisque qu'elles réagissent instantanément avec la DHR.

1.2.3) Système optique

Pour observer l'apparition de couleur rose dans le film liquide, les solutions doivent être pulvérisées pendant que de la lumière traverse le liquide et qu'une caméra enregistre l'intensité lumineuse reçue. L'installation expérimentale illustrée à la figure 20 a permis l'acquisition d'images du film liquide atomisant différentes solutions. La solution à pulvériser est contenue dans une bouteille, et une pompe (WT3000-1JA, Longer precision pump Co. Ltd, Chine) envoie cette solution jusqu'à une buse qui atomise le liquide devant une caméra CMOS (acA9120 – 155µm, Basler AG, Germany) équipée d'une lentille (Nikon AF micro Nikkor f/2.8lens 60mm). De l'air comprimé relié à la cuve est utilisé pour réaliser l'aération des solutions de calibrations afin d'oxyder entièrement ces solutions avant de les pulvériser. La caméra prend des images de 1920 par 800 pixels avec un temps d'exposition de 20µs et une cadence d'acquisition de 100 images par seconde. La résolution spatiale résultante est de 26µm/pixel. La source lumineuse, un panneau LED, produit une lumière blanche et se situe derrière le film liquide. Un filtre est positionné sur le panneau LED pour s'assurer que la lumière atteignant la caméra soit quasi monochromatique, autour de 550nm. Des béciers de 500mL sont placés sous la buse de pulvérisation pour récupérer les solutions pulvérisées. Une buse à jet plat (AFX-80-02, Nozal, France) avec un orifice d'1mm de diamètre est utilisée pour produire un spray d'angle 80° et dont les gouttes ont un diamètre d'environ 0,6mm. Pour la gamme de débits testée, cette buse a l'avantage de produire un film liquide plat qui peut être positionné sur le plan focal de la lentille de la caméra. Un

essai expérimental complet consiste à pulvériser et acquérir les images relatives à chaque solution du tableau 6 : acquisition des images de références, de la solution expérimentale puis des solutions de calibrations. Six essais expérimentaux sont répétés, avec de nouvelles solutions préparées à chaque nouvel essai.

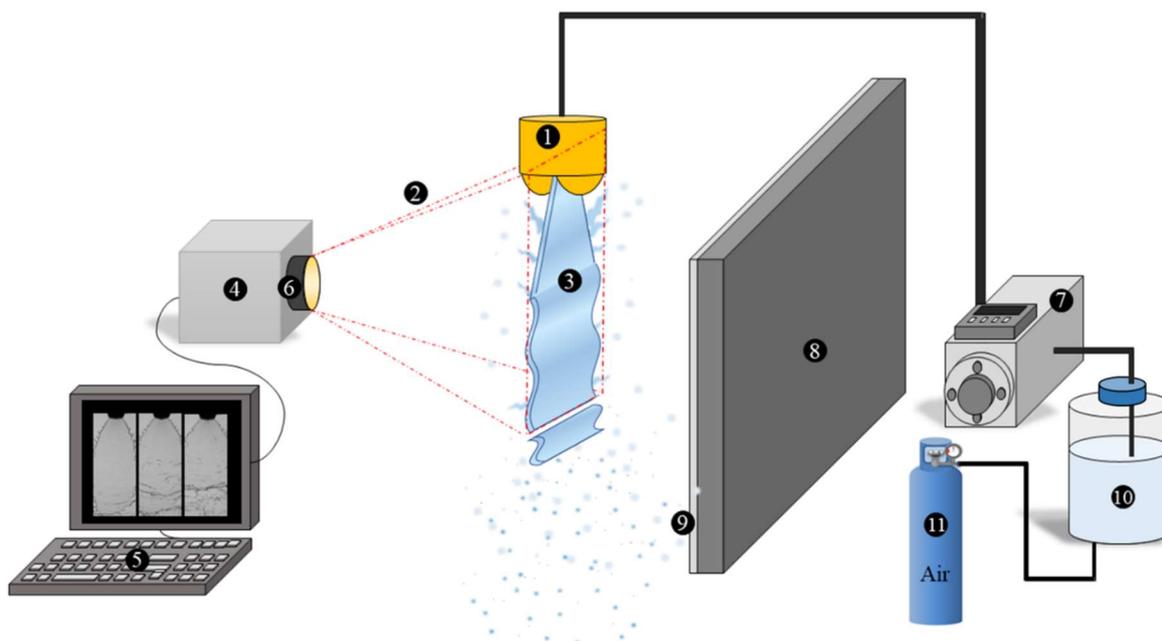


Figure 20 : Installation expérimentale pour l'absorption lumineuse à travers le film liquide produit par une buse avant son atomisation en gouttes. Buse (1), fenêtre d'acquisition (2), film liquide (3), caméra CMOS (4), système d'acquisition (5), lentille (6), pompe (7), panneau LED (8), filtre à 550nm (9), bouteille de 1,5L (10), alimentation en air comprimé (11). À noter que les éléments représentés ne sont pas à l'échelle dans un souci de clarté.

1.2.4) Détermination des absorbances & paramètres résultants

1.2.4.a) Profils d'intensité lumineuse

Pour chaque solution pulvérisée, 500 images sont enregistrées avec la caméra et 3 différentes régions d'études sont définies dans le film liquide comme le montre la figure 21. Ces trois régions sont déterminées pour évaluer l'homogénéité du transfert dans le film.

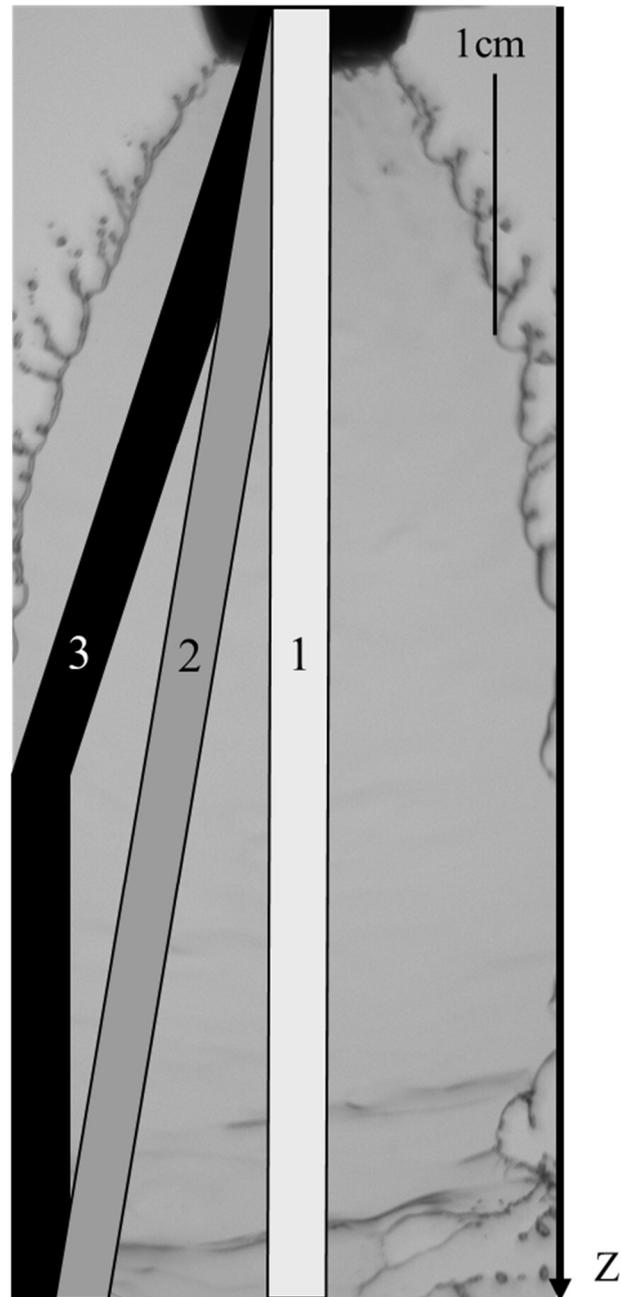


Figure 21 : Image du film liquide obtenu à 22,6L/h avec la présente installation expérimentale et ses 3 différentes régions d'études.

Chaque région a une largeur de 100 pixels et une hauteur de 1920 pixels. Les 100 pixels de large sont moyennés pour chaque pixel de hauteur, résultant en un profil le long de l'axe Z de 1920 valeurs moyennées. Cela permet d'obtenir une valeur relativement représentative de l'intensité lumineuse dans le cœur de la région d'étude. Ainsi, chaque image i possède sa propre évolution d'intensité lumineuse

le long du film $I_j^i(z) = \sum_{w=1}^{w=100} \frac{I_j^i(z,w)}{100}$ selon la solution j pulvérisée, moyenné sur les 100 pixels w de la

largeur. Ensuite, le profil d'intensité pour une solution donnée est défini comme la moyenne des profils d'intensité des 500 images acquises :

$$I_j(z) = \sum_{i=1}^{i=500} \frac{I_j^i(z)}{500}$$

Équation 31

Avec $I_j(z)$ le profil d'intensité moyen acquis le long de l'axe Z pour une solution j pulvérisée (-) et $I_j^i(z)$ le profil d'intensité acquis pour une image i le long de l'axe Z pour une solution j pulvérisée (-).

Un essai expérimental complet consiste à enregistrer ces profils d'intensité pour la solution de référence I_{ref} , puis pour les solutions de calibrations $I_{calib10}$, I_{calib6} , I_{calib3} , I_{calib2} , et enfin pour la solution expérimentale I_{exp} . À noter que la notion « distance dans le film liquide » signifie la distance parcourue le long d'une ligne de courant, considérant les inclinaisons respectives de la région 2 et 3.

1.2.4.b) Loi de Beer-Lambert et détermination des absorbances

La méthode présentée ici repose sur l'utilisation de la loi de Beer-Lambert (Buijs & Maurice, 1969; Swinehart, 1962). L'absorption lumineuse à travers un liquide est fonction de l'épaisseur du liquide parcourue par la lumière et de la concentration en espèce colorée pour une longueur d'onde donnée :

$$A_j(z) = \log\left(\frac{I_{ref}(z)}{I_j(z)}\right) = \varepsilon \delta(z) C_{RSO}(z)$$

Équation 32

Avec $A_j(z)$ le profil d'absorbance le long de l'axe Z déterminé pour une solution pulvérisée j (-), $I_{ref}(z)$ le profil d'intensité acquis le long de l'axe Z tel que définit à l'équation 31 lors de la pulvérisation de la solution de référence (-), ε le coefficient d'extinction molaire de la RSO à 572nm ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$), $\delta(z)$ le profil d'épaisseur du film liquide le long de l'axe Z (m) et $C_{RSO}(z)$ la concentration en RSO dans le film liquide à la position z de l'axe Z (mg/L).

Quand la lumière issue du panneau LED traverse la solution pulvérisée, certains rayons lumineux sont réfractés à l'interface gaz-liquide du fait de la différence d'indice optique entre les deux phases. Cela a pour conséquence de réduire l'intensité lumineuse reçue par la caméra après la traversé du film liquide. Pour les solutions pulvérisées contenant le colorant, une réduction de l'intensité lumineuse est attendue du fait des phénomènes de réfraction à l'interface et de l'absorption lumineuse par le colorant. La

solution de référence sert à extraire la contribution de la réduction lumineuse due aux seuls phénomènes de réfraction, et également la potentielle absorbance de la solution de référence. C'est le même rôle qu'une solution de « blanc » dans un spectrophotomètre conventionnel.

L'absorbance lumineuse à travers le film est donc définie par l'équation 32, et le premier objectif de cette étude est de s'assurer physiquement de l'existence d'une relation linéaire entre l'absorbance mesurée, l'épaisseur du film et la concentration en RSO. Si cette linéarité est vérifiée pour notre système optique, alors il sera possible d'accéder aux paramètres dérivant de la mesure d'absorbance à travers le film liquide. Cette vérification est présentée dans la section « validation de la procédure » de la partie résultat.

1.2.4.c) Mesure de l'épaisseur de liquide traversée par les rayons lumineux

Les mesures de l'épaisseur du film liquide sont réalisées en pulvérisant les solutions de calibrations dont la concentration en colorant $C_{RSO,j}$ est constante du fait de l'étape d'aération de la solution avant pulvérisation. Avec ces solutions, aucune réaction de DHR avec l'O₂ transféré depuis l'air n'est attendue puisque toute la DHR a été préalablement consommée par l'étape d'aération préliminaire à la pulvérisation. Au regard de la loi de Beer-Lambert telle que définit par l'équation 32, l'épaisseur d'une solution colorée traversée par un faisceau lumineux peut s'exprimer ainsi :

$$\delta_j(z) = \frac{A_{calib,j}(z)}{\varepsilon C_{RSO,j}}$$

Équation 33

Avec $A_{calib,j}(z)$ le profil d'absorbance déterminé lors de la pulvérisation d'une solution de calibration j (-) et $C_{RSO,j}$ la concentration constante en RSO dans la solution de calibration j pulvérisée (mg/L).

Le coefficient d'extinction molaire ε est déterminé par mesure d'absorbances avec un spectrophotomètre conventionnelle (Jasco V-630, Allemagne) de différentes solutions diluées dans une cuvette en plastique (polystyrène) d'1cm de large. Un essai expérimental de mesure de l'épaisseur du film comprend donc la mesure de l'absorbance des 4 solutions différentes de calibrations (10 ; 6 ; 2,7 et 2 mgO₂^{eq}/L) répétée 6 fois.

1.2.4.d) Mesure de la concentration en RSO

Quand la solution Expérimentale (cf Tableau 6) est pulvérisée, la RSO rose est censée apparaitre le long du film du fait du transfert de l'O₂ atmosphérique et de sa réaction avec la DHR présente dans le liquide. La concentration en RSO dans le film peut être déterminée à partir de l'absorbance de la solution expérimentale à l'aide de la loi de Beer-Lambert si l'épaisseur du film et le coefficient d'extinction sont connus :

$$C_{RSO}(z) = \frac{A_{Exp}(z)}{\varepsilon \overline{\delta}(z)}$$

Équation 34

Avec $C_{RSO}(z)$ la concentration croissante en RSO le long de l'axe Z provoquée par le transfert du dioxygène dans le film liquide et sa réaction avec la DHR (mg/L), $A_{Exp}(z)$ l'absorbance lumineuse mesurée à travers le film liquide lors de la pulvérisation de la solution expérimentale (-), $\overline{\delta}(z)$ le profil d'épaisseur moyen du film déterminé à l'équation 33 (m).

1.2.4.e) Dioxygène équivalent transféré et coefficients de transfert associés

À partir de la stœchiométrie de la réaction d'oxydation, et en supposant que la DHR est présente en excès dans la solution, il est possible de déterminer la quantité de dioxygène ayant réagi avec la DHR pour produire le profil de concentration en RSO dans le film liquide. Donc à partir du profil de concentration en RSO déterminé par l'équation 34, le profil de concentration en dioxygène expliquant l'évolution de RSO dans le film est déterminé de la manière suivante :

$$[O_2]_{eq}(z) = \frac{C_{RS}(z)}{2} = \frac{A_{Exp}(z)}{2 \varepsilon \overline{\delta}(z)}$$

Équation 35

Avec $[O_2]_{eq}(z)$ le profil de concentration en dioxygène équivalent ayant transféré dans le film liquide le long de l'axe Z (mg/L).

Depuis le profil de concentration en « dioxygène équivalent » dans le film liquide, le coefficient de transfert de matière coté liquide k_L peut être déterminé. En considérant un volume élémentaire du film, le bilan matière entre l'entrée et la sortie de ce volume le long de l'axe Z s'écrit :

$$k_L dS ([O_2]^* - [O_2]) = Q_L([O_2]_{inlet} + d[O_2]) - Q_L[O_2]_{inlet}$$

Équation 36

Avec dS la surface élémentaire d'interface gaz-liquide (m^2), $[O_2]^*$ la concentration théorique à saturation du dioxygène dans un liquide en contact avec l'air ambiant (mg/L), $[O_2]$ la concentration réelle en dioxygène dans le volume élémentaire de liquide (mg/L), $[O_2]_{inlet}$ la concentration en dioxygène à l'entrée du volume élémentaire de liquide (mg/L).

Ce bilan suppose de façon réaliste que la concentration déterminée dans le film est homogène dans la largeur et l'épaisseur du volume élémentaire de film. L'évolution de la concentration est surtout attendue dans la direction de l'écoulement, le long de l'axe Z . Le coefficient de transfert de matière s'exprime donc depuis l'équation 36 par :

$$k_L = \frac{Q}{dS} \frac{d[O_2]}{[O_2]^* - [O_2]}$$

Équation 37

En négligeant l'épaisseur très faible du film liquide produit, la surface élémentaire dS permettant le transfert d'oxygène de l'air vers le film liquide correspond donc aux deux faces planes du film liquide (inférieure et supérieure). La surface totale offerte par la tranche du volume élémentaire de film matérialisant l'interface gaz-liquide se définit donc par :

$$dS = 2 w(z) \times dz$$

Équation 38

Avec $w(z)$ le profil de largeur du film liquide le long de l'axe Z .

L'évolution de la largeur du film avec l'axe Z , $w(z)$, est déterminée en moyennant la distance entre les bords du film liquide à l'aide d'un algorithme de détection de bord sur 50 images. L'interface calculée avec l'équation 38 ne prend pas en compte les deux faces latérales du bord du film ainsi que son front ($2z \times \delta(z)$) car ces surfaces sont fortement négligeables devant les faces supérieures et inférieures du film.

Toutes les molécules de dioxygène qui transfèrent dans le liquide sont en réalité directement consommées par la réaction avec la DHR présente dans la solution donc la concentration en dioxygène dans le liquide $[O_2]$ est nulle, l'équation 37 est ainsi simplifiée :

$$k_L = \frac{d[O_2]}{dz} \frac{Q}{2 w(z)[O_2]^*}$$

Équation 39

En considérant que la concentration en dioxygène dans l'air est constante et non appauvrie par l'absorption dans le liquide, la concentration théorique de saturation $[O_2]^*$ reste constante le long du film liquide. L'intégration de l'équation 39 selon l'axe Z permet alors d'obtenir une valeur globale du coefficient de transfert représentant l'ensemble du film liquide :

$$\bar{k}_L = Q \frac{[O_2]_{outlet} - [O_2]_{inlet}}{2 w(z)[O_2]^*Z}$$

Équation 40

1.2.4.f) Nombres adimensionnels

Plusieurs nombres adimensionnels sont définis pour relier l'hydrodynamique du film liquide avec le transfert de matière qui se produit en son sein. L'épaisseur du film δ est choisie comme longueur caractéristique pour ces nombres car sa faible épaisseur pourrait être à l'origine d'un renouvellement plus fréquent du film coté liquide, augmentant la diffusion du soluté entre les phases.

Le nombre de Sherwood compare à la grandeur caractéristique près (ici $\bar{\delta}$), la vitesse de transfert du soluté k_L à sa diffusion moléculaire dans le liquide d'intérêt :

$$Sh_{film} = \frac{k_L}{D_{O_2/H_2O}} \bar{\delta}$$

Équation 41

Le nombre de Reynolds qui caractérise la nature de l'écoulement du film liquide est défini ainsi :

$$Re_{film} = \frac{U_{orifice} \bar{\delta}}{\nu_{H_2O}}$$

Équation 42

L'équation 39 est établie avec l'hypothèse que la concentration en dioxygène est nulle au sein du liquide du fait de la présence d'une réaction chimique avec l'espèce transférée. Cette hypothèse peut être vérifiée en calculant le nombre de Hatta qui compare la vitesse de réaction à celle du transfert :

$$Ha = \frac{\sqrt{k_{O_2/H_2O} C_{RSO} D_{O_2/H_2O}}}{k_L}$$

Équation 43

Tous les paramètres précédemment calculés sont issus de mesures d'intensité lumineuses à travers un film liquide et à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert pour lier absorbance lumineuse, épaisseur de

liquide et concentration en espèce colorée. Cependant la loi de Beer-Lambert nécessite une incidence normale des rayons lumineux à travers le liquide étudié pour être valable. De plus, cette loi n'est valable que pour une certaine plage de concentration en soluté. Il s'agira donc dans la section résultats, avant de recourir à des mesures d'épaisseurs et de concentration dans le liquide, de s'assurer que cette loi est bien valide dans les conditions de nos expériences. Le schéma de la figure 22 permet d'illustrer la méthodologie suivie lors de cette étude locale, pour avoir un aperçu général de la méthode.

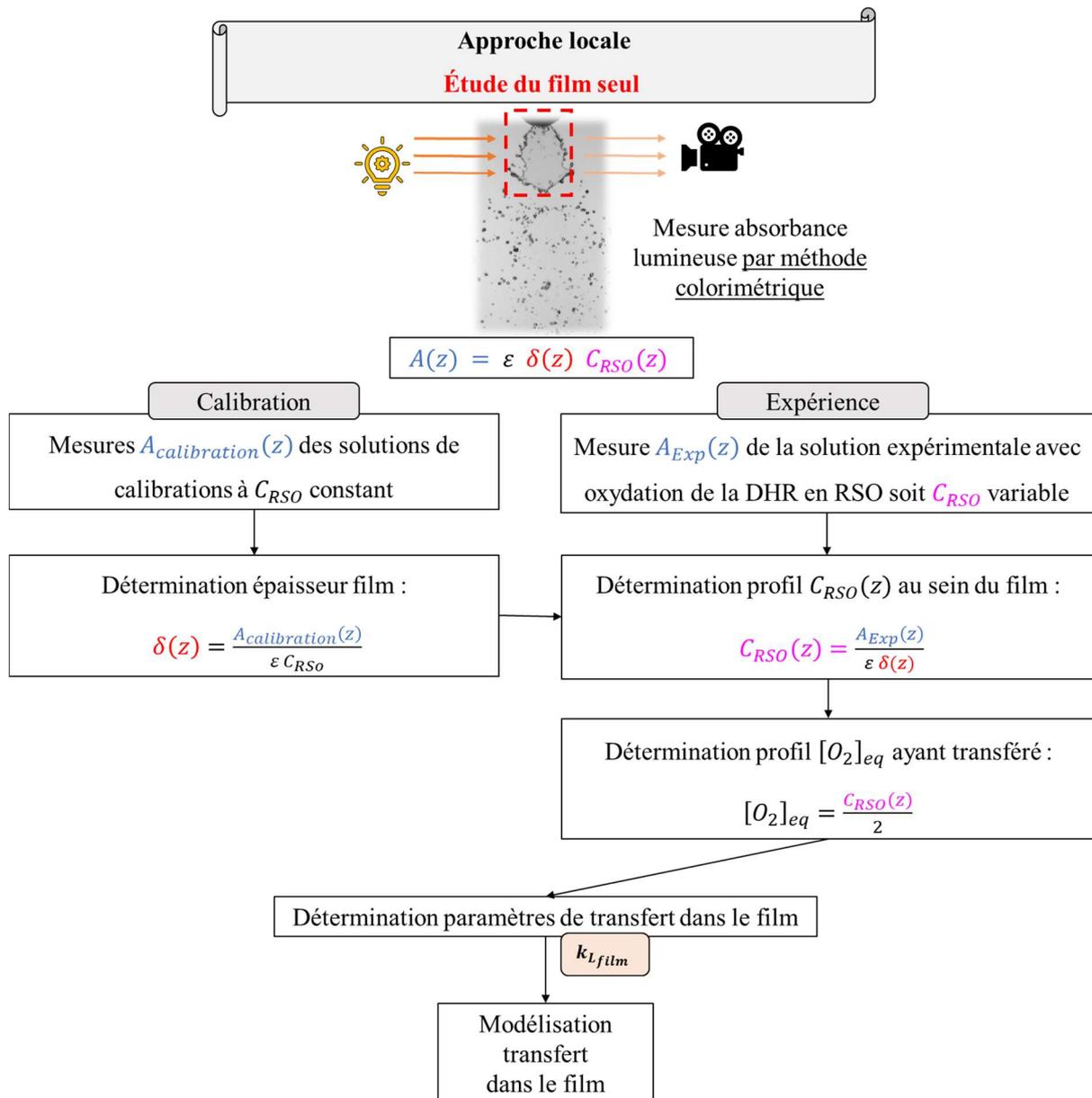


Figure 22 : Schéma de la méthodologie relative à l'étude locale du film liquide pour mesurer le profil d'épaisseur du film liquide ainsi que le profil de dioxygène équivalent ayant transféré dans le liquide et pour réaliser une analyse de transfert de matière.

2) RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1) Identification du phénomène de transfert dans le spray par étude globale

Une première étude globale est réalisée pour comparer les profils de concentration en soluté dissous dans la phase aqueuse pulvérisée, dans le cas de la désorption d'ozone et de l'absorption de dioxygène (figure 18). Il s'agit d'observer si les concentrations d'équilibre pour chaque soluté sont atteintes aussi rapidement pour les deux configurations. Si tel est le cas, les pertes d'ozone observées dans un spray peuvent être associées aux phénomènes de transfert uniquement, et non à une auto-décomposition de l'ozone, puisque le profil de dioxygène traduit seulement un phénomène de transfert.

2.1.1) Étude de l'hydrodynamique des sprays produits

Avant de s'intéresser aux évolutions de concentration en soluté dans la phase liquide, il est nécessaire de caractériser l'hydrodynamique des sprays produits par les deux buses utilisées : ADX à injection d'air et AFX sans injection d'air. Les valeurs caractéristiques obtenues sont regroupées dans le tableau 7 suivant :

	ADX $d_{\text{orifice}}=1.08\text{mm}$	AFX $d_{\text{orifice}}=1.00\text{mm}$
Gouttes		
d_{32} (m)	$1,01 \times 10^{-3}$	$6,00 \times 10^{-4}$
U_{orifice} (m/s)	10,6	12,3
U_{gouttes} (m/s)	3,9	8,5
τ (s)	0,205	0,094
a_{gouttes} (m ² /m ³)	5940	10000
a_{gouttes}^0 (m ² /m ³)	0,61	0,47
Film		
L (m)	0,02	0,03
w (m)	0,015	0,015
δ (μm)	300	150
a_{film} (m ² /m ³)	7022	13600
a_{film}^0 (m ² /m ³)	0,025	0,036

Tableau 7: Récapitulatif des paramètres hydrodynamiques déterminés pour les buses ADX et AFX à 35L/ lors de l'étude globale du spray.

2.1.1.a) Vitesses et diamètres des gouttes produites par les deux buses

On peut voir dans le tableau 7 que pour un même débit de fonctionnement à 35L/h, le type de buse utilisé fait considérablement varier les caractéristiques du spray. Comme attendu, la buse à aspiration d'air ADX propose des gouttes plus grosses et plus lentes ($1,01 \times 10^{-3}$ m – 3,9m/s) que la buse AFX ($6,00 \times 10^{-4}$ m – 8,5m/s).

La vitesse de liquide estimée à la sortie de l'orifice est légèrement plus élevée pour la buse AFX (12,3m/s) que pour la buse à aspiration d'air ADX (10,6m/s). Disposant d'une vitesse d'éjection plus faible, les gouttes de la buse ADX subissent une atomisation « grossière » par manque de vitesse relative entre l'air et l'eau pulvérisée. Avec leur diamètre plus élevé, les gouttes produites par la buse ADX sont ralenties plus aisément par les forces de frottements, ce qui résulte en une vitesse de gouttes plus faible. Cette différence de vitesse mesurée peut également s'expliquer par le fait qu'avec l'aspiration d'air, la buse ADX partage l'énergie cinétique apporté au liquide avec l'air aspiré.

En considérant la distance maximale de collecte, soit 80cm, le temps de contact dont dispose les gouttes pour échanger leur soluté avec l'air ont été déterminés : les petites gouttes rapides de l'AFX passent 0,094s dans l'air avant d'être collectées tandis que les grosses gouttes plus lentes de l'ADX disposent du double de temps de contact avec 0,205s.

2.1.1.b) Dimensions du film liquide

La géométrie des films atomisant le liquide en gouttes a été estimée pour les deux buses de l'étude. Des images représentatives des films liquide sont reportées pour les deux buses dans la figure 23.

La figure 23 montre que la buse à aspiration d'air ADX semble produire un film plus court et plus épais que la buse AFX ($L=2$ cm et $\delta=300\mu\text{m}$ pour ADX contre $L=3$ cm et $\delta=150\mu\text{m}$ pour AFX). Il est possible que l'aspiration d'air favorise les instabilités au sein du film liquide par introduction de microbulles, résultant en une atomisation plus précoce et donc un film plus court. La largeur des films mesurés est quant à elle identique pour les deux buses utilisées, avec une largeur moyenne d'environ 1.5cm. Ces mesures montrent la très faible dimension de ce film comparé au spray dans son intégralité, qui s'étend dans notre étude au moins jusqu'à une distance de 80cm.

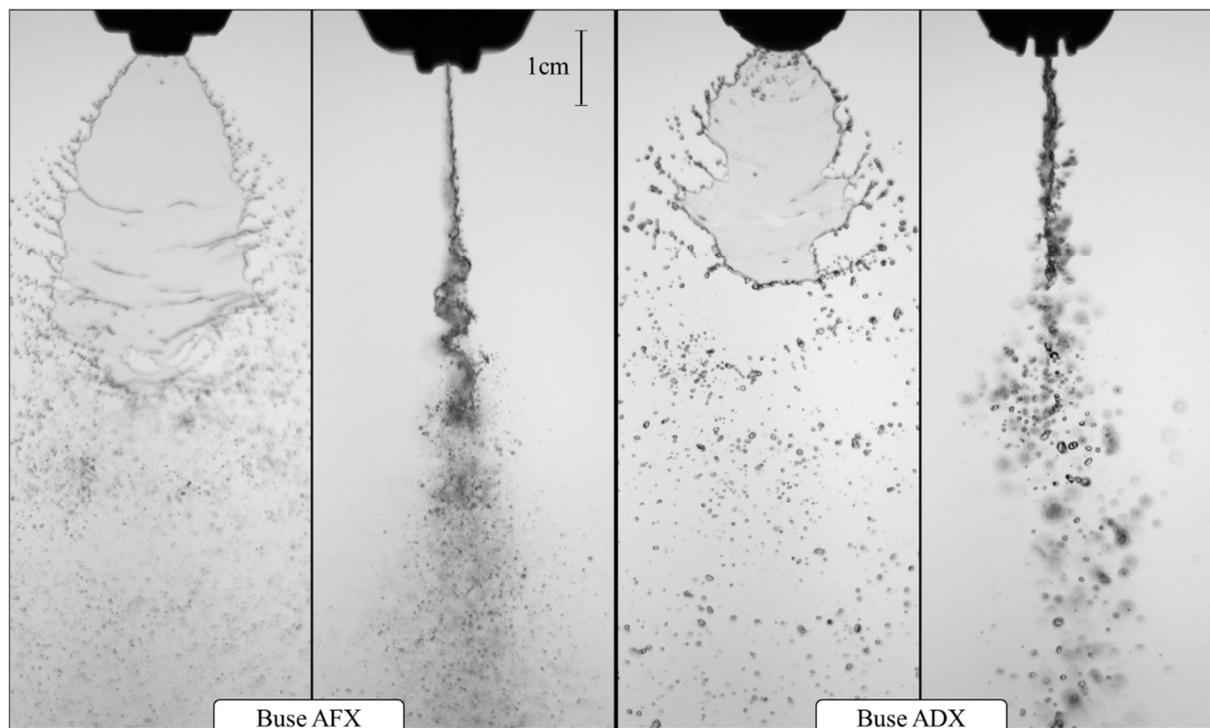


Figure 23 : Images prises de face et de côté pour les deux buses étudiées.

La mesure de l'épaisseur du film δ , directement à partir des images, est difficile et entachée d'erreur. En effet, comme visible à la figure 23 sur la vue de côté, le contour du film n'est pas net à cause de l'effet de profondeur, car le film n'est pas entièrement sur le plan focal de la caméra. L'épaisseur mesurée par la vue de côté est donc très probablement surestimée, elle reste néanmoins très faible, de l'ordre de quelques microns.

2.1.1.c) Aires interfaciales des gouttes et du film liquide

L'aire interfaciale des gouttes produites par la buse AFX, sans aspiration d'air, est la plus grande, avec 10000 m² d'interface gaz-liquide par m³ de liquide pulvérisée contre 5940 pour la buse ADX à aspiration d'air. Ce résultat provient de la différence de diamètre des gouttes produites par les buses, pour un même volume de liquide, la buse AFX en produisant des gouttes plus petites offre une plus grande surface d'échange entre la phase liquide pulvérisée et l'air. Il semblerait également que le film produit par la buse AFX dispose d'une plus grande aire interfaciale (13600 m² d'interface par m³ de liquide pulvérisé) que la buse ADX à aspiration d'air (7022 m²/m³).

Ces aires interfaciales ramenées au volume de liquide pulvérisé sont plus grandes dans le cas du film que pour les gouttes, pour une même buse de pulvérisation. Cela indique que la configuration du liquide sous forme de film offre plus de surface d'échanges entre le gaz et le liquide qu'une configuration sous

forme de gouttes, pour un volume de liquide donné. Si l'on rapporte ces aires interfaciales au volume de réacteur (en considérant un cylindre de section 20cm et de hauteur 80cm), ce sont les gouttes qui proposent une aire interfaciale plus grande ($a_{gouttes}^0 = 0,61 \text{ m}^2$ d'interface par m^3 de réacteur $> a_{film}^0 = 0,20 \text{ m}^2/\text{m}^3$) que celle du film. Il est important de constater au regard du transfert de matière qu'un quart de la surface développée par le spray dans le cylindre prédéfini est concentré sur le film liquide, alors que ce dernier n'est présent que sur les trois premiers centimètres du spray. Les gouttes quant à elles développent les trois quarts de surface restants sur les 77 derniers centimètres de spray.

Il sera toutefois très important de considérer le transfert de matière qui se produit au niveau du film sachant qu'en plus d'une surface d'échange très propice au transfert, le film est associé aux plus fortes vitesses de liquide et au plus fort potentiel d'échange.

Cette étude hydrodynamique permet de connaître le comportement des deux buses de pulvérisation utilisées. La buse ADX avec aspiration d'air produit des grosses gouttes dont l'aire interfaciale est modérée, avec une vitesse lente qui permet plus de temps de contact entre l'eau pulvérisée et l'air. Quant à la buse AFX, elle propose une meilleure aire interfaciale grâce à la production de gouttes plus fines, avec des temps de séjour dans l'air plus courts. Il est temps d'observer quelle configuration est propice à l'échange de soluté dans le spray en analysant les profils de concentration en soluté le long du spray pour deux solutés différents, l'ozone et le dioxygène.

2.1.2) Profils de concentration en ozone et dioxygène dissous le long du spray

La méthode de collecte décrite dans la section méthode pour l'étude globale (figure 18), permet l'obtention des concentrations en ozone ou en dioxygène le long du spray pour la désorption de l'ozone et l'absorption de l'oxygène. Les profils obtenus sont présentés à la figure 24. Pour chaque soluté, les deux buses ADX et AFX ont été utilisées.

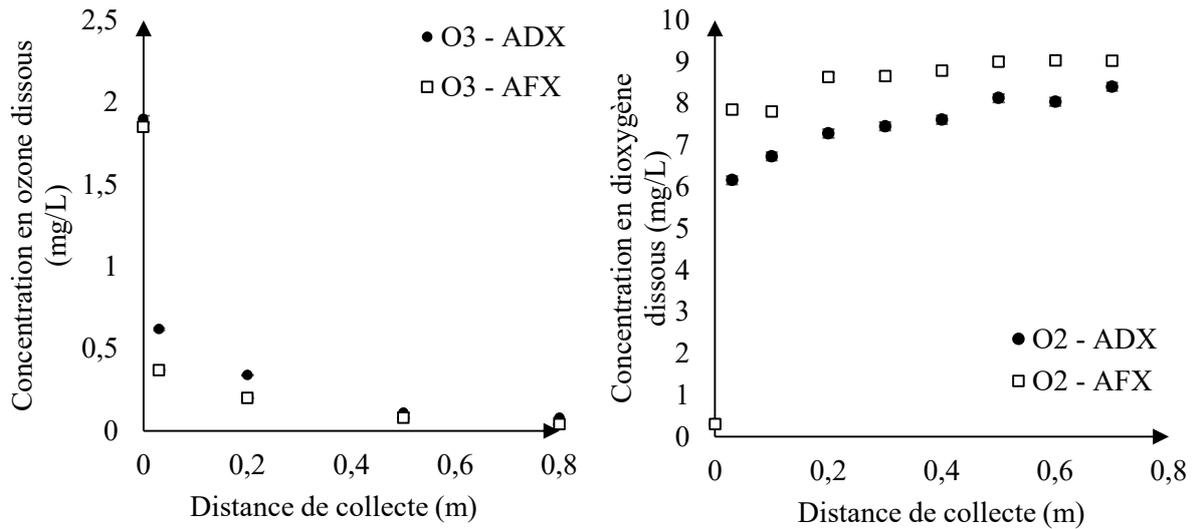


Figure 24 : Évolution de la concentration en soluté dissous au sein du spray pour la buse ADX à aspiration d'air et AFX sans aspiration d'air, pour la désorption de l'ozone (gauche) et l'absorption du dioxygène (droite).

2.1.2.a) Analyse des profils pour chaque soluté et buses

Comme attendu, la concentration en ozone dissous dans le spray diminue drastiquement de la buse au lieu de collecte, et tend vers 0mg/L, concentration théorique de l'ozone dans un liquide en contact avec une phase gazeuse dépourvue d'ozone. D'autre part, la concentration en dioxygène dissous augmente très rapidement dans le spray de la buse jusqu'au lieu de collecte, pour atteindre une concentration plateau d'environ 9mg/L, qui correspond encore une fois à la concentration théorique en dioxygène dans un liquide en contact avec de l'air à pression atmosphérique et température ambiante (Roustan, 2003). En ce sens, les évolutions très rapides observées dans la phase liquide pulvérisée semblent donc être uniquement contrôlées dans les deux cas par l'équilibre de Henry écartant l'hypothèse d'une disparition d'ozone par décomposition dans le spray. La buse AFX semble proposer une hydrodynamique et un transfert favorisant l'atteinte de cet équilibre car les concentrations mesurées en chaque point du spray sont toujours plus proches de l'équilibre que lors de l'utilisation de la buse ADX.

Les profils de concentration dans le spray pour les deux solutés présentent de très fortes analogies. Tout d'abord, la première concentration mesurée à 3cm après la buse est nettement différente de la concentration initiale de la solution avant pulvérisation : l'ozone dissous dans le liquide voit sa concentration diminuer de 1,9 à 0,62mgO₃/L en l'espace de 3 centimètres tandis que le dioxygène dissous subit également une forte augmentation dans cette zone en passant de 0,3 à 6,16mgO₂/L. Cette

variation de concentration est considérable comparée au reste du spray, puisque dans les 77 cm restants de spray, une telle variation n'est pas égalée. En effet sur la distance restante, la concentration d'ozone est simplement passé de 0,62 à 0,08mgO₃/L et celle du dioxygène de 6,16 à 8,40mgO₂/L. Autrement dit, dans les 3 premiers centimètres, la majorité du « chemin » menant à la concentration d'équilibre est réalisé. C'est dans ces premiers centimètres que le phénomène de transfert le plus important se produit, là où se trouve le film liquide.

2.1.2.b) Équivalence des profils mesurés : identification du transfert de matière physique

Afin de mieux comparer les deux profils de soluté, il est intéressant d'analyser l'atteinte de l'équilibre par le système gaz-liquide. Pour réaliser cette normalisation, il faut comparer la variation de concentration réelle observée à la variation maximale atteignable, on obtient ainsi la progression des concentrations en soluté dans le spray vers l'état d'équilibre :

$$Etat\ d'équilibre = \frac{C_{O_3}^{L,0} - C_{O_3}^L}{C_{O_3}^{L,0} - C_{O_3}^{L,*}}$$

Équation 44

Avec $C_{O_3}^{L,0}$ la concentration en ozone dissous initiale dans la cuve avant pulvérisation.

Et pour le dioxygène

$$Etat\ d'équilibre = \frac{C_{O_2}^L - C_{O_2}^{L,0}}{C_{O_2}^{L,*} - C_{O_2}^L}$$

Équation 45

Avec $C_{O_2}^{L,0}$ la concentration en dioxygène dissous initiale dans la cuve avant pulvérisation.

Cette transformation permet de tracer la figure 25 qui renseigne sur le degré d'atteinte de l'équilibre pour chaque soluté et buse étudiés en fonction de la distance à la buse.

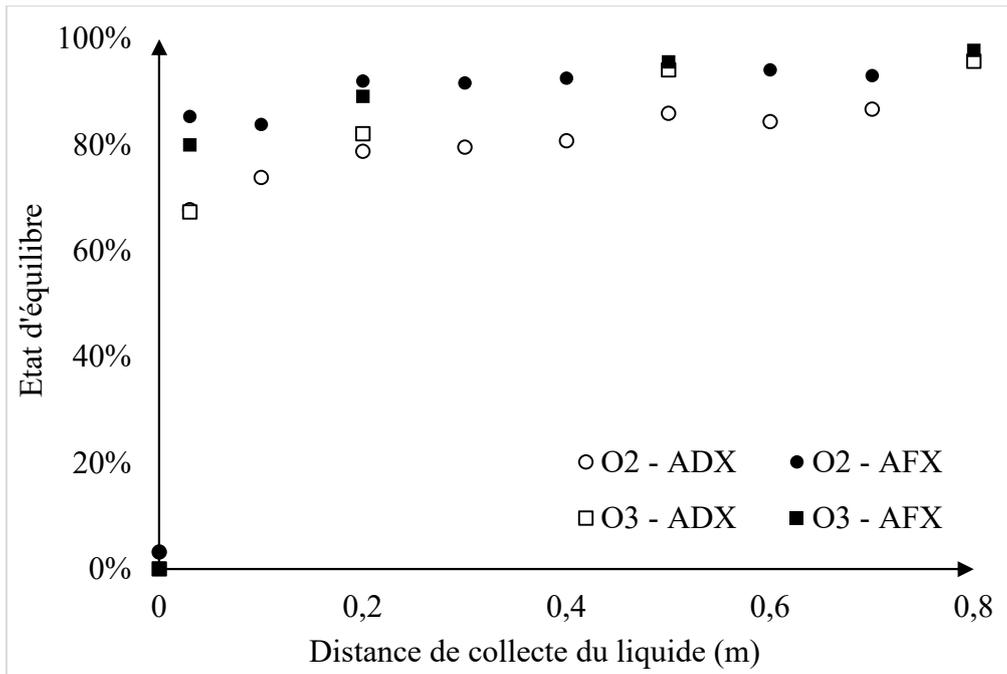


Figure 25 : Degré d'atteinte de l'équilibre de Henry tel que défini avec les équations 44 et 45 le long du spray pour les deux buses étudiées.

Avec la figure 25, la similarité entre les profils de concentration d'ozone et du dioxygène est frappante. Dans les premiers centimètres, l'évolution de concentration en soluté est telle qu'environ 70% de l'équilibre en concentration est atteint au sein du liquide dans le cas de l'utilisation de la buse ADX. Au bout de 80cm, cet équilibre est quasiment atteint avec des valeurs atteignant 98% par exemple pour la buse AFX. Les valeurs d'approche de l'équilibre sont très proches pour les deux solutés lors de l'utilisation d'une même buse de pulvérisation, bien que les techniques de mesures en soluté dissous soient différentes. La méthode globale d'étude du spray par collecte propose ici une bonne description de l'évolution en soluté au sein du spray. La proximité du profil du dioxygène subissant uniquement un transfert de matière avec le profil d'ozone permet d'affirmer que le transfert de matière explique la quasi-intégralité des pertes d'ozone observées lors de la pulvérisation d'eau ozonée.

