

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

L'EFFET DE L'INTERACTION DE L'OXYDE DE GRAPHÈNE SUR LA TOXICITÉ DU
CADMIUM : BIOESSAIS AVEC LA PLANTE AQUATIQUE *LEMNA MINOR*

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR

NESSRINE HUSSEM ABDRABOU ISMAIL

SEPTEMBRE 2020

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENT

Ce présent travail de recherche, est le fruit de très énormes efforts pendant deux années au sein de l'Université du Québec à Montréal au département de chimie. J'ai eu de la chance d'avoir cette opportunité qui m'a permis d'approfondir mes connaissances et mon savoir-faire, plus précisément dans le domaine de chimie et biochimie analytique et environnementale des contaminants, et aussi de développer mon réseau professionnel.

Je tiens à remercier au premier lieu, le bon dieu, de m'avoir donné la santé et le courage pour mener à bien cette présente recherche.

Je remercie profondément mon directeur de recherche, Pr David Dewez de m'avoir fait confiance, me donner une chance d'intégrer son laboratoire et de travailler avec une équipe de recherche très déterminée, je le remercie pour son honneur, sa disponibilité, son temps qui m'a accordé et surtout son assistance pour m'orienter, et m'enrichir de son grand savoir.

Également, je remercie Pr Mohamed Siaj pour ses conseils, et son temps qu'il me donnait à chaque fois que j'avais besoin de son aide.

Je tiens à remercier mes collègues : Baneenah Amharib, Samira Akaji, Hamdi el_mekki, Siham Chergui, Xuan Thai Tran, Maziar Jafari, Khaled Rhili, Thi Hong Diep Nguyen, qui ont contribué à générer un bon environnement de travail stimulant et être présent pour le bon déroulement des expériences

Je tiens à remercier aussi tous les techniciens, en particulier Gwenaël Chamoulaud pour son assistance et ses conseils.

Je remercie du tout cœur en particulier, mes amis, Ilyes, Réda, pour leur précieuse aide et surtout leur encouragement, Faiz, Nafissa pour leur soutien moral, aussi tous mes amis qui ont pu contribuer à la réalisation de ce présent travail soit de près ou de loin.

Je remercie affectueusement et chaleureusement mes parents, mes grands-parents, et toute ma famille, pour leur encouragement leur soutien dans les moments de doutes malgré la distance, et surtout leur confiance et d'avoir cru en moi. Je remercie très profondément mes parents pour leur appui financier, leur aide morale, sans eux, la réalisation de mon rêve et l'atteinte de mes objectifs dont l'aboutissement à ce présent projet de recherche n'auront pas vu le jour.

DEDICACE

A ma très chère mère

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte

A mon très chère Tonton

Tu as su te montrer, encourageant et surtout compréhensif, tu trouveras dans ce travail toute ma gratitude et ma reconnaissance pour tous ce que tu as fait pour moi, je ne saurais pas ce que j'aurais fait sans toi

A mes très chers grands parents

A vous qui avez pu être à mes côtés durant toutes mes années scolaires, qui m'avez soutenu, qui m'avez montré le bon chemin .Je vous dédie ce travail qui est le fruit de tous vos efforts, vos conseils, et vos prières

A ma très chère tante Amel

Une spéciale dédicace pour la plus chère tante, que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect

A mes tantes, mes oncles

A mes cousines, cousins

A mes amis

Tables des matières

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des symboles.....	iv
Résumé.....	vi
Abstract.....	vii
Introduction.....	1
Chapitre I	
Généralités.....	3
1.1 Métaux lourds.....	3
1.1.1 Définition des métaux lourds.....	3
1.1.2 Origine des métaux lourds.....	3
1.1.3 Le cadmium et sa toxicité.....	4
1.2 Oxyde de graphène (OG).....	5
1.2.1 Synthèse de l'oxyde de graphène.....	5
1.2.2 Structure de l'oxyde de graphène.....	5
1.2.3 Propriétés de l'oxyde de graphène.....	7
1.2.4 Application de l'oxyde de graphène.....	7
1.3 Les essais toxicologiques.....	7
1.4 La plante aquatique <i>Lemna minor</i>	7
Chapitre II	
Partie 1 : Techniques de caractérisation de l'oxyde de graphène.....	9
2.1.1 Microscopie à Force Atomique (AFM).....	9
2.1.2 Microscopie électronique à balayage (MEB).....	10
2.1.3 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	11
2.1.4 Spectroscopie Raman.....	13
2.1.5 Analyses thermogravimétriques (TGA).....	14

Partie 2 : Les techniques d'analyses pour l'évaluation du potentiel de toxicité du CdCl₂ et de l'interaction du système CdCl₂/OG sur la plante aquatique *Lemna minor*.....15

2.2.1	Spectrophotomètre UV-VIS.....	15
2.2.2	Lecteur de Micro-plaques à fluorescence	15
2.2.3	Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-OES).....	16

Chapitre III

Matériel et méthodes

3.1	Caractérisation de l'oxyde de graphène.....	17
3.2	Culture de <i>Lemna minor</i>	17
3.3	Exposition à l'oxyde de graphène et CdCl ₂	20
3.4	Teneur en chlorophylle.....	22
3.5	Espèces réactives de l'oxygène.....	23
3.6	Adsorption du CdCl ₂ sur la surface de l'oxyde de graphène.....	24
3.7	Caractérisation de l'oxyde de graphène dans le milieu de culture.....	24

Chapitre IV

Résultats et discussion

4.1	Analyses statistiques.....	25
4.2	Caractérisation de l'oxyde de graphène	25
4.3	Le comportement de l'oxyde de graphène dans le milieu de culture.....	29
4.4	Effets de l'oxyde de graphène et du CdCl ₂ sur la croissance de <i>L. minor</i>	30
4.5	La teneur en chlorophylle	35
4.6	Production d'espèces réactives d'oxygène	37
4.7	L'adsorption des ions du Cd ⁺² sur l'oxyde de graphène.....	39
5	Conclusion générale.....	42

Annexe A

Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA 'Origin 8.5'		43
A.1	Tukey test du nombre de fronde.....	43
A.2	Tukey test du pourcentage d'inhibition du nombre de fronde.....	45
A.3	Tukey test du pourcentage d'inhibition du poids frais	47
A.4	Tukey test de la teneur en chlorophylle totale.....	49
A.5	Tukey test du pourcentage de production des espèces réactives en oxygène	51

Annexe B

Informations supplémentaires sur l'analyse de la quantité de Cd^{+2} adsorbée sur la surface de l'oxyde de graphène et la calibration.....53

Annexe C

Informations supplémentaires sur l'application de la version de l'isotherme d'adsorption de Langmuir61