2.1.3) Estimation des pertes d'ozone dissous par réaction chimique d'auto-décomposition de l'ozone

Toutefois, pour s'assurer que les faibles différences observées entre ces deux profils ne soient pas dues à une réaction d'auto-décomposition de l'ozone mais plutôt liées à des incertitudes de mesures, une estimation de l'auto-décomposition qui pourrait se produire durant la pulvérisation est réalisée et comparée au profil expérimental de concentration en ozone dissous obtenu avec la buse ADX, sur la figure 26.

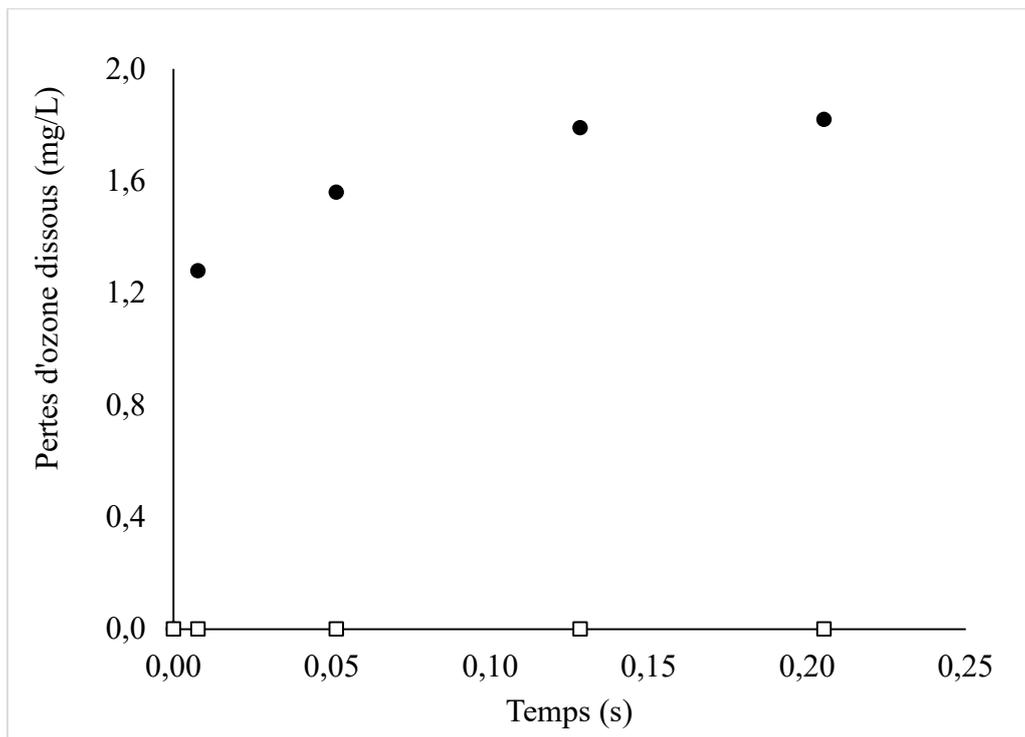


Figure 26 : Comparaison entre les pertes d'ozone observées expérimentalement avec la buse ADX (cercles noirs) et la modélisation des pertes provoquées par auto-décomposition de l'ozone (carrés blancs).

En considérant les vitesses des gouttes dans le spray, chaque distance de collecte est remplacée par le temps que les gouttes ont passé en contact avec l'air. Ce temps est utilisé ensuite pour estimer via la cinétique de décomposition de l'ozone la quantité restante. On remarque que, pour la durée passée par le liquide dans l'air, les pertes d'ozone dans la phase liquide dans le cas d'une auto-décomposition sont négligeables. Autrement dit, avec les faibles temps mis en jeu, la réaction d'auto-décomposition n'est pas assez rapide pour produire une variation significative de la concentration en ozone dissous dans la phase liquide, contrairement au transfert de matière qui lui génère une variation considérable de concentration.

2.1.4) Le transfert de matière responsable des pertes d'ozone, avec deux régimes différents dans le spray

Le transfert de matière est donc responsable de l'intégralité des pertes d'ozone observées dans la phase liquide lors de la pulvérisation d'eau ozonée. Ce transfert de matière semble proposer deux régimes différents selon la région du spray, tel que l'illustre la figure 25. La vitesse de transfert (g/s) calculée et présentée dans le tableau 8, est très forte dans les premiers centimètres à la sortie de la buse, là où le film liquide est présent et se scinde en gouttelettes. En effet cette zone conduit le système gaz-liquide à 67% de l'équilibre en à peine 3cm de distance d'échange, dans le cas de la buse ADX. Sur les 77cm restants, où seules les gouttes formées contribuent aux échanges gaz-liquide, seulement 30% de l'équilibre sont réalisées, supposant une vitesse de transfert (g/s) plus faible que dans le cas du film liquide.

Ainsi le spray pourrait se décomposer en deux régions de transfert distinctes : (i) le film liquide en atomisation, où la vitesse de transfert est élevée mais où la surface développée ne représente qu'un tiers de la surface totale du spray, (ii) le nuage de gouttes qui compose la quasi-majorité du spray et dont la vitesse de transfert est plus modérée. La détermination des coefficients de transferts de matière pour chacune de ces régions permettra la quantification de la vitesse de transfert dans ces régions et de valider l'hypothèse précédente.

2.1.5) Coefficients de transfert de matière déterminés avec la méthode globale de collecte

Pour caractériser le transfert se produisant dans la région du film liquide et dans celle des gouttes, la détermination de coefficients volumétrique de transfert coté liquide ($k_L a$) est réalisée pour chaque région en utilisant l'équation 25, pour les gouttes et le film. Le tableau 8 regroupe les aires interfaciales obtenues avec l'étude hydrodynamique et les coefficients de transfert calculés pour chaque région.

Soluté	ADX		AFX	
	O ₂	O ₃	O ₂	O ₃
$a_{gouttes}$ (m ² /m ³)	5940		10000	
a_{film} (m ² /m ³)	7022		13600	
$(C^{L,*} - C^L)_{gouttes}$ (mg/L)	2,84	-0,62	1,15	-0,37
$(C^{L,*} - C^L)_{film}$ (mg/L)	9	-1,85	9	-1,85
$\overline{k_L a}$ (s ⁻¹)	10,92	15,44	32,07	40,73
$(k_L a)_{gouttes}$ (s ⁻¹)	4,82	10,37	8,84	24,55
$(k_L a)_{film}$ (s ⁻¹)	147,16	145,58	550,83	456,01
$\overline{k_L}$ (m/s)	$1,84 \times 10^{-3}$	$2,60 \times 10^{-3}$	$3,21 \times 10^{-3}$	$4,07 \times 10^{-3}$
$(k_L)_{gouttes}$ (m/s)	$8,11 \times 10^{-4}$	$1,75 \times 10^{-3}$	$8,84 \times 10^{-4}$	$2,45 \times 10^{-3}$
$(k_L)_{film}$ (m/s)	$2,1 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-2}$	$4,10 \times 10^{-2}$	$3,35 \times 10^{-2}$
$\Phi_{gouttes}$ (g/s)	$2,63 \times 10^{-5}$	$1,23 \times 10^{-5}$	$8,95 \times 10^{-6}$	$8,00 \times 10^{-6}$
Φ_{film} (g/s)	$1,19 \times 10^{-4}$	$2,42 \times 10^{-5}$	$3,35 \times 10^{-4}$	$5,69 \times 10^{-5}$

Tableau 8 : Récapitulatif des paramètres de transfert déterminés à partir des profils de concentrations dans le spray pour un débit de 35 L/h lors de l'étude globale du spray.

Les résultats du tableau 8 indique que le coefficient volumétrique moyen de transfert présent au sein du film liquide est plus « rapide » que dans le reste du spray. En effet si l'on prend le cas de la buse AFX, le coefficient volumétrique de transfert coté liquide est beaucoup plus élevé pour la région du film ($(k_L a)_{film} = 550,83 \text{ s}^{-1}$) que celui déterminé pour la région des gouttes ($(k_L a)_{gouttes} = 8,84 \text{ s}^{-1}$). Ce comportement est observé pour les deux solutés et les deux buses étudiées, il avait également été mis en avant pour d'autres systèmes dans les études de (Simpson & Lynn, 1977; Yeh & Rochelle, 2003; Lin *et al*, 1977). Les régions de formation des gouttes et des bulles dans les systèmes gaz-liquide proposent

aussi des vitesses de transfert plus élevées que lorsque ces inclusions sont déjà formées comme l'ont montré des études sur la formation de bulles (Wegener *et al*, 2009; Xu *et al*, 2008; Yang *et al*, 2016).

Le transfert plus élevé observé dans la région du film liquide peut s'expliquer par la présence d'aires interfaciales élevées et disponibles pour réaliser les échanges de soluté, comme l'a montré l'étude hydrodynamique.

La différence de régime de transfert, observée entre les gouttes et le film, peut également provenir de conditions hydrodynamiques favorables à la diffusion des solutés entre les phases. Comparé aux gouttes où la circulation interne du liquide peut quelquefois être limitée, les fortes vitesses, la faible épaisseur et les instabilités présentes dans le film liquide offrirait une diminution et un meilleur renouvellement de la couche limite de diffusion côté liquide, facilitant la traversée des molécules vers la phase gaz. Pour connaître la contribution précise des effets hydrodynamique ou de surface sur le transfert présent au sein du film liquide, les coefficients de transfert coté liquide k_L sont déterminés à partir du coefficient volumétrique de transfert $k_L a$, et de l'aire interfaciale associée a .

Les valeurs de k_L obtenues pour les gouttes sont en accord avec celles que l'on retrouve dans la littérature, validant la méthode globale utilisée ici pour caractériser le transfert (Pigford & Pyle, 1951; Turpin *et al*, 2008). Le coefficient de transfert déterminé pour le film liquide ($(k_L)_{film} = 4,1 \times 10^{-2}$ m/s) est encore une fois plus élevé que celui obtenu pour les gouttes ($(k_L)_{gouttes} = 8,84 \times 10^{-4}$ m/s). Cette différence permet de justifier de conditions hydrodynamiques très favorables au transfert dans le film liquide comparé aux gouttes.

Le fort transfert se déroulant au sein du film liquide s'explique donc par la mise à disposition d'une très forte aire interfaciale associée à des conditions hydrodynamiques très favorables (vitesse liquide très élevées \rightarrow turbulence) et un potentiel d'échange maximum. Un doute peut toutefois persister quant à la précision de la méthode de collecte à proximité de la buse, où les fortes vitesses d'éjection du liquide peuvent provoquer des remous et de la turbulence dans le collecteur et ainsi augmenter le transfert de matière déterminé a priori. Une étude locale du film liquide par des techniques plus avancées est donc nécessaire pour valider la différence de régime mesurée avec la méthode globale de caractérisation de spray utilisée jusqu'ici.

2.1.6) Modélisation du transfert de matière dans le spray

2.1.6.a) Tentative de modélisation de l'intégralité du spray

À partir du diamètre moyen de gouttes et de la vitesse moyenne des gouttes du spray produit par la buse ADX, un coefficient de transfert k_L a été déterminé par la corrélation de SABONI présentée avec l'équation 12. Ce coefficient modélisé ($k_L = 2,1 \times 10^{-3}$ m/s), cohérent avec les valeurs de la littérature, est ensuite intégré dans l'équation 28 pour prédire l'évolution du profil vertical de concentration au sein de la globalité du spray : de la buse au dernier point de collecte. Ces profils modélisés sont présentés sur la figure 27 pour les comparer avec les profils expérimentaux obtenus avec la buse ADX :

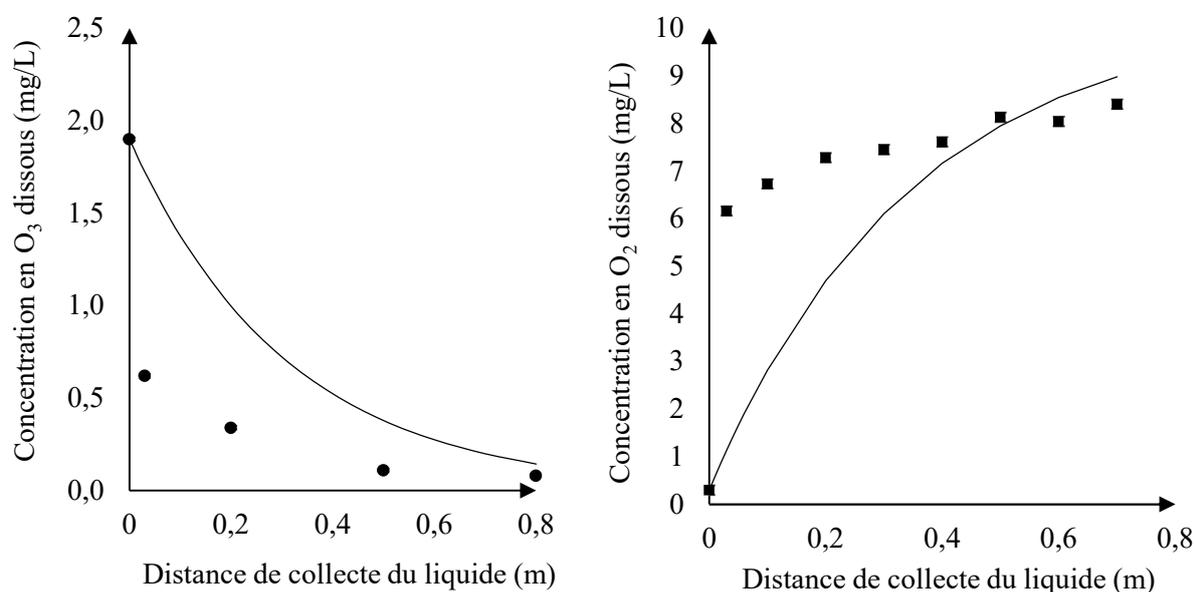


Figure 27 : Profils expérimentaux (carrés noirs) et modélisés (ligne pleine) de la concentration en soluté au sein de la phase liquide le long du spray pour la buse ADX dans le cas de l'ozone (gauche) et du dioxygène (droite).

La figure 27 montre la modélisation globale du transfert entre la sortie de la buse et le dernier point de mesure. L'évolution de la concentration modélisée ne suit pas les points expérimentaux. Ni la région du film liquide, ni la région du nuage de gouttes n'est modélisée correctement. Les forts échanges dans le film liquide semblent responsables de cette mauvaise modélisation. En effet, la corrélation de Saboni (équation 12) proposée pour modéliser le coefficient de transfert est valable uniquement pour des gouttes sphériques qui chutent, elle n'est pas adaptée à la description du transfert de matière propre au film liquide.

2.1.6.b) Modélisation de la partie gouttes uniquement

Pour cette raison, le modèle de transfert de gouttes est cette fois-ci appliqué à partir du moment où les gouttes sont formées, soit en sortie de film à $z=3\text{cm}$. Le modèle corrigé utilise donc la concentration en soluté mesurée à $z=3\text{cm}$ comme concentration initiale ($C_{j,0}^L = C_{j,z=3\text{cm}}^L$). Ce modèle corrigé est présenté dans la figure 28 pour comparaison avec les profils expérimentaux :

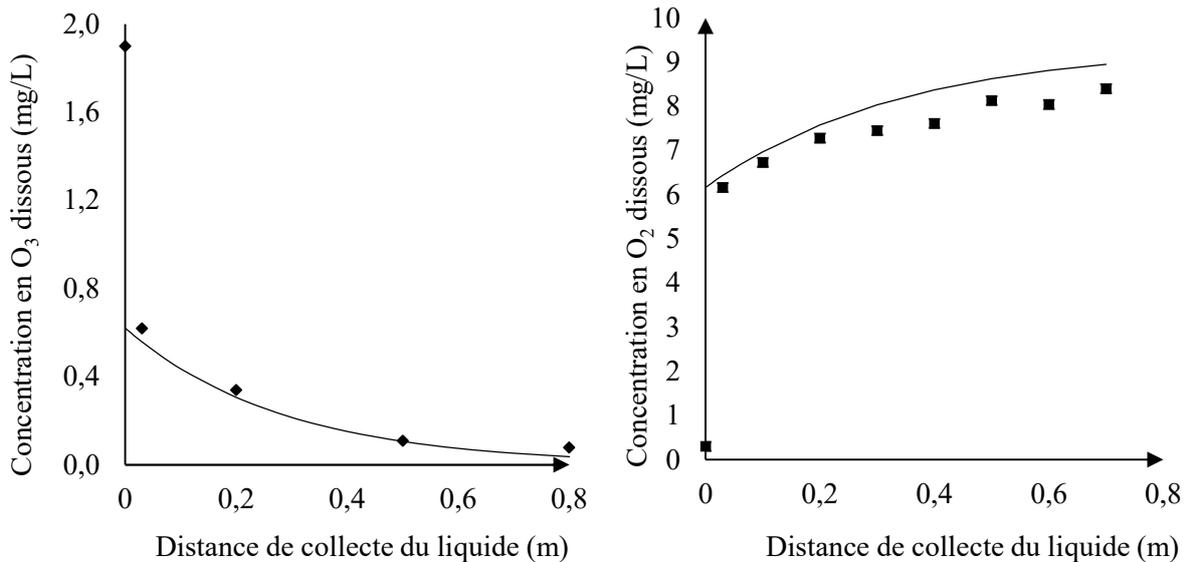


Figure 28 : Profils expérimentaux (carrés noirs) et modélisés après correction (ligne pleine) de la concentration en soluté au sein de la phase liquide le long du spray pour la buse ADX dans le cas de l'ozone (gauche) et du dioxygène (droite).

Bien que les fortes variations de concentrations dans les premiers centimètres soient ignorées, l'évolution de la concentration en soluté dans le nuage de goutte, une fois les gouttes formées, est très bien modélisée comme en témoigne la proximité des points expérimentaux avec la courbe modélisée. Cela confirme la validité des coefficients de transfert de goutte déterminés et du modèle utilisé pour des échanges de soluté entre des gouttes liquides et une phase gaz. La région du film liquide n'est pas modélisable avec le type de corrélation utilisées ici qui s'appuie uniquement sur la vitesse et le diamètre des gouttes produites par la pulvérisation. Cette différence de modélisation illustre la différence d'écoulement dans ces deux régions, et notamment la différence de régime de transfert qui en résulte. À ce jour, aucune corrélation n'existe dans la littérature pour décrire le transfert se déroulant au sein de ce film liquide. Le manque de précision spatiale et temporelle de la méthode globale de collecte ne permet pas de produire de corrélations pertinentes permettant de définir les paramètres clés du transfert dans le film. Une étude locale permettrait l'obtention de telles corrélations et rendrait possible la modélisation du transfert dans un spray depuis la zone de formation jusqu'au nuage de gouttes.

2.2) Étude locale du film liquide

L'étude globale justifie la nécessité d'une étude approfondie de la région du film liquide. La méthode colorimétrique proposée dans la section matériel et méthode permet la mesure de l'épaisseur du film liquide ainsi que la détermination du profil de concentration en soluté transféré dans le film. Elle repose sur l'utilisation de la loi de Beer-Lambert à travers l'épaisseur du film. Avant toute mesure d'absorbance pour la détermination des paramètres du film, la validité de cette loi doit être prouvée.

2.2.1) Procédure de validation

2.2.1.a) *Incidence normale de la lumière pour utiliser la loi de Beer-Lambert*

La première étape de la procédure de validation de la loi de Beer-Lambert est de déterminer si le système optique produit des rayons lumineux dont l'incidence avec le film liquide est bien normale. L'équation de Fresnel précise la proportion des rayons lumineux qui sont réfléchis à l'interface de deux milieux optiques d'indices différents (Träger, 2012). En considérant l'incidence normale des rayons lumineux, cette équation lie l'intensité lumineuse avant et après la traversée de l'interface. Le système air/film liquide proposant 2 interfaces gaz-liquide, l'équation de Fresnel donne :

$$\left(\frac{I_{ref}}{I_0}\right)_{théorique} = \left(1 - \left(\frac{n_{air} - n_{solution}}{n_{air} + n_{solution}}\right)^2\right)^2$$

Équation 46

Avec n_{air} et $n_{solution}$ respectivement les indices optiques de l'air et de la solution de référence et I_0 l'intensité reçue par la caméra sans pulvérisation de solution.

Notons que l'indice optique de la solution n'est que faiblement impacté par la présence du glucose en solution (Weber, 2018).

En mesurant l'intensité du fond lumineux seul (I_0) reçu par la caméra quand aucun liquide n'est pulvérisé et en le comparant avec I_{ref} obtenue quand la solution de référence est pulvérisée, il est possible de tracer la fraction de l'intensité lumineuse perdue par la traversée successive des deux interfaces gaz-liquide comme illustré à la figure 29.

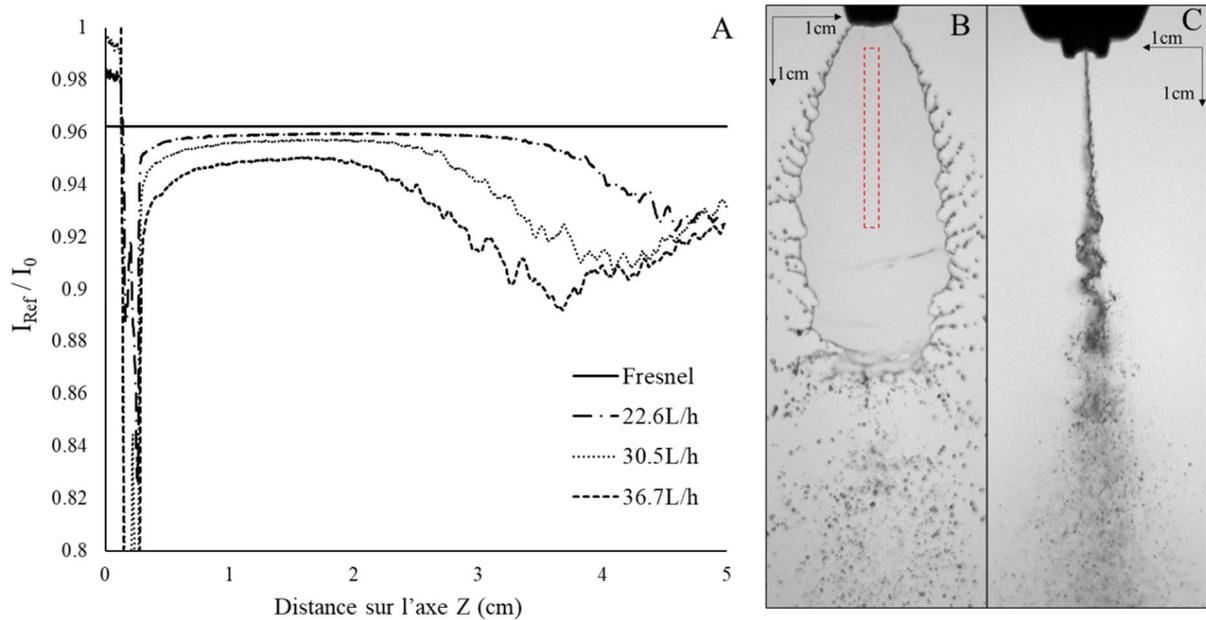


Figure 29 : Ratio entre l'intensité lumineuse du fond I_0 et de l'intensité I_{ref} mesurée lors du passage de la solution de référence à différents débits le long du film liquide pour la buse AFX (A). Images avec une prise de vue plus large pour observer entièrement le film liquide de face (B) et de côté (C). Le rectangle rouge représente la fenêtre optique définie pour le débit de 22.6L/h.

Les fortes variations obtenues pour les courbes expérimentales à la figure 29A entre $z = 0\text{cm}$ et $z = 0,3\text{cm}$ correspondent à la partie de l'image où la buse est localisée. Comme le montre les figures 29B et C, la lumière ne traverse pas la buse de pulvérisation, cette partie apparaît donc en noir sur l'image ce qui correspond à des faibles intensités lumineuses. Ceci est le cas pour le profil du fond $I_0(z)$ et de la solution de référence $I_{ref}(z)$, ainsi le ratio de ces faibles valeurs d'intensités varie fortement notamment avec le bruit de la caméra qui provoque de légères variations d'intensité.

De plus, sur la seconde partie de la figure 29A, à partir d'environ $z=3\text{cm}$, les courbes varient fortement et s'éloignent de l'équation 46 de Fresnel. Cet écart est dû à l'augmentation des instabilités au sein du film comme le montre la figure 29C. Avec cette vue de côté, il est possible d'observer l'amplitude grandissante des oscillations dans la direction de l'écoulement. Cela se traduit, comme illustré par la figure 23, avec l'apparition de « plis » sombres au cœur du film liquide qui provoquent des réductions locales d'intensités reçues à la caméra. Ces instabilités grandissantes mènent à la rupture du film liquide, et cette rupture semble être décrite par la diminution des courbes sur la seconde partie du graphique en figure 29A. Cette diminution se produit plus proche de la buse pour les débits élevés, ce qui pourrait signifier que les films produits sont plus courts avec l'augmentation du débit.

2.2.1.b) Détermination des fenêtres optiques d'incidence normale de la lumière

Les courbes expérimentales et celles prédites par l'équation 46 de Fresnel pour la majorité de la région étudiée définie par le carré rouge, sont relativement proches. Il semble donc que l'incidence normale des rayons lumineux à travers le film liquide soit respectée. Il est ensuite nécessaire de déterminer les fenêtres optiques où cette incidence normale peut être considérée valide. Les fenêtres optiques pour les débits de 22,6 et 30,5L/h sont définies par les régions où les courbes I_{ref}/I_0 s'éloignent de moins de 1% de la théorie de Fresnel. Les fenêtres optiques résultantes sont comprises entre $z = 0,3\text{cm}$ et $z = 2,9\text{cm}$ pour le débit de 22,6L/h, et entre $z = 0,35\text{cm}$ jusqu'à $z = 2,5\text{cm}$ pour le débit de 30,5L/h. Le débit de 36,7L/h voit sa courbe expérimentale être plus éloignée de la théorie que celle des plus faibles débits, sa fenêtre optique est donc définie pour un écart de 2% avec l'équation de Fresnel. Il en résulte une fenêtre optique plus courte, de $z = 0,5\text{cm}$ à $z = 2,0\text{cm}$. Il faut noter qu'aucune fenêtre optique ne débute à $z = 0\text{cm}$ du fait de la présence de la buse et que l'incidence normale ne semble pas respectée dans les premiers millimètres après la buse. Les fenêtres optiques ainsi définies sont présentées sur la figure 30 :

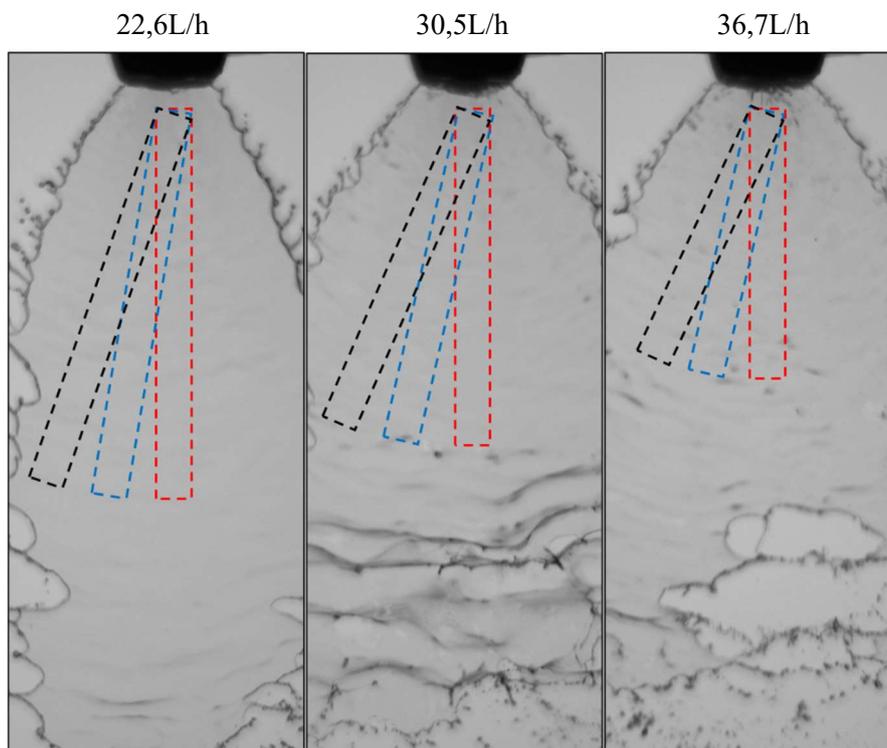


Figure 30 : Fenêtres optiques définies pour respecter une incidence normale de la lumière à travers le film liquide produit par la buse AFX. Les rectangles rouges, bleus et noirs représentent respectivement les régions 1, 2 et 3.

2.2.1.c) Absorbances des solutions pulvérisées

Une fois la fenêtre optique définie pour chaque débit testé, les profils d'absorbances dans le film liquide le long de l'axe Z sont déterminés à partir des équations 31 et 32. Pour le débit de 22,6L/h, les absorbances mesurées le long de la région 1 pour les solutions de calibrations et expérimentales pulvérisées sont représentées sur la figure 31.

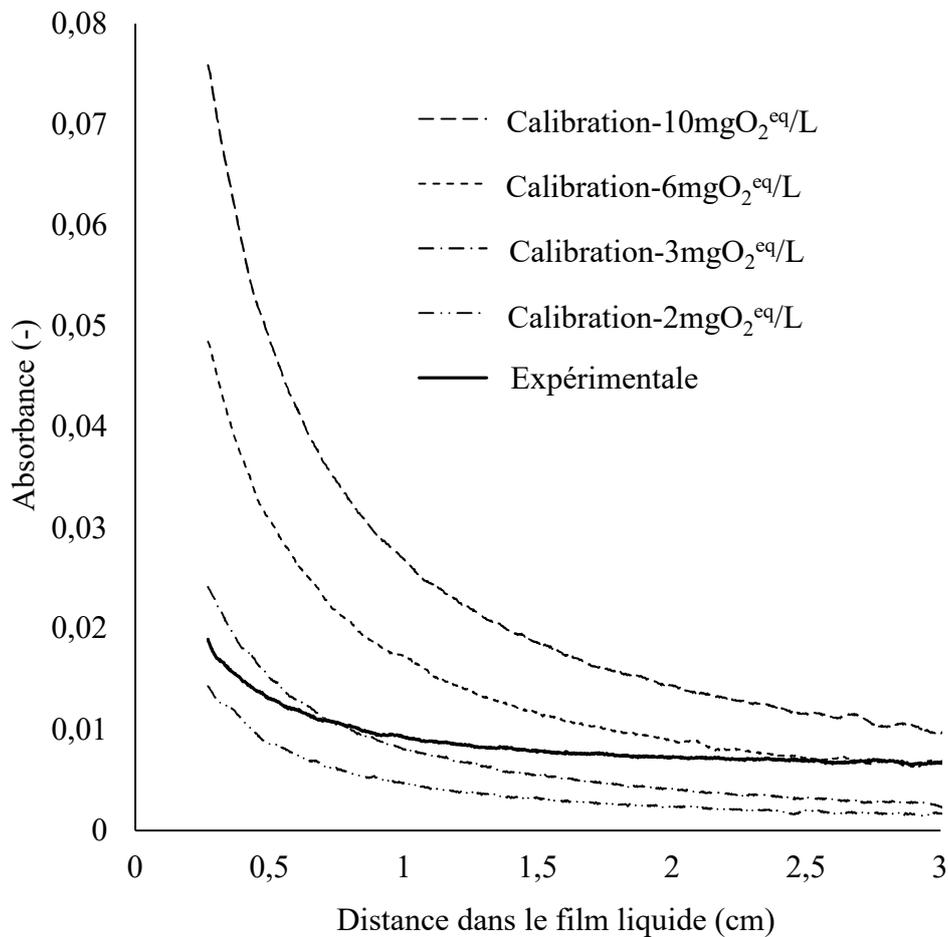


Figure 31 : Profils d'absorbance dans la fenêtre optique définie pour le débit de 22,6L/h, pour différentes solutions pulvérisées de concentration constante en RSO (solutions de calibrations) et pour une solution de DHR (expérimentale) avec la buse AFX.

La solution Calibration-6mgO₂^{eq}/L qui contient 120mg/L de RSO a une absorbance plus forte que la solution Calibration-3mgO₂^{eq}/L et ses 54mg/L de RSO. Pour cette dernière solution, l'absorbance est également plus élevée que l'absorbance de la solution Calibration-2mgO₂^{eq}/L contenant 40mg de RSO par litre. Il semble donc que pour des solutions pulvérisées de concentrations croissantes en RSO, les absorbances déterminées augmentent avec la concentration en RSO. Cette tendance est cohérente avec la loi de Beer-Lambert.

Aussi, les profils d'absorbances des solutions de calibration montrent un comportement commun : la diminution de l'absorbance le long du film. Selon la loi de Beer-Lambert telle que définie à l'équation 32, pour une concentration constante en colorant, le seul paramètre responsable d'une diminution de l'absorbance est l'épaisseur de liquide traversée par la lumière. La diminution de l'absorbance des solutions de calibrations dont la concentration en RSO est constante le long du film semble donc décrire une diminution de l'épaisseur du film liquide dans la direction de l'écoulement.

Le comportement des absorbances dans le film liquide semble en accord avec la loi de Beer-Lambert, mais avant de réaliser une étude quantitative sur les différents paramètres composant cette absorbance, il est nécessaire de justifier la linéarité de ces paramètres au sein de l'équation 32 pour le système optique présenté.

2.2.1.d) Linéarité de la loi de Beer-Lambert

Pour vérifier la linéarité de la loi de Beer-Lambert, il est nécessaire d'associer les absorbances mesurées à leurs valeurs respectives de concentration et d'épaisseur. Alors que les concentrations sont facilement déterminées à partir de la masse de colorant et du volume utilisés lors de la préparation des solutions de calibration, l'épaisseur du liquide est quant à elle inconnue.

Pour un débit donné, il est supposé que la buse produit un film dont le profil d'épaisseur sera toujours identique pour ce débit. Les instabilités au sein du film provoquent l'apparition de mouvements ondulatoires qui sont responsables de diminutions locales de l'intensité du fait de l'oscillation du liquide devant et derrière le plan focal de la lentille. Ces instabilités provoquent également des déformations de l'interface ce qui modifie l'incidence normale de la lumière à travers le film. Cependant, la fréquence d'apparition de ces instabilités est très faible dans les fenêtres optiques définies, c'est pourquoi 500 images ont été moyenné pour « gommer » le cas des images où ces instabilités apparaissent.

La figure 32 représente l'absorbance mesurée à une position donnée du film en fonction de la concentration en RSO de différentes solutions de calibration pulvérisées. À une position de 0,52cm du bord de l'image (carré sur la figure 32), l'évolution d'absorbance mesurée pour les 2, 3 et 6 mgO₂^{eq}/L est linéaire. Cette relation linéaire entre l'absorbance et la concentration a également été mise en évidence pour différentes positions dans le film, comme illustré par les différentes droites de la figure 32. Les linéarités observées valident l'utilisation de la loi de Beer-Lambert pour notre système optique,

dans le respect des fenêtres optiques définies. Il faut noter que la solution de $10\text{mgO}_2^{\text{eq}}/\text{L}$ n'est pas représentée sur la figure 32 car elle ne respectait pas la linéarité avec les 3 autres solutions. Cela provient probablement du fait que la concentration en resazurine étant élevée pour cette solution la loi de Beer-Lambert ne s'appliquait plus car elle est seulement valable à dilution infinie sans interactions entre solutés.

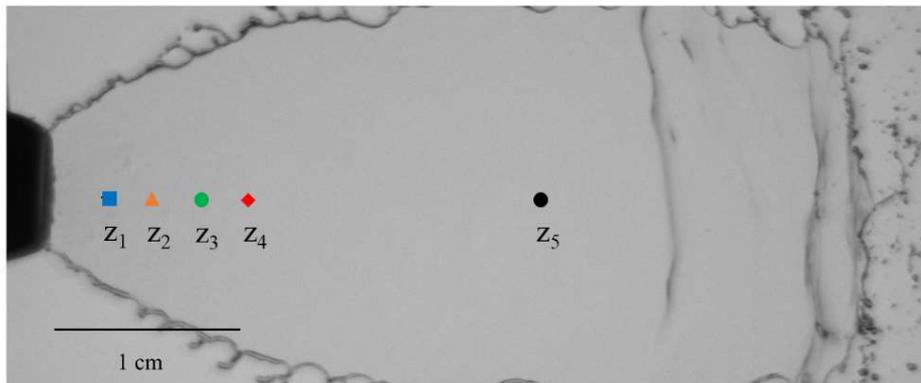
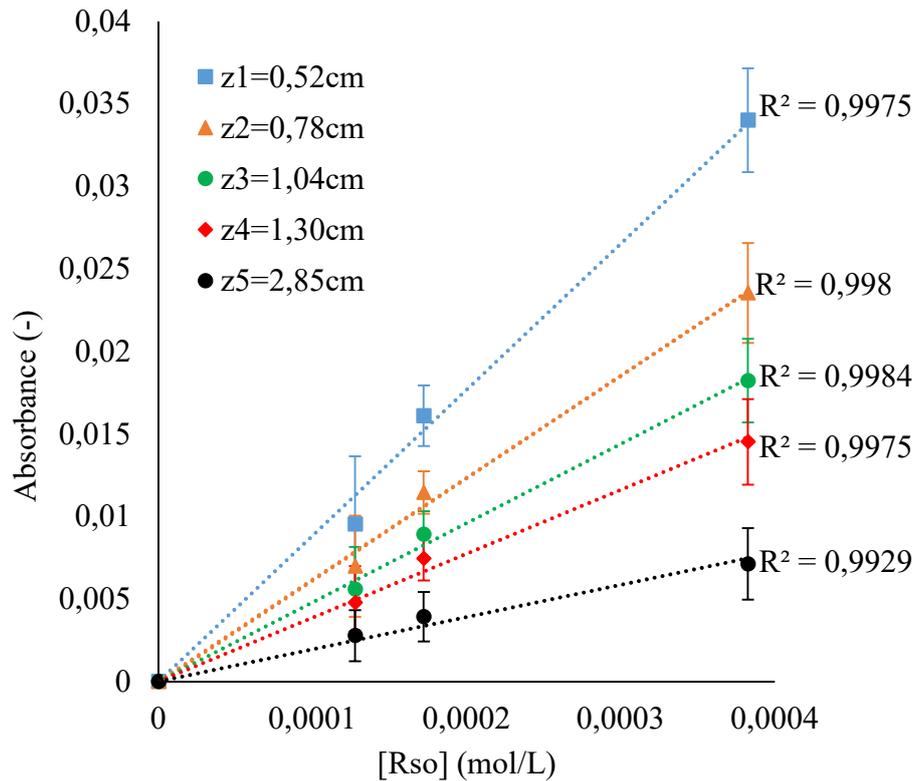


Figure 32 : Graphique : absorbances des solutions de RSO pulvérisées avec la buse AFX en fonction de leur concentration, pour différentes positions dans le film liquide pour un débit de $22,6\text{L/h}$ dans la région 1. Illustration : les différentes positions sont indiquées sur l'image du film liquide avec leurs symboles correspondants, et le rectangle en pointillés rouge représente la fenêtre optique pour le débit de $22,6\text{L/h}$.

Selon l'équation 32, la pente des courbes de la figure 32 correspond au terme $\varepsilon \times \delta(z)$. Les pentes de ces droites diminuent avec la distance dans le film. Le coefficient d'extinction molaire ε est une propriété intrinsèque et constante du colorant, ainsi la réduction des pentes avec la distance dans le film s'explique par la diminution de l'épaisseur du film, comme le suggérait la figure 31.

2.2.1.e) Détermination du coefficient d'extinction molaire ε de la RSO

Avec la figure 32, la linéarité entre l'absorbance et la concentration en colorant dans le liquide a été prouvée, l'équation 32 est donc valide pour permettre une analyse quantitative des différents paramètres issus de la mesure d'absorbance à travers le film liquide. Pour permettre cette quantification, il est nécessaire de déterminer ε pour utiliser l'équation 32. Les spectres de la figure 33 ont été obtenus avec un spectrophotomètre conventionnel (Jasco V-630, Allemagne), en mesurant l'absorbance de solutions de RSO de concentrations différentes :

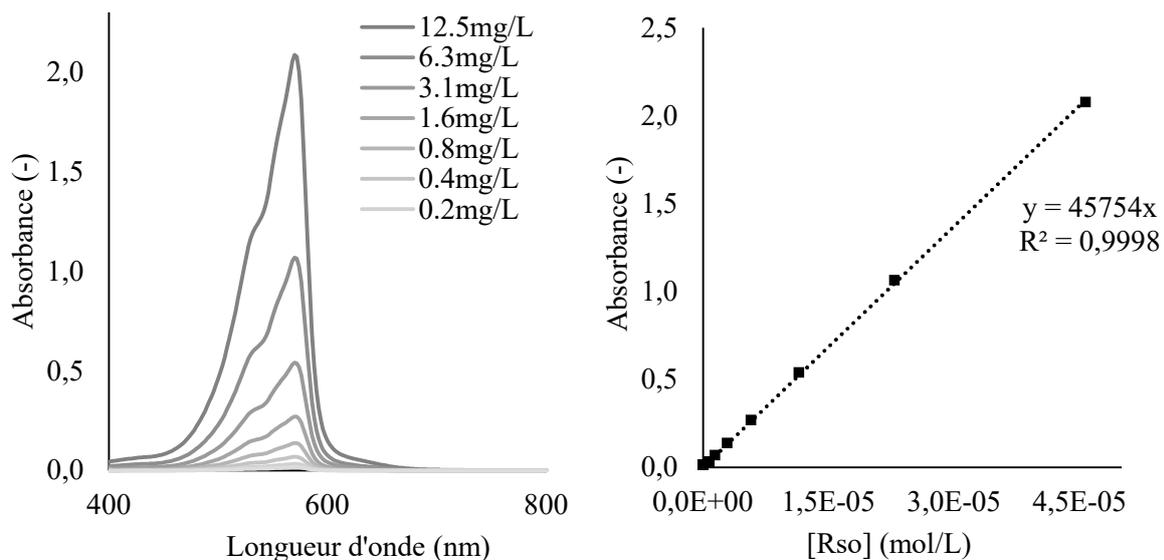


Figure 33: Spectres de solutions de RSO à différentes concentrations mesurées par un spectrophotomètre (gauche) et la courbe d'étalonnage correspondante à 572nm (droite).

Les spectres présentés sur la figure 33 montrent une absorbance maximale à 572nm. C'est la raison pour laquelle un filtre laissant passer les rayonnements autour de 550nm a été installé devant le panneau LED. Il assure que la caméra reçoive uniquement des rayons lumineux absorbables par la RSO. En mesurant l'absorbance à 572nm des solutions diluées de RSO, le coefficient d'extinction molaire a été déterminé et vaut $45754 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. La longueur d'onde d'absorbance maximale et la valeur de ε obtenues sont

cohérentes avec les valeurs trouvées dans la littérature pour la RSO : 4 à $7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Maeda *et al*, 2000).

Finalement, pour le système optique présenté, l'incidence normale de la lumière à travers le film peut être considérée pour des fenêtres optiques bien définies. La linéarité entre absorbances mesurées et concentration a été mise en évidence pour plusieurs positions dans le film, validant l'utilisation de la loi de Beer-Lambert pour l'analyse quantitative de l'épaisseur du film et de la concentration équivalente en dioxygène. Ainsi la présente méthode permet une analyse locale du transfert de matière au sein du film liquide.