Références.....62

Liste des figures

Fig 1.1 : Les différents modèles structuraux d'OG.....	6
Fig 1.2 : Variations du modèle Lurf-Klinowski indiquant une ambiguïté en ce qui concerne la présence (à droite, une adaptation de (Lurf et al., 1998)) ou l'absence (à gauche, adapté de (He et al., 1998)) d'acides carboxyliques sur la périphérie du plan de base des graphitiques.....	6
Fig 2.1 : Principe de microscopie à force atomique.....	10
Fig 2.2 : Schéma d'un microscope électronique à balayage.....	11
Fig 2.3 : Schéma illustratif du fonctionnement d'un FTIR.....	12
Fig 2.4 : Diagramme de style "Jablonski" des transitions énergétiques impliquées dans la diffusion Raman et la diffusion de Rayleigh.....	13
Fig 2.5 : Principe de la spectrophotométrie UV-visible.....	15
Fig 2.6 : Un diagramme schématique d'un instrument ICP-OES typique avec le système de détection en mode radial.....	16
Fig 3.1 : Plante <i>L. minor</i> en bonne santé.....	19
Fig 3.2 : Exposition de la plante <i>L. minor</i> aux différents traitements du CdCl ₂ et/ou oxyde de graphène pendant sept jours.....	20
Fig 3.3 : Spectrophotomètre (Agilent technologies Cary 60 UV-Vis.....	22
Fig 3.4 : Lecteur de plaques fluorescence (TECAN).....	23
Fig 4.1 : Caractérisation d'une solution de l'oxyde de graphène par AFM	25
Fig 4.2 : Caractérisation d'une poudre de l'oxyde de graphène par MEB à deux différents agrandissements	26
Fig 4.3 : Spectre Raman d'une poudre d'oxyde de graphène.....	27
Fig 4.4 : Spectre FTIR d'une poudre d'oxyde de graphène.....	27
Fig 4.5 : Analyses thermogravimétriques d'une poudre de l'oxyde de graphène.....	28
Fig 4.6 : Caractérisation de l'oxyde de graphène tout seul dans le milieu de croissance SIS à 1 mg/L.....	29
Fig 4.7 : Caractérisation de l'oxyde de graphène tout seul dans le milieu de croissance SIS à 5 mg/L.....	29

Fig 4.8 : Effets du OG et du CdCl ₂ sur le nombre de frondes de <i>L. minor</i> après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	31
Fig 4.9 : Effets du OG et du CdCl ₂ sur le poids frais de <i>L. minor</i> après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	32
Fig 4.10 : Pourcentage d'inhibition du nombre de frondes après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	33
Fig 4.11 : Pourcentage d'inhibition du poids frais après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	34
Fig 4.12 : Teneur totale en chlorophylle (µg/mg poids frais) après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	36
Fig 4.13 : Pourcentage de production d'espèces réactives de l'oxygène dans la plante <i>L. minor</i> après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl ₂ et/ou d'oxyde de graphène.....	38
Fig 4.14 : La quantité de Cd ⁺² adsorbée sur l'OG (1 mg/L).....	40
Fig 4.15 : La quantité de Cd ⁺² adsorbée sur l'OG (5 mg/L).....	40

Liste des tableaux

Tableau 3.1 : Les solutions mères du milieu modifié de la norme suédoise (SIS) préparé selon les directives de l'OCDE.....	18
Tableau 3.2 : Les différents traitements étudiés en CdCl ₂ et/ou OG sur six répliques	19
Tableau 4.1 : Quantité du Cd ⁺² adsorbée sur la surface de l'oxyde de graphène dans chaque condition étudiée	41

Liste des symboles, unités et abréviations

CdCl ₂	Chlorure de cadmium
Cd ⁺²	Les ions cadmium
Chl	Chlorophylle
OG	Oxyde de graphène
AFM	Microscopie à Force Atomique
MEB	Microscopie électronique à balayage
TGA	Analyse thermogravimétrique
FTIR	La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
ICP-OES	Spectrométrie à plasma à couplage inductif
NaNO ₃	Nitrate de sodium
KH ₂ PO ₄	Phosphate de potassium monobasique
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfate de magnésium hydraté
CaCl ₂ .2H ₂ O	Chlorure de calcium hydraté
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
H ₃ BO ₃	Acide borique
MnCl ₂ .4H ₂ O	Chlorure de manganèse
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molybdate de sodium
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfate de zinc
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfate de cuivre
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	Nitrate de cobalt
FeCl ₃ .6H ₂ O	Chlorure de fer
Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	Acide éthylènediaminetétraacétique, hydraté
Cm	Centimètre
G	Gramme
mg	Milligramme
h	Heure
L	Litre
M	Mole par litre
pH	Potentiel hydrogène

s	Seconde
μm	Micromètre
$^{\circ}\text{C}$	Degré Celcius
%	Pourcentage

Résumé

Le cadmium est l'un des éléments traces métalliques les plus dangereux pour la qualité des écosystèmes aquatiques. Malgré son utilisation intensive comme nanomatériau dans les industries, l'effet de l'oxyde de graphène est peu connu dans la littérature. Cependant, les interactions chimiques en solution aqueuse entre ces deux composés peuvent changer leurs potentiels de toxicité pour les milieux aquatiques. Dans cette étude, l'objectif est d'étudier les effets toxiques de différentes concentrations de CdCl₂ en interaction avec deux concentrations d'oxyde de graphène (1 et 5 mg/L). Les tests de toxicité ont été effectués en utilisant la plante aquatique modèle *Lemna minor* dans le milieu de culture SIS. Déjà, une concentration de 0,05 mg/L de CdCl₂ a montré une légère toxicité sur la croissance et la physiologie des plantes. Des concentrations de 0,5 et 1 mg/L de CdCl₂ indiquent un stress physiologique élevé, indiqué par plusieurs paramètres tels que le nombre de frondes, le poids frais, le pourcentage d'inhibition du taux de croissance (multiplication des plantes), la teneur totale en chlorophylles (extraction des pigments), et la production des espèces réactives de l'oxygène (un indicateur du stress oxydatif). Toutes les données ont été normalisées par le poids frais. Lors de l'interaction d'une concentration élevée des ions Cd⁺² avec une concentration faible d'oxyde de graphène (1 mg/L), il a été remarqué que le pourcentage d'inhibition du taux de croissance et le stress oxydatif diminuent et atteignent une valeur approximative de 48 % par rapport aux traitements de concentrations élevées d'oxyde de graphène (5 mg/L). Aussi, le pourcentage de production des espèces réactive de l'oxygène a diminué approximativement de 580 % pour les plantes traitées à 1 mg/L de CdCl₂ et 1 mg/L d'OG. Par conséquent, ces résultats démontrent qu'une faible concentration d'oxyde de graphène (1 mg/L) constitue un adsorbant plus efficace pour réduire la toxicité du CdCl₂ en solution et ainsi diminuer le stress physiologique chez la plante *Lemna minor*. À cette concentration, l'oxyde de graphène seul forme beaucoup moins d'agglomérations dans le milieu de culture qu'à une concentration de 5 mg/L. L'oxyde de graphène a une capacité limitée de réduire les effets des Cd⁺² chez les *Lemna* dans le milieu de culture SIS.

Mots clés : Cadmium, oxyde de graphène, plante *Lemna minor*, stress oxydatif.

Abstract

Cadmium is one of the most dangerous metal trace elements for the quality of aquatic ecosystems. Although its intensive use as a nanomaterial in industries, little is known in the literature concerning the effect of graphene oxide. However, the chemical interactions in aqueous solution between these two compounds may change their toxicity potential for aquatic environments. In this study, the objective is to study the toxic effects of different concentrations of CdCl₂ in interaction with two concentrations of graphene oxide (1 and 5 mg/L). The toxicity tests were carried out using the model aquatic plant *Lemna minor* in the SIS culture medium. Already a concentration of 0.05 mg/L of CdCl₂ has shown a slight toxicity on the growth and physiology of the plants. Concentrations of 0.5 and 1 mg/L of CdCl₂ caused a high physiological stress, indicated by several parameters such as the number of fronds, the fresh weight, the percentage inhibition of growth rate (multiplication of plants), the total chlorophyll content (pigment extraction), and the production of reactive oxygen species (an indicator of oxidative stress). All data were normalized by fresh weight. During the interaction of a high concentration of Cd⁺² ions with a low concentration of graphene oxide (1 mg/L), it was noticed that the percentage inhibition of the growth rate and the oxidative stress did decrease and reached an approximate value of 48 % compared to treatments of high concentrations of graphene oxide (5 mg/L). Also, the production of reactive oxygen species decreased by approximately 580 % for plants treated at 1 mg/L CdCl₂ and 1 mg/L of OG. Therefore, these results demonstrated that a low concentration of graphene oxide (1 mg/L) is a more effective adsorbent for reducing the toxicity of CdCl₂ in solution and thus reducing the physiological stress in the plant *Lemna minor*. At this concentration, graphene oxide alone forms much less agglomerations in the culture medium than at a concentration of 5 mg/L. The graphene oxide has limited ability to reduce the effects of Cd⁺² on *Lemna* in the SIS culture medium