2.2.2) Étude hydrodynamique

2.2.2.a) Observations qualitatives

Des images successives du film liquide ont été acquises pour différents débits pulvérisés à travers la buse AFX, elles sont présentées dans la figure 34. Il est possible d'observer que pour des débits croissants, l'angle du film liquide (initialement autour de 80°) s'agrandit et semble augmenter la largeur du film produit. Cela paraît cohérent car la cohésion du liquide est assurée par les forces de tension de surface, et les débits élevés apportent plus d'énergie cinétique au liquide, ce qui contrebalance ces forces de tension de surface. Cette réduction de la cohésion du liquide est également représentée par la présence plus nombreuse d'instabilités au sein du liquide pour les hauts débits testés. En effet la présence de plis sombres dans le film liquide est plus fréquente pour le débit de 30,5L/h et 36,7L/h. De plus, la rupture du film liquide semble se produire plus proche de la buse pour ces forts débits. Malgré les instabilités présentes au bout du film liquide pour les 3 débits, le cœur du film quant à lui semble relativement stable dans le temps, du moins pour sa partie supérieure (proche de la buse) où aucun motif de vague n'est identifiable d'une image à l'autre. Les fenêtres optiques définies ne semblent donc pas perturbées par les instabilités du film.

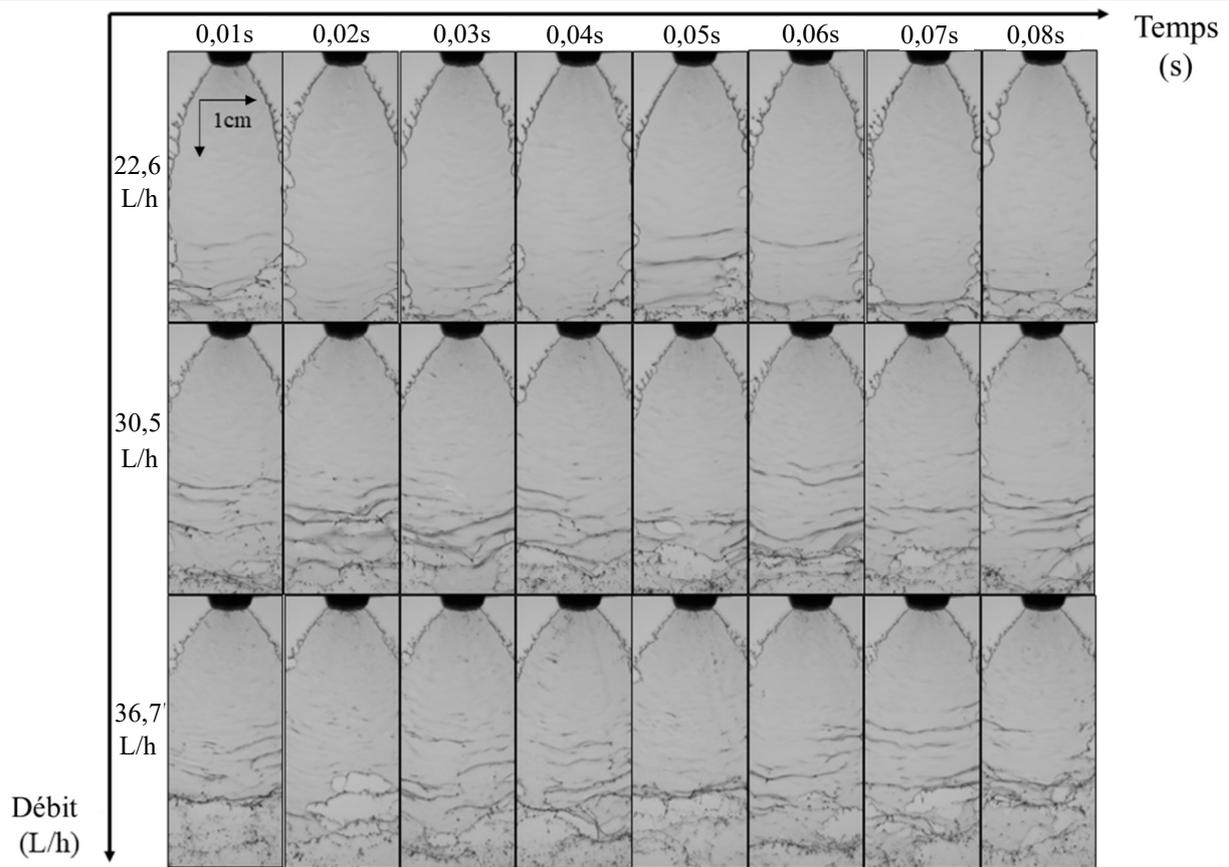


Figure 34: Images successives du film liquide à différents débits pulvérisés à travers la buse AFX.

Dans tous les cas, la largeur du film augmente dans la direction de l'écoulement jusqu'à la rupture du film liquide. En effet, pour respecter la conservation du volume liquide dans la direction Z, il semble inévitable que l'augmentation de la largeur du film soit accompagnée d'une diminution de son épaisseur. L'analyse d'image permet de quantifier cette observation qualitative.

2.2.2.b) Profils de largeur de film

À l'aide d'un algorithme de détection de bords pour déterminer le contour du film liquide, la distance entre les bords qui correspond à la largeur du film est déterminée et son évolution le long de l'axe Z est présentée sur la figure 35. Cette procédure confirme que la largeur du film augmente dans la direction de l'écoulement. L'observation d'une rupture du film plus précoce dans le cas de l'augmentation du débit est également confirmée par la figure 35 où les courbes s'arrêtent à partir de la non-détection des bords par l'algorithme. Pour des débits croissants, la largeur du film augmente mais sa rupture se produit plus tôt.

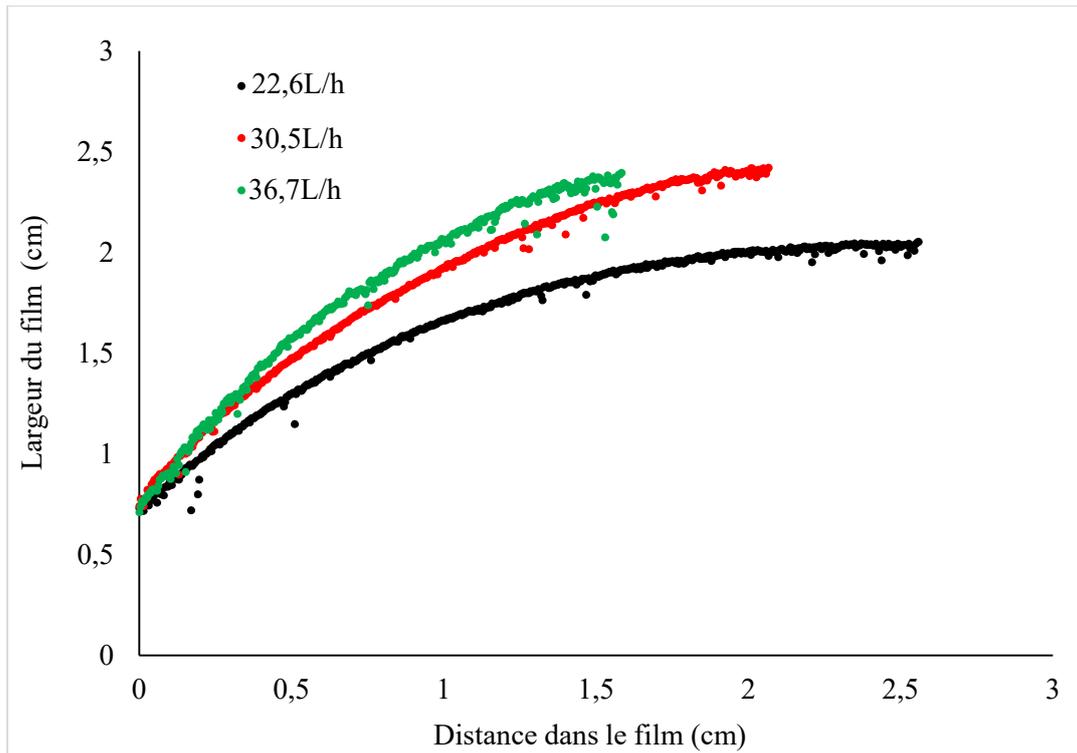


Figure 35: Évolution de la largeur du film liquide en fonction de la distance dans le film pour 3 débits différents avec la buse AFX.

L'intégration de l'équation 38 le long de l'axe Z permet l'évaluation de la surface du film liquide produit par chaque débit. Les surfaces du film pour les débits de 22,6L/h, 30,5L/h et 36,7L/h sont respectivement égales à $8,51 \times 10^{-4} \text{ m}^2$, $7,61 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ et $5,63 \times 10^{-4} \text{ m}^2$, indiquant une réduction de la surface de film avec l'augmentation du débit liquide.

2.2.2.c) Profils d'épaisseurs du film

À partir de l'absorbance des différentes solutions de calibration de RSO et du coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 45754 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), les profils d'épaisseur du film liquide le long de l'axe Z sont déterminés à partir de l'équation 33 et présentés sur la figure 36.

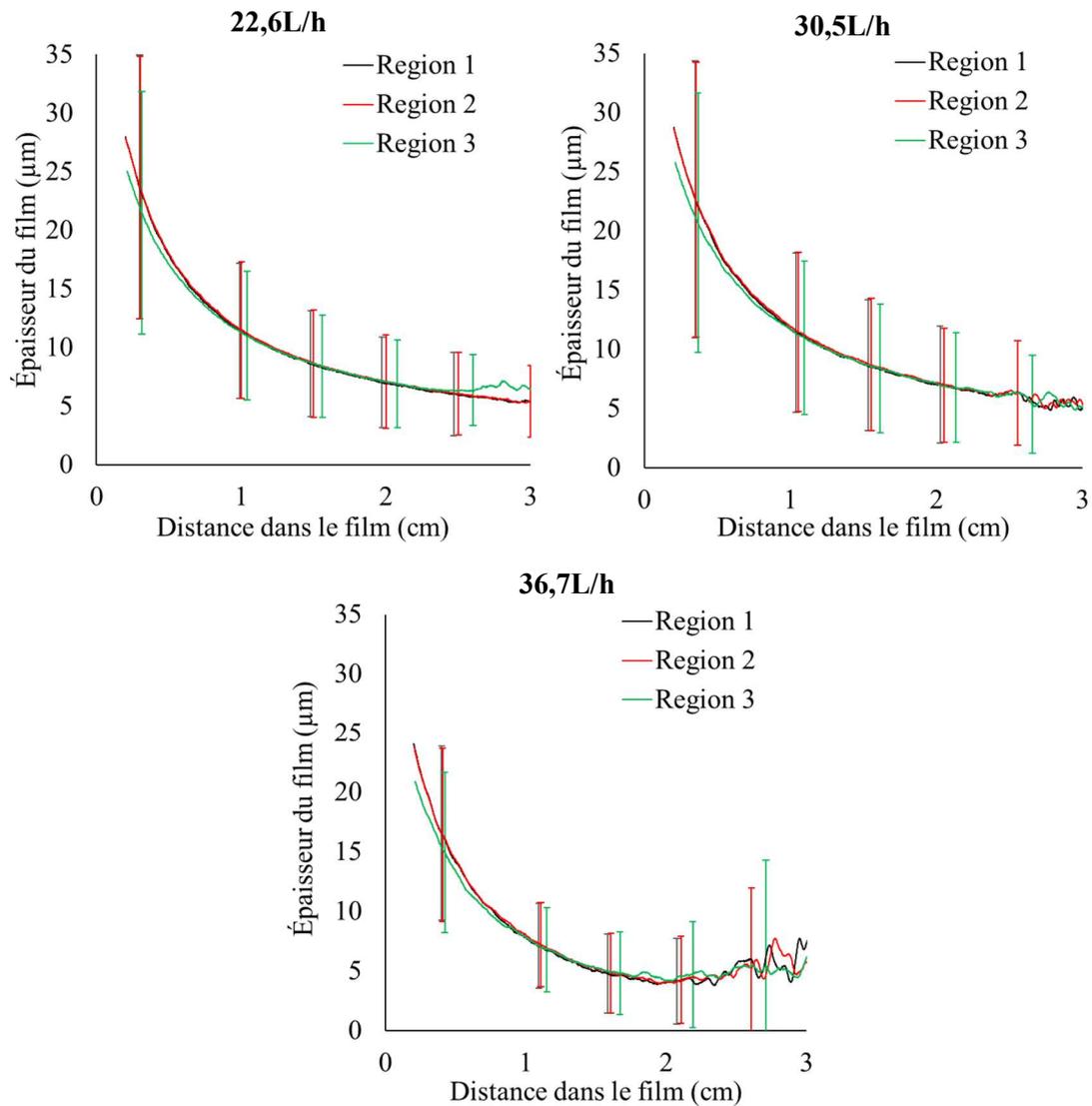


Figure 36 : Profils d'épaisseur le long du film liquide produit par la buse AFX pour différents débits et régions d'études.

Comme l'ont laissé penser les précédentes observations, l'épaisseur du film liquide diminue avec la distance à la buse. D'environ 30µm en sortie de buse, l'épaisseur du film liquide diminue ensuite jusqu'à atteindre une valeur proche de 5µm après 2 voire 3 cm. Les profils d'épaisseurs sont relativement identiques pour les 3 débits testés, même si le profil du débit de 36,7L/h semble être associé à une valeur d'épaisseur plus faible que les deux autres. Bien que les profils de largeur soient différents pour les trois débits testés, les profils sont similaires en ce qui concerne l'épaisseur du film liquide et son évolution. Il faut noter que l'épaisseur du film est bien inférieure à celle déterminée par analyse d'image lors de l'étude globale, où l'épaisseur du film avait été estimée à 150µm pour la même buse AFX.

Aussi pour un film liquide produit par un débit donné, l'hypothèse de conservation du volume liquide est cohérente : si la largeur du film augmente dans le sens de l'écoulement alors l'épaisseur du film est réduite pour permettre une redistribution du volume liquide vers la largeur.

De plus, il a été vu que la surface du film diminuait avec l'augmentation du débit et que les profils d'épaisseurs varient peu avec le débit, donc il semble que le volume du film soit réduit pour des débits grandissants.

Pour les trois débits étudiés, l'épaisseur semble relativement homogène au sein du film comme le montre la proximité des épaisseurs évaluées sur les 3 régions d'études.

2.2.3) Profils de concentration en dioxygène équivalent

En plus de la mesure de l'épaisseur du film, l'originalité de la méthode présentée réside dans l'acquisition de profils de concentration en dioxygène ayant transféré dans le liquide.

La figure 31 représente l'absorbance d'une solution expérimentale de DHR s'oxydant en RSO lors de sa pulvérisation avec la buse AFX. On y voit également les absorbances des solutions de calibrations de RSO à différentes concentrations déjà oxydées avant pulvérisation. La variation d'absorbance le long du film pour la solution expérimentale est produite par l'oxydation de la DHR incolore en RSO rose mais également par la variation de l'épaisseur du film liquide. Les évolutions d'absorbances des autres solutions sont uniquement dues à la variation d'épaisseur du film car la concentration de ces solutions en RSO est constante du fait de l'étape d'aération avant la pulvérisation. Il est possible d'observer que le profil de la solution expérimentale ne suit pas la même évolution que celui des solutions de calibrations. En effet, cette évolution du profil est régie par la contribution de l'épaisseur du film auquel se superpose celle de l'oxydation de la DHR, et donc l'effet de l'augmentation de la concentration en RSO au sein de cette solution pulvérisée. En effet, cette courbe expérimentale coupe les courbes de calibrations des solutions à 3 et 6mgO₂^{eq}/L, ce qui indique bien l'augmentation de concentration en RSO au sein de la solution expérimentale pulvérisée.

À partir de l'absorbance enregistrée à travers le film liquide lors de la pulvérisation d'une solution de DHR et connaissant le profil d'épaisseur du film, l'équation 35 permet d'obtenir le profil de concentration en dioxygène ayant diffusé depuis l'air vers la phase liquide, et cette évolution est présentée sur la figure 37(A,B,C).

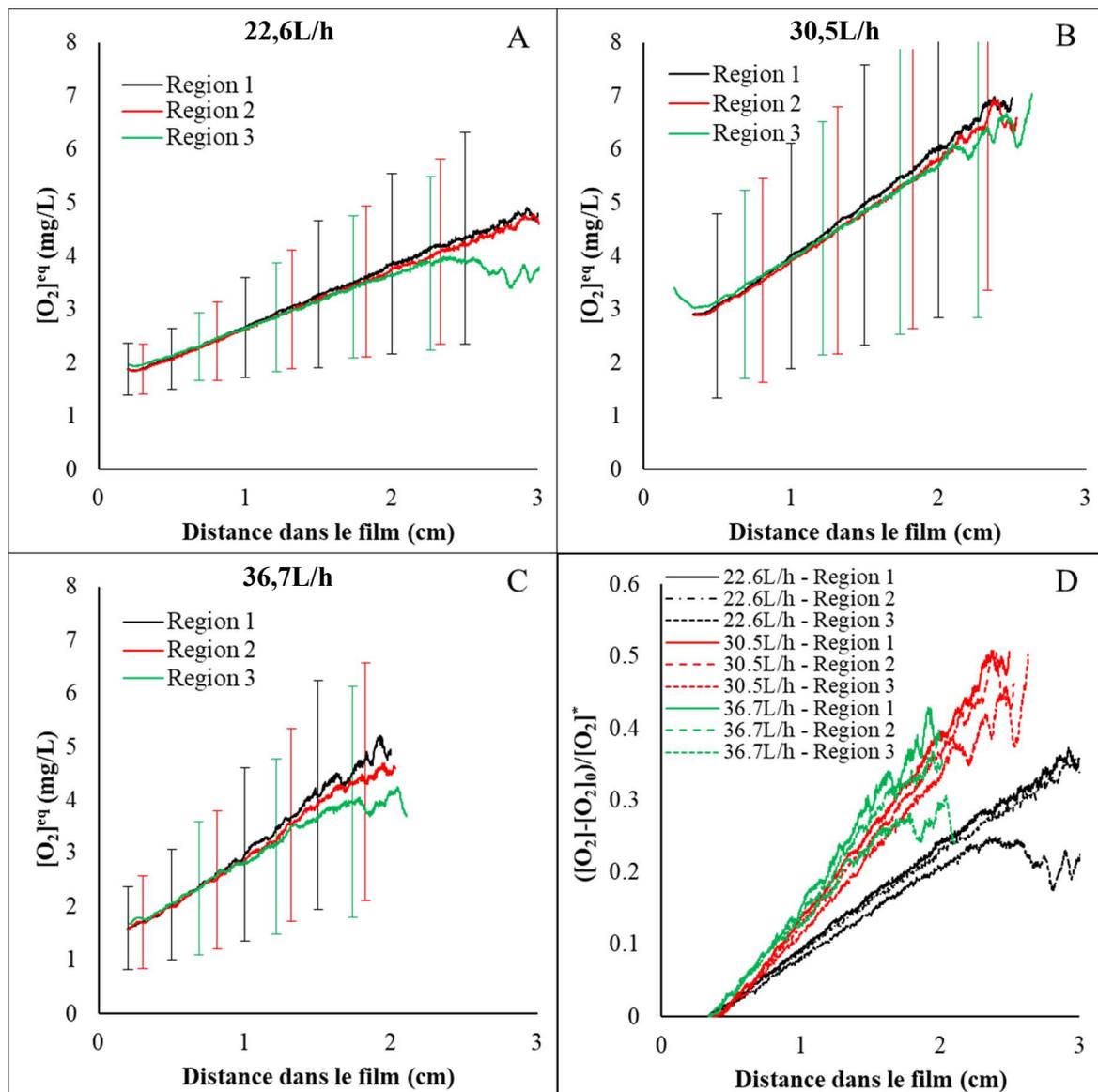


Figure 37: Profils en dioxygène équivalent le long du film liquide déterminé avec l'équation 16 dérivée de la loi de Beer-Lambert. La buse AFX réalise la pulvérisation. Les barres d'erreurs représentent l'écart type standard de 6 acquisitions pour la pulvérisation de la solution expérimentale, elles ne sont représentées que pour quelques points par soucis de clarté.

Comme attendu, la concentration en dioxygène équivalent augmente le long du film liquide pour les trois débits testés comme l'illustre la figure 37(A,B,C). Par exemple, pour le débit de 22,6L/h, la concentration en dioxygène équivalent débute à 2mg/L au début de la fenêtre optique (0.3cm) et atteint des valeurs autour de 5mg/L au bout de 3cm dans la région 1. Il faut noter que ces profils débutent tous avec une concentration non nulle alors qu'aucun transfert de dioxygène n'est attendu avant le début de la pulvérisation. Il est possible que la solution expérimentale s'oxyde par la présence de dioxygène adsorbé dans les tuyaux raccordant la bouteille de solution à la buse. En effet lors du changement de

solution, le tuyau de pompage de la solution est sorti à l'air libre avant d'être immergée dans la nouvelle solution à pulvériser, c'est à ce moment-là que du dioxygène de l'air peut rentrer dans le tuyau ou s'adsorber sur sa surface.

Afin d'avoir des profils qui expriment seulement l'évolution de concentration en dioxygène dû au transfert entre l'air et le film liquide, les profils de la figure 37(A,B,C) sont normalisées par la concentration à saturation ($C_{O_2}^{L,*}=8\text{mg/L}$) et la concentration initiale est fixée à 0mg/L. Ces profils corrigés sont présentés dans la figure 37D. La comparaison des profils pour différents débits semble indiquer une augmentation du transfert de matière avec le débit pulvérisé car les pentes des courbes sont plus importantes pour les hauts débits. Par exemple, pour le débit de 22,6L/h, la concentration en dioxygène a atteint 35% de la concentration à saturation après 3cm parcourus dans le film, alors que pour le débit de 30,5L/h, cet état a été atteint après 2cm seulement.

La figure 37 permet également de comparer le transfert au sein des différentes régions étudiées. Pour un même débit, et à distance équivalente dans le film depuis la buse, la concentration en dioxygène est légèrement plus grande dans la région 1 que dans la région 2, et cette dernière plus élevée que dans la région 3. Le transfert de matière n'est donc pas totalement uniforme dans le film, il semble maximal au cœur du film et devient plus faible à l'approche des bords du film liquide.

Bien que les barres d'erreurs restent significatives quant à la précision des mesures présentées, les valeurs moyennes obtenues de concentrations dans le liquide sont cohérentes avec les valeurs attendues : de l'eau liquide en équilibre avec l'air ambiant à pression atmosphérique et à 20°C tend vers une concentration en dioxygène dissous de 9mg/L. Si l'on intègre ce profil local de dioxygène transféré dans le film liquide avec le profil global obtenu précédemment lors de l'absorption de dioxygène, on obtient la figure 38 qui illustre une bonne continuité des résultats obtenus à ces deux échelles de mesure. La méthode locale proposée permet ainsi de combler l'absence d'informations sur l'évolution de la concentration en oxygène dans le film liquide. Les deux méthodes mettent en lumière un très fort transfert de matière dans le film liquide. Il est donc maintenant raisonnable d'attribuer les variations de concentrations en soluté dissous dans cette zone à des phénomènes de transfert, et les doutes qui pouvait exister quant à la fiabilité de la méthode globale peuvent être levés.

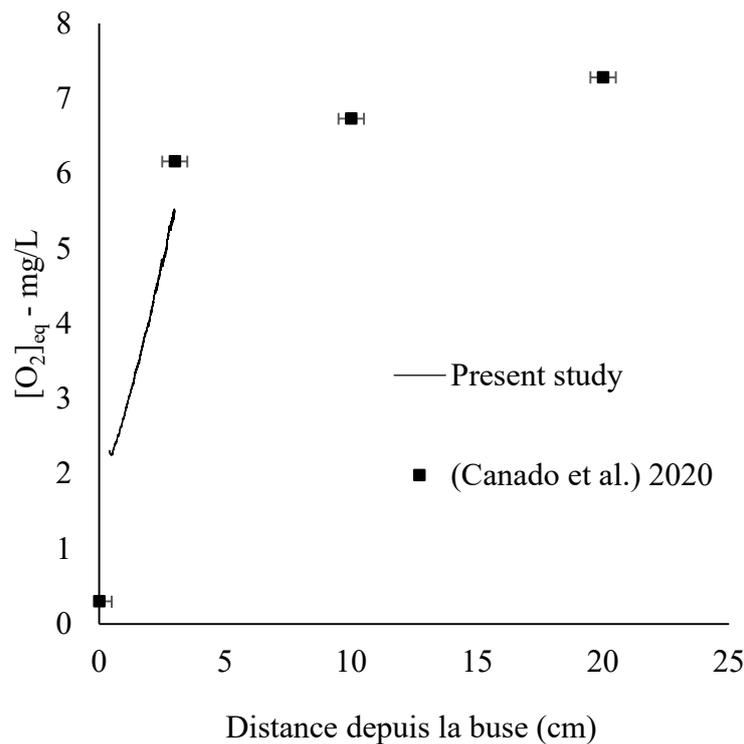


Figure 38: Profils de concentration en dioxygène obtenu dans le cas d'une méthode globale par collection du liquide pulvérisé avec la buse AFX (carrés noirs) et dans le cas de la méthode locale par absorption lumineuse (ligne) pour une configuration d'une absorption de dioxygène dans un spray.

2.2.4) Analyse du transfert de matière dans le film liquide

À partir des profils de concentration en dioxygène dans le film liquide, deux approches permettent d'obtenir les coefficients de transfert coté liquide dans le film. Une première analyse locale est réalisée en se basant sur l'évolution de concentration en dioxygène pixel par pixel (autrement dit la variation élémentaire $\frac{d[O_2]}{dz}$) pour différentes positions dans le film en utilisant l'équation 39. Cela permet une description précise du transfert le long du film. Les résultats de ces analyses sont reportés sur la figure 39 et dans le tableau 9. L'équation 40 quant à elle permet une analyse globale pour l'ensemble du film afin d'obtenir une valeur unique $\overline{k_L}$ représentant le coefficient de transfert moyen côté liquide dans tout le film (tableau 10).

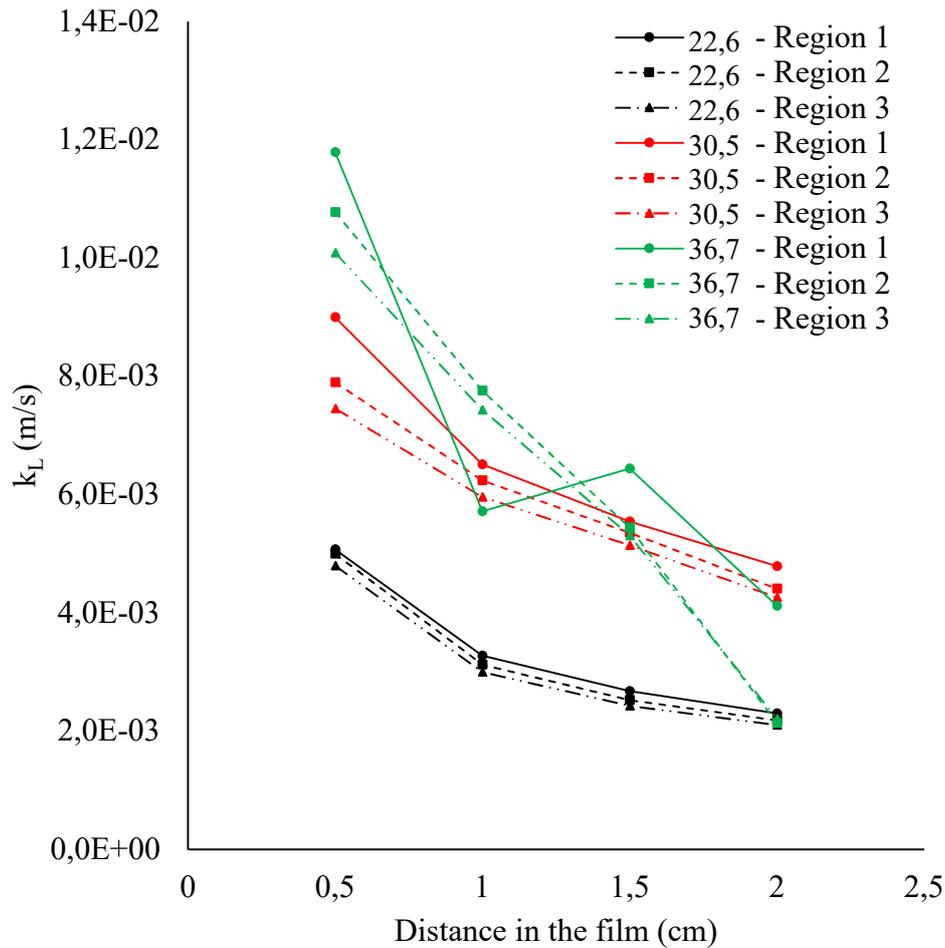


Figure 39: Coefficients de transfert coté liquide déterminés par une démarche locale avec l'équation 21 pour différents débits pulvérisés avec la buse AFX. Chaque point représente la valeur moyenne de 6 répétitions expérimentales. Les écarts types standards sont reportés dans le tableau 5 dans un souci de clarté.

La figure 39 montre pour les trois débits une augmentation du coefficient de transfert de matière côté liquide k_L avec la vitesse du fluide. En effet, lors du passage par un même orifice de buse, l'augmentation du débit se traduit par une augmentation de la vitesse du fluide. Le transfert de matière est donc plus fort lors de l'utilisation de débits de liquide élevés.

Pour les trois débits testés, la région 1 présente les coefficients de transfert côté liquide les plus grands, confirmant un transfert plus fort au cœur du film qu'à ses extrémités.

Le coefficient de transfert côté liquide k_L diminue le long du film. En effet les coefficients déterminés à 0,5cm dans le film sont plus élevées que ceux obtenues à 2cm dans le film. Ce comportement se produit pour chaque débit et région testés. Comme ce coefficient dépend de la vitesse du fluide, la diminution du transfert le long du film est très certainement liée à la décélération du liquide dans le sens de l'écoulement. En effet, pour le débit de 36,7L/h, la vitesse du film liquide est estimée à 12,98m/s et la

caractérisation hydrodynamique réalisée lors de l'étude globale indiquait des gouttes dont la vitesse était de 8,5m/s. Cela indique que le film liquide perd de la vitesse entre sa sortie de la buse et sa rupture en gouttes, ralentissement probablement occasionné par les phénomènes de frottements entre la phase liquide en éjection et la phase gaz immobile.

Les résultats de k_L obtenus pour le débit de 36,7L/h semblent diminuer fortement le long du film, particulièrement pour les distances de 1,5 et 2cm, contrairement aux deux autres débits. Il ne semble pas raisonnable d'attribuer ce comportement à un phénomène de transfert de matière, mais plutôt à une incertitude de mesure. En effet ces coefficients sont déterminés pixel par pixel avec le calcul de $\frac{d[O_2]}{dz}$, et l'évolution de concentration en dioxygène propose des variations considérables à ces distances de 1,5 et 2cm comme le montre la figure 37C. Les coefficients déterminés dans ces conditions sont donc très différents de ceux obtenus pour les deux autres débits dont l'évolution en concentration est relativement linéaire sur toute la fenêtre optique. De plus, pour ce débit de 36,7L/h, la fenêtre optique était définie pour une différence de 2% avec l'équation de Fresnel contre 1% pour les deux premiers débits. Cela peut expliquer la forte variation des coefficients obtenus pour ce débit de 36,7L/h.

Analyse locale, « pixel par pixel »						
Paramètres				Région 1	Région 2	Région 3
Q (L/h)	U (m/s)	z (cm)	w (cm)	$k_L \cdot 10^3$ (m/s)		
22,6	7,99	0,5	0,84	5,1 (±2,7)	5,0 (±3,0)	4,8 (±4,1)
		1	1,38	3,3 (±2,4)	3,1 (±1,1)	3,0 (±3,0)
		1,5	1,71	2,7 (±2,4)	2,5 (±3,4)	2,4 (±5,5)
		2	1,91	2,3 (±3,1)	2,2 (±4,2)	2,1 (±1,1)
30,5	10,79	0,5	0,93	9,0 (±4,0)	7,9 (±2,7)	7,5 (±4,1)
		1	1,56	6,5 (±3,5)	6,2 (±4,2)	6,0 (±4,2)
		1,5	1,99	5,5 (±7,1)	5,3 (±6,1)	5,1 (±5,3)
		2	2,29	4,8 (±5,8)	4,4 (±5,0)	4,3 (±9,2)
36,7	12,98	0,5	0,89	11,8 (±4,0)	10,8 (±7,3)	10,1 (±7,4)
		1	1,69	5,7 (±3,7)	7,8 (±6,5)	7,4 (±8,5)
		1,5	2,12	6,4 (±8,2)	5,4 (±8,5)	5,3 (±9,6)
		2	2,35	4,1 (±8,5)	2,1 (±9,1)	2,2 (±10,4)

Tableau 9: Paramètres utilisés pour la détermination de k_L et ses valeurs calculées avec l'équation 21. Les valeurs représentent la moyenne des 6 répétitions expérimentales, et les écarts types standards sont indiqués entre parenthèses.

L'analyse du transfert réalisée sur la globalité du film est présentée dans le tableau 10. Les résultats de cette analyse confirment également l'augmentation du transfert dans le film liquide avec le débit de pulvérisation. Elle confirme aussi que le transfert est plus fort au cœur du film dans la région 1 et diminue en se rapprochant des bords pour la région 2 puis 3.

Analyse globale du film					
Z (cm)	Q (L/h)	\bar{w} (cm)		ΔC (mg/L)	$\bar{k}_L \cdot 10^3$ (m/s)
1,8	22,6	1,56	Région 1	1,98	2,8
			Région 2	1,91	2,7
			Région 3	1,79	2,5
	30,5	1,83	Région 1	3,10	5,0
			Région 2	2,99	4,8
			Région 3	3,02	4,8
	36,7	1,84	Région 1	3,44	6,6
			Région 2	2,96	5,7
			Région 3	2,52	4,9

Tableau 10 : Paramètres utilisés pour la détermination de (k_L) et ses valeurs calculées avec l'équation 22.

À partir de ces valeurs et en considérant une vitesse de réaction k entre le dioxygène et la DHR de $1,28 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (Yang *et al*, 2016), le nombre de Hatta a été déterminé, il est compris entre 0,23 et 0,54. Des valeurs de Hatta inférieures à 0,3 indiquent que la réaction entre le dioxygène dissous et la DHR n'accélère pas la vitesse de transfert, nos valeurs de coefficients de transfert sont donc équivalentes à celles que l'on obtiendrait sans présence de réaction chimique. Les valeurs obtenues n'étant pas sensiblement plus grandes que 0,3, il est possible de considérer que notre méthode de mesure relate fidèlement le transfert de matière se déroulant au sein d'un film liquide avant atomisation.

Comme aucune corrélation n'est actuellement présente dans la littérature pour la région du film précédent la formation des gouttes lors de la pulvérisation, une corrélation est proposée à partir des \bar{k}_L obtenus. Il s'agit de relier avec une loi puissance le transfert qui se déroule dans le film, représenté par le nombre de Sherwood, à son hydrodynamique exprimé avec le nombre de Reynolds. Cette corrélation est présentée sur la figure 40.

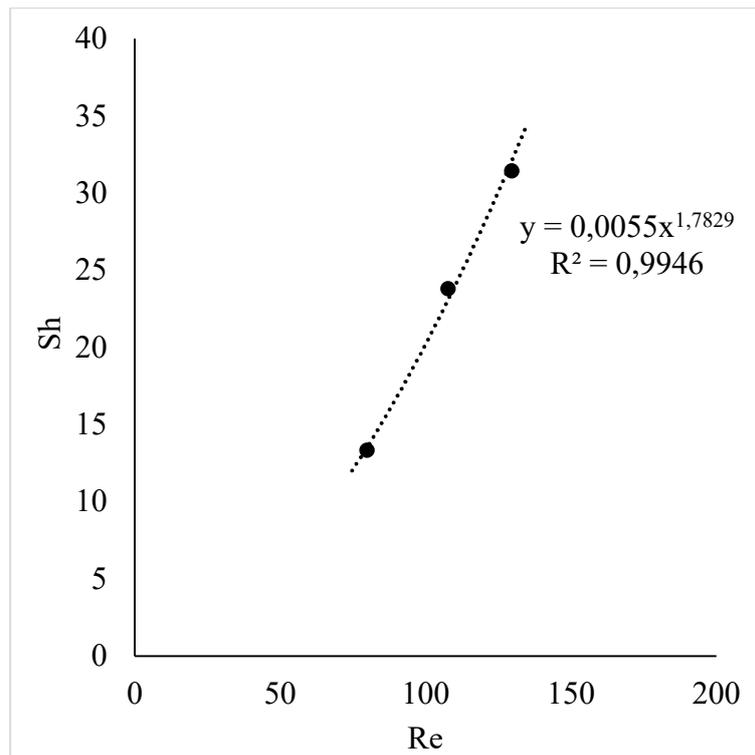


Figure 40 : Corrélation obtenue entre le nombre de Sherwood (équation 41) et de Reynolds (équation 42) déterminés à partir des valeurs expérimentales de k_L et de débits Q_L .

Seulement 3 conditions de débits ont été testées, ce qui n'est pas assez pour produire une analyse complète et rigoureuse de transfert de matière. Cependant, l'exemple de corrélation donné à la figure 40 pour 3 débits démontre qu'il est possible d'obtenir une corrélation acceptable ($R^2=0,995$) entre le transfert de matière et l'hydrodynamique du liquide. Généralement, les corrélations reliant le Sherwood au Reynolds pour des gouttes ou des bulles proposent des exposants de 0,5 pour le nombre de Reynolds (Codolo & Bizzo, 2013; Kumar & Hartland, 1999; Tanda *et al*, 2011). La présente corrélation semble révéler un très fort effet de l'hydrodynamique sur le transfert, le nombre de Reynolds étant à la puissance 1,783. Ce comportement a déjà été mis en évidence lors de l'étude du transfert de matière associé à la rupture d'un jet cylindrique (Srinivasan & Aiken, 1988). Ce résultat marque l'importance du débit de liquide sur le transfert de matière se produisant dans la région de formation des gouttes comparé aux systèmes gouttes déjà formées. Cependant, la corrélation proposée dans ce travail s'est intéressée uniquement à l'effet du débit, d'autres paramètres, tels que la viscosité, la tension de surface, devraient probablement rentrer en jeu dans le contrôle du transfert se déroulant au sein du film liquide.

Finally, the local study proposed has allowed to improve the knowledge relative to hydrodynamics and to the mass transfer present in the liquid film. The liquid film formed at the exit of the nozzle undergoes an expansion of its width as well as a decrease of its thickness in the direction of the flow. The increase of the spray rate produces wider but shorter films. Consequently, the volume of liquid film produced is lower for high spray rates. It is now reasonable to attribute the large variations of concentrations in solution measured in the film to the only phenomenon of mass transfer, and not to possible measurement uncertainties. This mass transfer increases with the spray rate. One also notices that the mass transfer is stronger in the center of the film than at its extremities and it decreases along the film, denoting a probable deceleration of the liquid film due to the friction with the gaseous phase. The mass transfer coefficients have been determined for the film and have been used for the establishment of a correlation relating the mass transfer in the liquid film to its hydrodynamics, allowing the realization of models to characterize the mass transfer occurring in the globality of a spray, from the liquid film up to the droplets composing the essential part of the spray.

2.3) Modélisation du phénomène de transfert et stratégie de réduction de la désorption

2.3.1) Modélisation de la globalité du spray

L'étude globale du spray a permis de confronter avec succès la corrélation générale de transfert pour une goutte en chute dans une phase gazeuse (équation 12) dans le cas d'un ensemble de gouttes produit par la buse de pulvérisation AFX en absorption et désorption. Comme réalisé à la figure 28, le profil de concentration en ozone dissous dans le nuage de gouttes est modélisable, simplement à partir des diamètres et vitesses de gouttes déterminés expérimentalement. Cependant la corrélation utilisée dans ce cas n'est pas applicable au film liquide c'est pourquoi il est important de proposer maintenant un modèle pour la partie film avec les coefficients de transfert précédemment obtenus pour chaque condition opératoire.

L'utilisation des deux modèles film et gouttes, permet ensuite de prédire l'évolution de la concentration en ozone dissous dans la phase liquide (film liquide plus gouttes) lors de la pulvérisation d'eau ozonée.

Pour chaque région, film et gouttes, le bilan matière sur la phase liquide s'écrit :

$$C_j^L(z) = C_j^{L,*} - (C_j^{L,*} - C_j^{L,0}) \exp(-k_L a \tau)$$

Équation 47

Dans la région du film liquide l'évolution de la concentration en ozone est modélisée par l'équation 47 en considérant les 3 premiers centimètres du spray (de $z=0\text{cm}$ à $z=3\text{cm}$), avec comme coefficient de transfert k_L celui obtenu lors de l'étude expérimentale pour le débit de $36,7\text{L/h}$ ($6,6 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ dans la région 1). Le produit $a\tau$ est calculé par l'équation 48.

$$a\tau = \frac{S_L}{V_L} \tau = \frac{S_L}{Q_L} = \frac{2\bar{w}z}{Q_L}$$

Équation 48

La concentration initiale $C_{O_3,0}^L$ d'eau ozonée pulvérisée par la buse a été fixée à $1,85\text{mg/L}$ comme dans le cas des expériences conduites avec l'ozone lors de l'étude globale. À partir de $z=3\text{cm}$, c'est ensuite le modèle valide pour les gouttes qui est utilisé pour prédire l'évolution de la concentration dans le reste du spray, avec une concentration initiale pour le modèle correspondant à la concentration déterminée à

3cm par le modèle du film liquide. La figure 41 montre les profils expérimentaux et modélisés de l'ozone dissous lors de la pulvérisation :

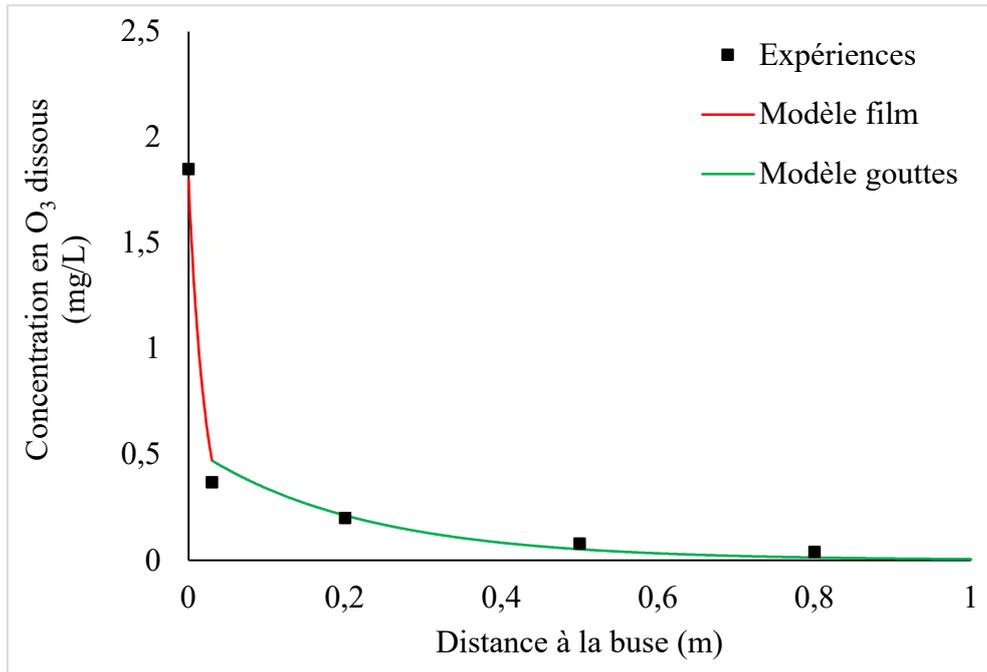


Figure 41: Profils expérimentaux et modélisés d'ozone dissous dans la phase liquide lors de la pulvérisation d'eau ozonée par la buse AFX à un débit de 35L/h.