Key words: Cadmium, graphene oxide, plant *Lemna minor*, oxidative stress

Introduction

Les métaux lourds tels que le plomb, le mercure, le cuivre, le zinc et le cadmium dans l'eau sont un problème majeur depuis de nombreuses années en raison de leur rejet dans l'environnement par plusieurs industries tel que la fabrication des produits chimiques, la métallurgie, l'exploitation minière, ce qui entraîne une augmentation de la charge de ces métaux sur l'écosystème et une détérioration de la qualité de l'eau (**Chen et Wang, 2006; Deng et al., 2010; Hu et al., 2015**). Les métaux lourds d'une manière générale, si leur abondance se trouve à de très hauts niveaux dans l'eau potable peuvent entraîner plusieurs effets indésirables ou maladies. Dans le cas du cadmium, il peut entraîner des crampes musculaires, des maladies néphrétiques (**Ansari et Malik, 2007**), aussi des troubles aigus et chroniques, tels que des lésions rénales, l'emphysème, l'hypertension, l'atrophie testiculaire et la malformation squelettique du fœtus (**OGel et al., 2006; Moreno-Castilla et al., 2004**). Le cadmium est aussi dangereux pour la flore et la faune, il se caractérise par une forte mobilité et solubilité dans l'eau et dans le sol (**Mohan et Singh, 2002**). De plus, il présente des effets venimeux sur la végétation, ce qui limite la productivité des plantes (**Tkalec et al., 2008**).

Cependant, plusieurs méthodes ont été utilisées pour éliminer ces métaux lourds notamment l'oxydation, la réduction, la précipitation, la filtration sur membrane, l'échange d'ions et l'adsorption (**Matlock et al., 2002**).

Cette recherche consiste à répondre à une problématique primordiale relative à l'adsorption du cadmium par l'oxyde de graphène pour réduire la bioaccumulation de ce métal toxique chez la plante *L. minor*, par conséquent une diminution du stress physiologique. Le choix de l'adsorbant de l'oxyde de graphène repose sur le fait que les nanomatériaux d'une manière générale offrent des opportunités captivantes de développement biotechnologique en raison de leurs structures et de leur propriétés. Par conséquent, l'avancement de la recherche sur les nanomatériaux joue un rôle essentiel dans les domaines biochimiques et nanotechnologiques (**Bechet et al., 2008**). Plusieurs secteurs industriels utilisent les nanomatériaux de l'oxyde de graphène qui est une forme fonctionnalisé du graphène en raison de leurs excellentes propriétés électrochimiques et son utilisation dans plusieurs domaines tel que le stockage d'énergie, l'électronique, les biocapteurs, les tuyaux, la médecine et le traitement des eaux usées (**Arvidsson et al., 2013; Novoselov et al., 2012; Zhao, G. et al., 2011; Zurutuza et Marinelli, 2014**).

En ce qui concerne la toxicité de l'oxyde de graphène, il a été indiqué dans la littérature que l'oxyde de graphène n'a pas été toxique pour une concentration inférieure à 5 mg/L sur les plantes aquatiques (Hu et al., 2018).

Le premier objectif est de mesurer la toxicité du cadmium pour étudier leurs effets sur la plante *L. minor* par la mesure des paramètres de croissance, de la teneur en chlorophylle, et de la teneur en production des espèces réactives de l'oxygène. Les techniques d'analyses utilisées sont la spectrophotométrie UV-VIS, le lecteur de micro-plaques de fluorescence et l'ICP-OES, pour évaluer la toxicité du cadmium seuls et en interaction avec l'oxyde de graphène sur la plante *L. minor* qui sont présentées dans le deuxième chapitre - partie (2).