La figure 41 montre que la combinaison des deux modèles permet une représentation fidèle de l'évolution de la concentration en ozone dissous le long du spray. Contrairement à la modélisation réalisée lors de l'étude globale, tout le spray est correctement modélisé, depuis le film liquide en sortie de la buse jusqu'à 80cm en aval dans le nuage de gouttes. Ce type de modèle permet d'identifier les paramètres sur lesquels il est possible de jouer pour réduire le phénomène de transfert et conserver la concentration en ozone dissous maximale à une distance donnée.

2.3.2) Stratégie pour la réduction du transfert de matière

Le flux de transfert tel qu'il est modélisé fait intervenir plusieurs paramètres agissant sur le transfert : le coefficient de transfert k_L , l'aire interfaciale a , le temps de contact τ entre la phase liquide et la phase gaz, et le potentiel d'échange $(C_{O_3}^{L,*} - C_{O_3}^L)$. Il s'agit dans un premier temps de savoir s'il est possible d'agir physiquement sur ces paramètres.

Concernant le coefficient de transfert de matière k_L , il a été vu que seul le débit de liquide pulvérisé exerçait une influence sur ce paramètre. C'est une propriété intrinsèque à l'écoulement du liquide que seul un changement de vitesse de la phase liquide modifie. Dans le cas du procédé de pulvérisation, les

buses disposent de gammes de débits limitées pour respecter une atomisation de qualité. Il n'est donc pas réalisable de diminuer un débit de pulvérisation pour réduire le transfert, surtout que la réduction du débit de pulvérisation entraîne une réduction de la vitesse d'avancement du pulvérisateur sur site, rallongeant la durée de traitement par l'exploitant agricole.

Le procédé de pulvérisation a comme but premier de créer une forte surface en utilisant le moins de volume de liquide possible. En ce sens, il paraît difficile de vouloir réduire l'aire interfaciale a produite par les gouttes du spray. Il est simplement possible d'utiliser des buses produisant des grosses gouttes (Tournois *et al*, 2015) tant que la qualité de pulvérisation convient à l'application concernée, ici l'agriculture. Généralement, les grosses gouttes pulvérisées ont des vitesses plus faibles (cf tableau 7) et donc un temps de contact plus long avec la phase gaz pour réaliser les échanges gaz-liquide.

Le dernier paramètre qui permet d'agir sur le transfert est le potentiel d'échange ($C_{O_3}^{L,*} - C_{O_3}^L$). Avec une concentration dans la phase gazeuse (l'air ambiant) quasiment nulle pour l'ozone, la concentration théorique à saturation dans le liquide est également nulle $C_{O_3}^{L,*} = 0\text{mg/L}$. Ce potentiel d'échange est alors constamment maximal et négatif, ce qui résulte en une forte désorption des molécules d'ozone. En enrichissant la phase gazeuse en ozone qui est en contact avec la phase liquide pulvérisée, ce potentiel d'échange peut être réduit voire inversé par augmentation de la valeur de $C_{O_3}^{L,*}$. Cet enrichissement de la phase gaz paraît compliqué pour la région des gouttes qui représente un volume conséquent et non confiné lors de la pulvérisation en extérieur. Cependant, le film liquide par sa faible dimension et son fort potentiel de transfert semble être une bonne cible pour réaliser une diminution locale du potentiel d'échange en enrichissant en ozone la phase gaz en contact avec lui. L'idée pour réduire le transfert de matière dans le spray est donc de confiner le film liquide avec une phase gazeuse riche en ozone pour agir positivement sur le potentiel d'échange dans cette région où le transfert de matière est maximal. Plusieurs scénarios de modélisation sont proposés pour étudier l'effet d'un enrichissement de concentration autour du film liquide :

- 1) Absence d'ozone gazeux autour du film liquide, scénario classique.
- 2) Concentration gazeuse en ozone autour du film, considérée à 7mg/L, c'est la concentration qui permet d'obtenir 1,85mg/L d'ozone dissous dans l'eau ozonée.

- 3) Concentration gazeuse en ozone autour du film, considérée à 30mg/L, cela devrait promouvoir l'absorption d'ozone par le film liquide plutôt qu'il subisse une désorption.

Ces scénarios ont simplement été implémentés dans le modèle en modifiant la concentration gazeuse en ozone (dont dépend la concentration à saturation $C_{O_3}^{L,*}$) dans les 3 premiers centimètres du spray, où réside le film liquide, en considérant que cette concentration gazeuse est constante et homogène sur toute la zone de confinement. Les résultats associés à ces trois scénarios sont représentés sur la figure 42.

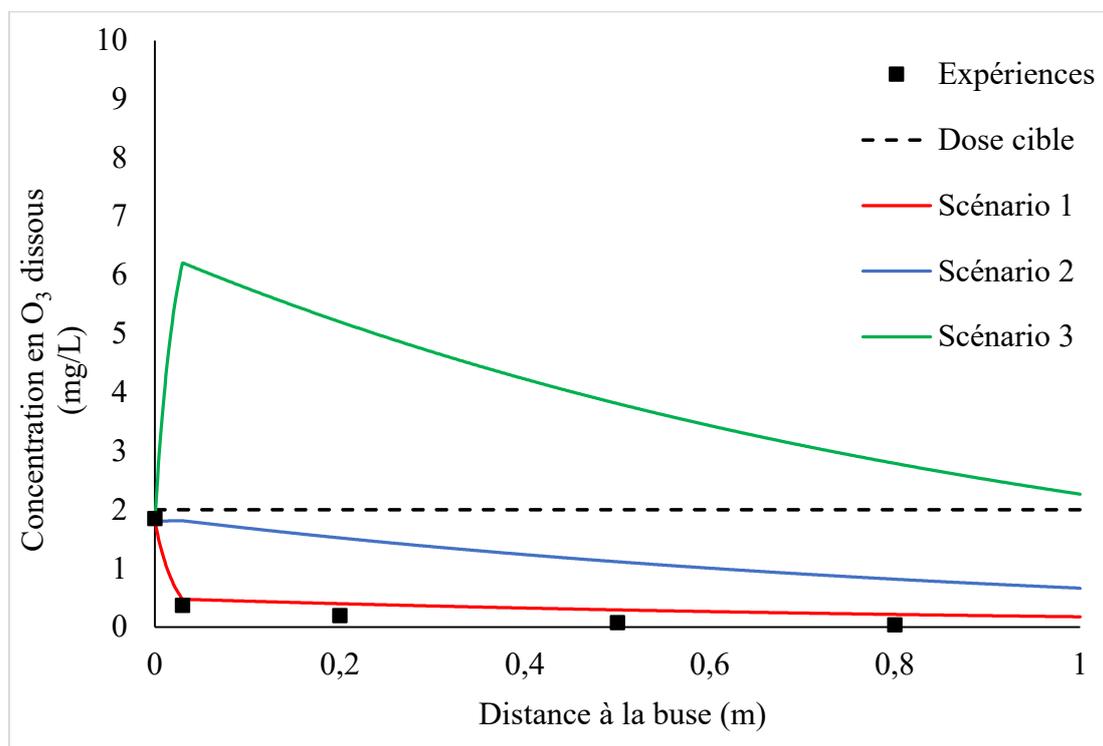


Figure 42 : Profils expérimentaux et modélisés de concentration en ozone dissous le long du spray selon différents scénarios de concentration en ozone gazeux proposée au contact du film produit par la buse AFX en considérant un débit de 35L/h.

Une concentration cible de 2mg/L d'ozone dissous dans l'eau a été arbitrairement représentée afin de voir si les scénarios retenus permettent d'atteindre ou pas cette concentration à partir d'une certaine distance. Le scénario 1, où seule une désorption se produit tout le long du spray ne permet évidemment pas d'atteindre cette concentration cible, bien au contraire, les gouttes sont complètement vidées d'ozone au bout d'1m après la buse.

En apportant une concentration d'ozone gazeux modérée de 7mg/L autour du film liquide, le scénario 2 montre une réduction des pertes d'ozone par désorption. En effet, en comparant avec le premier scénario,

le profil d'ozone est légèrement plus élevé notamment dans les premiers centimètres après la buse. L'apport d'une atmosphère gazeuse à $7\text{mgO}_3/\text{L}$ autour du film réduit à zéro le potentiel d'échange responsable de la désorption, et annule donc le transfert de matière dans cette région du film où il était très important. La concentration en ozone dissous reste constante pour la région du film, et commence à diminuer une fois que les gouttes formées sont en contact avec l'air ambiant dépourvu d'ozone.

Pour le scénario 3, une concentration en ozone gazeux élevée de $30\text{mg}/\text{L}$ est apportée au contact du film liquide pour conduire la valeur de saturation à $C_{\text{O}_3}^{L,*} = 7,8\text{mg}/\text{L}$ et rendre le potentiel d'échange positif pour provoquer une absorption d'ozone par le liquide plutôt qu'une désorption. On remarque que dans les premiers centimètres, la concentration en ozone dissous augmente très fortement jusqu'à environ $6\text{mgO}_3/\text{L}$ lors du passage du film liquide par cette atmosphère chargée d'ozone. À la sortie de cette région, les gouttes voient leur concentration en ozone chuter progressivement du fait de leur contact avec l'air ambiant. Cependant, elles disposent encore de plus de $2\text{mgO}_3/\text{L}$ après 1m de trajet depuis la buse, améliorant le potentiel d'oxydation de l'eau ozonée à cette distance en comparaison avec le scénario classique.

La stratégie qui vise à réduire le potentiel d'échange autour du film liquide semble donc permettre d'annuler le processus de perte en ozone qui se déroule dans le film voire d'utiliser le fort potentiel de transfert présent pour réaliser une absorption d'ozone. Il s'agit donc à présent de réaliser techniquement l'enrichissement en ozone de l'atmosphère gazeuse entourant le film, sans modifier l'écoulement de ce dernier, et de tester expérimentalement la performance obtenue par cet apport d'ozone autour du film.

2.4) Proposition d'une solution technique

Le défi technique présenté ici réside dans la réalisation d'une atmosphère gazeuse d'ozone à concentration connue autour du film liquide sans perturber son écoulement, ni gêner la formation des gouttes. Une première version de prototype a été réalisée et testée, puis une seconde version de prototype à la suite du retour d'expériences avec le premier modèle.

2.4.1) Première version du prototype

La conception du prototype débute par le choix de la géométrie à proposer autour du film liquide. Le dessin technique de ce prototype est présenté à la figure 43. Il a d'abord été choisi de réaliser une forme conique autour du film pour répondre à son augmentation de largeur dans le sens de l'écoulement. La largeur maximale du film atteinte est d'environ 2,4cm pour le plus fort débit testé. De ce fait, le cône débute avec un diamètre de 2,6cm en s'élargissant jusqu'à 4cm de diamètre, et sa longueur a été fixée à 6cm pour être sûr que le film liquide soit englobé par l'atmosphère gazeuse. Ce choix de largeur et longueur du cône doit permettre de confiner le film liquide sans perturber son écoulement.

Deux ports d'injection de 5mm de diamètre sont présents en tête du prototype pour réaliser l'apport d'ozone gazeux dans le volume confiné. Ils se situent à proximité de l'orifice de sortie de la buse pour proposer une atmosphère en ozone maximale dès la sortie du liquide de la buse, afin d'agir directement sur le transfert. Des vis de serrage sont positionnées au niveau de la buse de pulvérisation pour permettre d'adapter ce cône à la plupart des buses que l'on retrouve sur le marché, par exemple avec un diamètre de 3,2cm, le prototype permet de se fixer à toutes les buses de marque NOZAL.

Une étude globale du spray est donc réalisée pour obtenir le profil d'ozone dissous lors de l'utilisation de la buse AFX équipée du prototype conique. Deux conditions sont testées, une première condition témoin où la buse est équipée du prototype et ne reçoit pas d'ozone gazeux dans le volume confiné autour du film, et une seconde condition où l'ozone gazeux est apporté avec une concentration de 30mg/L avec un débit de 100L/h. L'eau ozonée préparée par dissolution dispose d'une concentration initiale de 7,1mg/L. Aussi, la modélisation réalisée à la partie précédente est appliquée à ces deux conditions en considérant leurs concentrations d'ozone gazeux respectives apportées autour du film (0 ou 30mg/L). Les résultats expérimentaux et de modélisation sont présentés à la figure 44.

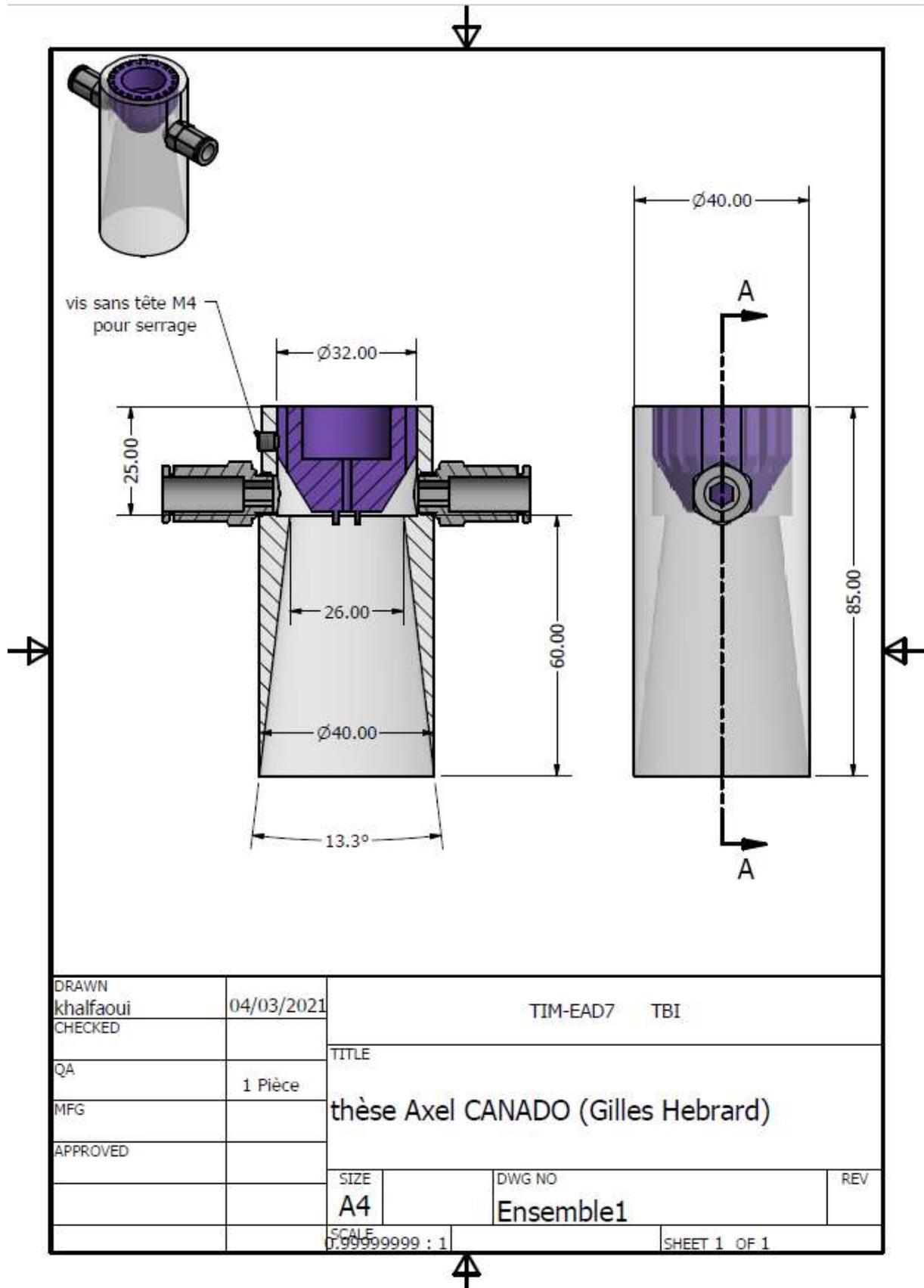


Figure 43: Dessin technique de la première version du prototype réalisée en forme conique.

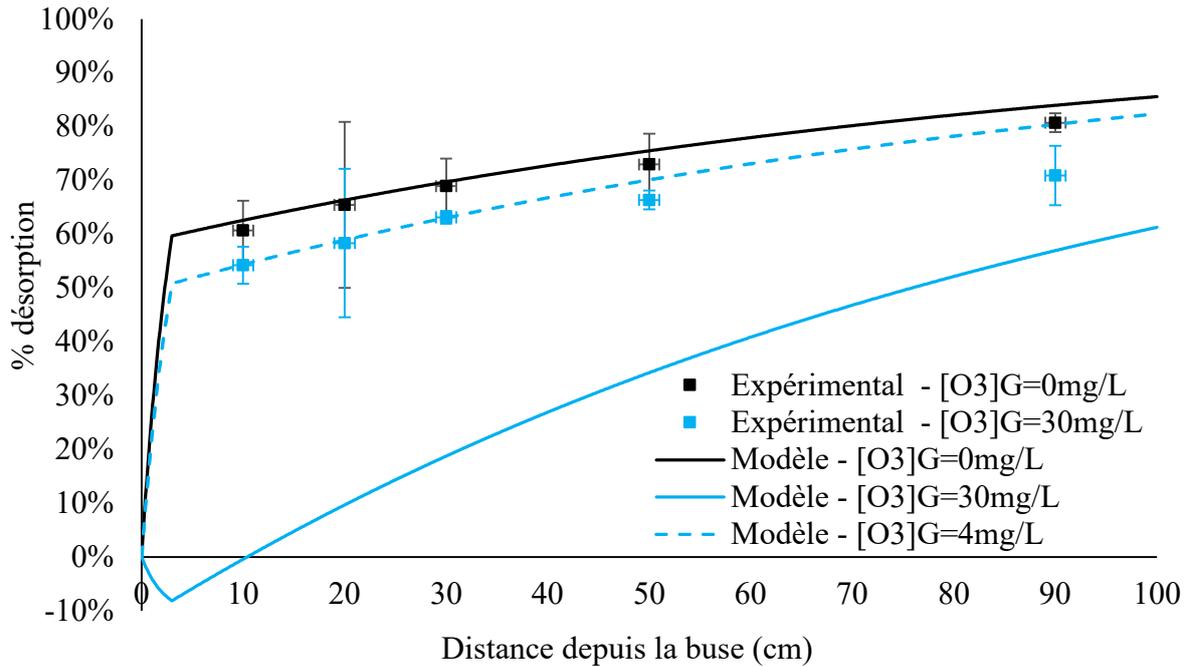


Figure 44 : Profils expérimentaux et modélisés du taux de désorption d'ozone dissous dans le spray pulvérisé à 35L/h avec deux conditions différentes d'utilisation du prototype équipé sur la buse AFX : sans injection d'ozone gazeux (carrés noirs) et avec injection d'ozone gazeux à 30mg/L (carrés bleus).

Le taux de désorption représenté à la figure 44 est défini comme la quantité d'ozone perdue durant la

pulvérisation rapportée à la quantité initiale d'ozone : $\% \text{ désorption} = \frac{C_{O_3}^{L,0} - C_{O_3}^L}{C_{O_3}^{L,0}}$.

La comparaison entre les deux profils expérimentaux montre que l'apport d'une concentration en ozone gazeux de 30mg/L au niveau du film liquide permet de réduire le phénomène de désorption, d'environ 5 à 10% selon les points de mesures. Le transfert de matière a donc été réduit grâce à la réduction du potentiel d'échange au niveau du film liquide lors de l'utilisation du prototype.

Alors que le modèle représentant la condition témoin sans apport d'ozone gazeux autour du film est relativement fidèle au comportement expérimental mesuré, la modélisation réalisée dans le cas d'un apport de 30mg/L autour du film n'est pas du tout en accord avec son profil expérimental respectif. Le modèle montre une zone d'absorption (désorption négative) dans la partie film avant de subir une désorption dans le reste du spray comme prévu. Il estime qu'à 10cm de la buse, la concentration en ozone dans le liquide devrait être sensiblement la même que celle préparée initialement (0% de désorption), alors qu'expérimentalement, à cette distance de 10cm déjà plus de 50% de désorption s'est

produit. Il y a donc une différence entre la configuration réelle et la configuration modélisée du système gaz-liquide au sein du prototype.

Le profil expérimental obtenu avec apport d'ozone gazeux à 30mg/L semble être mieux décrit par une modélisation qui considère une concentration gazeuse d'environ 4mg/L dans le prototype, comme le montre la courbe pointillée de la figure 44. Cela semble indiquer que la concentration réelle à l'intérieur du prototype est en réalité bien inférieure aux 30mg/L apportés au niveau des points d'injection.

Il est fort probable que lors de son arrivée dans le volume conique du prototype, le flux d'ozone gazeux soit dilué instantanément par l'air présent au cœur du prototype. Pourtant, l'injection d'ozone gazeux est réalisée environ 5min avant le démarrage de la pulvérisation pour s'assurer d'une atmosphère initiale homogène autour du film. En réalité, pour le débit de gaz considéré (100L/h) dans la section du cône de 26mm, la vitesse maximale du gaz est estimée à 5cm/s. Cela est très peu comparé aux 12m/s de vitesse d'éjection du film liquide. Ainsi il est possible que le liquide pulvérisé à de telles vitesses, entraîne plus rapidement qu'il n'est renouvelé, le flux gazeux hors du prototype. Il se peut également que la vitesse d'éjection du film liquide soit à l'origine de turbulences dans la phase gazeuse, avec des cellules de convections et de recirculations qui aspirent l'air extérieur pour le mélanger avec le flux gazeux apporté. Cette entrée d'air dans le volume conique du prototype a pour effet de diluer très rapidement la concentration en ozone gazeux en contact avec le film liquide, le potentiel d'échange n'est alors pas autant réduit qu'initialement souhaité. Une représentation qualitative de ces phénomènes de convection et dilution est proposée à la figure 45.

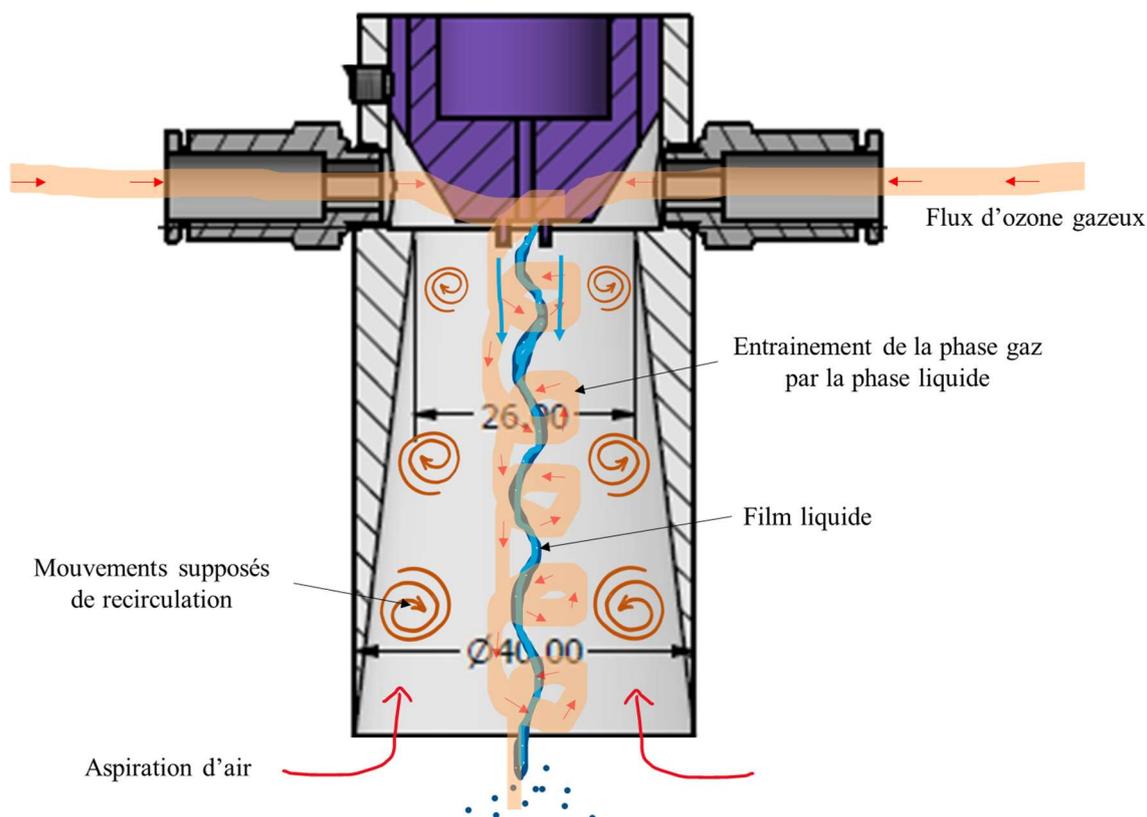


Figure 45 : Mécanismes supposés se produire dans le prototype pour expliquer la dilution rapide du flux d'ozone gazeux apporté dans le volume conique.

Afin de s'affranchir de ces mécanismes et de conserver une concentration en ozone élevée autour du film liquide, une seconde version du prototype a été conçue, fabriquée et testée.

2.4.2) Seconde version du prototype

Pour réduire la dilution du flux gazeux entrant dans le prototype, il a été décidé de réduire le volume confiné autour de film liquide pour laisser moins de place à l'air entrant. En réduisant la section du volume, il est également attendu que la vitesse du gaz augmente dans le prototype, permettant à la phase gazeuse d'ozone d'être distribuée plus rapidement dans le volume confiné. Le dessin technique de ce second prototype est proposé à la figure 46. La configuration générale pour les ports d'injection et les vis de serrages reste identique, seule la géométrie autour du film liquide est modifiée. La géométrie choisie en fin parallélépipède correspond mieux à la forme plate du film liquide, réduisant le volume superflu de la précédente forme conique. En effet, le nouveau volume entourant le film est de $1,19 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ contre un volume conique qui valait $8,68 \times 10^{-4} \text{ m}^3$, soit presque une réduction d'un facteur 10 du volume interne du prototype.

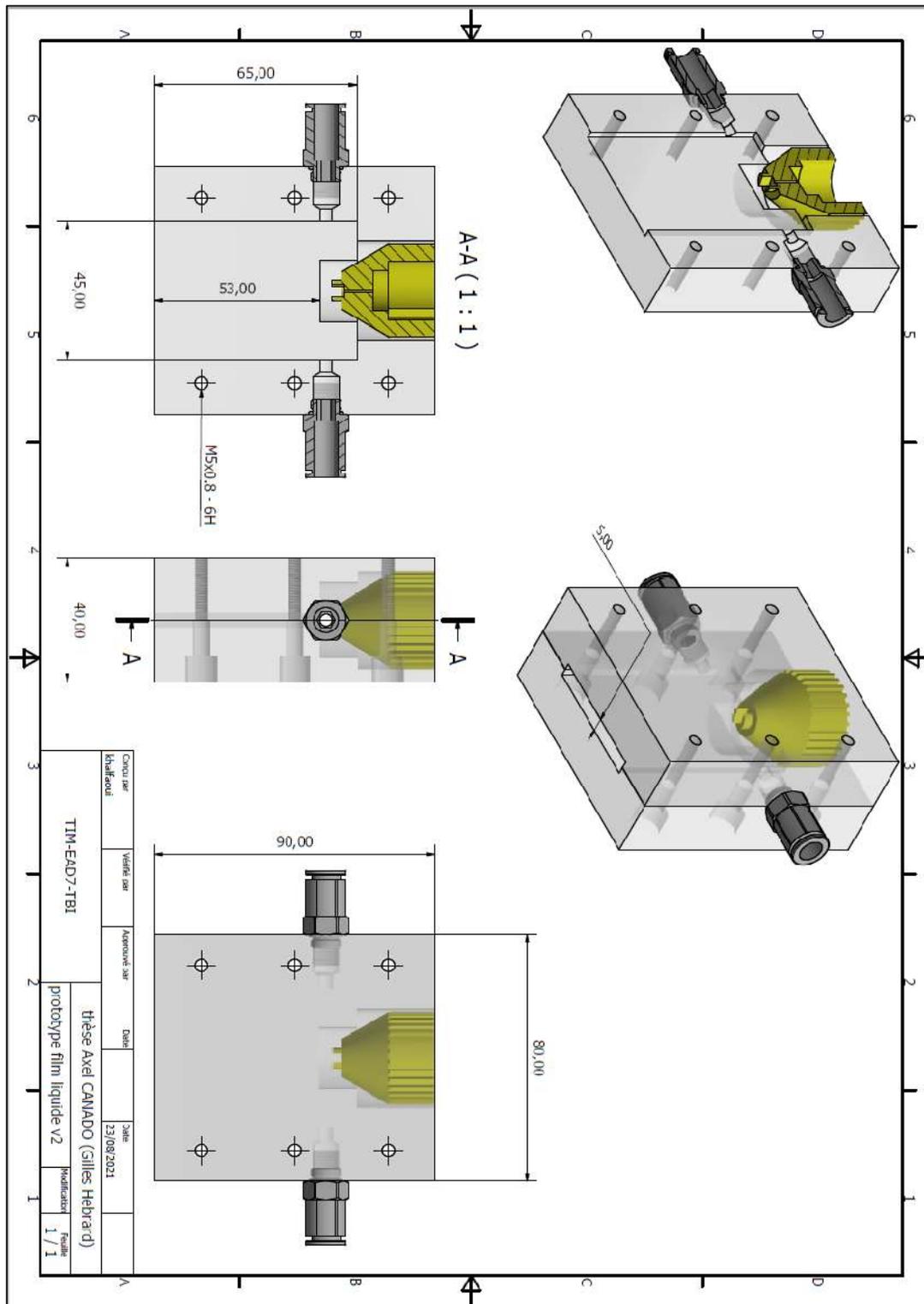


Figure 46 : Dessin technique de la seconde version du prototype réalisée avec un volume confiné en forme de fin parallélépipède.

La vitesse du gaz qui s'écoule à 100L/h par la section du parallélépipède (de $5 \times 45 \text{ mm}^2$) est estimée à 12,3cm/s, soit plus du double de la vitesse de gaz dans le précédent prototype. Cette vitesse reste toutefois négligeable face à la vitesse d'éjection d'environ 12m/s de la phase liquide condensée.

Une étude globale du spray a été réalisée pour obtenir le profil expérimental d'ozone dissous dans le cas de l'utilisation de ce second prototype, toujours avec une buse AFX pulvérisant le liquide à 35L/h, dans une atmosphère ozonée à 100L/h à la concentration de 30mg/L d'ozone. Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés à la figure 47, avec les précédents résultats du premier prototype à titre de comparaison.

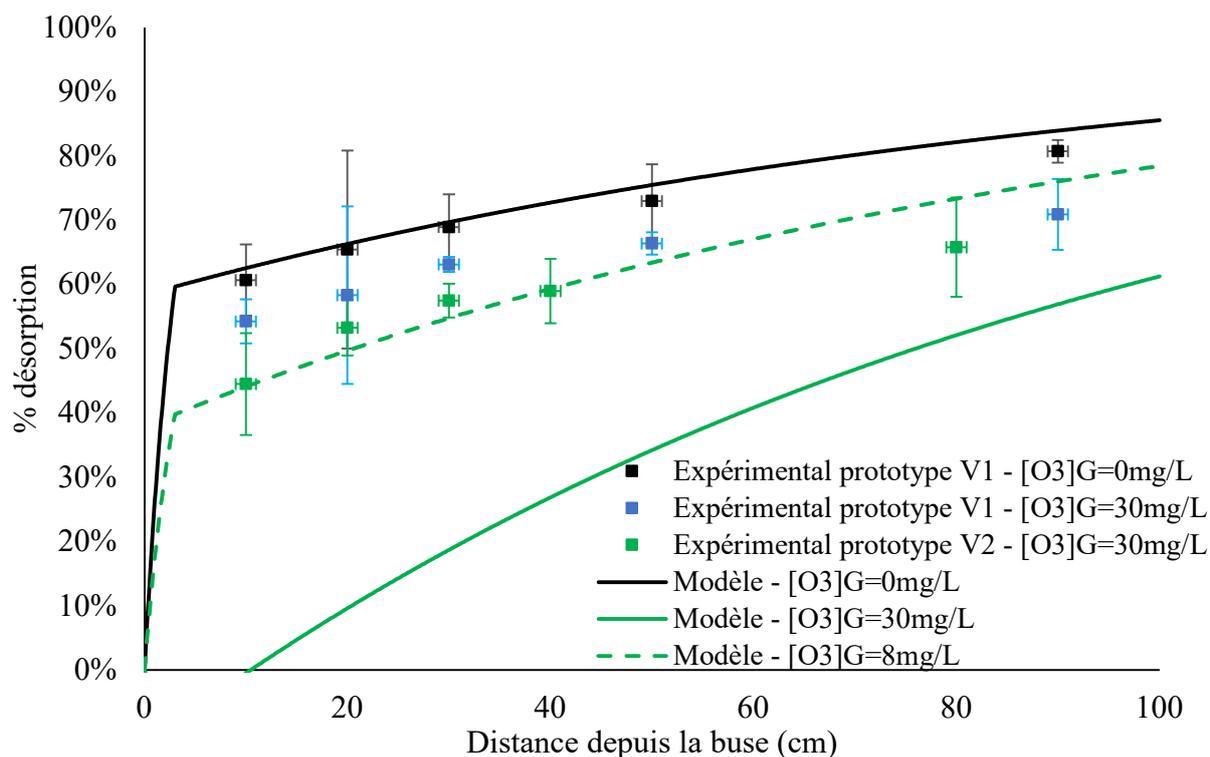


Figure 47 : Profils expérimentaux et modélisés du taux de désorption d'ozone dissous pour deux prototypes différents et en considérant des concentrations gazeuses différentes autour du film liquide produit par la buse AFX pour un débit liquide de 35L/h.

Tout d'abord ces résultats sur l'étude globale montrent que la désorption de l'ozone dissous a été réduite d'environ 10% supplémentaire comparé à la première version du prototype qui réalisait déjà plus de 5% de réduction de la désorption. En effet, le profil d'ozone dissous pour le second prototype est toujours inférieur au profil respectif du premier prototype. Cette réduction de la désorption est très encourageante, notamment du fait qu'elle soit induite simplement par un changement de géométrie du prototype.

Cependant, le profil expérimental obtenu dans le cas de l'utilisation de ce second prototype ne correspond toujours pas aux attentes suscitées par la modélisation. En effet, la modélisation d'une atmosphère de 30mg/L autour du film liquide donne des performances en termes de réduction de désorption qui sont bien plus importantes, comme le montre la courbe verte de la figure 47.

La modélisation du profil en ozone dissous pour le cas d'une atmosphère gazeuse concentrée à $8\text{mgO}_3/\text{L}$ semble décrire fidèlement l'évolution expérimentale mesurée. Cela peut traduire une nouvelle fois une certaine dilution du flux d'ozone gazeux apporté à $30\text{mg}/\text{L}$ dans le prototype comme dans le cas du volume conique testé précédemment. Toutefois, le changement en une géométrie plus étroite semble proposer une concentration gazeuse plus élevée avec cette nouvelle configuration, soit $8\text{mgO}_3/\text{L}$ d'après l'estimation du modèle, contre $4\text{mgO}_3/\text{L}$ pour le premier prototype.

La piste suivie concernant la réduction du potentiel d'échange au niveau du film liquide semble donc une bonne stratégie pour réduire la désorption d'ozone lors de la pulvérisation d'eau ozonée. Avec une géométrie semi-confinée du volume autour du film, il semble que, pour les configurations testées, il ne soit pas aisé de réaliser une atmosphère gazeuse de concentration voulue du fait d'effets de dilution liés à la présence de l'air ambiant autour du prototype.

Aussi, il est intéressant de préciser que le film liquide en atomisation éjecte de nombreuses gouttes sur les parois du prototype, ce qui perturbe un minimum l'écoulement du spray. Bien que la plupart des gouttes formées par le film ne rencontrent pas ces parois, celles produites par les bourrelets liquides en bords de film tel que visibles sur la figure 23 rentrent en collision très fréquemment avec le prototype. Ces gouttes coalescent le long des parois du dispositif, ce qui résulte en la formation de grosses gouttes tombantes depuis les bords du prototype. Dans l'immédiat ce n'est pas une priorité d'optimisation car un nuage de gouttes très correct est formé par la pulvérisation, mais c'est une piste d'amélioration à considérer dans les travaux futurs.

2.4.3) Pistes d'améliorations

L'optimisation de la géométrie du prototype pour conserver une qualité de pulvérisation optimale est évidemment une piste d'amélioration à réaliser sur le prototype, mais n'est pas une priorité. Il faut d'abord que les solutions apportées permettent de réduire davantage la désorption d'ozone. Les futurs efforts de conception seront donc concentrés sur l'optimisation du prototype afin d'obtenir la concentration désirée en ozone dans le volume confiné et s'affranchir un maximum de l'effet de dilution avec l'air environnant le prototype.

Dans un premier temps il serait intéressant de disposer d'une sonde pour mesurer la concentration gazeuse dans le prototype lors de son utilisation, afin de connaître la concentration réelle dans le volume

confiné et de déterminer le taux de dilution par rapport à la concentration en ozone apportée au niveau des points d'injection d'ozone gazeux. Cela serait une bonne base de travail pour la suite des optimisations à implémenter.

Les phénomènes de dilution supposés dans le prototype peuvent s'expliquer par les différences de vitesses de la phase liquide et de la phase gaz. Avec ses 12m/s de vitesse d'éjection, le liquide est 100 fois plus rapide que le gaz et ses 12cm/s de vitesse dans le volume confiné. Les énergies cinétiques des deux fluides sont ainsi très différentes dans le prototype, ce qui provoque des dépressions à l'intérieur du volume confiné : l'ozone gazeux est chassé et n'a pas le temps d'être renouvelé par le flux gazeux entrant. Le gaz « manquant » dans le prototype est donc remplacé par l'air disponible en dehors du dispositif, grâce à une aspiration provoquée par la différence de pression entre l'intérieur du prototype et l'extérieur.

Plusieurs stratégies peuvent être testées pour réduire ce phénomène de dilution de la concentration en ozone au sein du prototype. Tout d'abord, les orifices d'injection du flux d'ozone gazeux peuvent être réduits pour donner une vitesse plus importante à la phase gazeuse lorsqu'elle arrive dans le prototype. En effet, la vitesse du gaz U_{gaz} est inversement proportionnelle à la section de passage Ω du débit gazeux Q_G ($U_{gaz} = Q_G / \Omega_{injection}$). Aussi, ces points d'injection d'ozone gazeux devraient être localisés plus proches de la sortie du prototype, afin de profiter du flux d'aspiration de l'extérieur vers l'intérieur du volume confiné. Cela permettrait au gaz « manquant » d'être remplacé par de l'ozone gazeux plutôt que par de l'air extérieur. De plus, la multiplication de ces points d'injection semble être intuitivement une bonne solution pour homogénéiser la concentration gazeuse au sein du prototype, il serait donc intéressant de regarder l'effet de l'ajout de plusieurs points d'injections le long du prototype. Finalement, la géométrie du volume entourant le film liquide peut-être optimisée pour que la section de passage soit encore plus petite et permette une vitesse plus élevée de la phase gaz, sans toutefois gêner l'écoulement du film.

En plus de ces considérations basées uniquement sur la structure et la configuration du prototype, les conditions opératoires du procédé de pulvérisation peuvent être modifiées. En effet, il est possible d'augmenter la vitesse de la phase gaz dans le prototype en augmentant le débit volumique d'ozone gazeux envoyé via les points d'injections. De la même manière, réduire le débit de liquide pulvérisé

devrait produire des films aux vitesses plus faibles qui entraîne moins de gaz vers l'extérieur du prototype. Toutefois, il faut que le débit liquide utilisé reste suffisant pour produire une atomisation de qualité. Aussi, la concentration en ozone produite par l'ozoneur et qui est envoyé dans le prototype peut être augmentée afin d'obtenir des concentrations en ozone plus élevées dans le volume confiné, mais cela ne résout pas directement le problème de dilution au sein du prototype.

Les améliorations du prototype sont donc nombreuses pour réduire davantage la désorption de l'ozone lors de la pulvérisation d'eau ozonée. Aussi les compréhensions futures des phénomènes de transfert au niveau du film liquide pourront apporter de nouvelles stratégies de réduction de la désorption, tout comme la présente étude a pu le faire à partir de caractérisations complémentaires du spray. La figure 48, qui suit, propose de résumer la méthodologie suivie dans ce chapitre relatif à l'étude des phénomènes de transfert dans un spray. Elle permet d'observer la complémentarité des deux approches utilisées et des aboutissements qui en découlent.

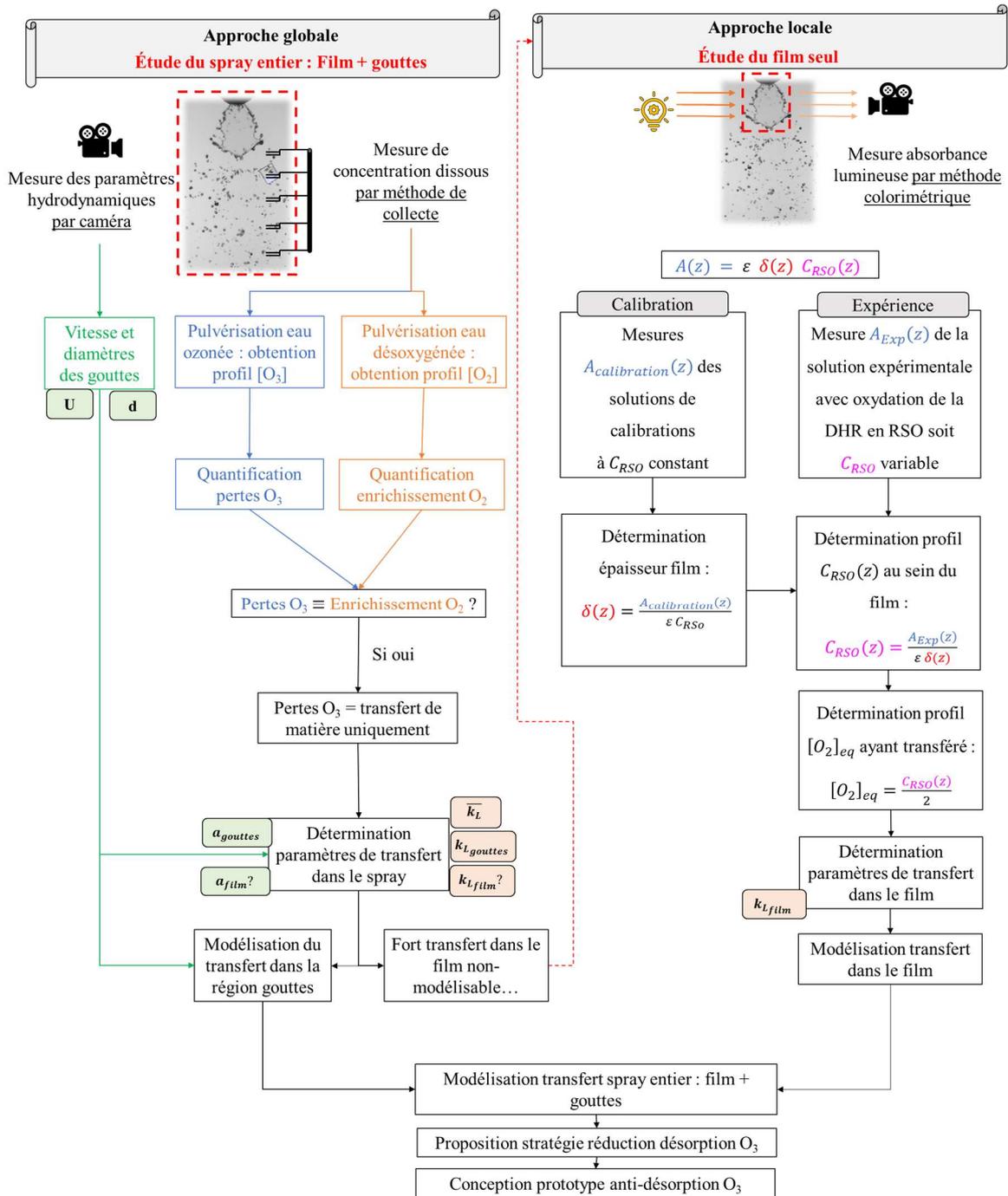


Figure 48 : Schéma général de la méthodologie suivie lors de ce chapitre relatif à l'étude des phénomènes de transfert dans les sprays.

SYNTHESE DU CHAPITRE 2

À travers les expérimentations et modélisations réalisées, ce chapitre a permis la compréhension des phénomènes physico-chimique mis en jeu lors de la pulvérisation d'eau ozonée afin d'adopter une stratégie pour conserver la plus forte concentration possible en ozone dans la phase pulvérisée.

L'étude globale a tout d'abord mis en évidence que le transfert de matière est à l'origine des pertes d'ozone dissous observées lors de la pulvérisation. En effet, le fort potentiel d'échange entre la phase liquide riche en ozone et l'air dépourvu d'ozone provoque une diffusion des molécules d'ozone depuis le liquide vers l'air. Avec la forte aire interfaciale créée par le procédé de pulvérisation entre la phase liquide et la phase gaz, le transfert de soluté entre phases est exacerbé. La zone du film liquide à l'origine de la formation des gouttes, semble réaliser la majorité du transfert de matière sur quelques centimètres seulement, mais la méthode de mesure globale initialement utilisée n'est pas adaptée à une caractérisation rigoureuse de ce film liquide. Une modélisation fidèle du transfert a été réalisé pour le nuage de gouttes, mais n'a pas été possible pour le film liquide faute de corrélations présentes dans la littérature. Cette étude a permis la publication d'un article scientifique dans le journal *Industrial and Engineering Chemistry Research* (Canado *et al*, 2020).

L'étude locale du film liquide a été permise grâce au développement d'une méthode inédite d'absorption lumineuse à travers le film liquide. Après une procédure de validation, les mesures de l'hydrodynamique et du transfert dans le film ont permis de confirmer que le film liquide dispose d'une forte aire interfaciale et de conditions hydrodynamiques très favorables au transfert des solutés à travers l'interface gaz-liquide. Des valeurs de coefficients de transfert ont été mesurées expérimentalement pour ce film, avec cette méthode de mesure locale relativement précise. Une corrélation entre le nombre de Sherwood et Reynolds a été proposée pour la modélisation du transfert dans le film. Cette nouvelle méthode de mesure a fait l'objet d'une publication dans le journal *International Journal of Heat and Mass transfer* (Canado *et al*, 2022).

Un travail de modélisation a ensuite permis de représenter fidèlement l'évolution en soluté dans la globalité de la phase pulvérisée, depuis le film liquide présent sur les quelques centimètres en sortie de buse jusqu'au nuage de gouttes à 1m de distance de la buse. Fort de ces modélisations, une stratégie visant à réduire le potentiel d'échange entre le film liquide et son atmosphère proche a été développée

pour réduire la désorption de l'ozone. Cette stratégie a été réalisée techniquement par la fabrication d'un prototype adaptable aux buses de pulvérisation conventionnelles. Les études globales de caractérisation du prototype ont montré une réduction jusqu'à 15% de la désorption totale, laissant envisager de belles perspectives d'évolution quant à la pulvérisation d'eau ozonée pour le traitement des maladies des plantes. Le prototype et les travaux de modélisation font l'objet d'une procédure de dépôt de brevet.

CHAPITRE III : L'EAU OZONÉE COMME MOYEN DE LUTTE

CONTRE LES MALADIES EN AGRICULTURE

Ce troisième chapitre s'intéresse à l'utilisation de l'eau ozonée comme moyen de lutte contre les maladies des cultures en agriculture en prenant comme cible le mildiou et l'oïdium. Plus précisément, il s'agit de prouver que l'eau ozonée a un effet antifongique limitant le développement de *Plasmopara viticola*, *Hyaloperonospora parasiticae* et *Oidium neolycopersici* à différents niveaux d'études : (i) *preuve de concept* « *in vitro* » avec la mise en contact hors végétal de sporanges et d'eau ozonée; (ii) *dépôt goutte* « *in planta* » en apportant de manière contrôlée l'eau ozonée sur des inocula présents sur les végétaux ; (iii) *pulvérisation* « *in planta* » via l'application d'eau ozonée par pulvérisation sur végétaux inoculés.

Tout d'abord, ces expériences sont réalisées sur le pathosystème modèle mildiou/vigne pour fournir les premiers indices de traitements à l'eau ozonée. La maîtrise de ce pathosystème au sein du laboratoire de l'École d'Ingénieurs de Purpan a été acquise durant ces travaux de thèses. Les concentrations d'ozone dissous nécessaires à la limitation du développement du mildiou sont déterminées, afin de proposer une concentration cible à atteindre sur feuilles lors de l'application d'eau ozonée par pulvérisation. La fenêtre temporelle de traitement à l'eau ozonée sur végétal est également déterminée, pour estimer le délai d'intervention disponible à la suite d'un épisode d'inoculation. Lors des applications par pulvérisation, le prototype anti-désorption développé dans le chapitre précédent est utilisé, pour comparer l'efficacité de traitement entre la pulvérisation avec ou sans le prototype.

Par la suite, les traitements à l'eau ozonée sont étendus aux deux autres pathosystèmes, le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate. Ces pathosystèmes n'étant pas maîtrisés au sein du laboratoire de l'EIP, une collaboration a été entreprise avec l'institut Vegenov, qui maîtrise ces pathosystèmes. Les traitements, contrairement à ceux appliqués pour le modèle mildiou/vigne, sont réalisés directement sur jeunes plants de chou et tomates soit par application contrôlée soit par pulvérisation.

Finalement, les stratégies possibles d'utilisation de l'eau ozonée en conditions réelles sont discutées en considérant les résultats obtenus afin de diriger plus aisément de futurs essais de pulvérisation en conditions réelles vers un contrôle efficace de ces maladies.

1) MATERIELS & METHODES

1.1) Le modèle d'étude, le pathosystème mildiou/vigne

Cette section décrit dans un premier temps le matériel et les méthodes utilisées dans le cadre des expérimentations relatives au pathosystème mildiou/vigne uniquement.

1.1.1) Matériel végétal

Le mildiou de la vigne est un pathogène biotrophe obligatoire, il requiert la présence du végétal pour se développer, contrairement à d'autres microorganismes qui sont capables de se développer en boîte de Pétri par exemple. Aussi, la réalisation d'expérimentations sur pathosystèmes nécessite la production de végétaux aux caractéristiques identiques : variétés, stades de développement, stress subis durant la croissance, etc. Pour ces deux raisons, la croissance des végétaux est réalisée en conditions contrôlées pour disposer d'un ensemble d'individus aux propriétés homogènes et de matériel végétal pour la croissance de *P.viticola*

1.1.1.a) Conditions de croissance des plants de vignes

Pour le pathosystème mildiou/vigne, des plants de vignes du genre *Vitis vinifera* sont produits à partir de sarments coupés tous les deux nœuds afin de disposer de petits bois à deux yeux. Le cépage Merlot a été choisi pour sa sensibilité importante au mildiou de la vigne, afin de faciliter les infections de ce dernier (Bove & Rossi, 2020).

Tout d'abord, les bois à deux yeux sont introduits dans de la laine de roche stérilisée, avec un œil dans la laine de roche (futures racines) et l'autre à l'air libre (futures feuilles) comme le montre la figure 49A. L'ensemble est disposé dans des tentes de cultures de 150x80x200cm équipées de rampes à néons (T5 39W Luxline, Sylvania) et d'humidificateurs (GL-6630, The Pure Factory). Ces équipements sont visibles sur la figure 49E. Des cycles d'éclairages jour/nuit de 14h/10h sont réalisés à l'aide un minuteur. La température de la salle de culture est fixée à 21°C. La laine de roche est humidifiée au besoin afin d'éviter qu'elle ne sèche complètement, généralement via 2 apports d'eau par semaine.

Environ 2 à 3 semaines après la mise en laine de roche, les bois de vignes ont débourré : les premières feuilles sont sorties et les racines commencent à pousser, c'est le cas illustré à la figure 49B. À ce stade, les plants sont rempotés dans des pots en plastiques de 10x10x8cm avec du terreau PAM2 stérilisé, comme présenté à la figure 49C. Une irrigation est effectuée environ 2 fois par semaine pour conserver

de l'humidité dans le substrat. Toutes les 2 semaines, un apport en solution fertilisante (FloraGro, General Hydroponics - N/P/K : 3/0/6) est réalisé lors de l'irrigation, à une concentration de 5mL de solution fertilisante par litre d'eau. Une fois repotés, ces plants de vignes mettent environ 1 à 2 mois pour fournir suffisamment de feuilles à prélever pour réaliser les présentes expériences. La figure 49D montre des plants de vignes 1 mois après le repotage.

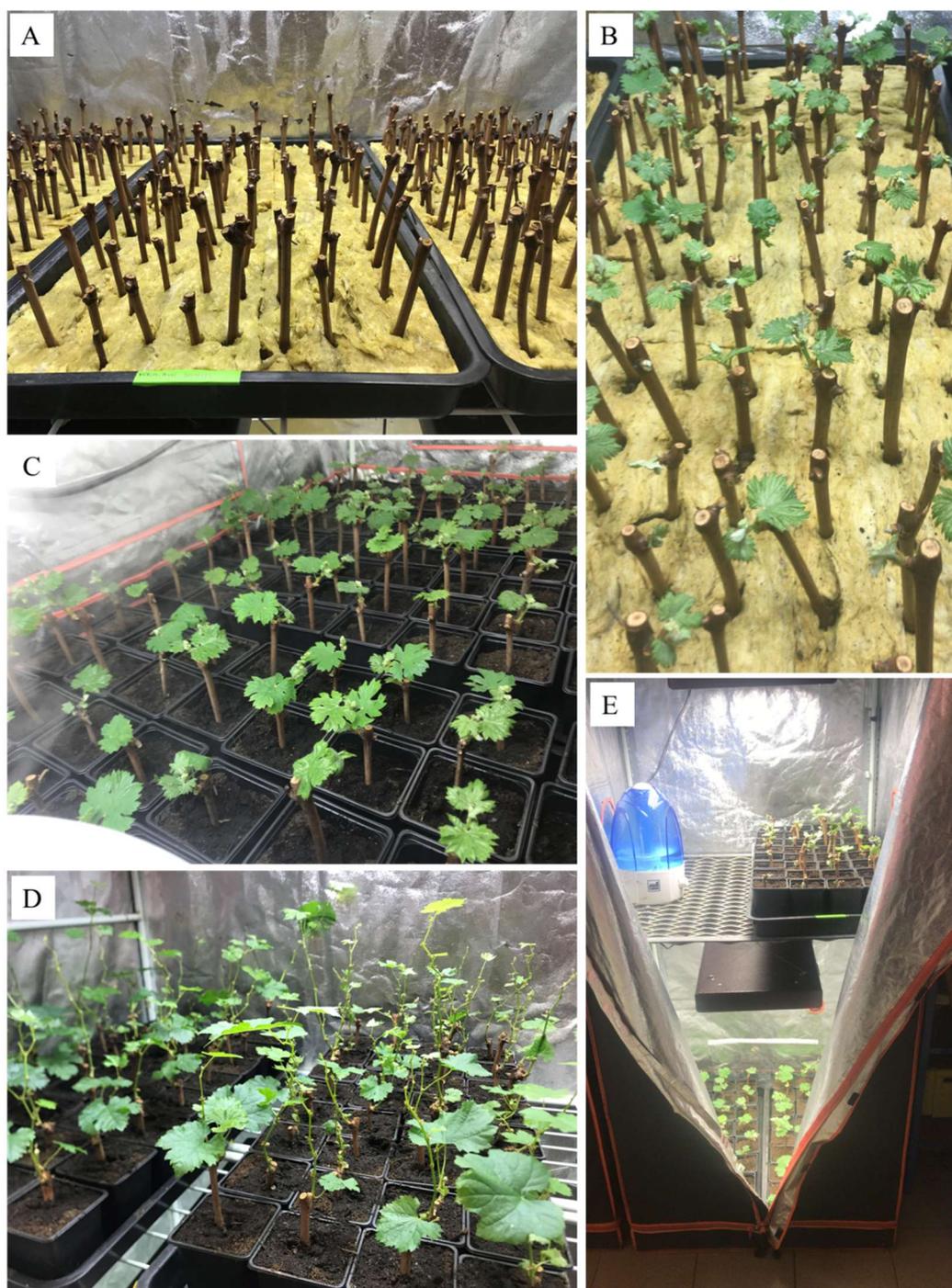


Figure 49 : Bois de vignes à débousser dans la laine de roche (A) ; Bois de vignes déboussés (B) ; Plants de vignes tout juste repotés (C) ; Plants de vignes après 1 mois de repotage (D) ; Tente de culture équipée d'un humidificateur et de néons (E).

1.1.1.b) Disques de feuilles de vignes

Pour les expériences relatives au pathosystème mildiou/vigne, des disques de feuilles sont réalisés pour jouer le rôle de support végétal, plutôt qu'un plant de vigne entier. Cela a l'avantage de limiter les risques d'infections entre les plants au sein du laboratoire, et de proposer plus de répliques techniques et biologiques pour les analyses statistiques.

Sur les plants présentant une feuille vernissée en apex de liane, des feuilles de vignes sont cueillies en position F3 ou F4 (3^{ème} ou 4^{ème} feuille depuis l'apex de la plante), le jour où l'expérimentation débute, de préférence le matin. Cela assure la présence de feuilles relativement jeunes et fines, propices à l'infection par *P.viticola*. Pour limiter les risques de développement de microorganismes indésirables, ces feuilles sont lavées dans un bain d'eau de javel à 0,1% (v/v) pendant 5min, avant d'être rincées par 2 bains successifs dans de l'eau déminéralisée. Les feuilles trop humides à la sortie de ces bains sont précautionneusement séchées avec du papier absorbant. Un emporte-pièce cylindrique de 12mm de diamètre, préalablement stérilisé à l'éthanol et à la flamme, est utilisé pour couper des disques dans les feuilles de vignes. Généralement, entre 6 et 9 disques sont découpés à partir de la même feuille, selon la taille de cette dernière. Les disques ainsi obtenus sont aléatoirement placés dans des boîtes de Pétri carrées de 12cm de côté, face inférieure vers le haut, sur du papier buvard humidifié avec 5mL d'eau déminéralisée stérile, comme illustré à la figure 50.



Figure 50 : Exemple de disques de feuilles réalisés pour les expérimentations relatives au pathosystème mildiou/vigne.

1.1.2) Préparation des inocula

L'infection des végétaux par le pathogène « mildiou » est réalisée par dépôt d'une suspension de sporanges sur la surface du végétal. La virulence de l'infection par cette suspension de sporanges dépend de la concentration en sporanges et du volume de suspension déposé. La normalisation de la virulence de l'infection nécessite donc la maîtrise de ces deux paramètres.

Les sporanges de *P.viticola* sont récoltés à partir d'une feuille de vigne infectée par le mildiou 7 jours auparavant et qui a produit des sporangiophores sur sa face inférieure comme observable à la figure 51. En effet, à ce stade de l'infection, les zoospores inoculées ont sporulé, tel qu'illustré à la figure 4 représentant le cycle d'infection du mildiou. À l'aide d'un pinceau, ces sporanges sont collectés par aller-retour entre la surface de la feuille et un tube Falcon de 15mL contenant 4 à 5mL d'eau déminéralisée stérile. Lorsque la plupart du duvet blanchâtre de sporangiophores de la feuille a été collecté, 17,5 μ L de la suspension est introduit dans une cellule de Malassez. Cette dernière est exposée à la lumière d'un microscope optique (LEICA – HI plan lens) pour réaliser le comptage des sporanges et ainsi déterminer la concentration en sporanges dans la suspension. Le comptage est réalisé sur 50 unités quadrillées de la cellule de Malassez, en s'aidant d'un compteur manuel. La suspension de sporanges est ensuite diluée pour atteindre la concentration désirée, habituellement 20 000 sporanges/mL pour la plupart des expérimentations réalisées. Cette dilution est réalisée avec de l'eau déminéralisée, ou bien avec de l'eau ozonée dans le cas des expérimentations *preuve de concept* « *in vitro* ». Les tubes Falcons et l'eau stérile sont conservés dans la glace durant toute la durée de préparation des inocula, pour éviter la sortie des zoospores depuis les sporanges avant le début de l'inoculation sur feuille.



Figure 51 : Photographie d'une feuille de vigne infectée par le mildiou avec des sporangiophores sur sa face inférieure (7jours après inoculation).

1.1.3) Génération d'ozone et production d'eau ozonée

Un ozoneur (Ozonia CFS1 – Suez) est alimenté en dioxygène pur (99,9995%) à environ 100L/h pour produire de l'ozone gazeux. La concentration gazeuse produite par l'ozoneur est contrôlée via la puissance appliquée à l'ozoneur et mesurée par un analyseur d'ozone UV (Ozone analyzer BMT 964 BT – BMT Messtechnik), elle varie entre 10 et 100mgO₃/L de gaz selon les concentrations désirées dans la phase liquide.

L'ozone gazeux est envoyé dans un réacteur de dissolution rempli avec 1.5L d'eau déminéralisée, à travers un fritté poreux de taille 0 (pores entre 160 et 250µm). Une agitation mécanique est réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique. L'ozone gazeux en ciel de réacteur n'ayant pas été absorbé par le liquide est envoyé vers une solution d'iodure de potassium pour destruction. L'étape de dissolution est réalisée pendant environ une heure pour s'assurer de la bonne atteinte de la concentration à saturation au sein du liquide.

La concentration en ozone dissous est mesurée par titrage à l'indigo au moment où l'eau ozonée est appliquée pour l'expérience de traitement, en prélevant 5mL d'eau ozonée et en l'ajoutant dans 5mL de solution d'indigo à la concentration de 0,36g d'indigo/L. Il s'agit de la même méthode décrite dans le chapitre précédent. Des dilutions de la solution mère d'eau ozonée sont réalisées avec de l'eau déminéralisée pour produire des solutions de concentrations différentes selon les expériences.

Il faut noter que la procédure de mesure de la concentration en ozone dissous nécessite une lecture d'absorbance de l'échantillon d'indigo ayant reçu l'eau ozonée à titrer. Cette lecture d'absorbance implique un délai entre l'échantillonnage et la connaissance de la concentration de l'échantillon. En ce sens, la concentration en temps réel dans le réacteur de dissolution n'est pas suivie. La concentration en ozone apportée depuis ce réacteur pour les expériences suivantes est donc déterminée a posteriori des essais. Cela explique l'hétérogénéité des concentrations en ozone utilisées dans le cadre de ces expériences.

1.1.4) Traitements à l'ozone

Trois types de traitements à l'eau ozonée sont réalisés lors de ces essais : la *preuve de concept* « *in vitro* », le *dépôt gouttes* « *in planta* », et la *pulvérisation* « *in planta* ».

1.1.4.a) Preuve de concept « *in vitro* »

Il s'agit ici de mettre en contact les sporanges de mildiou de la vigne avec l'eau ozonée hors végétal, puis d'inoculer ces sporanges « ozonés » sur support végétal afin d'évaluer leurs capacités à se développer. Cet essai décrit sur la figure 52 est réalisé uniquement pour le pathosystème modèle mildiou/vigne. Différentes concentrations d'ozone dissous sont mises en contact avec une même concentration de sporanges de 20 000 sporanges/mL.

Pour cela, après la détermination par comptage au microscope optique de la concentration en sporange, de l'eau ozonée est ajoutée à l'inoculum primaire à l'aide d'une micropipette de 1000 ou 5000 μ L pour réaliser la dilution à la concentration de 20 000 sporanges/mL dans un tube Falcon de 15mL. La mesure de la concentration en ozone dissous est réalisée juste avant cette dilution. En parallèle, une dilution est réalisée avec de l'eau déminéralisée stérile pour constituer la modalité témoin.

Le temps de contact entre les sporanges et l'eau ozonée dans le tube de 15mL avant le dépôt sur les premiers disques est très court, quasiment inférieure à une minute afin d'éviter la sortie des zoospores depuis les sporanges en suspension. Cette suspension de sporanges « ozonés » est ensuite inoculée sur les disques de feuilles préalablement préparés. Trois gouttes de 30 μ L par disque sont déposées à l'aide d'une pipette de 200 μ L. Un minimum de 16 disques sont inoculés par modalité de concentration d'eau ozonée, soit un total de 48 sites d'inoculation.

Les gouttes d'inoculum sont conservées sur les disques durant toute une nuit à l'intérieur d'une boîte fermée obscure, positionnée dans un incubateur en cycle jour/nuit (21°C pendant 14h, puis 17°C en obscurité pendant 10h) pour faciliter l'ouverture des stomates de la feuille et ainsi l'infection de ces derniers par les zoospores. Le lendemain matin, les gouttes sont précautionneusement aspirées avec un système légèrement sous-vide relié à un cône de pipette. Une fois les gouttes aspirées, la boîte de Pétri contenant les disques de feuille est scellée avec du parafilm et disposée dans l'incubateur. La figure 52 résume schématiquement les principales étapes de ce traitement *preuve de concept « in vitro »*.

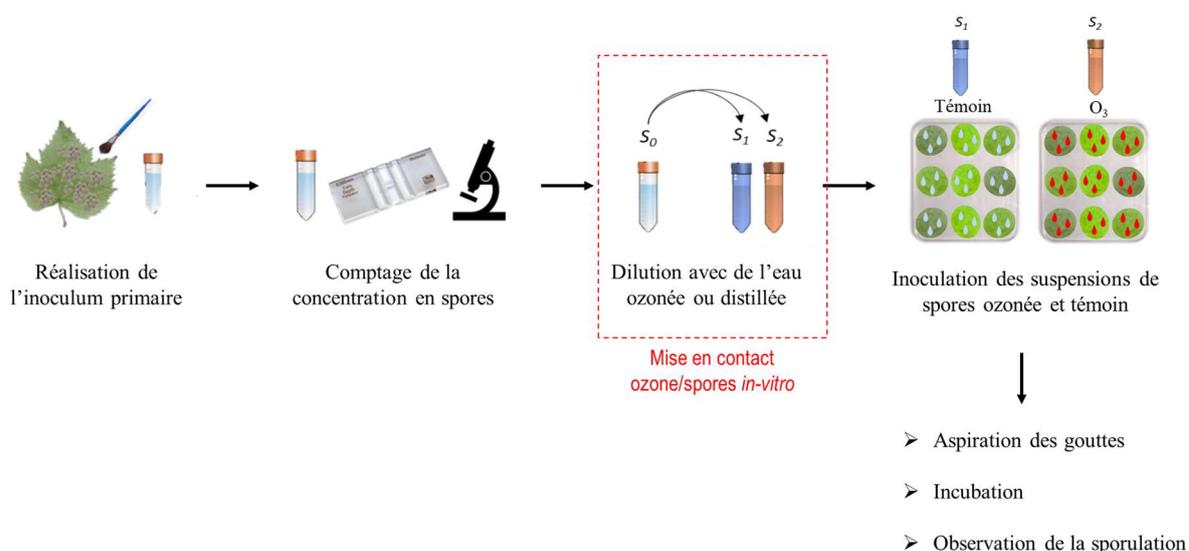


Figure 52 : Protocole pour la preuve de concept « in vitro » quant à l'effet antifongique de l'eau ozonée sur des sporanges de mildiou de la vigne.

L'intérêt de cette preuve de concept est aussi de faire un screening des concentrations en ozone dissous, ainsi trois essais indépendants sont réalisés, avec des modalités de concentrations en eau ozonée différentes. Un premier essai permet de tester les faibles concentrations de [0,11 ; 0,21 ; 0,42 ; 0,84 et 1,68]mgO₃/L, un second essai avec les concentrations intermédiaires de [0,33 ; 0,65 ; 1,31 ; 2,61 et 5,22]mgO₃/L, puis un dernier essai pour les concentrations plus importantes de [0,19 ; 2,78 ; 7,58 et 9,74]mgO₃/L. Chacune de ces 3 expérimentations indépendantes dispose d'une modalité témoin propre. Les modalités de concentrations pour chaque essai n'ont été testées qu'une fois du fait de la complexité à reproduire des concentrations similaires précises. Ainsi aucun écart-type n'est déterminé lors de ces essais.

1.1.4.b) Dépôt gouttes « in planta »

La condition de traitement *dépôt gouttes « in planta »* a pour but de montrer l'effet de l'eau ozonée après qu'une goutte d'inoculum ait été déposée sur la surface du végétal. L'idée est de mimer l'inoculation naturelle qui se produit lors des épisodes de pluies et de mettre l'ozone dans des conditions d'actions moins favorable que la condition « *in vitro* ». Le dépôt d'eau ozonée est réalisé sous forme de gouttes pour imiter une goutte pulvérisée qui atteint le végétal à traiter. Les gouttes sont produites et déposées à l'aide d'une pipette pour éviter les phénomènes de désorption lors de la création de gouttes par pulvérisation. Cette condition de traitement est réalisée selon deux protocoles distincts, afin de mettre en évidence (i) l'effet de la concentration en sporanges et en ozone dissous sur la virulence de l'infection et (ii) la fenêtre temporelle disponible pour appliquer l'eau ozonée après l'épisode d'inoculation.

(i) Effet des concentrations en sporanges et en ozone dissous

Des suspensions de sporanges de mildiou sont réalisées à trois concentrations différentes : 12500, 25000 et 50000 sporanges/mL en suivant la procédure de préparation des inoculas précédemment décrite. Trois solutions d'eau ozonée de concentration différentes en ozone dissous sont également produites par dissolution : 5,43 ; 10,69 et 16,47mgO₃/L ($\pm 0,8$ mgO₃/L).

Ensuite, trois gouttes d'inoculum de 20µL sont déposées sur chaque disque de feuille. Moins d'une minute après la fin de l'inoculation de tous les disques, une goutte d'eau ozonée de 20µL est ajoutée à chaque goutte d'inoculum présent sur les disques, en étant attentif à ce que les trois gouttes du disque ne coalescent pas. Des gouttes d'eau déminéralisée sont ajoutées à la place de l'eau ozonée dans le cas de la modalité témoin.

Après une nuit à l'obscurité dans l'incubateur, les gouttes présentes sur les disques sont aspirées, puis la boîte de Pétri est scellée et entreposée une nouvelle fois dans l'incubateur pendant 10 jours. La figure 53 schématise les différentes étapes de cette procédure de traitement *dépôt de gouttes « in planta »*.

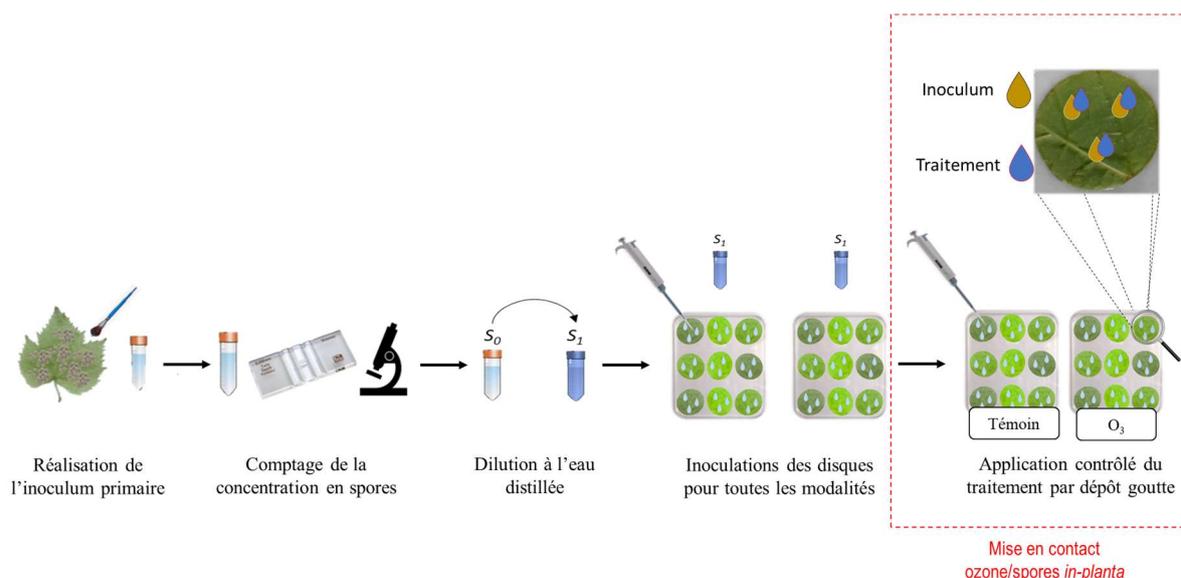


Figure 53 : Procédure de traitement dans le cadre d'applications par dépôt gouttes « in planta » afin de mettre en évidence l'effet de la concentration en sporanges et en ozone sur la virulence du mildiou de la vigne.

Une modalité est constituée de 16 disques inoculés avec 3 gouttes d'inoculum, soit 48 sites d'inoculations. Chaque modalité est répétée 3 fois lors d'expérimentations indépendantes avec une modalité témoin propre à chacune. Ces 3 expérimentations indépendantes sont considérées comme des répétitions biologiques car les concentrations en ozone obtenues sont relativement proche (max \pm 0.8mgO₃/L) et que le screening de concentration effectué est plus large (5 ; 10 et 16mgO₃/L).

(ii) Fenêtre temporelle d'application de l'eau ozonée

Durant 6h, de l'eau ozonée est générée par bullage constant d'ozone gazeux, en visant une concentration d'environ 10mgO₃/L dans la phase liquide. En parallèle, un inoculum de sporanges de mildiou est réalisé à 20000 sporanges/mL.

Au temps considéré comme t=0h, des disques de feuilles sont inoculés avec trois gouttes de 20μL de suspension de sporanges. Différentes modalités de traitements sont ensuite réalisées en ajoutant une goutte de 20μL d'eau ozonée sur chaque goutte d'inoculum à des moments différents : t= 0h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 6h. Pour chaque temporalité, des modalités témoin sont constituées en déposant des gouttes d'eau déminéralisée à la place de l'eau ozonée. Chaque modalité contient 16 disques inoculés de 3 gouttes de suspensions de spores, soit 48 sites d'inoculations au total. Chaque expérimentation a été répété 3 fois de manière indépendantes.

Comme les essais précédents, les gouttes sont laissées sur les disques durant toute la nuit, puis aspirées le lendemain matin, avant que les boîtes soient scellées et incubées en cycle jour/nuit pendant 10 jours.

La figure 54 illustre la temporalité des traitements appliqués.

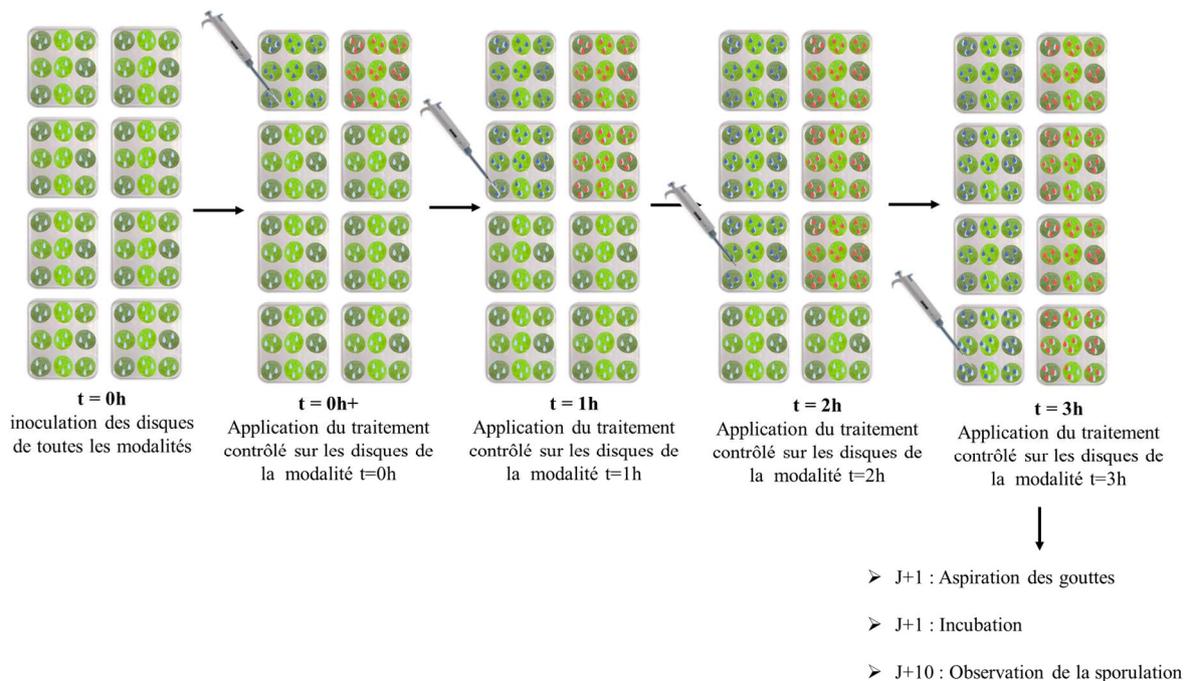


Figure 54 : Schéma explicatif de la temporalité des traitements à l'eau ozonée appliqués par dépôt gouttes « in planta » afin de mettre en évidence la fenêtre temporelle disponible pour traiter le mildiou de la vigne après inoculation. Par soucis d'espace, les traitements à t=4, 5 et 6h ne sont pas représentés.

1.1.4.c) Pulvérisation « in planta »

Il s'agit pour cette condition de traitement d'observer l'efficacité de l'eau ozonée lorsqu'elle est pulvérisée sur des gouttes de suspensions de sporanges fraîchement inoculées sur disques de feuilles (t=0h). Cette pulvérisation est effectuée de manière conventionnelle puis avec le module anti-désorption développé au chapitre précédent.

Pour cela, des disques de feuilles sont inoculés avec une suspension de sporanges de *P.viticola* à la concentration de 20000sporangies/mL, via le dépôt de 3 gouttes de 20µL par disque. La boîte de Pétri contenant les disques est disposée ouverte à environ 40cm sous la buse de pulvérisation AFX-80-02 de NOZAL précédemment étudiée. Cette buse est équipée ou non du prototype anti-désorption selon la modalité testée. La distance de pulvérisation de 40cm a été choisie pour éviter le lessivage des gouttes d'inoculum présentes sur les disques sous l'effet de la pulvérisation.

La buse de pulvérisation est positionnée sur un porte buse, lui-même fixé sur un rail. Cela permet de faire passer la pulvérisation au-dessus des feuilles à traiter comme lors de l'avancement d'un pulvérisateur en conditions extérieures. Cependant le rail n'est pas automatisé, donc cet avancement de la buse est réalisé « à la main », mais toujours par le même opérateur qui essaie d'appliquer un déplacement constant et répété.

La pulvérisation d'eau ozonée est réalisée depuis le réacteur de dissolution à l'aide d'une pompe à un débit de 35L/h, qui correspond à la gamme de débit pour le bon fonctionnement de la buse. Lorsque la pulvérisation est lancée, la première minute de pulvérisation est réalisée « dans le vide » pour laisser les tuyaux se vider de la dernière solution pulvérisée. Comme lors de l'étude globale du spray, 5 coupelles préalablement remplies d'indigo sont placées à 40cm de la buse de pulvérisation pour estimer la concentration en ozone dissous ayant atteint les disques de feuilles. La modalité témoin est réalisée par la pulvérisation d'eau déminéralisée. Le module anti-désorption est alimenté avec une concentration d'ozone gazeux de 50mg/L avec un débit gazeux de 100L/h.

Après la pulvérisation, les boîtes de Pétri sont refermées et passent la nuit à l'obscurité dans l'incubateur. Le lendemain, le surplus de liquide en surface des disques est aspiré, puis les boîtes sont scellées au parafilm et mises à l'incubateur pendant 10 jours. La figure 55 représente schématiquement le traitement appliqué par pulvérisation « *in planta* » avec ou sans le prototype de pulvérisation.

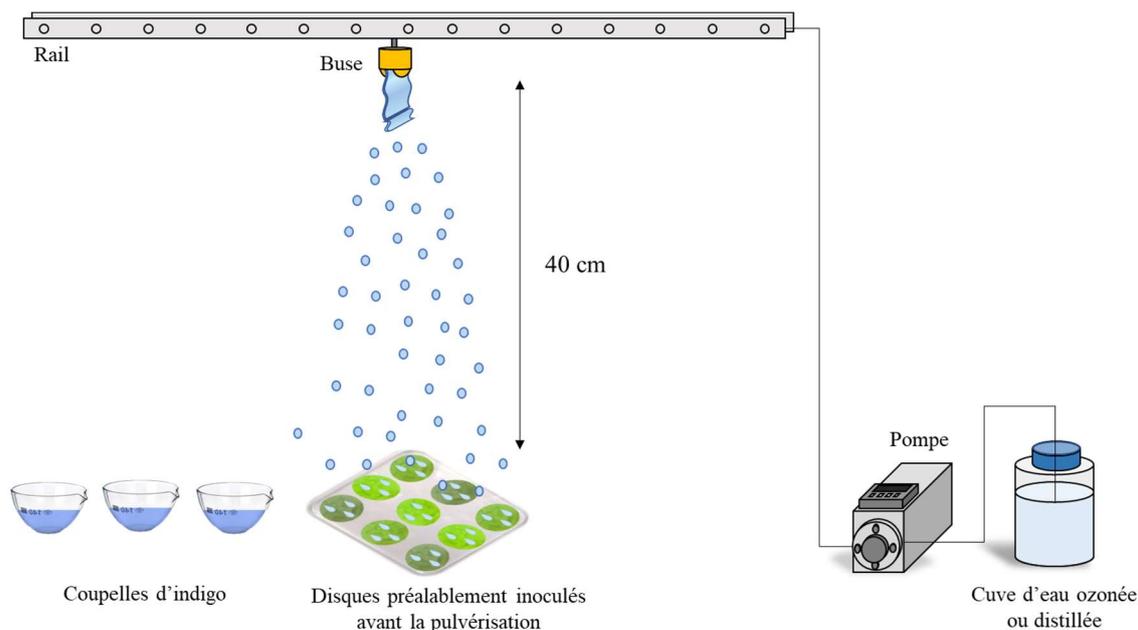


Figure 55 : Schéma du traitement à l'eau ozonée réalisé par pulvérisation « *in planta* » sur des disques de feuilles de vignes, inoculés de suspensions de sporanges de mildiou.

1.1.5) Évaluation des symptômes et efficacité du traitement

L'efficacité des différents traitements à l'eau ozonée est évaluée par observation visuelle des symptômes présents sur les disques de feuille 10 jours après l'inoculation, afin d'estimer si l'eau ozonée a limité le développement des microorganismes étudiés. Cette efficacité est évaluée selon deux paramètres : l'intensité et la fréquence de l'infection.

1.1.5.a) Intensité de la sporulation de *P.viticola*

L'observation de la sporulation de *P.viticola* sur la face inférieure des disques de feuilles de vignes est la méthode la plus courante pour évaluer le degré de développement du mildiou. Comme préconisé par l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) dans la liste des descripteurs pour les variétés et espèces du genre *Vitis*, l'intensité de sporulation de *P.viticola* peut être quantifiée à l'aide d'une échelle de notation. Chaque site d'inoculation est évalué, soit 3 notations par disque. La figure 56 présente l'échelle de notation utilisée par un même opérateur pour les présentes expérimentations. La plage de notes attribuées s'étend de 0 à 90 de manière arbitraire, et ne représente en aucun cas une échelle en pourcentage. La notation de 90 correspond à l'intensité maximale de sporulation qui a été observée sur l'ensemble des expérimentations menées avec *P.viticola* sur disques de feuilles.

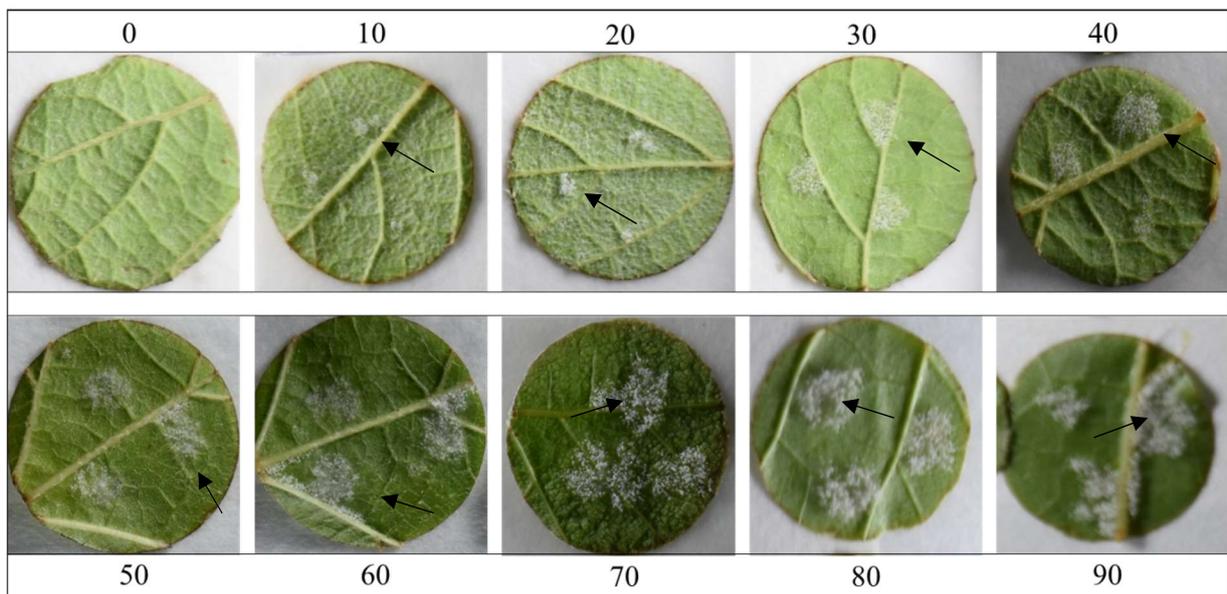


Figure 56 : Échelle de notation utilisée pour l'évaluation de l'intensité de sporulation de *P.viticola*. (La flèche indique le site concerné par la notation).

1.1.5.b) Efficacité de traitement sur l'intensité de sporulation

L'efficacité du traitement sur l'intensité de sporulation est définie avec l'équation 49 suivante :

$$Eff_{intensité} = 1 - \frac{\overline{N_{modalité}}}{\overline{N_{témoin}}}$$

Équation 49

Avec $\overline{N_{modalité}}$ la moyenne des notations de la modalité de traitement concerné et $\overline{N_{témoin}}$ la moyenne des notations de la modalité témoin.