Le deuxième objectif est d'étudier l'influence de l'oxyde de graphène sur le stress du cadmium chez la plante *L. minor*. Selon la littérature, l'effet de l'agglomération de l'oxyde de graphène (1 et 5 mg/L) en solution sur sa capacité d'adsorption des métaux n'a pas été étudié. De plus, l'interaction entre ces deux substances n'a pas été étudiée sur la plante *L. minor*. Donc le but de cet objectif consiste à explorer le mécanisme de leur interaction, et d'étudier le changement de leur potentiel, ou autrement dit, la modification du comportement du cadmium au moment de leur interaction avec l'oxyde de graphène. C'est pour cela qu'on va présenter, dans le deuxième chapitre - partie (1), les différentes techniques utilisées pour la caractérisation de l'oxyde de graphène qui sont la microscopie à force atomique (AFM), la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie Raman, la spectroscopie à transformation de fourrier (FTIR) et l'analyse thermogravimétrique (TGA).

Le troisième objectif, c'est de mesurer la capacité d'adsorption du CdCl_2 par l'oxyde de graphène par les deux versions de Langmuir.

Donc, l'hypothèse est que l'oxyde de graphène réduit le stress oxydatif chez la plante *L. minor* qui est causé par le CdCl_2 en l'adsorbant à une concentration donnée.

Chapitre I

1.1 Métaux lourds

1.1.1 Définition des métaux lourds

Les métaux lourds sont généralement définis comme des éléments métalliques naturels dont la masse volumique est supérieure à 5000 kg/m^3 , ils se trouvent le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces (**Di Benedetto, 1997**), et les métaux lourds se distinguent en deux catégories:

Les métaux essentiels sont dans les tissus biologiques, et ce sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**).

Les métaux toxiques ont un caractère polluant avec des effets pour les organismes vivants même à faible concentration tel que le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd), et ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule (**Behanzin et al., 2014**).

1.1.2 Origine des métaux lourds

L'utilisation intensive des métaux lourds au cours des dernières années ne cesse de s'étendre, les origines anthropiques se considèrent comme une source majeure de contamination tel que la pollution atmosphérique, la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle, aussi par le biais d'activités minières (**Behanzin et al., 2014**). Les activités faisant appel à la combustion de fioul lourd ou de combustibles minéraux, les incinérateurs de déchets, les industries manufacturières de type fonderie, les usines métallurgiques pour les métaux ferreux et non ferreux, l'érosion des caténaires dans le transport ferroviaire et l'érosion des plaquettes dans tout système de freinage font partie des sources anthropiques (**Bourrelier et al., 1998**).

Très souvent, l'irrigation des terres agricoles se fait par les eaux usées en tant que supplément de nutriments essentiels pour les plantes, certes que cette technique accroît la production agricole dans les cultures cellulaires, mais elle favorise l'accumulation des substances toxiques tel que les métaux lourds à cause de la pénétration des effluents industriels dans le sol qui sont rejetés dans les eaux usées (**Neupane, 2003**).

Les métaux lourds entraînent généralement une action inhibitrice sur les micro-organismes, cependant, certains métaux à faible concentration sont essentiels pour les micro-organismes car ils fournissent des cofacteurs fondamentaux pour les métalloprotéines et les enzymes (**Guzzo et DuBow, 1994; Jansen et al., 1994**).

1.1.3 Le cadmium et sa toxicité

La toxicité des métaux lourds en générale est due essentiellement à leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants. Le cadmium est un métal très toxique, si son abondance se trouve à de très hauts niveaux dans l'eau potable (supérieur à 7ug/L) (**Environnement Canada**), il peut entraîner plusieurs effets indésirables ou maladies tel que des crampes musculaires, des maladies néphrétiques, le cancer (**Ansari et Malik, 2007**). L'utilisation des applications de pesticides et des engrais favorisent l'accroissement des niveaux du cadmium dans les écosystèmes terrestres et fluviaux (**Di Toppi et Gabrielli, 1999**).