Ainsi une efficacité de 100% indique que la modalité en question dispose d'une note moyenne de 0 ce qui signifie qu'aucune sporulation n'est visible sur l'ensemble des disques inoculés. À contrario, une efficacité de 0% indique que la modalité de traitement obtient la même note moyenne que le témoin n'ayant pas reçu de traitement particulier, autrement dit que le traitement testé n'a aucun effet limitant la sporulation des sporanges pathogènes. Les observations sont réalisées 10 jours après l'inoculation des sporanges sur les supports végétaux.

1.1.5.c) Fréquence d'infection et efficacité du traitement sur cette fréquence d'infection

La fréquence d'infection est définie à l'équation 50 comme le rapport entre le nombre de sites d'inoculations présentant une sporulation (peu importe sa sévérité) et le nombre de sites d'inoculations total :

$$Fréq = \frac{Nbr\ sites\ avec\ N_{site} > 0}{Nbr\ sites\ total}$$

Équation 50

Avec N_{site} la notation attribué à un site d'inoculation.

La fréquence d'infection permet d'observer si le traitement appliqué inactive totalement le développement des sporanges présents dans la goutte d'inoculum déposé sur le support végétal. La comparaison de la fréquence de la modalité de traitement avec la modalité témoin permet de connaître l'efficacité du traitement à l'eau ozonée sur la fréquence d'infection de la maladie :

$$Eff_{fréquence} = 1 - \frac{Fréq_{modalité}}{Fréq_{témoin}}$$

Équation 51

Comme pour l'intensité, cette fréquence est évaluée 10 jours après l'inoculation.

1.1.5.d) Traitements statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R à l'aide du package *agricolae* (De Mendiburu & Simon, 2015). La normalité de chaque jeu de données est testée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk. Un jeu de données est constitué de l'ensemble des notations observées pour une modalité. La normalité de ces jeux de données n'est quasi-systématiquement jamais vérifiée. Ainsi un test non paramétrique de Kruskal-Wallis est réalisé entre les différents jeux de données d'une même expérience pour conclure quant à la significativité entre les modalités testées. Les modalités sont considérées significativement différentes entre elles lorsque la p-value est inférieure à 0,05.

À noter que les tests statistiques sont réalisés sur les valeurs de notations (figure 56) obtenues pour chaque modalité. Cependant ce sont les efficacités (équation 49) qui sont représentées dans la partie résultats.

1.2) Extensions des expérimentations aux mildiou du chou et oïdium de la tomate

Cette section décrit succinctement les modalités de croissances, de traitements et d'évaluation des essais mis en place chez Vegenov sur le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate.

1.2.1) Matériel végétal & inoculas

1.2.1.a) Les plantules de chou, Brassica oleracea

Les plantules de chou sont produites par semis 3 semaines avant les expériences de traitement avec l'eau ozonée. Ces semis sont réalisés sur plaques de semis à 6 alvéoles de 6x5cm chacune, dans du terreau. Ces plaques sont regroupées par 6 dans des mini serres de 38x24x19cm puis placées dans des chambres de cultures en cycle jour/nuit à une température de 16 à 18°C. Un exemple de plaque de semis de plantules de chou prêtes pour les expérimentations est présenté sur la figure 57.



Figure 57 : Plaque de semis contenant les plantules de chou pour essais de traitements à l'eau ozonée du mildiou du chou.

1.2.1.b) Les plants de tomate, *Solanum lycopersicum*

Tout comme les plantules de chou, le centre de ressources technologique Vegenov s'est chargé de la production de plants de tomates. Des semis sont réalisés 4 semaines avant l'expérimentation dans des pots de 3L contenant du terreau et de l'engrais à libération lente. La croissance des plants est effectuée en serre, et l'eau est apportée par subirrigation. Des tuteurs maintiennent les plants durant leur croissance. Les plants de tomates sont prêts pour l'expérimentation dès lors qu'ils présentent au moins 5 feuilles, tels qu'ils apparaissent à la figure 58.



Figure 58 : Les plants de tomates produits par Vegenov pour les expérimentations avec l'oidium et l'eau ozonée.

1.2.2) Préparation des inocula et sites d'inoculations

Préparation des inocula

Chez Vegenov, les suspensions de sporanges et conidies de *H.parasiticae* et *O.neolycopersici* sont préparées de manière identique à celles de *P.viticola*, excepté que leur collecte depuis une feuille infectée est réalisée par agitation d'une feuille sporulante dans un tube Falcon contenant quelques millilitres d'eau déminéralisée et sans l'aide d'un pinceau.

Inoculations

Les infections de mildiou et oïdium sont réalisés directement sur plants entiers, les cotylédons et les folioles sont laissés accrochés à la plante. Concernant les plantules de chou, entre 50 à 60 plantules sont utilisés par modalité. Uniquement 2 cotylédons par plantules sont conservés et infectés lors des expérimentations. Pour les plants de tomates, 6 plants par modalités sont utilisés. Chaque plant dispose d'au moins 5 feuilles avec 5 à 7 folioles. Les inoculations sont réalisées sur 10 folioles réparties sur les feuilles F2 et F3, comme l'illustre la figure 59.

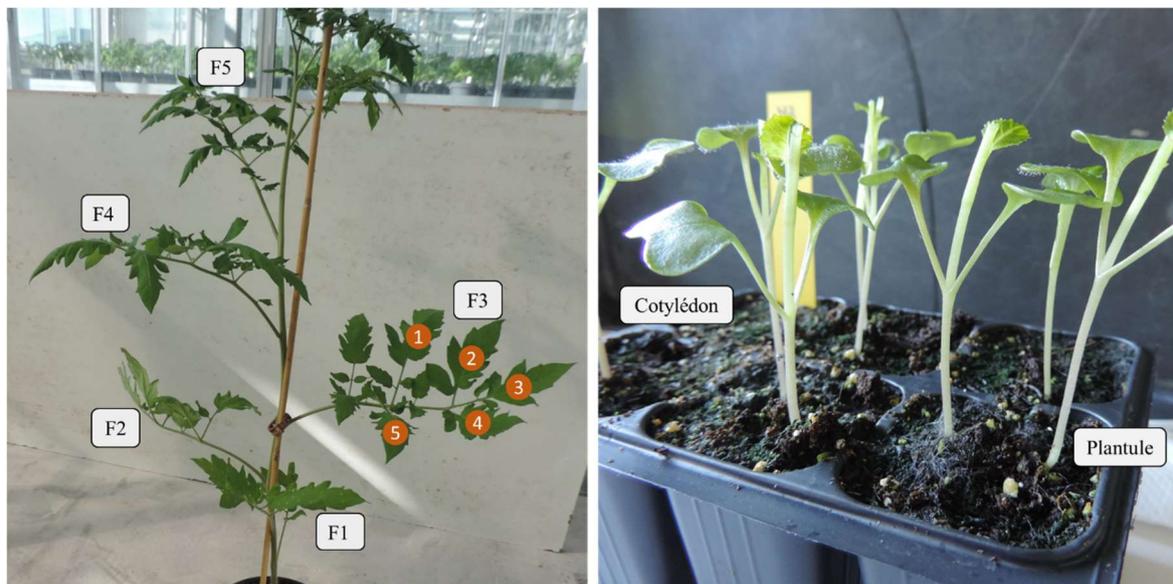


Figure 59 : Plants de tomates avec ses différentes feuilles (F1 à F5) et folioles (1 à 5) (gauche) ; Plantules de chou (droite).

L'inoculation de *H.parasiticae* est réalisé en déposant une goutte de 10 μ L de suspensions de sporanges à une concentration de 20 000sporanges/mL à l'aide d'une pipette répétitive sur chacun des deux lobes du plantule de chou. Pour l'inoculation de *O.neolycopersici*, une suspension de conidies d'oïdium à 20 000conidies/mL est déposée sous forme de gouttes de 10 μ L sur les feuilles des plants de tomates.

Chacune des 10 folioles est inoculée avec 6 gouttes d'inoculum. Ces sites d'inoculations sont représentés à la figure 60.

Une fois inocuées et traitées, les plantules de chou sont redispesées dans les mini serres et conservées en chambre de culture en cycle jour/nuit pendant 7 jours. Les plants de tomates quant à eux sont conservés dans la serre durant toute la durée de croissance, inoculation et traitement.



Figure 60 : Illustrations des différents sites d'inoculations, sur folioles de tomates (gauche) et cotylédons de chou (droite).

1.2.3) Traitements à l'ozone

1.2.3.a) Dépôt gouttes « in planta »

Mildiou/chou

Deux solutions d'eau ozonée sont réalisées à $4,1\text{mgO}_3/\text{L}$ et $5,9\text{mgO}_3/\text{L}$ pour tester l'effet de deux concentrations de traitements différentes. Environ 1 à 2 minutes après l'inoculation des plantules, chaque goutte d'inoculum est recouverte d'une goutte d'eau ozonée de $10\mu\text{L}$, ou d'eau distillé pour la modalité témoin. Les expériences de temporalités réalisées sur *P.viticola* ne sont pas reproduites pour ce pathosystème.

Oïdium/tomate

Une solution d'eau ozonée à 3,6mgO₃/L est produite, puis déposée par gouttes de 10µL sur les gouttes d'oïdium, environ 1 à 2 minutes après leur inoculation. Des gouttes d'eau déminéralisée sont ajoutées plutôt que l'eau ozonée dans le cas de la modalité témoin. Le faible volume de goutte déposé (10µL) permet d'assurer que les gouttes ne ruissellent pas hors de la feuille lors de la coalescence de la goutte d'inoculum et de traitement.

1.2.3.b) Pulvérisation « in planta »

En plus des *dépôts gouttes « in planta »*, des applications par *pulvérisation « in planta »* sont réalisées. Ici, seule la pulvérisation classique est réalisée dans le cadre de ces expériences, le prototype anti-désorption n'est pas utilisé. À défaut de la disponibilité d'un rail pour fixer la buse de pulvérisation, cette dernière est tenue à la main par l'opérateur comme schématisé à la figure 61. L'eau ozonée est pulvérisée sur les plants à une distance d'environ 40cm, en essayant de recouvrir la majorité de la surface des feuilles des plants, sans apporter trop d'eau pour éviter le lessivage des gouttes d'inoculum. La pulvérisation est réalisée dans un espace dédié permettant l'évacuation du liquide pulvérisé et suffisamment aéré pour éviter l'accumulation d'ozone gazeux dans l'aire de traitement. Les plantules et plants sont précautionneusement transportés entre l'aire de pulvérisation et leur lieu de culture, pour éviter le ruissellement des gouttes qui adhèrent aux feuilles.

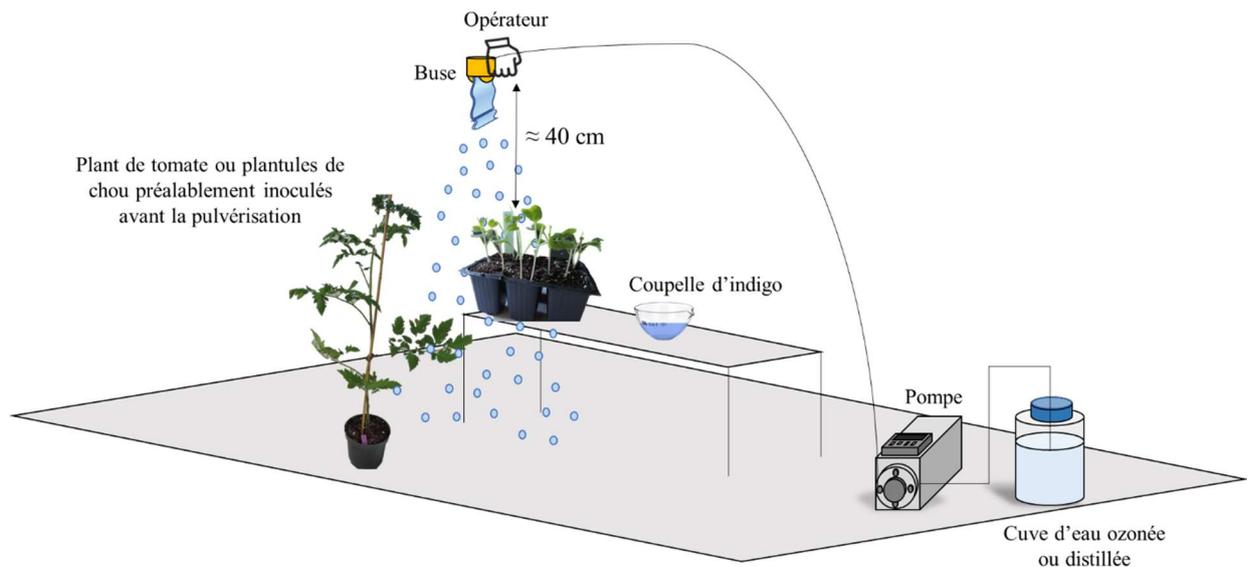


Figure 61 : Schéma du traitement par pulvérisation d'eau ozonée sur plants de tomates ou plantules de chou respectivement inoculés de suspension de conidies d'oïdium ou de sporanges de mildiou.

1.2.4) Évaluation des symptômes et efficacité de traitement

1.2.4.a) Intensité et fréquence d'infection d'*Oidium neolycopersici*

Réalisée à titre indicatif et de manière moins détaillée que la notation de la sporulation du mildiou vigne, une notation de l'oïdium de la tomate *O.neolycopersici* est réalisée afin d'obtenir un ordre d'idée de l'intensité de la sporulation des conidies inoculées puis traitées. Il s'agit ici de noter chaque site d'inoculation en fonction de la virulence de la sporulation observée. La notation se limite à 3 valeurs : 0 – absence de sporulation ; 10 – sporulation faible ; 20 – sporulation forte. La figure 62 donne un exemple des types de sporulations définies.

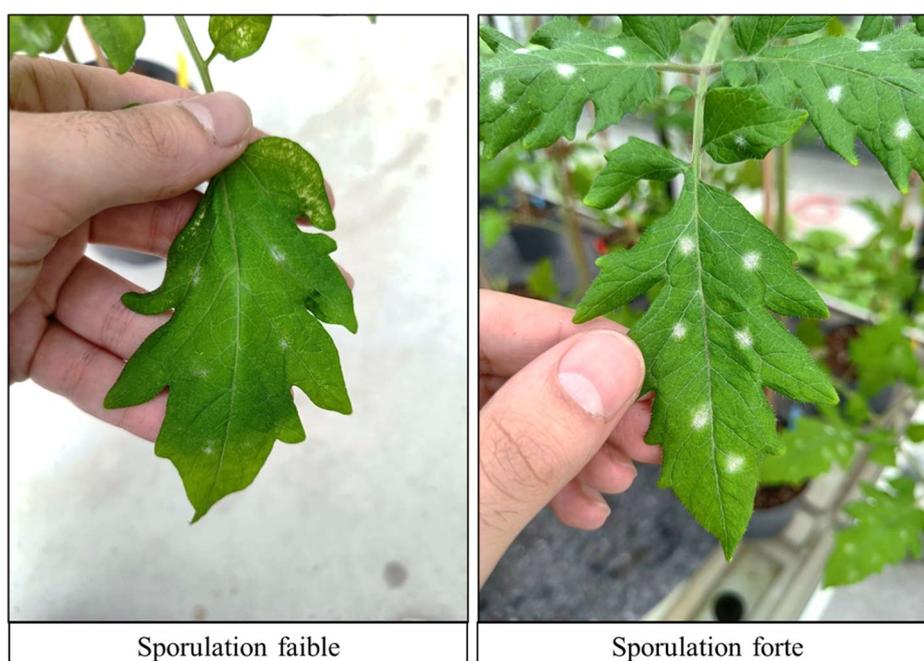


Figure 62 : Exemples de feuilles de tomates présentant l'ensemble de leurs sites d'inoculations pour une sporulation faible (note de 10) et une sporulation forte (note de 20) d'*O.neolycopersici*.

Chaque site d'inoculation reçoit cette notation à 6 puis 10 jours après l'application du traitement à l'eau ozonée. En moyennant les notations obtenues pour tous les sites d'une modalité de traitement et en les comparant avec la moyenne des notations témoin, l'efficacité du traitement au regard de l'intensité de l'infection peut être déterminé comme précédemment à l'équation 49 et l'efficacité relative à la fréquence d'infection grâce à l'équation 51.

$$Eff_{intensité} = 1 - \frac{N_{modalité}}{N_{témoin}}$$

Équation 52

En s'intéressant au nombre de sites présentant des signes de sporulations, la fréquence d'infection de la maladie peut être déterminée grâce à l'équation 50 présentée précédemment :

$$Fréq = \frac{Nbr\ sites\ avec\ N_{modalité} > 0}{Nbr\ sites\ total}$$

Équation 53

Cela permet de définir l'efficacité du traitement à l'eau ozonée au regard de la fréquence d'infection :

$$Eff_{fréquence} = 1 - \frac{Fréq_{modalité}}{Fréq_{témoin}}$$

Équation 54

1.2.4.b) Classes d'infection chez *H.parasiticae*

Pour le pathosystème mildiou/chou, aucune notation quantitative n'est réalisée. L'évaluation du degré d'infection de la plante par le microorganisme se fait en répartissant les symptômes observés en classe qualitatives : Absence de symptômes ou nécrose (0), Nécroses d'hypersensibilités sans sporulation (1), Légère sporulation (< à 10% de la surface foliaire) localisée au site d'inoculation face inférieure (3), Légère sporulation sur la face inférieure, de 10 à 50% de surface foliaire (5), sporulation éparse sur les deux faces, comprise entre 50 et 75% (7), sporulation dense sur les deux faces supérieure à 75% (9). Cette classification est appliquée pour chaque plantule, soit l'ensemble des deux cotylédons inoculés.

2) RESULTATS & DISCUSSION

Dans le cadre du projet SOLSTICE dans lequel s'inscrit cette thèse, le travail s'oriente principalement autour de la vigne et ses principales problématiques. Ainsi le pathosystème mildiou/vigne fait l'objet de la majorité des investigations et constitue le cœur de cette section. De manière à illustrer la non-spécificité de l'eau ozonée sur un seul type de pathogène, des résultats complémentaires pour les deux autres pathosystèmes mildiou/chou et oidium/tomate sont recueillis grâce à la collaboration avec Vegenov.

2.1) Évaluation de l'efficacité de l'eau ozonée contre le développement de *P.viticola*

2.1.1) Preuve de concept « in vitro »

Pour montrer le potentiel d'inactivation des sporanges de *P.viticola* par l'eau ozonée, ces derniers sont mis en contact hors végétal dans un tube Falcon de 15mL. Après cette mise en contact, la suspension de sporanges est déposée sur disques de feuilles afin d'observer si le développement des sporanges se produit. L'efficacité de l'eau ozonée pour limiter l'intensité de la sporulation des sporanges est présentée à la figure 63, en fonction de la concentration en ozone dissous utilisée lors de la mise en contact sporanges/ozone.

Tout d'abord, un effet dose est décrit par les résultats de la figure 63 : l'augmentation de la concentration en ozone dissous augmente sensiblement l'efficacité de l'eau ozonée pour limiter l'intensité de la sporulation de *P.viticola* qui semble quasiment réprimée à partir de 1,68mgO₃/L dans l'eau ozonée. Au-delà de cette concentration, l'efficacité de l'eau ozonée reste presque maximale en limitant la majorité des sporulations du mildiou sur les disques de feuilles de vigne. En deçà, une partie des sporanges ozonés et inoculés sur les disques est capable d'infecter et de se développer, comme l'indique les efficacités inférieures à 100%.

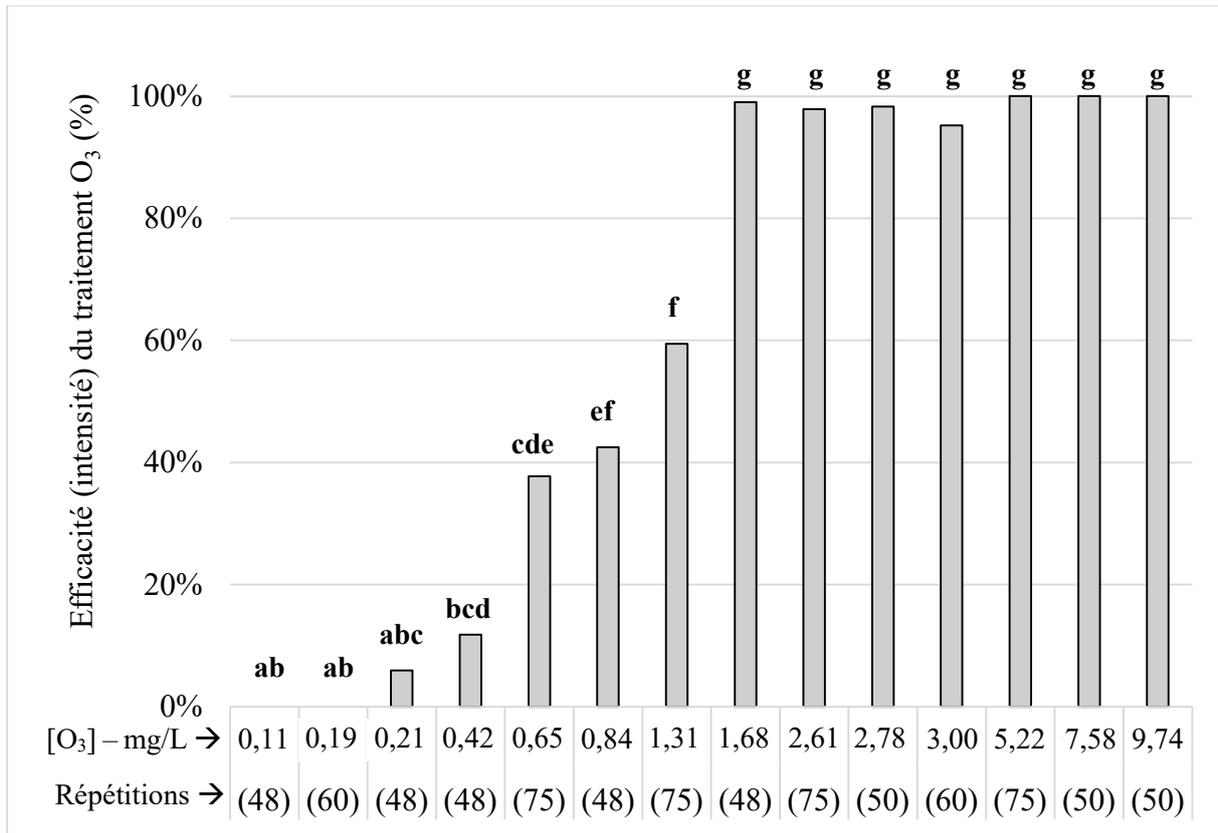


Figure 63 : Efficacité de l'eau ozonée en fonction de sa concentration en ozone dissous pour limiter l'intensité de la sporulation de *P.viticola* après leur mise en contact *in vitro*. Les lettres représentent des différences significatives entre les notations de chaque modalité de traitement au sens du test de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05).

La fréquence d'infection présentée à la figure 64 permet de déterminer la concentration en ozone dissous qui a permis l'inactivation totale des sporanges présents dans la suspension inoculée sur les disques de feuilles. En effet, à partir de 5,22mgO₃/L, plus aucun symptôme du mildiou n'est visible sur les disques de feuilles, ce qui signifie que les sporanges ozonés ne sont plus capables de se développer pour former des sporanges secondaires. La concentration de 1,68mgO₃/L, bien qu'elle limite très fortement la fréquence d'apparition des symptômes du mildiou, ne permet pas de limiter totalement l'apparition de la maladie car l'efficacité n'atteint pas 100%. Cela signifie que des sites d'inoculations présentent des signes de sporulation, même très faible. Ces faibles sporulations peuvent être à l'origine d'infections secondaires.

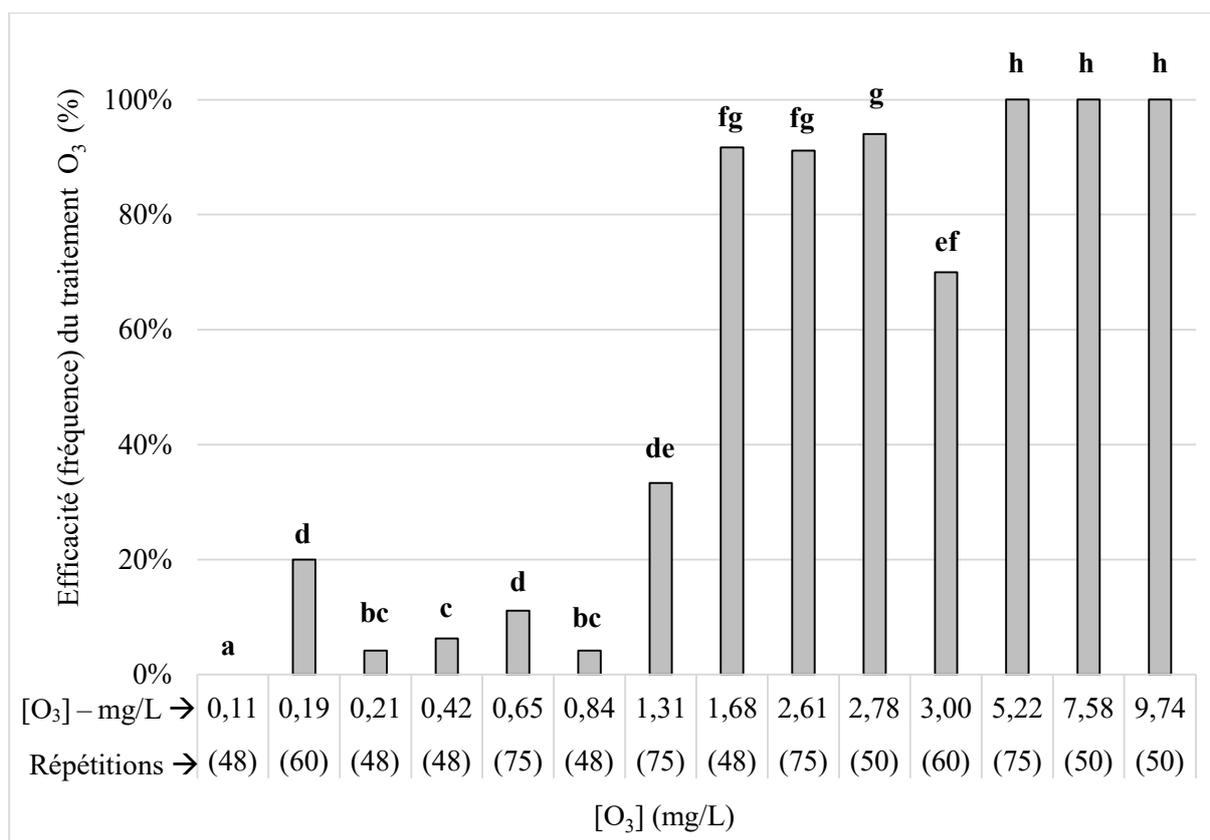


Figure 64 : Efficacité de l'eau ozonée en fonction de sa concentration en ozone dissous pour limiter la fréquence de sporulation de *P.viticola* après la mise en contact ozone/spore *in vitro*. Les lettres représentent des différences significatives entre les fréquences de chaque modalité de traitement au sens du test de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05).

La différence d'efficacité d'infection constatée entre les modalités testées, que ce soit à la figure 63 ou 64, provient donc de la différence de concentration en ozone dissous utilisée lors de la mise en contact « *in vitro* ». Comme rappelé dans l'état de l'art lors de la description de ses mécanismes d'actions, la molécule d'ozone au contact avec les sporanges va attaquer leurs parois, au point d'en compromettre l'intégrité et donc leur viabilité. L'augmentation de la concentration en ozone dissous permet donc d'atteindre des degrés de dégradation des parois plus avancés, qui mènent plus aisément à l'inactivation du sporange. Une concentration d'ozone dissous plus élevée permet également de toucher un plus grand nombre de sporanges en suspension. Ce comportement de l'eau ozonée a déjà été observé par d'autres auteurs lors d'expérimentations sur des pathogènes des cultures (Pages, 2015; Fujiwara & Fujii, 2002; Kazlauskaite *et al*, 2020).

La preuve de concept est bien là, l'ozone dissous en faible quantité dans l'eau permet d'inactiver partiellement le mildiou de la vigne « *in vitro* », et il a un effet d'inhibition complet pour des

concentrations supérieures à 5,22mgO₃/L. Cette preuve de concept indique que l'inactivation totale d'un inoculum de *P.viticola* aux alentours de 20 000sporangies/mL nécessite l'apport d'eau ozonée avec une concentration d'ozone dissous d'au moins 5,22mgO₃/L. Cela donne une idée de la dose minimale à apporter lors des expérimentations « *in planta* » suivantes. À noter que dans le cas d'application d'eau ozonée sur plantes, les molécules d'ozone vont réagir avec la matière organique présente sur les feuilles en plus de celle constitutive des microorganismes pathogènes. Il est donc attendu que des concentrations en ozone plus élevées que 5,22mgO₃/L soient nécessaires pour limiter totalement l'apparition de symptômes lors de l'application d'eau ozonée « *in planta* ».

2.1.2) Dépôt gouttes « in planta »

2.1.2.a) Effet des concentrations en ozone et en sporanges

Des suspensions de sporanges à différentes concentrations sont utilisées pour inoculer des disques de feuilles et par-dessus lesquelles, des gouttes à différentes concentration d'eau ozonée sont déposées. L'idée est d'observer l'effet de l'eau ozonée juste après inoculation des sporanges sur feuilles, par exemple à la suite d'un épisode pluvieux dans les vignes durant la période de forte pression fongique. La figure 65 rapporte les résultats obtenus pour ces expérimentations de *dépôt gouttes « in planta »*. Le résultat précédent est retrouvé, soit l'augmentation de l'efficacité du traitement avec la concentration en ozone dissous dans les gouttes appliquées. Cependant, la concentration de 5,22mgO₃/L n'est pas suffisante pour atteindre une efficacité de traitement proche des 100%, quelle que soit la concentration en sporanges dans la goutte d'inoculum. Comme supposé précédemment, une partie de l'ozone appliquée réagit probablement avec la surface de la feuille, il faut donc appliquer des doses plus élevées que lors des expérimentations *in vitro* où l'ozone réagissait uniquement avec les sporanges en suspensions. Pour cette raison, les modalités à 10,69 et 16,47mgO₃/L atteignent de meilleures efficacités de traitement.

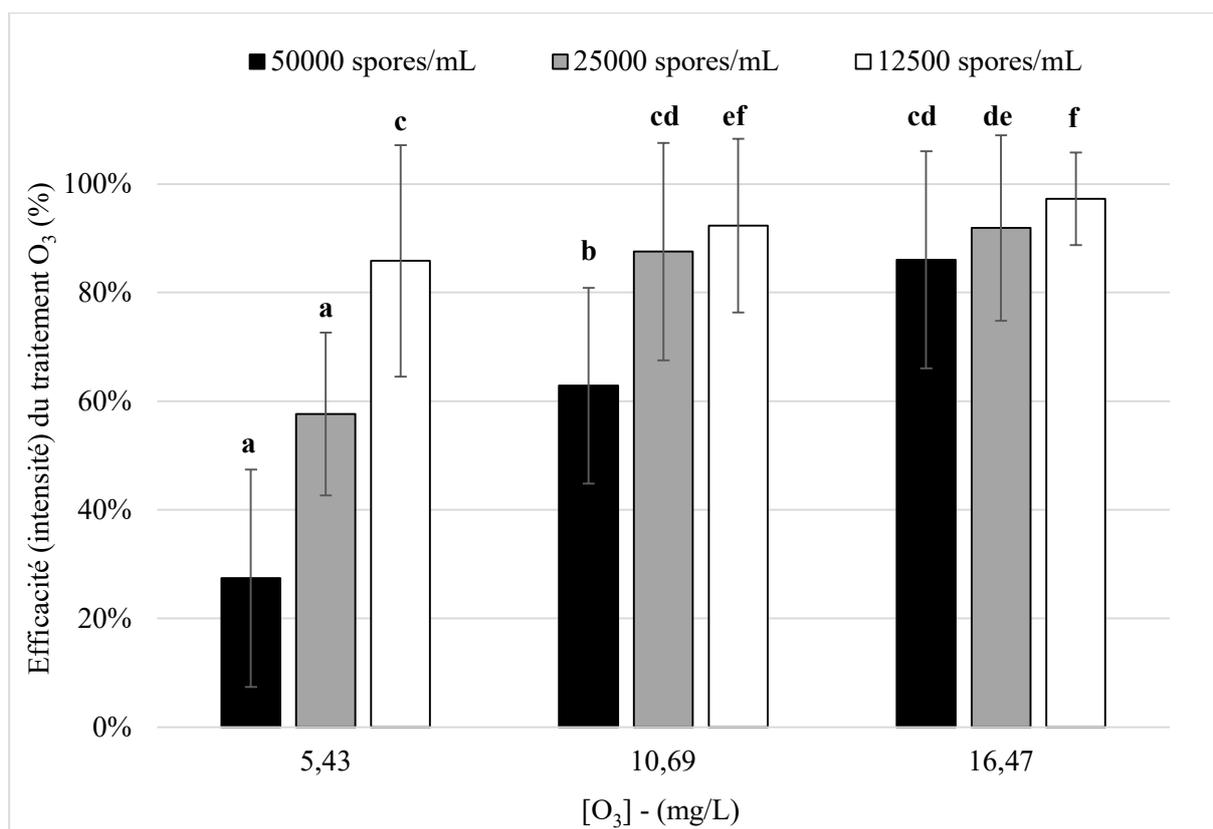


Figure 65 : Efficacité des dépôt gouttes « in planta » d'eau ozonée effectués à différentes concentrations d'ozone dissous pour limiter l'intensité du développement des sporanges de *P.viticola* inoculés à différentes concentrations (chaque modalité correspond à 3 expérimentations indépendantes constituées de 48 notations chacune, soit $n=144$). Les lettres représentent des différences significatives entre les notations de chaque modalité de traitements au sens du test de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05).

De plus, pour une même concentration en ozone appliquée, l'efficacité augmente avec la diminution de la concentration en sporange dans l'inoculum. L'inactivation des sporanges est donc plus efficace lorsque la quantité d'ozone apportée pour dégrader les sporanges augmente, puisque les molécules d'ozone sont assez nombreuses pour dégrader suffisamment les parois. Ainsi la présence de plus de sporanges dans l'inoculum demande un apport plus conséquent d'ozone pour maintenir un certain niveau d'efficacité car la surface de parois cumulées à dégrader par l'ozone est plus importante.

2.1.2.b) Fenêtre temporelle de traitement après l'épisode d'inoculation

L'étude par dépôt gouttes « *in planta* » permet aussi de déterminer la fenêtre de temps disponible après un épisode d'inoculation pour appliquer efficacement l'eau ozonée. En laissant différentes durées entre l'inoculation et l'application d'eau ozonée, cette fenêtre est déterminée. Ces résultats sont présentés à la figure 66.

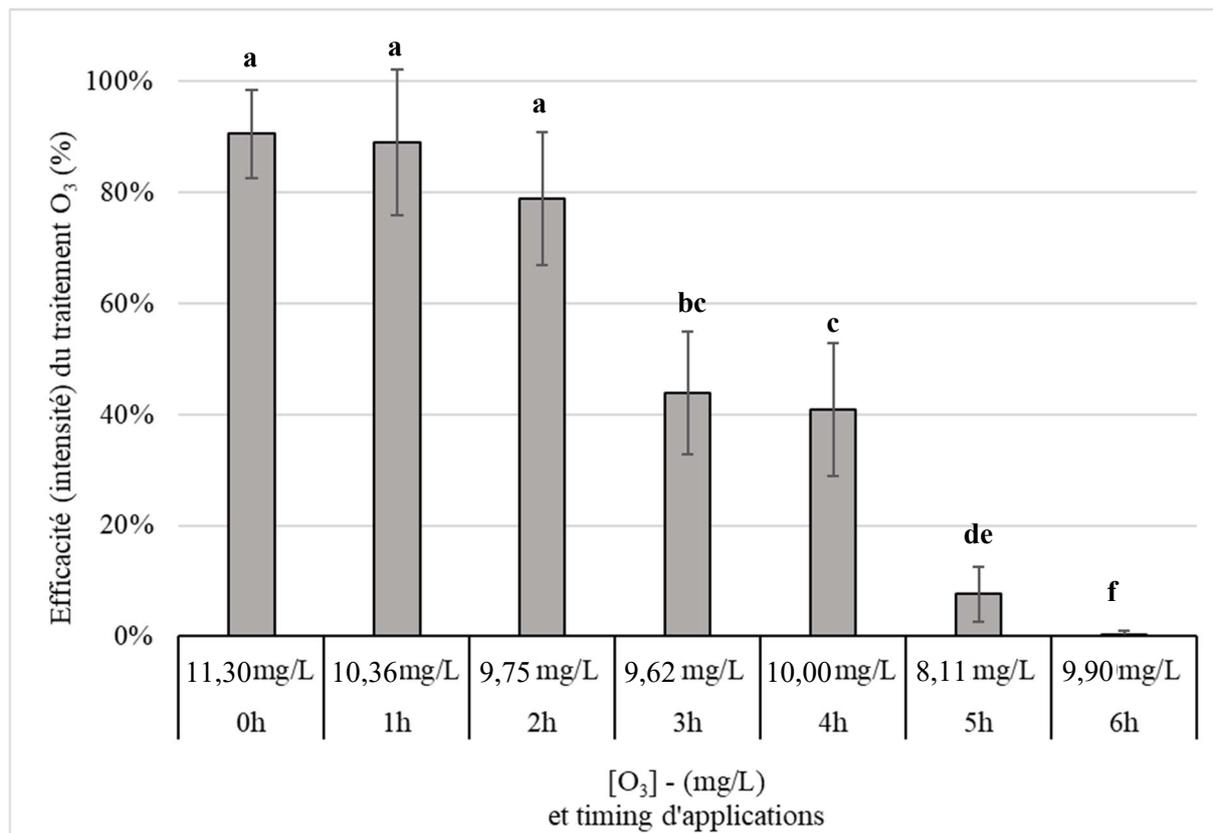


Figure 66 : Efficacité des dépôts gouttes « *in planta* » d'eau ozonée pour limiter leur intensité de sporulation en fonction de la durée entre l'inoculation de sporanges de *P.viticola* et le traitement (chaque modalité correspond à 3 expérimentations indépendantes constituées de 48 notations chacune, soit $n=144$). Les lettres représentent des différences significatives entre les notations de chaque modalité de traitement au sens du test de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05).

Pour une concentration en ozone dissous relativement identique, l'efficacité de l'eau ozonée pour limiter l'intensité de la sporulation du mildiou diminue lorsque la durée entre l'inoculation et le traitement augmente. Lorsque cette durée est inférieure à 2h, l'efficacité du traitement à l'eau ozonée est bonne (supérieure à 75%), mais au-delà de cette durée l'efficacité chute drastiquement et n'est plus que très légèrement supérieure à 40% après 3 à 4h post inoculation. Pour une durée supérieure à 5h entre l'inoculation et le traitement, l'eau ozonée ne montre plus d'effets limitant la sporulation de *P.viticola*.

Ce résultat peut s'expliquer par le cycle d'infection du mildiou de la vigne, rappelé à la figure 67. En effet, à la suite de l'inoculation naturelle des sporanges lors de précipitations ($t=0h$), les zoospores contenues dans les sporanges sont relâchées sur la feuille ($t=0 - 1h$). En l'espace de 3h, elles nagent et rejoignent les stomates pour rentrer dans l'épiderme de la feuille et en coloniser l'intérieur ($t=1 - 3h$). À partir de 3h après l'inoculation, les zoospores s'enkystent au niveau d'un stomate et germent vers l'intérieur de la feuille pour produire le mycélium ($t=3h$). Il est donc raisonnable de penser qu'en appliquant l'eau ozonée plus de 3 heures après l'inoculation, la plupart des zoospores et des structures qu'elles engendrent sont déjà à l'intérieur de la feuille et non plus en surface, et cela pour une durée d'environ 5 jours ($t=0 - 5j$). Les molécules d'ozone appliquées plus de 3h après l'inoculation sont probablement consommées en priorité par les impuretés présentes sur la feuille, les zoospores retardataires restées en surface, ou par la surface de la feuille elle-même. Il y a donc peu d'ozone qui atteint les structures implantées du mildiou pour limiter sa sporulation au sein de la feuille de vigne.

Cette expérience met en évidence que l'eau ozonée est un agent de contact qui réagit préférentiellement avec la surface de la matrice à traiter. De cette façon, il est aisé de penser que l'eau ozonée puisse inactiver les sporanges présents sur les sporangiophores localisés à la surface de la feuille à partir de 5 jours environ après un premier épisode d'inoculation. Cependant cette expérimentation n'a pas été réalisé dans le cadre des présents travaux de thèse pour confirmer cette hypothèse.

Toutefois, dans la nature, les inoculations au sein d'une culture ne sont pas synchronisées, c'est-à-dire qu'on retrouve tous les stades du cycle du mildiou sur une parcelle cultivée. En agissant sur les étapes où les sporanges et les zoospores sont en surface de feuille, il y a de très fortes chances de briser le cycle d'infection du mildiou et donc de réduire l'épidémie au sein de la culture.

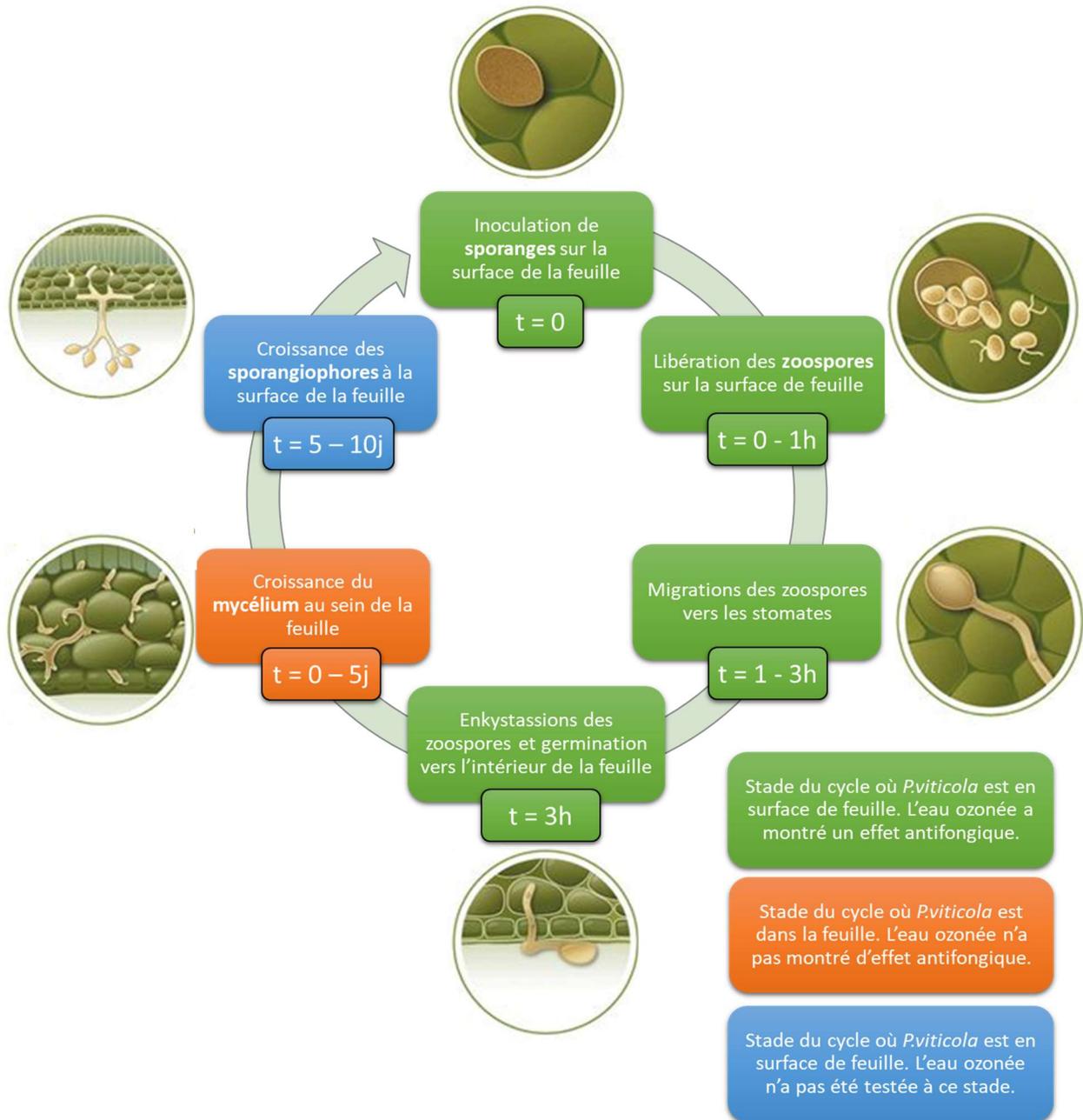


Figure 67 : Chronologie du cycle d'infection secondaire du mildiou de la vigne. Les étapes du cycle en vert représentent les temporalités où l'eau ozonée a été appliquée avec succès pour réduire l'intensité de l'infection. L'étape en orange représente le moment du cycle où les structures du mildiou sont au sein de la feuille et où l'eau ozonée semble ne plus pouvoir intervenir. L'étape en bleu représente le moment où les structures du mildiou sont à l'extérieur de la feuille et donc susceptibles d'être dégradées par l'eau ozonée, mais dont les expérimentations n'ont pas été réalisées.

2.1.3) Pulvérisation « in planta »

En appliquant l'eau ozonée par pulvérisation consécutivement à l'inoculation des plants, les essais expérimentaux se rapprochent des conditions de traitements *in situ*. La pulvérisation est réalisée sous deux modalités : pulvérisation conventionnelle sans utilisation du prototype, et pulvérisation avec la buse équipée du prototype de réduction de la désorption. Les résultats de 5 essais distincts réalisés sur des disques de feuilles de vignes sont présentés à la figure 68.

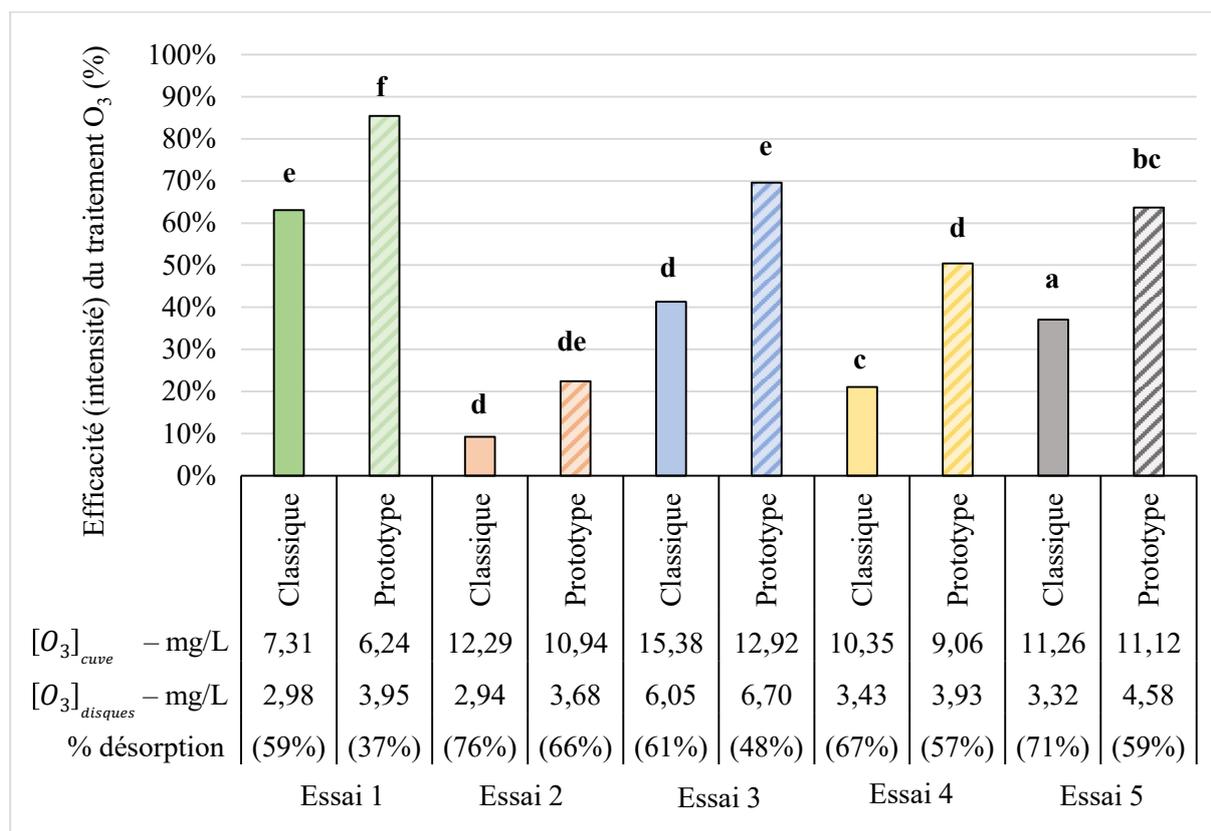


Figure 68 : Efficacité du traitement à l'eau ozonée par pulvérisation pour réduire l'intensité de sporulation de *P.viticola*, avec ou sans buse équipée du prototype de réduction de la désorption d'ozone. $[O_3]_{cuve}$ indique la concentration en ozone mesurée dans la cuve au moment de la pulvérisation et $[O_3]_{disques}$ indique la concentration en ozone mesurée 40cm sous la buse de pulvérisation à l'endroit où se trouve les disques de feuilles à traiter. Les lettres représentent des différences significatives entre les notations de chaque modalité de traitement au sens du test de Kruskal-Wallis (p -value < 0,05).

Pour chaque répétition, représentés à la figure 68 par des histogrammes de même couleur, l'efficacité en termes d'intensité est systématiquement plus élevée lors de l'utilisation du prototype anti-désorption que lors de la pulvérisation classique. Cela semble s'expliquer par le fait que les concentrations d'ozone apportées aux disques de feuilles 40cm sous la buse sont plus importantes avec l'utilisation du prototype. En effet, la désorption calculée est réduite d'environ 13% en moyenne sur les 5 essais grâce à l'utilisation

du prototype. Même si cela semble évident, il est intéressant de voir que la réduction physico-chimique de la désorption se traduit bien par une amélioration biologique du traitement à l'eau ozonée par pulvérisation. Cela confirme que le manque d'efficacité de l'eau ozonée observée *in situ* est seulement dû à l'insuffisance des doses d'ozone apportées du fait des phénomènes de désorption.

Il est important de discuter de la disparité des efficacités obtenues lors de ces essais de pulvérisation. Il peut sembler étonnant d'observer une efficacité de traitement de 85% dans le cas du premier essai de prototype avec une concentration d'ozone apportée de 3,95mgO₃/L alors qu'avec une concentration bien supérieure de 6,70mgO₃/L, le troisième essai de prototype voit son efficacité de traitement être de 70% seulement. En réalité, contrairement aux expériences de *dépôt de gouttes « in planta »* réalisées à la pipette où la dose appliquée est maîtrisée par le contrôle du volume déposé et de la concentration mesurée, ici pour ces expériences de *pulvérisation « in planta »*, seule la concentration apportée est connue. En effet, le passage de la buse de pulvérisation au-dessus des disques de feuilles est réalisé manuellement par un opérateur, et il est fort possible que d'une répétition à une autre, le geste de l'opérateur soit différent. Cela peut expliquer les disparités entre chaque essai.

Cependant malgré ces disparités, la modalité de traitement avec le prototype présente systématiquement une meilleure efficacité que la modalité classique de pulvérisation, avec une augmentation de 24% de l'efficacité en moyenne sur les 5 essais réalisées.

Finalement, le *dépôt gouttes « in planta »* et la *pulvérisation « in planta »* d'eau ozonée consécutivement à un épisode d'inoculation montrent un effet certain de l'ozone pour limiter la sporulation de *P.viticola*. Cet effet est d'autant plus marqué que la concentration en ozone dissous appliquée au contact de la plante est importante. La suite des expérimentations est tournée vers l'extension de ces essais aux deux autres pathosystèmes de l'étude : le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate.

2.2) L'eau ozonée sur le mildiou du chou et l'oïdium de la tomate

2.2.1) Traitements sur le mildiou du chou

Les résultats des deux types d'applications, par *dépôt gouttes* « *in planta* » et *pulvérisation* « *in planta* », sur le pathosystème mildiou du chou sont présentés à la figure 69. Cette figure 69 représente pour chaque modalité la répartition des notations effectuées pour chaque plantule de chou.

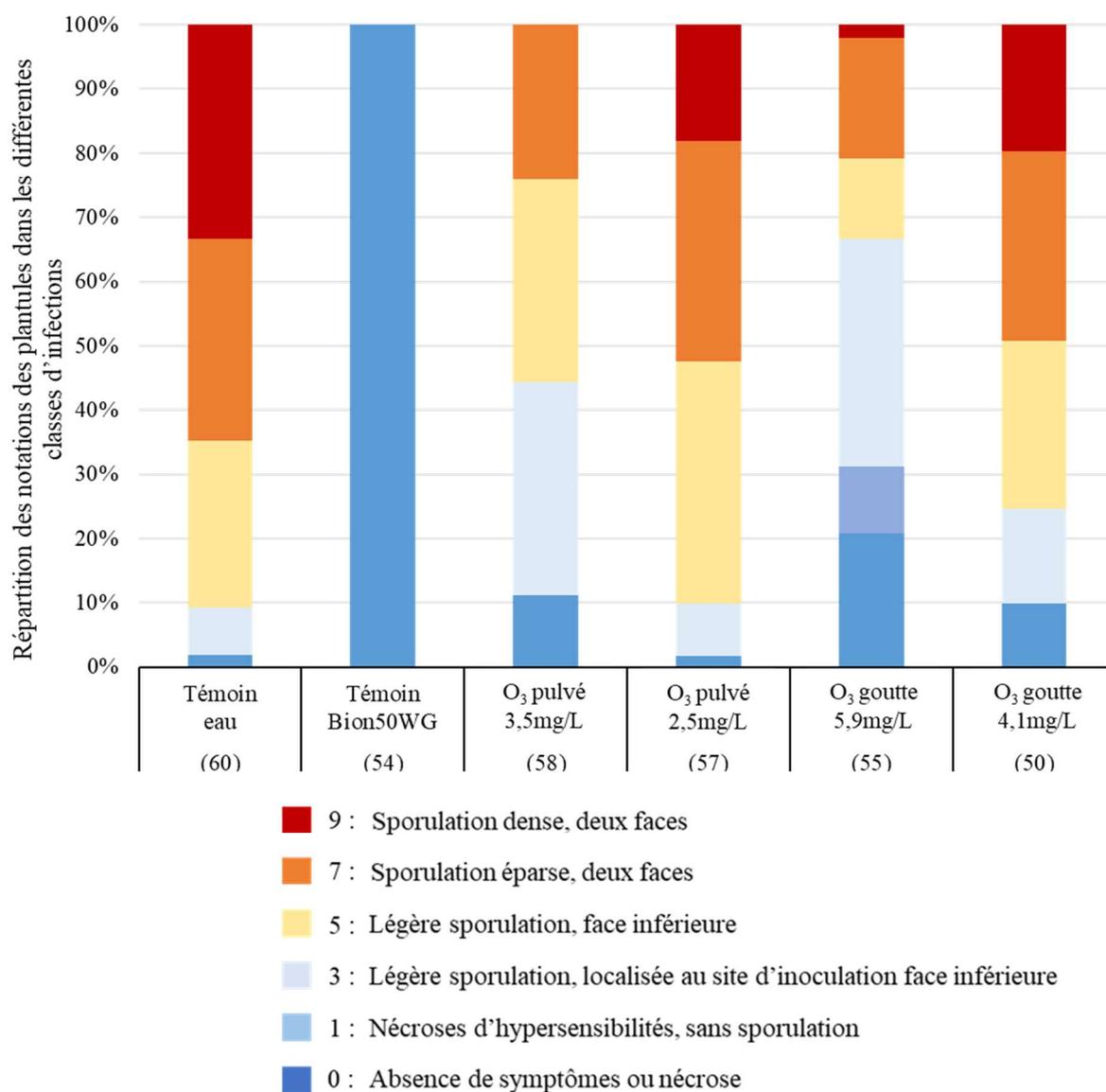


Figure 69 : Répartition (en %) des plantules de chou dans chaque classe de symptômes du mildiou obtenue après inoculation par *H.parasiticae*. Le nombre entre parenthèse indique le nombre de notations effectuées par modalités.

Par exemple, pour la modalité « eau », cela signifie que plus de 33% des plantules évaluées sont classées en classe 9 « Sporulation dense sur les deux faces », 31% classés en classe 7 « Sporulation éparse sur les deux faces », 26% des plantules évaluées en classe 5 « Légère sporulation sur la face inférieure », et

le reste des plantules évaluées se répartit entre la classe 3 « Légère sporulation localisée au site d'inoculation sur la face inférieure » et la classe 1 « Nécroses d'hypersensibilités sans sporulation ».

Ainsi, pour cette modalité témoin « eau », la majorité des plantules ($\approx 90\%$) présentent des symptômes sévères du mildiou du chou, ce qui valide le protocole d'inoculation pour ces expérimentations. La modalité BION50WG permet la comparaison des autres modalités avec un traitement phytosanitaire chimique conventionnel. Pour ce produit phytosanitaire conventionnel stimulant les défenses naturelles des plantes, aucun signe de sporulation de mildiou du chou n'est observé sur les plantules inoculés, comme le montre les 100% de plantules notées classe 0 : « absence de sporulations ou nécrose ».

Concernant les applications par *dépôt gouttes* « *in planta* », soit les modalités « O₃ goutte 5,9mg/L » et « O₃ goutte 4,1mg/L » sur la figure 69, il est intéressant de remarquer que seule la modalité à 5,9mg/L permet d'obtenir une réduction significative de la sporulation. En effet, seuls 32% des plantules montrent des symptômes sévères de sporulation (classe 5,7 et 9), le reste des plantules ne présentant que des signes modérés ou faibles de sporulation, contrairement à la modalité témoin qui recense plus de 90% de plantules sévèrement symptomatiques. Cela signifie que l'application d'eau ozonée par dépôt goutte de 5,9mg/L a permis de limiter la sporulation du mildiou du chou. Le traitement par dépôt goutte d'eau ozonée à 4,1mg/L quant à lui n'a pas permis de limiter la sporulation du mildiou du chou, probablement à cause d'une concentration apportée de l'eau ozonée trop faible.

Deux applications par *pulvérisation* « *in planta* » sont également testées, avec des concentrations de 2,5 et 3,5mgO₃/L mesurées au niveau des plantules. La pulvérisation à 2,5mgO₃/L ne semble pas avoir produit de limitation remarquable de la sporulation du mildiou, une part importante ($\approx 90\%$) des plantules évaluées présentent des symptômes sévères du mildiou. Cependant, avec une concentration d'ozone dissous plus importante à 3,5mgO₃/L, un effet notable de l'eau ozonée est observé. En effet, moins de 55% des plantules évaluées dans cette condition présentent des symptômes modérés ou faibles de sporulation (classe ≥ 5).

Il est intéressant de noter que la pulvérisation à 3,5mgO₃/L a produit un effet limitant de la sporulation alors que le dépôt goutte à 4,1mgO₃/L n'a pas eu d'effet significatif malgré une concentration apportée plus importante. Une nouvelle fois, il faut comprendre que le volume appliqué par pulvérisation n'est pas maîtrisé, ainsi la dose d'ozone apportée (volume \times concentration) n'est pas connue. Au regard des

meilleurs résultats obtenus pour le cas de la pulvérisation, il semblerait donc que la dose apportée lors de la pulvérisation à 3,5mg/L ait été plus grande que celle apportée par dépôt contrôlé de gouttes à 4,1mg/L. La pulvérisation semble amener de nombreuses gouttes sur les végétaux, ce qui apporte plus de volume d'eau ozonée que la seule goutte de 20µL déposée lors de l'application contrôlée.

Ces essais inédits tendent à prouver que l'eau ozonée permet de limiter le développement du mildiou du chou lors de son application au moment de l'épisode d'inoculation. Cependant, cette limitation n'est pas totale si la quantité d'ozone apportée n'est pas suffisamment grande et des signes de sporulation du mildiou persistent et pourront entraîner des infections secondaires futures. Il aurait été intéressant d'appliquer des doses d'ozone beaucoup plus importantes pour déterminer si l'inactivation totale des sporanges de mildiou est réalisable. Toutefois il est déjà très encourageant d'observer une efficacité de l'eau ozonée pour les faibles concentrations testées.

2.2.2) Traitements sur oïdium de la tomate

Les essais de traitements à l'eau ozonée sur l'oïdium de la tomate sont présentés à la figure 70 et 71. Les applications par pulvérisation « *in planta* » sont réalisées avec des concentrations de 0,33mg/L et 1,61mg/L, ce qui est relativement faible. Cela est dû à un temps d'attente important d'environ 30min, le jour des essais entre la préparation de l'eau ozonée et son application. Durant ce laps de temps, l'ozone dissous s'auto-décompose dans la phase liquide. À cela s'ajoute les phénomènes de désorption lors de la pulvérisation qui s'est faite avec une buse AFX conventionnelle sans l'utilisation du prototype anti-désorption développé dans le chapitre précédent. L'application contrôlée par dépôt goutte qui a été réalisée en premier lieu bénéficie quant à elle d'une concentration satisfaisante (3,6mgO₃/L).

Les notations de symptômes réalisées 6 jours après l'inoculation montrent à la figure 70 un effet marqué des traitements à l'eau ozonée quant à la fréquence d'apparition des symptômes de l'oïdium sur les feuilles de tomates. Les applications d'eau ozonée par pulvérisation montrent une réduction satisfaisante de la fréquence d'apparitions de sporulation sur les sites d'inoculation par rapport à la modalité témoin. En effet, l'efficacité du traitement atteint environ 30% dans le cas de la pulvérisation à 0,33mg/L et jusqu'à 57% pour la pulvérisation à 1,61mgO₃/L. L'application d'eau ozonée par dépôt goutte « *in planta* » quant à elle a permis d'obtenir une efficacité de l'ordre de 40%, avec une concentration appliquée de 3,6mgO₃/L. Une nouvelle fois, il faut noter que la meilleure efficacité du traitement

appliqué par pulvérisation à une concentration de 1,61mgO₃/L comparé au traitement par dépôt goutte à la concentration supérieure de 3,6mgO₃/L provient certainement de la différence de volume apporté. En effet comme expliqué précédemment, le volume pulvérisé est vraisemblablement plus important que les 20µL déposés sous forme de gouttes, ce qui mène à une dose apportée plus conséquente dans le cas du traitement par pulvérisation.

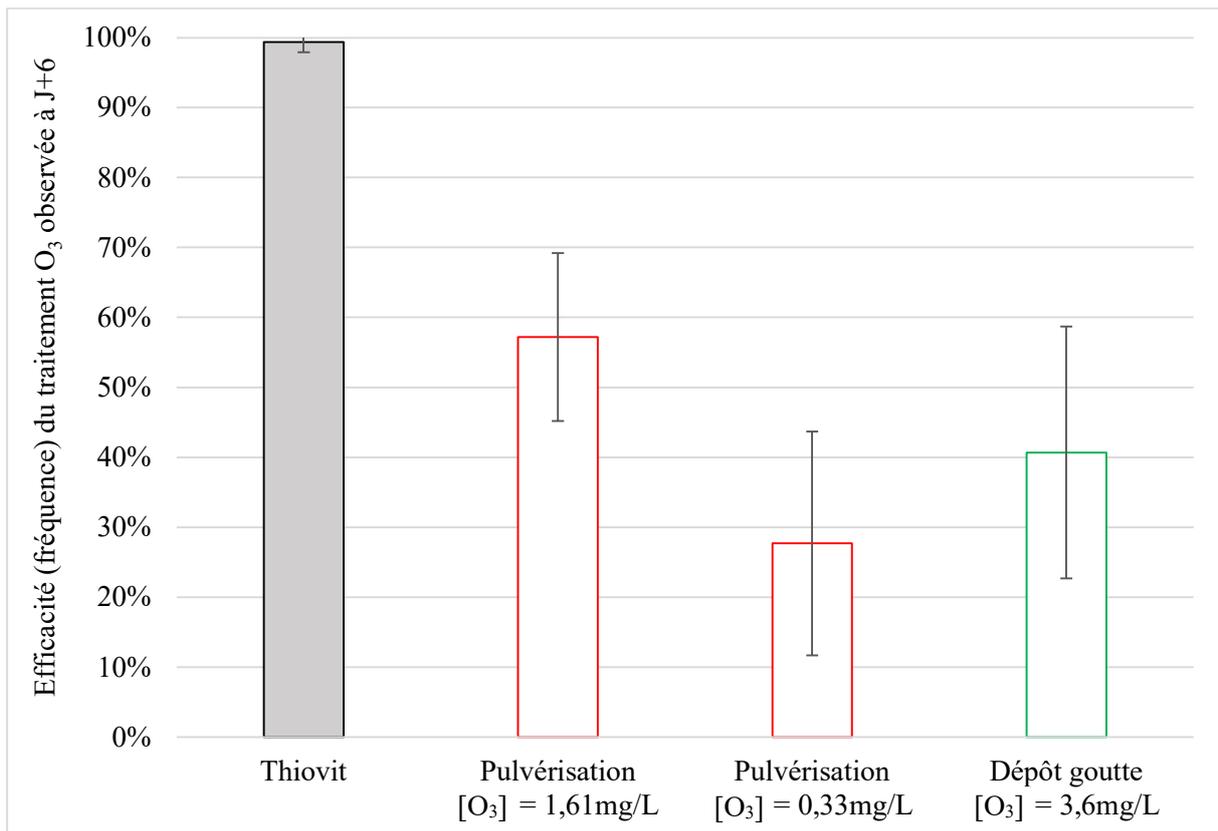


Figure 70 : Efficacité de traitements à l'eau ozonée pour réduire la fréquence de sporulation des sites d'inoculations de *O.neolycopersici* lors d'une évaluation réalisée 6 jours après l'inoculation. Pour le cas de la pulvérisation, la concentration en ozone dissous est celle mesurée 40cm sous la buse.

Contrairement à la modalité de traitement au produit phytosanitaire conventionnel Thiovit qui permet une réduction quasi-totale de la fréquence d'infection, les modalités de traitement à l'eau ozonée laissent persister des sites de sporulation sur les feuilles qui sont propices à des infections secondaires. Des évaluations sont également réalisées 10 jours après l'inoculation, soit 4 jours après la première évaluation, et montrent à la figure 71 une perte d'efficacité du traitement à l'eau ozonée.

En effet, en termes de fréquence, les efficacités observées à la figure 71 pour les modalités de traitements sont quasiment nulles. En l'espace de 4 jours, les sites d'inoculations qui ne présentaient pas de signe de sporulation à l'œil nu semblent finalement avoir sporulés.

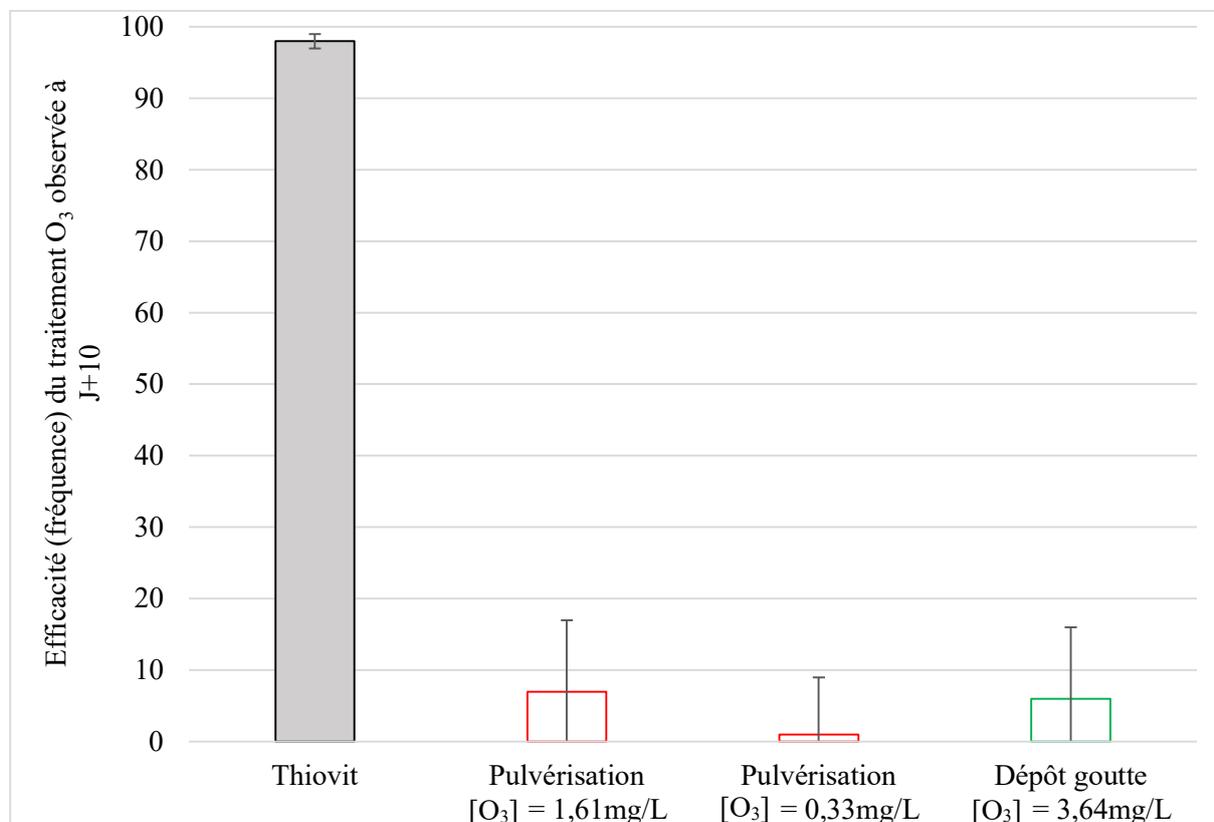


Figure 71 : Efficacité de traitements à l'eau ozonée pour réduire la fréquence de sporulation des sites d'inoculations de *O. neolycopersici* lors d'une évaluation réalisée 10 jours après l'inoculation. Pour le cas de la pulvérisation, la concentration en ozone dissous est celle mesurée 40cm sous la buse.

Cette notation en deux temps met en évidence la difficulté à inactiver entièrement un inoculum d'oïdium. L'objectif du traitement avec l'eau ozonée est de compromettre la viabilité des conidies du pathogène pour inhiber leur développement. Lors des observations à l'œil nu le 6^{ème} jour après l'inoculation et traitement à l'eau ozonée, les modalités traitées à l'ozone montraient beaucoup moins de spots visibles de sporulation d'oïdium que la modalité témoin. Il est fort probable que l'eau ozonée ait inactivé une grande majorité des conidies d'oïdium présentes dans la goutte d'inoculation, tandis que dans le cas de la modalité témoin, de nombreuses conidies viables restaient présentes. Ainsi lors du 6^{ème} jour, les conidies de la modalité témoin ont eu le temps de se développer et l'ensemble des structures formées sont si nombreuses qu'elles sont visibles à l'œil nu. Mais pour les modalités de traitement à l'eau ozonée, bien qu'une grande majorité des conidies inoculées ont probablement été inactivées, les conidies

survivantes ont pu se développer. En quantité bien moins nombreuses, les structures développées par ce pathogène sont présumées présentes mais trop peu nombreuses pour être visibles à l'œil nu, ce qui retarde l'apparition des symptômes. C'est seulement après un temps plus long de développement, au 10^{ème} jour, que ces structures deviennent remarquables par observation visuelle.

L'analyse de l'efficacité évaluée 10 jours après les traitements permet de visualiser ces différentes intensités de sporulation. La figure 72 représente ces efficacités de traitement au regard de l'intensité des symptômes.

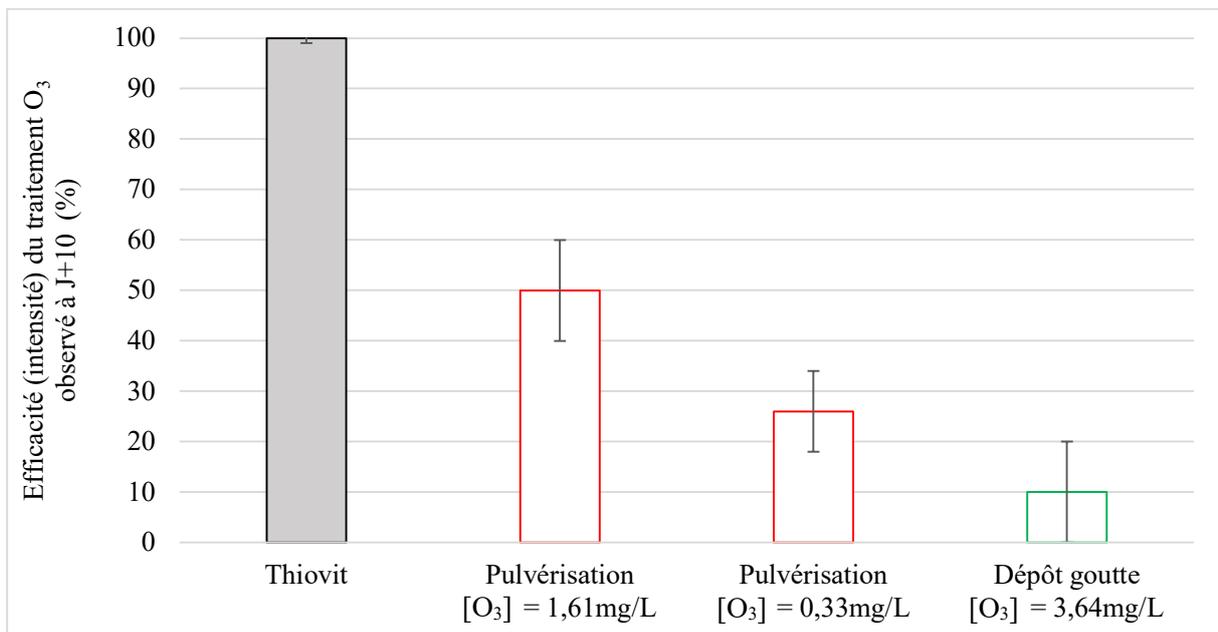


Figure 72 : Efficacité de traitements à l'eau ozonée pour réduire l'intensité de sporulation des sites d'inoculations de *O.neolycopersici* lors d'une évaluation réalisée 10 jours après l'inoculation. Pour le cas de la pulvérisation, la concentration en ozone dissous est celle mesurée 40cm sous la buse.

De cette manière, l'effet du traitement à l'eau ozonée pour limiter l'intensité de sporulation de l'oïdium de la tomate est clairement identifié, même lors d'observations réalisées 10 jours après l'application du traitement. La modalité de pulvérisation à 1,61mg/L présente une efficacité d'environ 50%, ce qui signifie qu'au moins la moitié des sites d'inoculations présente des sporulations faibles ou nulles en comparaison de la modalité témoin dont la quasi-intégralité des sites a une sporulation forte.

Les deux autres modalités, dépôt gouttes à 0,33mg/L et pulvérisation à 3,64mg/L, montrent des efficacités plus modérées. Pourtant, aux vues des faibles concentrations et volumes apportés, il est déjà très encourageant d'observer une efficacité de l'eau ozonée avec ces petites doses appliquées.

Ces essais sur l'oïdium de la tomate prouvent l'efficacité de l'eau ozonée pour limiter la sporulation de conidies fraîchement inoculées. Toutefois, comme les deux autres pathosystèmes étudiées, l'eau ozonée n'a pas complètement empêché la sporulation du pathogène, permettant les infections secondaires futures. Cependant, les doses appliquées sur ces essais étaient inférieures à celles initialement souhaitées, il est aisé de penser qu'avec des doses plus élevées, une meilleure efficacité voire une efficacité totale devrait être atteinte. De plus, ces essais sont les premiers à démontrer l'efficacité de l'eau ozonée pour inactiver le développement des conidies d'*O.neolycopersici*.

SYNTHESE DU CHAPITRE 3

Ces campagnes d'essais de traitement à l'eau ozonée ont permis de mettre en évidence des propriétés antifongiques de l'eau ozonée sur différents pathosystèmes, et ont confirmé la complexité de traitement des mildious et oïdiums.

Les expérimentations menées sur le pathosystème modèle mildiou/vigne ont permis la réalisation de la preuve de concept quant à l'efficacité de l'eau ozonée pour inactiver la germination des sporanges de *P.viticola*, lors d'une mise en contact ozone/sporanges hors-végétal. La concentration minimale qui a permis une inactivation totale de l'inoculum à 20 000sporanges/mL est de 5,22mgO₃/L.

L'application d'eau ozonée par *dépôt gouttes « in planta »* sur matrice végétale a permis d'identifier que cette concentration en ozone doit en réalité être plus élevée (>16mgO₃/L) que lors des essais *in vitro* pour inhiber totalement la sporulation du mildiou, du fait de la consommation de molécules d'ozone par la surface du végétal. Aussi, cette concentration doit être plus forte dans le cas d'un inoculum plus virulent. Ces expériences de *dépôt gouttes « in planta »* ont également mis en évidence le mode d'action de l'ozone comme un agent de surface. En effet, l'eau ozonée a démontré son efficacité sur les zoospores de *P.viticola* rejoignant l'intérieur de la feuille jusqu'à 3h après un épisode d'inoculation. Au-delà, la plupart des zoospores sont rentrées dans les stomates et l'eau ozonée ne présente plus d'effet inhibant le développement du mildiou de la vigne.

L'application d'eau ozonée par *pulvérisation « in planta »* sur le pathosystème modèle a démontré l'intérêt du prototype de buse anti-désorption, en montrant des traitements nettement plus efficaces que la pulvérisation conventionnelle lors de l'utilisation de ce prototype. L'action du prototype sur le contrôle des phénomènes physiques liés à l'écoulement de l'eau ozonée dans la buse et à la thermodynamique des équilibres gaz/liquide en sortie de buse a permis d'améliorer le traitement biologique de l'eau ozonée sur le mildiou de la vigne.

En étendant les expérimentations d'application par *dépôt gouttes « in planta »* et *pulvérisation « in planta »* sur les pathosystèmes du mildiou du chou et l'oïdium de la tomate, la non-spécificité de l'eau ozonée pour réagir avec les microorganismes pathogènes a été une nouvelle fois prouvée. En effet, les applications d'eau ozonée au moment de l'inoculation ont significativement limité la germination de

H.parasiticae et *O.neolycopersici*, bien qu'aucun traitement à l'ozone testé n'ait permis l'inactivation totale des sporanges et conidies.

Aussi, la notation en deux temps effectué dans le cadre de l'oïdium de la tomate a montré que si l'inactivation de l'inoculum par l'eau ozonée n'est pas complète, les conidies survivantes finiront par produire des structures propices aux contaminations secondaires. Cependant le traitement à l'eau ozonée semble avoir réduit l'intensité de développement de ces structures d'infections secondaires.

Finalement, ces essais de traitements à l'eau ozonée relativement simples, sont inédits et fournissent une preuve de concept à la communauté scientifique et agricole quant à l'effet de l'eau ozonée pour lutter contre *P.viticola*, *H.parasiticae* et *O.neolycopersici*.

CONCLUSION GENERALE

Dans un contexte de pression réglementaire croissante pour réduire les intrants conventionnels controversés en agriculture, l'eau ozonée a été identifiée comme un candidat prometteur pour se substituer aux produits phytosanitaires conventionnels, notamment car sa réactivité avec les microorganismes est très forte et que sa rémanence dans l'environnement est très faible. En effet, l'état de l'art a rappelé que les molécules d'ozone inhibent le développement de nombreux bioagresseurs à l'échelle du laboratoire, dont certains sont responsables de maladies des cultures. Cependant, les expérimentations pour lesquelles l'eau ozonée a été appliquée par pulvérisation rapportent des efficacités de traitement très discutables, pour ne pas dire mauvaises. La pulvérisation traditionnelle ne semble pas permettre l'application efficace d'eau ozonée, et cela serait notamment dû à des phénomènes de transfert de matière.

L'objectif de cette thèse était donc double. Dans un premier temps, il s'agissait de comprendre les phénomènes physico-chimiques mis en jeu lors de la pulvérisation d'eau ozonée, afin d'améliorer son application ; et dans un second temps d'évaluer les performances de l'eau ozonée contre une gamme élargie de microorganismes responsables de maladies en agriculture.

Les deux études complémentaires du spray réalisées à l'échelle globale puis locale ont mis en évidence un fort phénomène de transfert des molécules d'ozone dissous au sein du liquide pulvérisé vers l'air ambiant. La phase liquide voit ainsi sa concentration en ozone réduire le long du trajet de pulvérisation. Cette désorption est provoquée par la différence de concentration en ozone entre la phase liquide riche en ozone et l'air dépourvu d'ozone, et est exacerbée par la forte aire interfaciale que propose le procédé de pulvérisation. Deux régions du spray proposent des régimes de transfert distincts : la région du film liquide où la majorité du transfert est réalisé en quelques centimètres ($k_{L\text{film}} = 1,2 \times 10^{-2}$ m/s) et la région des gouttes qui représente quasiment l'ensemble du spray mais où le transfert est moindre ($k_{L\text{gouttes}} = 8,84 \times 10^{-4}$ m/s). Cette nouvelle compréhension des phénomènes de transfert dans le spray a permis de développer de nouveaux outils de modélisation pour prédire l'évolution de la concentration en ozone dissous dans le spray en tenant compte des deux régimes de transfert. Une stratégie basée sur la réduction du potentiel d'échange au niveau du film liquide par injections d'ozone gazeux localisées et confinées

a été développée et testée, permettant de réduire les pertes d'ozone dissous lors de la pulvérisation d'eau ozonée.

En parallèle, l'effet de l'eau ozonée pour inhiber le développement de sporanges de *P.viticola*, le mildiou de la vigne, a été prouvé à l'échelle *in vitro* dans des conditions très contrôlées. La concentration minimale en ozone pour empêcher totalement la sporulation d'un inoculum de *P.viticola* a été déterminée à 5,22mgO₃/L. En se positionnant à l'échelle *in planta*, la nécessité d'apporter des concentrations plus élevées en ozone pour inhiber la sporulation a été mise en évidence, notamment à cause de la consommation d'ozone par la matrice végétale. Le traitement à l'ozone semble agir uniquement en surface de feuille car l'infection n'est pas stoppée lors de l'application d'eau ozonée aux stades où les structures du mildiou se développent au sein de la feuille et non en surface ($t > 3h$ post inoculation). Le module anti-désorption développé dans ces travaux a permis d'obtenir des efficacités de traitements nettement supérieures à la pulvérisation conventionnelle dans le cas de traitements appliqués sur le pathosystème mildiou/vigne par pulvérisation. Finalement la non-spécificité de l'eau ozonée a été prouvé en observant une efficacité de l'eau ozonée pour limiter le développement du mildiou du chou et de l'oïdium de la tomate dans des conditions similaires d'expérimentations.

La démonstration en conditions contrôlées de l'effet antifongique de l'eau ozonée sur différents pathogènes responsables de maladies majeures en agriculture ainsi que la levée du verrou technologique qui empêchait l'application d'eau ozonée par pulvérisation permet à l'eau ozonée de conserver son statut de solution prometteuse pour la lutte des bioagresseurs en agriculture.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES SCIENTIFIQUES

Les présents résultats de thèse soulèvent de nouveaux questionnements et ouvrent la voie à des expérimentations futures quant à la pulvérisation d'eau ozonée au service de l'agriculture.

L'étude du transfert de matière lors de la pulvérisation d'eau ozonée

En ce qui concerne l'étude du transfert de matière lors de la pulvérisation d'eau ozonée, le développement d'une méthode locale de caractérisation du transfert au sein du film liquide offre une large palette d'expériences à réaliser.

Tout d'abord, il serait intéressant de relier les dimensions et ou les vitesses des films plats produits par des buses différentes au coefficient de transfert, cela permettrait de connaître les contributions respectives de chacun afin de proposer une corrélation adimensionnelle plus poussée que celle proposée dans ce travail.

L'adaptation de la méthode à des géométries de films plus complexes (film conique, jet cylindrique) pourrait également apporter des connaissances supplémentaires sur le transfert qui se produit dans la région de formation des gouttes pour d'autres types de buse, bien qu'il semble difficile d'appliquer la méthode colorimétrique sur des interfaces non planes. Ces nouvelles connaissances pourraient compléter les stratégies d'optimisation du module anti-désorption.

Des pistes d'amélioration du prototype ont déjà été présentées à partir des éléments obtenus lors des présents travaux. Il s'agit essentiellement de réduire les phénomènes de dilution gazeuse au sein du volume confiné du prototype. La description de l'hydrodynamique qui se déroule dans le module anti-désorption serait une étape supplémentaire vers la compréhension de ces phénomènes : des simulations numériques ou des mesures expérimentales de champs de vitesses des différentes phases dans le prototype devraient permettre de mieux appréhender l'origine de la dilution de l'ozone dans le volume confiné.

L'eau ozonée pour le traitement des mildious et oïdiums

La confirmation de l'effet antifongique de l'eau ozonée pour limiter le développement de mildious et oïdiums permet d'envisager de nombreuses expérimentations complémentaires.

Il faudrait à l'avenir tester l'effet de l'eau ozonée sur des structures d'infections secondaires déjà présentes à la surface de la feuille, c'est-à-dire l'application d'un traitement environ 4 à 5 jours après l'inoculation de la maladie.

Dans le même esprit, l'application d'eau ozonée avant l'inoculation pourrait permettre de stimuler les défenses de la plante. En effet, des expérimentations de réponses à l'ozone par la plante ont déjà été menées sur la vigne et la tomate (Modesti *et al*, 2022; Campayo *et al*, 2021; Romeo-Oliván *et al*, 2021; Xu *et al*, 2021), et ont prouvé un effet de stimulation des défenses des plantes. Ainsi l'eau ozonée n'aurait pas que des vertus pour inactiver des spores mais également pour préparer les plantes face à un bioagresseur.

Comme l'eau ozonée ne semble pas agir sur les structures à l'intérieur de la feuille, il serait intéressant de combiner l'action de surface de l'ozone à un produit de protection capable de pénétrer dans les tissus de la plante. L'association de traitements à l'eau ozonée avec des traitements conventionnels ou biocontrôle sont des pistes d'études à investiguer en laboratoire afin de réduire les intrants d'une exploitation agricole. Il faut surtout s'assurer que les molécules d'ozone, avec leur forte réactivité, ne dégradent pas les principes actifs des traitements associés.

PERSPECTIVES EN AGRICULTURE

Jusqu'à présent, l'application d'eau ozonée en espace ouvert n'était que peu envisageable. À la vue des résultats obtenus lors de ces travaux de thèse, l'utilisation de l'eau ozonée pourrait à terme être envisagée pour limiter le développement des maladies des plantes au champ.

En effet, la littérature montre que peu de stratégies ont été testées *in situ*, notamment à cause des effets discutables de l'eau ozonée lors de son application par pulvérisation. Les présents travaux, en particulier le développement d'un prototype anti-désorption, permettent d'envisager des essais pertinents de pulvérisation d'eau ozonée en conditions réelles au champ et de s'affranchir des conditions très

contrôlées du laboratoire qui restent peu représentatives des contraintes *in situ*. Il est donc nécessaire à l'avenir d'optimiser le prototype et de concevoir son implémentation sur les pulvérisateurs conventionnels pour réaliser ces expérimentations dans des conditions d'utilisation de l'eau ozonée optimales. C'est ainsi que des stratégies de traitement à l'eau ozonée pourront être testées efficacement pour dessiner le rôle de l'ozone dans la lutte contre les bioagresseurs des cultures.

Stratégies de traitements à l'eau ozonée

Tout d'abord il serait intéressant, dans une optique curative, d'observer l'effet d'une augmentation des doses appliquées grâce à la maîtrise de la désorption ainsi que l'effet de la multiplication de traitements à l'eau ozonée espacés de plusieurs jours sur une parcelle infectée de mildiou ou oïdium. En supposant que chaque application d'eau ozonée inactive la majorité des sporanges en surface de feuilles, il est possible d'imaginer que la pression fongique de la parcelle soit fortement réduite et que les infections soient moins fréquentes. Cette stratégie pourrait permettre de freiner et contenir une épidémie de mildiou ou oïdium ayant débuté au sein d'une culture.

Avec une approche plutôt précoce, l'eau ozonée pourrait être appliquée sur feuilles avant l'apparition de symptômes sur la parcelle, au moment où les modèles de prédictions proposent d'appliquer un traitement préventif contre le mildiou ou oïdium, même si l'ozone ne dispose pas de la rémanence de ces produits de traitements. Cela pourrait bloquer la plupart des infections primaires et limiter l'apparition des épidémies de mildiou et oïdium, à condition de renouveler fréquemment les traitements à l'eau ozonée pour inactiver les infections secondaires. L'eau ozonée pourrait également être appliquée sur les sols et bois de vignes où persistent généralement les formes hivernales résistantes des mildious et oïdiums, pour empêcher les infections primaires d'avoir lieu. De plus, l'application préventive d'eau ozonée avant l'apparition de symptômes sur la parcelle pourrait stimuler les défenses des plantes comme précisé précédemment.

Il est également possible de voir l'eau ozonée comme un agent technologique qui pourrait améliorer l'efficacité des autres produits phytosanitaires, notamment des produits de biocontrôle. En effet, l'application d'eau ozonée sur les végétaux pourrait « préparer le terrain » pour l'utilisation de produits de biocontrôle, en réduisant la population microbienne présente sur les végétaux pour limiter leur concurrence avec les agents microbiologiques de biocontrôle.

Il faut noter que l'efficacité actuelle de l'eau ozonée ne permet pas de se substituer entièrement aux produits conventionnels, notamment à cause de son mode d'action. En effet, les produits à base de cuivre sont relativement rémanents et libèrent leurs principes actifs progressivement sur la feuille pour offrir une action continue de traitement, ce qui permet de limiter la germination des spores de pathogènes lors de leur dissémination sur une nouvelle feuille. En conséquence, les épisodes d'infections secondaires ne voient pas le jour et l'épidémie est contenue. L'eau ozonée avec sa faible rémanence propose uniquement une action immédiate sur les structures du pathogènes lors de son application, car l'ozone se décompose très rapidement et ne sera plus disponible sur la feuille pour limiter l'infection d'une feuille lors de la propagation de spores. Toutefois l'eau ozonée doit permettre d'inactiver les sporanges présents à la surface de la feuille au moment du traitement et donc de réduire l'épidémie au sein de la culture. Les stratégies de traitements à l'eau ozonée doivent prendre en compte cet aspect pour s'intégrer au mieux dans l'itinéraire technique de protection des cultures : des itinéraires proposant de mixer eau ozonée et traitement plus conventionnels pourraient être une alternative. Il est probable qu'en associant traitements conventionnels et traitements à l'eau ozonée, la quantité d'intrant chimique utilisée sur la parcelle puisse être réduite. Toutefois il serait préférable d'étudier les interactions eau ozonée/produits de traitements à l'échelle laboratoire avant la réalisation de ce type de traitement. En effet, avec sa réactivité, l'ozone pourrait dégrader le principe actif de ces solutions conventionnels ou de biocontrôles.

Points de vigilances pour l'utilisation de l'eau ozonée

Bien que l'utilisation de l'ozone soit très prometteuse, il faut garder à l'esprit que la molécule d'ozone, plus particulièrement sous sa forme gazeuse, est toxique à partir d'une certaine concentration dans l'air. Il est donc nécessaire de prendre toutes les précautions nécessaires pour protéger les opérateurs lors de l'application d'eau ozonée, notamment lors de la gestion de flux d'ozone gazeux comme proposé avec l'utilisation du module anti-désorption.

Aussi, la molécule d'ozone est considérée comme un polluant atmosphérique pour l'environnement et la santé. En appliquant des traitements à bases d'ozone, il faut s'assurer que les concentrations résultantes en ozone dans l'air autour des sites d'applications ne soient pas au-delà des limites tolérables. Il est toutefois attendu que l'ozone gazeux subisse son auto-décomposition et de nombreuses réactions avec les constituants présents dans l'air et ses alentours (poussières, matériaux, certains composés

chimiques de l'air, etc.). En ce sens, l'ozone gazeux utilisé pour le traitement des cultures a de fortes chances de ne pas persister dans l'air et de ne pas participer à la pollution de l'air.

Pour ces raisons, l'eau ozonée n'a toujours pas été autorisée par les autorités sanitaires pour son utilisation en tant que produit de protection des plantes. Cet aspect réglementaire est un des derniers verrous à lever pour envisager l'utilisation de l'eau ozonée en agriculture.

Ainsi avec les résultats obtenus lors de ces travaux de thèse, l'eau ozonée confirme son statut de solution de traitement prometteuse pour lutter contre les bioagresseurs en agriculture. Il a été montré que son action ne se limitait pas à un seul pathogène car l'eau ozonée est efficace sur les 3 pathogènes testés, dont 2 oomycètes et 1 ascomycète. Un nombre très important de microorganismes divers et variés ont montré une sensibilité à l'eau ozonée, il est donc fort probable qu'en agriculture l'eau ozonée affecte également de nombreux pathogènes responsables de maladies de cultures, et certains auteurs ont déjà commencé à identifier ces pathogènes sensibles à l'ozone (Fujiwara & Fujii, 2002; Pagès *et al*, 2016; Romeo-Oliván *et al*, 2021). L'eau ozonée aurait ainsi une large gamme d'application en agriculture, que ce soit pour l'aspect lutte contre les maladies des plantes, mais également pour des procédés connexes tels que la désinfection du matériel agricole (chais, cuves), la conservation des fruits et légumes, ou encore le traitement des eaux. Autrement dit, un agriculteur qui dispose d'un générateur d'ozone et d'eau ozonée sur son exploitation pourrait en faire une utilisation variée et s'affranchir de nombreux intrants.

ANNEXES

*Annexe 1: Descripteurs OIV pour la sporulation de *P.viticola* sur disques de feuilles*

Carattere:	Foglia: grado di resistenza alla <i>Plasmopara</i> (test su dischi foliari)	Code N°
Caractère:	Feuille: degré de résistance au <i>Plasmopara</i> (test sur disques de feuille)	OIV 452-1
Merkmal:	Blatt: Grad der Resistenz gegen <i>Plasmopara</i> (Blattscheibentest)	
Characteristic:	Leaf: degree of resistance to <i>Plasmopara</i> (leaf disc test)	
Carácter:	Hoja: grado de resistencia a <i>Plasmopara</i> (test sobre discos de hoja)	

Livelli di espressione / Notation / Bonitierung / Notes / Notación:				
1	3	5	7	9
molto debole	debole	medio	elevato	molto elevato
très faible	faible	moyen	élevé	très élevé
sehr gering	gering	mittel	hoch	sehr hoch
very little	little	medium	high	very high
muy bajo	bajo	medio	elevado	muy elevado

Varietà di riferimento / Exemples de variétés / Beispielsorten / Example varieties / Ejemplos de variedades:				
1	3	5	7	9
Müller-Thurgau B	Riesling B Silvaner B	Siegfriedrebe B	Aris B Pollux B	Kober 5 BB Phoenix B

Indicazioni / Définitions / Definitionen / Definitions / Indicaciones:
<p>I: Osservazioni durante l'intero periodo vegetativo fino a quando sono presenti foglie giovani, su viti non trattate con presidi fitosanitari. Per favorire la penetrazione delle zoospore attraverso gli stomi porre i dischi fogliari con la pagina inferiore verso l'alto. Usare una sospensione di spore standardizzata con 25000 spore/ml (usando un vetrino per i conteggi). Dosare 40 µl o 1000 spore da deporre su ogni disco fogliare. Incubazione: al buio completo (avvolgere in foglio di alluminio) a temperatura ambiente per 4 giorni. Nota: Se l'inoculo rimane troppo a lungo sul disco fogliare si producono delle lesioni. Perciò, 24 ore dopo l'inoculo, la sospensione va tolta con carta da filtro.</p> <p>F: Observation à faire durant toute la période de végétation, tant qu'il y a des jeunes feuilles, sur souches non traitées par de produits chimiques. Du fait de la pénétration des zoospores par les stomates, les disques de feuille doivent être placés face inférieure vers le haut. Une suspension de spores à 25000 spores / ml est préparée (concentration vérifiée à l'aide d'une cellule de Malassez). 1000 spores (40 µl de suspension) sont déposées sur chaque disque à l'aide d'une pipette. Incubation: 4 jours à température ambiante, à l'obscurité complète (sous papier aluminium). Remarque: des lésions se produisent si l'inoculum reste trop longtemps en contact avec le disque de feuille. De ce fait, il faut éliminer la suspension 24 heures après inoculation, à l'aide d'un papier filtre.</p> <p>D: Feststellbar während des gesamten Vegetationszykluses, solange es junge Blätter gibt, von nicht mit Pflanzenschutzmittel behandelten Rebstocken. Aufgrund der Penetration der Zoosporen durch die Spaltöffnungen müssen alle Blattscheiben mit der Unterseite nach oben platziert werden. Eine standardisierte Sporensuspension mit einer Konzentration von 25000 Sporen/ml wird hergestellt (Zählkammer). Mit einer Erlenmeyer-Pipette werden jeweils 40µl oder 1000 Sporen je Blattscheibe aufgetragen. Inkubation: Dauerdunkel (Aluminiummantel) bei Zimmertemperatur für 4 Tage. Bemerkung: Längere Einwirkzeit der Sporensuspension führt zu Blattschäden, so dass nach 24stündiger Einwirkzeit die Sporensuspension mit Filterpapier aufgesaugt werden muss.</p> <p>E: Observation during the whole vegetation period, as long as there are young leaves, on vines not treated with chemicals. Because the zoospores penetrate through the stomata, the leaf discs have to be placed with the lower surface up. Using a standardized spore suspension with 25000 spores/ml (counting chamber), a pipette is used to place 40µl or 1000 spores on each leaf disc. Incubation: in complete darkness (aluminium coat), room temperature, 4 days. Remark: if the inoculum remains on the leaf disc too long, lesions are produced. Therefore, 24 hours after inoculation, the spore suspension has to be removed by blotting with a filter paper.</p> <p>S: Observar durante todo el período vegetativo, siempre que haya hojas jóvenes, en cepas no tratadas. Debido a la penetración de las zoosporas a través de los estomas, los discos de hojas deben colocarse sobre el envés de la hoja, que se colocará mirando hacia arriba. Se preparará una suspensión de esporas estandarizada con 25000 esporas/ml (en cámara de conteo). Se pipetearán de un Erlenmeyer 40 ml o 1000 esporas, que se colocarán en cada disco de hoja. Incubación: en oscuridad permanente (cubierto con papel de aluminio), 4 días, a temperatura ambiente. Nota: si el inóculo permanece mucho tiempo sobre el disco de hoja, se producen lesiones. Por tanto, 24 horas después de la inoculación debe eliminarse la suspensión de esporas utilizando papel de filtro.</p>

Annexe 2 : Fiche toxicologique de l'INRS pour la molécule d'ozone

Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES

Ozone

Fiche toxicologique synthétique n° 43 - Edition Octobre 2020

Pour plus d'information se référer à la fiche toxicologique complète.

Formule Chimique	Nom	Numéro CAS	Numéro CE
O ₃	Ozone	10028-15-6	233-069-2

OZONE

-

- Cette substance doit être étiquetée conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 dit "règlement CLP".

233-069-2

Propriétés physiques

Nom Substance	N° CAS	Etat Physique	Point de fusion	Point d'ébullition
Ozone	10028-15-6	Gaz	- 192 °C	- 111,9 °C

À 25 °C et 101,3 kpa, 1 ppm = 2 mg/m³

Méthodes de détection et de détermination dans l'air

Solutions actuellement disponibles en première approche, sous réserve, à chaque fois, du respect de la procédure d'étalonnage ou de calibrage et de la connaissance des interférences possibles :

- Passage de l'air sur 2 filtres en fibre de verre imprégnés d'un réactif. Extraction à l'eau, du produit de l'oxydation du réactif par l'ozone, et analyse par chromatographie ionique,
- Utilisation (pour des mesures à points fixes et malgré leur taille et/ou leur coût) d'analyseurs d'ozone à lecture directe ou de capteurs de gaz commerciaux, qui peuvent fournir en continu une indication sur la concentration en ozone.

Valeurs Limites d'Exposition Professionnelle

Des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) dans l'air des lieux de travail ont été établies pour l'ozone.

Substance	PAYS	VME (ppm)	VME (mg/m ³)	VLCT (ppm)	VLCT (mg/m ³)
Ozone	France (VLEP indicative - 1982)	0,1	0,2	0,2	0,4

Pathologie - Toxicologie**Toxicocinétique - Métabolisme**

L'ozone, absorbé au niveau des muqueuses des voies respiratoires (nez, trachée, bronches, alvéoles), réagit localement en induisant des lésions des membranes cellulaires.

Toxicité expérimentale**Toxicité aigüe**

L'ozone provoque des lésions pulmonaires sévères du fait de son action irritante. Ces effets peuvent se traduire par un emphysème, un œdème pulmonaire ou une hyperréactivité bronchique non spécifique.

Toxicité subchronique, chronique

L'exposition chronique provoque de l'emphysème et une fibrose pulmonaire. Son action sur les macrophages favorise la sensibilité aux infections. Des lésions pulmonaires sévères (dès les faibles doses) sont observées chez le rat ainsi que des lésions hématologiques.



Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES

Effets génotoxiques

L'ozone induit des mutations géniques sur différents types de souches et cellules, à la fois in vitro et in vivo.

Effets cancérogènes

Des études de cancérogénèse ont été réalisées chez le rat et la souris. L'ozone activerait la multiplication cellulaire et influencerait dans certains cas le processus de cancérogénèse, particulièrement en co-exposition avec certaines substances chimiques.

Effets sur la reproduction

Des retards d'ossification et de croissance, une embryolétalité et des effets sur le développement des réflexes et du comportement ont été observés chez le rat, en présence de toxicité maternelle. Ces effets n'ont pas été confirmés chez la souris.

Toxicité sur l'Homme

L'ozone provoque des lésions irritantes des muqueuses respiratoires (bronchopathies, emphysème, fibrose) ainsi que des muqueuses oculaires. Quelques effets rénaux ou neurologiques rares ont été reportés. Il n'y a pas de données permettant de conclure sur un risque cancérogène ou des effets sur la reproduction.

L'ozone est fréquemment rencontré comme polluant dans le milieu professionnel. Différents facteurs influencent sur sa toxicité : la concentration, la température et le degré d'humidité ambiant, la durée d'exposition, l'exercice physique associé et les susceptibilités individuelles. L'appareil respiratoire est le plus touché mais des atteintes extrapulmonaires, bien que plus discrètes, existent [27, 31].

Recommandations

Au point vue technique

En cas d'urgence

- Si le déversement est important, **aérer** la zone et **évacuer** le personnel en ne faisant intervenir que des opérateurs **entraînés et munis d'un équipement de protection approprié**. Supprimer toute source d'inflammation potentielle.
- Des appareils de protection respiratoire isolants autonomes sont à prévoir **à proximité et à l'extérieur** des locaux pour les interventions d'urgence.
- Prévoir l'installation de **fontaines oculaires** et de **douches de sécurité**.
- Si ces mesures ne peuvent pas être réalisées sans risque de sur-accident ou si elles ne sont pas suffisantes, contacter les équipes de secours interne ou externe au site.

Conduite médicale à tenir

- **En cas de projection cutanée ou oculaire**, retirer les vêtements souillés et rincer la peau et/ou les yeux immédiatement et abondamment à l'eau courante pendant au moins 15 minutes ; en cas de port de lentilles de contact, les retirer avant le rinçage. Si une irritation oculaire et/ou cutanée apparaît ou si la contamination cutanée est étendue ou prolongée, consulter un médecin et/ou ophtalmologiste.
- **En cas d'inhalation**, appeler immédiatement un SAMU, faire transférer la victime par ambulance médicalisée en milieu hospitalier dans les plus brefs délais. Transporter la victime en dehors de la zone polluée en prenant les précautions nécessaires pour les sauveteurs. Si la victime est inconsciente, la placer en position latérale de sécurité et mettre en œuvre, s'il y a lieu, des manœuvres de réanimation. Si la victime est consciente, la maintenir au maximum au repos. Si nécessaire, retirer les vêtements souillés (avec des gants adaptés) et commencer une décontamination cutanée et oculaire (laver immédiatement et abondamment à grande eau pendant au moins 15 minutes). Prévenir du risque de survenue d'un œdème pulmonaire lésionnel dans les 48 heures suivant l'exposition et de la nécessité de consulter en cas d'apparition de symptômes respiratoires.

REFERENCES

- Agreste (2021a) Graph'Agri 2021 - L'agriculture, la forêt, la pêche et les industries agroalimentaires
- Agreste (2021b) Enquête Pratiques Culturelles en viticulture en 2019 Paris
- Agreste & Eurostat (2020) Graph'Agri 2020
- Agrios GN (1988) Plant Pathology Elsevier
- Akey DH & Walton TE (1985) Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Appl Environ Microbiol* 50: 882–886
- Allègre M, Daire X, Héloir M, Trouvelot S, Mercier L, Adrian M & Pugin A (2007) Stomatal deregulation in *Plasmopara viticola* -infected grapevine leaves. *New Phytol* 173: 832–840
- Amokrane H, Saboni A & Caussade B (1994) Experimental study and parameterization of gas absorption by water drops. *AIChE J* 40: 1950–1960
- Ashgriz N ed. (2011) Handbook of Atomization and Sprays Boston, MA: Springer US
- Aubertot J-N, Barbier J-M, Carpentier A, Gril J-J, Guichard L, Lucas P, Savary S & Voltz M (2005) Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. *Expert Sci Collect synthèse du Rapp INRA Cemagref*: 68
- Aziz A, Poinssot B, Daire X, Adrian M, Bézier A, Lambert B, Joubert J-M & Pugin A (2003) Laminarin Elicits Defense Responses in Grapevine and Induces Protection Against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Mol Plant-Microbe Interact* 16: 1118–1128
- Babinsky E & Sojka PE (2002) Modeling drop size distributions. *Prog Energy Combust Sci* 28: 303–329
- Bader H & Hoigné J (1981) Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Res* 15: 449–456
- Baig S & Mouchet P (2010) Oxydation et réduction appliquées au traitement de l'eau Ozone – Autres oxydants – Oxydation avancée – Réducteurs. *Tech l'ingénieur Procédés Trait des eaux potables, Ind urbaines w2702*
- Bass C, Denholm I, Williamson MS & Nauen R (2015) The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pestic Biochem Physiol* 121: 78–87

- Bolton DC, Zee YC & Osebold JW (1982) The biological effects of ozone on representative members of five groups of animal viruses. *Environ Res* 27: 476–484
- Bove F & Rossi V (2020) Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Sci Rep* 10: 585
- Brodowska AJ, Nowak A & Śmigielski K (2018) Ozone in the food industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: An overview. *Crit Rev Food Sci Nutr* 58: 2176–2201
- van den Broeke J, Ross PS, van der Helm AWC, Baars ET & Rietveld LC (2008) Use of on-line UV/Vis-spectrometry in the measurement of dissolved ozone and AOC concentrations in drinking water treatment. *Water Sci Technol* 57: 1169–1175
- Buijs K & Maurice MJ (1969) Some considerations on apparent deviations from lambert-beer's law. *Anal Chim Acta* 47: 469–474
- Burruano S (2000) The life-cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist* 14: 179–182
- Butault J-P, Dedryver C-A, Gary C, Guichard L, Jacquet F, Meynard J-M, Nicot P, Pitrat M, Reau R, Sauphanor B, *et al* (2010) Ecophyto R&D. Quelles voies pour réduire l'usage des pesticides ? Synthèse du rapport d'étude, INRA Editeur (France), 90p
- Campayo A, Savoie S, Romieu C, López-Jiménez AJ, Serrano de la Hoz K, Salinas MR, Torregrosa L & Alonso GL (2021) The application of ozonated water rearranges the *Vitis vinifera* L. leaf and berry transcriptomes eliciting defence and antioxidant responses. *Sci Rep* 11: 8114
- Campayo A, Serrano de la Hoz K, García-Martínez MM, Salinas MR & Alonso GL (2020) Spraying Ozonated Water on Bobal Grapevines: Effect on Wine Quality. *Biomolecules* 10: 213
- Campayo A, Serrano de la Hoz K, García-Martínez MM, Sánchez-Martínez JF, Salinas MR & Alonso GL (2019) Spraying ozonated water on Bobal grapevines: Effect on grape quality. *Food Res Int* 125
- Canado A, Lemen C, Pages M, Violleau F, Dietrich N & Hébrard G (2022) Gas-liquid mass transfer characterization in a thin shrinking film at an atomization nozzle. *Int J Heat Mass Transf* 189: 122672

- Canado A, Tournois M, Pages M, Roustan M, Remus-Borel W, Dietrich N, Violleau F & Hébrard G (2020) Sudden Decrease of the Dissolved Ozone Concentration in Sprays: A Mass Transfer Phenomenon? *Ind Eng Chem Res* 59: 14914–14924
- Canny J (1986) A computational approach to edge detection. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell* 8: 679–698
- Chawla A, Bell JW & Janes ME (2007) Optimization of Ozonated Water Treatment of Wild-Caught and Mechanically Peeled Shrimp Meat. *J Aquat Food Prod Technol* 16: 41–56
- Chen M (2019) Analyse du risque de mildiou de la vigne dans le Bordelais à partir de données régionales et d'informations locales collectées en cours de saison.
- Choi YJ, Kim JY, Park JH & Shin HD (2012) First Report of Tatsoi Downy Mildew Caused by *Hyaloperonospora brassicae* in Korea. *Plant Dis* 96: 1703–1703
- Chomienne J-P, Dutartre S, Larguier M, Pinçonnet D & Tessier R (2017) Les produits de biocontrôle pour la protection des cultures France
- Codolo MC & Bizzo WA (2013) Experimental study of the SO₂ removal efficiency and volumetric mass transfer coefficients in a pilot-scale multi-nozzle spray tower. *Int J Heat Mass Transf* 66: 80–89
- Dagostin S, Schärer H-J, Pertot I & Tamm L (2011) Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? *Crop Prot* 30: 776–788
- Danckwerts P V. (1951) Significance of Liquid-Film Coefficients in Gas Absorption. *Ind Eng Chem* 43: 1460–1467
- Decourselle T (2013) Etude et modélisation du comportement des gouttelettes de produits phytosanitaires sur les feuilles de vignes par imagerie ultra-rapide et analyse de texture.
- Demotes-Mainard M & Bourgeois L (2000) Les cinquante ans qui ont changé l'agriculture française. *Économie Rural* 255: 14–20
- Demoule JP (2017) Les dix millénaires oubliés qui ont fait l'Histoire Fayard
- Dercks W & Creasy LL (1989) The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola*-grapevine interaction. *Physiol Mol Plant Pathol* 34: 189–202
- Dietrich N & Hébrard G (2018) Visualisation of gas-liquid mass transfer around a rising bubble in a

- quiescent liquid using an oxygen sensitive dye. *Heat Mass Transf und Stoffuebertragung* 54: 2163–2171
- Dietrich N, Loubière K, Jimenez M, Hébrard G & Gourdon C (2013) A new direct technique for visualizing and measuring gas–liquid mass transfer around bubbles moving in a straight millimetric square channel. *Chem Eng Sci* 100: 172–182
- Dietrich N, Wongwailikhit K, Mei M, Xu F, Felis F, Kherbeche A, Hébrard G & Loubière K (2019) Using the ‘red Bottle’ Experiment for the Visualization and the Fast Characterization of Gas-Liquid Mass Transfer. *J Chem Educ* 96: 979–984
- Dombrowski N & Johns WR (1963) The aerodynamic instability and disintegration of viscous liquid sheets. *Chem Eng Sci* 18: 203–214
- Dumouchel C (2008) On the experimental investigation on primary atomization of liquid streams. *Exp Fluids* 45: 371–422
- Fansler TD & Parrish SE (2015) Spray measurement technology: a review. *Meas Sci Technol* 26: 012002
- Freitas-Silva O, Morales-Valle H & Venâncio A (2013) Potential of Aqueous Ozone to Control Aflatoxigenic Fungi in Brazil Nuts. *ISRN Biotechnol* 2013: 1–6
- Fujiwara K & Fujii T (2002) Effects of Spraying Ozonated Water on the Severity of Powdery Mildew Infection on Cucumber Leaves. *Ozone Sci Eng* 24: 463–469
- Fujiwara K & Fujii T (2004) Research Note: Effects of Ozonated Water Spray Droplet Size and Distance on the Dissolved Ozone Concentration at the Spray Target. *Ozone Sci Eng* 26: 511–516
- Gardoni D, Vailati A & Canziani R (2012) Decay of Ozone in Water: A Review. *Ozone Sci Eng* 34: 233–242
- Gessler C, Pertot I & Perazzolli M (2011) *Plasmopara viticola*: A review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathol Mediterr* 50: 3–44
- Gómez-Zeledón J, Zipper R & Spring O (2013) Assessment of phenotypic diversity of *Plasmopara viticola* on *Vitis* genotypes with different resistance. *Crop Prot* 54: 221–228
- Graham T, Zhang P, Zheng Y & Dixon MA (2009) Phytotoxicity of Aqueous Ozone on Five Container-grown Nursery Species. *HortScience* 44: 774–780
- Grieshop M, Koonter K, Savage B & Singh S (2020) ‘Ozone sprayed in water during a season long

- insect and disease protection program did not provide suitable disease and insect control under Michigan conditions.’ Field Scale Evaluation of an Ozone Airblast Sprayer for Management of Apple Insect and Disease.
- Grunwell J, Benga J, Cohen H & Gordon G (1983) A Detailed Comparison of Analytical Methods for Residual Ozone Measurement. *Ozone Sci Eng* 5: 203–223
- Guichard L, Dedieu F, Jeuffroy M-H, Meynard J-M, Reau R & Savini I (2017) Le plan Ecophyto de réduction d’usage des pesticides en France : décryptage d’un échec et raisons d’espérer. *Cah Agric* 26: 14002
- Guzel-Seydim ZB, Greene AK & Seydim AC (2004) Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Sci Technol* 37: 453–460
- Harari YN author (2015) *Sapiens : a brief history of humankind* First U.S. edition. New York : Harper, [2015]
- Hariz R, del Rio Sanz JI, Mercier C, Valentin R, Dietrich N, Mouloungui Z & Hébrard G (2017) Absorption of toluene by vegetable oil–water emulsion in scrubbing tower: Experiments and modeling. *Chem Eng Sci* 157: 264–271
- Hawkins NJ, Bass C, Dixon A & Neve P (2019) The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biol Rev* 94: 135–155
- Higbie R (1934) The rate of absorption of a pure gas into a still liquid during short periods of exposure University of MICHIGAN
- Hu X, Chen Z, Su Z, Deng F, Chen X, Yang Q, Li P, Chen Q, Ma J, Guan W, *et al* (2021) Ozone Water Is an Effective Disinfectant for SARS-CoV-2. *Virology* 36: 1066–1068
- Inagaki H, Saito A, Sudaryatma PE, Sugiyama H, Okabayashi T & Fujimoto S (2021) Rapid Inactivation of SARS-CoV-2 with Ozonated Water. *Ozone Sci Eng* 43: 208–212
- J.Saitanis C, PANAGOPOULOS G, DASOPOULOU V, AGATHOKLEOUS E & PAPTIOHARI Y (2015) Integrated assessment of ambient ozone phytotoxicity in Greece’s Tripolis Plateau. *J Agric Meteorol* 71: 55–64
- Jones H, Whipps JM & Gurr SJ (2001) The tomato powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici*. *Mol Plant Pathol* 2: 303–309

- Karaca H & Velioglu YS (2014) Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. *Postharvest Biol Technol* 88: 46–53
- Kazlauskaitė S, Spruogis V, Dautartė A, Mulerčikas P, Krasauskas A, Rizani KL & Survilienė E (2020) INFLUENCE OF THE OZONATED WATER APPLICATION ON THE OCCURRENCE OF SOME PESTS AND DISEASES IN SPRING WHEAT CROP. *Rural Dev* 2019: 278–283
- Kelbaliyev GI (2011) Drag coefficients of variously shaped solid particles, drops, and bubbles. *Theor Found Chem Eng* 45: 248–266
- Khadre M. & Yousef A. (2001) Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *Int J Food Microbiol* 71: 131–138
- Khadre MA, Yousef AE & Kim J-G (2001) Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. *J Food Sci* 66: 1242–1252
- Khan S, Nazneen S, Khan S & Ali N (2021) Effects of ozone phytotoxicity in reducing the yield and nutritional quality of chilli (*Capsicum annuum* L.). *Environ Sci Pollut Res* 28: 8889–8897
- Kulimushi PZ, Basime GC, Nachigera GM, Thonart P & Ongena M (2018) Efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* as biocontrol agent to fight fungal diseases of maize under tropical climates: from lab to field assays in south Kivu. *Environ Sci Pollut Res* 25: 29808–29821
- Kumar A & Hartland S (1999) Correlations for Prediction of Mass Transfer Coefficients in Single Drop Systems and Liquid–Liquid Extraction Columns. *Chem Eng Res Des* 77: 372–384
- Lebeda A, Mieslerová B, Petřivalský M, Luhová L, Špundová M, Sedlářová M, Nožková-Hlaváčková V & Pink DAC (2014) Resistance mechanisms of wild tomato germplasm to infection of *Oidium neolycopersici*. *Eur J Plant Pathol* 138: 569–596
- Lebrun G, Xu F, Le Men C, Hébrard G & Dietrich N (2021) Gas–Liquid Mass Transfer around a Rising Bubble: Combined Effect of Rheology and Surfactant. *Fluids* 6: 84
- Lee HJ, Lee JS & Choi Y-J (2019) New Downy Mildew Disease Caused by *Hyaloperonospora brassicae* on Pak choi (*Brassica rapa*) in Korea. *Res Plant Dis* 25: 98–101
- Lefebvre A & McDonnell V (2017) Atomization and Sprays, Second Edition.
- Lefebvre AH (1989) Properties of Sprays. *Part Part Syst Charact* 6: 176–186
- Lemoine F & Castanet G (2013) Temperature and chemical composition of droplets by optical

- measurement techniques: A state-of-the-art review. *Exp Fluids* 54: 0–34
- Lépinasse E, Marion M, Guella S, Alexandrova S & Saboni A (2012) Absorption et désorption du dioxyde de soufre par des gouttes d'eau de fort diamètre en chute. Sulfur dioxide absorption and desorption by large free falling water droplets. *Rev des Sci l'eau* 18: 5
- Lewis WK & Whitman WG (1924) Principles of Gas Absorption. *Ind Eng Chem* 16: 1215–1220
- Lin W-C, Rice PA, Cheng Y-S & Barduhn AJ (1977) Vacuum stripping of refrigerants in water sprays. *AIChE J* 23: 409–415
- Loeb BL, Thompson CM, Drago J, Takahara H & Baig S (2012) Worldwide Ozone Capacity for Treatment of Drinking Water and Wastewater: A Review. *Ozone Sci Eng* 34: 64–77
- Lucas JA, Hawkins NJ & Fraaije BA (2015) The Evolution of Fungicide Resistance. In pp 29–92.
- Maeda H, Mastu-ura S, Senba T, Yamasaki S, Takai H, Yamauchi Y & Ohmori H (2000) Resorufin as an Electron Acceptor in Glucose Oxidase-Catalyzed Oxidation of Glucose. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 48: 897–902
- Martins RB, Castro IA, Pontelli M, Souza JP, Lima TM, Melo SR, Siqueira JPZ, Caetano MH, Arruda E & de Almeida MTG (2021) SARS-CoV-2 Inactivation by Ozonated Water: A Preliminary Alternative for Environmental Disinfection. *Ozone Sci Eng* 43: 108–111
- Mazoyer M & Roudart L (2002) Histoire des agricultures du monde: du néolithique à la crise contemporaine Éditions du Seuil
- De Mendiburu F & Simon R (2015) Agricolae - Ten years of an open source statistical tool for experiments in breeding, agriculture and biology. *PeerJ Prepr*
- Modesti M, Baccelloni S, Brizzolara S, Aleandri MP, Bellincontro A, Mencarelli F & Tonutti P (2019) Effects of treatments with ozonated water in the vineyard (cv Vermentino) on microbial population and fruit quality parameters. *BIO Web Conf* 13: 04011
- Modesti M, Forniti R, Brunori E, Mencarelli F, Bellincontro A & Tonutti P (2022) Ozone treatments to induce systemic-acquired resistance in leaves of potted vines: molecular responses and NIR evaluation for identifying effective dose and exposition duration. *OENO One* 56: 175–187
- Mohammed AE, You MP, Banga SS & Barbetti MJ (2019) Resistances to downy mildew (*Hyaloperonospora brassicae*) in diverse Brassicaceae offer new disease management

- opportunities for oilseed and vegetable crucifer industries. *Eur J Plant Pathol* 153: 915–929
- Momas I, Caillard J-F & Lesaffre B (2004) Rapport de la commission d'orientation du plan national santé environnement France
- Montigaud I (2021) Les leçons d'une campagne mildiou 2021 hors norme en vignes. *Reussir.fr/Vigne*
- Le Moyne L (2010) Atomisation, pulvérisation et aérosols Instrumentation. *Tech l'ingénieur États la matière* base docum
- Néron F (2014) Petit précis d'agriculture, de la politique à la technique 2nd ed. France Agricole (ed)
- Nonomura T, Matsuda Y, Xu L, Kakutani K, Takikawa Y & Toyoda H (2009) Collection of highly germinative pseudochain conidia of *Oidium neolycopersici* from conidiophores by electrostatic attraction. *Mycol Res* 113: 364–372
- O'Donnell C, Tiwari BK, Cullen PJ & Rice RG (2012) Ozone in Food Processing O'Donnell C Tiwari BK Cullen PJ & Rice RG (eds) Oxford, UK: Wiley-Blackwell
- Ó'Gráda (1995) The Great Irish Famine (New Studies in Economic and Social History) Reprint. Cambridge University Press (ed)
- Pages M (2015) Effets et mécanismes d'action de l'ozone utilisé comme moyen de lutte contre des champignons pathogènes du pommier : études in vitro et in vivo.
- Pagès M, Kleiber D, Pierron RJG & Violleau F (2016) Ozone Effects on *Botrytis cinerea* Conidia using a Bubble Column: Germination Inactivation and Membrane Phospholipids Oxidation. *Ozone Sci Eng* 38: 62–69
- Parrish D (2000) Methods for gas-phase measurements of ozone, ozone precursors and aerosol precursors. *Atmos Environ* 34: 1921–1957
- Pezet P, Gindro K, Viret O & Richter H (2004) Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis* 43: 145–148
- Pierron RJG, Pages M, Couderc C, Compant S, Jacques A & Violleau F (2015) In vitro and in planta fungicide properties of ozonated water against the esca-associated fungus *Phaeoacremonium aleophilum*. *Sci Hortic (Amsterdam)* 189: 184–191
- Pigford RL & Pyle C (1951) Performance Characteristics of Spray-Type Absorption. *Ind Eng Chem* 43: 1649–1662

- Pirani SMG (2011) Application of ozone in food industries. PhD thesis.
- Postali Parra JR & Coelho A (2019) Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Application. *J Insect Sci* 19
- Raio A, Feliciani A, Ferri V & Carboni C (2016) Integrated vineyard management trials using ozonated and electrolyzed water. *Infowine - Internet J Vitic Enol*
- Rayleigh, Lord (1878) On The Instability Of Jets. *Proc London Math Soc* s1-10: 4–13
- Restaino L, Frampton EW, Hemphill JB & Palnikar P (1995) Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 61: 3471–3475
- Robles-Yerena L (2017) First report of *Hyaloperonospora brassicae* causing downy mildew on wild radish in Mexico. *Plant Pathol Quar* 7: 137–140
- Rogerson CT & Amano K (1987) Host Range and Geographical Distribution of Powdery Mildew Fungi. *Brittonia* 39: 459
- Romeo-Oliván A, Pagès M, Breton C, Lagarde F, Cros H, Yobrégat O, Violleau F & Jacques A (2021) Ozone Dissolved in Water: An Innovative Tool for the Production of Young Plants in Grapevine Nurseries? *Ozone Sci Eng*: 1–15
- Roustan M (2003) Transferts gaz-liquide dans les procédés de traitement des eaux et des effluents gazeux. *Ed TEC&DOC -Lavoisier*: 800
- Saboni A (1991) Contribution à la modélisation du transfert de masse entre un gaz et une goutte d'eau.
- Salinari F, Giosué S, Tubiello FN, Retori A, Rossi V, Spanna F, Rosenzweig C & Gullino ML (2006) Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. *Glob Chang Biol* 12: 1299–1307
- Sandermann Jr H (1996) OZONE AND PLANT HEALTH. *Annu Rev Phytopathol* 34: 347–366
- Schweiger G (1990) Raman scattering on single aerosol particles and on flowing aerosols: a review. *J Aerosol Sci* 21: 483–509
- Simpson SG & Lynn S (1977) Vacuum-spray stripping of sparingly soluble gases from aqueous solutions: Part I. Mass transfer from streams issuing from hydraulic nozzles. *AIChE J* 23: 666–673
- Slusarenko AJ & Schlaich NL (2003) Downy mildew of *Arabidopsis thaliana* caused by *Hyaloperonospora parasitica* (formerly *Peronospora parasitica*). *Mol Plant Pathol* 4: 159–170

- Spotts RA (1992) Effect of Ozonated Water on Postharvest Pathogens of Pear in Laboratory and Packinghouse Tests. *Plant Dis* 76: 256 doi:10.1094/pd-76-0256 [PREPRINT]
- Srinivasan V & Aiken RC (1988) Mass transfer to droplets formed by the controlled breakup of a cylindrical jet—physical absorption. *Chem Eng Sci* 43: 3141–3150
- Staelin J & Hoigne J (1985) Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environ Sci Technol* 19: 1206–1213
- Steffen H & Rice RG (2008a) The PhytO3 tech crop protection technology - Trial results in a 2,700 ha (6,500 acre) soy farm in Brazil. *Ozone Sci Eng* 30: 210–215
- Steffen H & Rice RG (2008b) The PhytO3 tech crop protection technology for microorganism and insect control using ozone, UV, and dipole-electrical air jet spray technologies - Technical basis and possible chemistries involved. *Ozone Sci Eng* 30: 216–227
- Swinehart DF (1962) The Beer-Lambert Law. *J Chem Educ* 39: 333
- Tanda T, Shirai K, Matsumura Y & Kitahara H (2011) New Correlation for Mass Transfer Characteristics of Spray Column. *Ind Eng Chem Res* 50: 13554–13560
- The Royal Society (2008) Ground-level Ozone in the 21st Century: Future Trends, Impacts and Policy Implications
- Tournois M, Pages M, Roustan M, Kleiber D, Violleau F & Hébrard G (2015) Implementation of fungal treatment through Ozonated Water pulverization: characterization of Ozone desorption. In, 21th Ozone World Congress (ed) Barcelone, Espagne: International Ozone Association
- Träger F (2012) Springer Handbook of Lasers and Optics Springer Berlin Heidelberg
- Turpin A, Couvert A, Laplanche A & Paillier A (2008) Experimental study of mass transfer and H₂S removal efficiency in a spray tower. *Chem Eng Process Process Intensif* 47: 886–892
- Veronico P, Paciolla C, Sasanelli N, De Leonardis S & Melillo MT (2017) Ozonated water reduces susceptibility in tomato plants to *Meloidogyne incognita* by the modulation of the antioxidant system. *Mol Plant Pathol* 18: 529–539
- Victorin K (1992) Review of the genotoxicity of ozone. *Mutat Res Genet Toxicol* 277: 221–238
- Weber MJ (2018) Handbook of Optical Materials 1st Editio. CRC Press (ed) CRC Press
- Wegener M, Paschedag AR & Kraume M (2009) Mass transfer enhancement through Marangoni

- instabilities during single drop formation. *Int J Heat Mass Transf* 52: 2673–2677
- Wong FP, Burr HN & Wilcox WF (2001) Heterothallism in *Plasmopara viticola*. *Plant Pathol* 50: 427–432
- Wongwailikhit K (2019) Study of gas-liquid mass transfer in bubble and spray column adding solid media.
- Wongwailikhit K, Dietrich N, Hébrard G & Painmanakul P (2019) Performance of a Monofiber Optical Probe in Determining the Droplet Size and Velocity in Spray Systems Compared with a High-Speed Camera. *Ind Eng Chem Res*
- World Health Organization (2014) Antimicrobial resistance: global report on surveillance World Health Organization
- Xu J-P, Yu Y-C, Zhang T, Ma Q & Yang H-B (2021) Effects of ozone water irrigation and spraying on physiological characteristics and gene expression of tomato seedlings. *Hortic Res* 8: 180
- Xu JH, Tan J, Li SW & Luo GS (2008) Enhancement of mass transfer performance of liquid–liquid system by droplet flow in microchannels. *Chem Eng J* 141: 242–249
- Yang L, Dietrich N, Hébrard G, Loubière K & Gourdon C (2017) Optical methods to investigate the enhancement factor of an oxygen-sensitive colorimetric reaction using microreactors. *AIChE J* 63: 2272–2284
- Yang L, Dietrich N, Loubière K, Gourdon C & Hébrard G (2016) Visualization and characterization of gas–liquid mass transfer around a Taylor bubble right after the formation stage in microreactors. *Chem Eng Sci* 143: 364–368
- Yeh NK & Rochelle GT (2003) Liquid-phase mass transfer in spray contactors. *AIChE J* 49: 2363–2373
- Zhang W, Manawasinghe IS, Zhao W, Xu J, Brooks S, Zhao X, Hyde KD, Chethana KWT, Liu J, Li X, *et al* (2017) Multiple gene genealogy reveals high genetic diversity and evidence for multiple origins of Chinese *Plasmopara viticola* population. *Sci Rep* 7: 17304