Les ions du cadmium sont des polluants environnementaux particulièrement dangereux, en raison de leur mobilité relativement élevée dans les sols, de leur solubilité dans l'eau et de leur toxicité extrême, même à de faibles doses (**Das et al., 1997**).

De plus, ils présentent des effets venimeux sur la végétation, ce qui limite la productivité des plantes (**Tkalec et al., 2008**). Pour la croissance des plantes, le cadmium est un métal lourd non-essentiel qui provoque une diminution de la croissance, une chlorose des feuilles et même la mort des plantes (**Mendelsohn et al., 2001**). Aussi, il a été démontré que le métal affecte l'absorption et la distribution des éléments essentiels (**Ouariti et al., 1997**). Il inhibe également la photosynthèse en altérant la synthèse de la chlorophylle (**Stobart et al., 1985**).

De ce fait, pour mieux protéger l'environnement, plusieurs méthodes ont été adoptées pour éliminer ou diminuer les métaux lourds, tel que l'oxydation, la réduction, la précipitation, la filtration sur membrane, l'échange d'ions et l'adsorption (**Deng et al., 2010**).

1.2 Oxyde de graphène

1.2.1 Synthèse de l'oxyde de graphène

Les nanomatériaux d'une manière générale offrent des opportunités captivantes de développement biotechnologique en raison de leurs structures, et leurs propriétés, par conséquent, l'avancement de la recherche sur les nanomatériaux joue un rôle essentiel dans les domaines biochimiques et nanotechnologiques (**Bechet et al., 2008**).

Les nanomatériaux à base de graphène ont eu une large gamme d'application grâce à leur potentiel (**Hu et al., 2018**). Dans cette étude, l'intérêt fut orienter vers l'oxyde de graphène qui est un produit synthétisé à partir de l'oxydation du graphite, en réagissant du graphite avec le permanganate de potassium (KMnO_4) et l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) (**Hummers et Offeman, 1958**). Pour obtenir des feuillets d'oxyde de graphène, il est indispensable de l'exfolier, la sonication du graphite oxydé dans un solvant est la méthode la plus répandue et la plus utilisée (**Ozbas et al., 2012**).

1.2.2 Structure de l'oxyde de graphène

Hormis les mécanismes oxydatifs opérationnels, la structure chimique précise de IOG a fait l'objet de nombreux débats au fil des ans, c'est pour cela qu'il y a aucune structure exacte donnée à ce jour malgré les différentes recherches avancées à cause de la complexité du matériau et en raison de son caractère amorphe non stœchiométrique (**Dreyer et al., 2010**).

Plusieurs modèles de structure de l'oxyde de graphène ont été suggérés. Le premier a été proposé par Hofmann et Holst (Fig. 1.1) qui indique que l'oxyde de graphène se compose de groupes époxy, en propagation à travers les plans basaux du graphite, avec une formule moléculaire nette de C_2O (**Hofmann et Holst, 1939**). Par la suite un autre modèle a été proposé par Ruess en 1946 qui indique la présence des groupements hydroxyles dans le plan de base, en prenant en considération la teneur en hydrogène de l'OG (**Ruess, 1947**). Ce modèle de Ruess a apporté un changement de la structure du plan basal en un système hybride sp^3 . En 1969, Scholz et Boehm ont suggéré un modèle qui indique la suppression complète des groupes époxyde et éther, en remplaçant les espèces quinoïdes régulières dans un squelette ondulé (**Scholz et Boehm, 1969**). Un autre modèle remarquable de Nakajima et Matsuo repose sur l'hypothèse d'une structure en treillis semblable au poly (monofluorure de dicarbonate), $(\text{C}_2\text{F})_n$, qui forme un composé d'intercalation de graphite (GIC) de stade 2 (**Nakajima et al., 1988**).

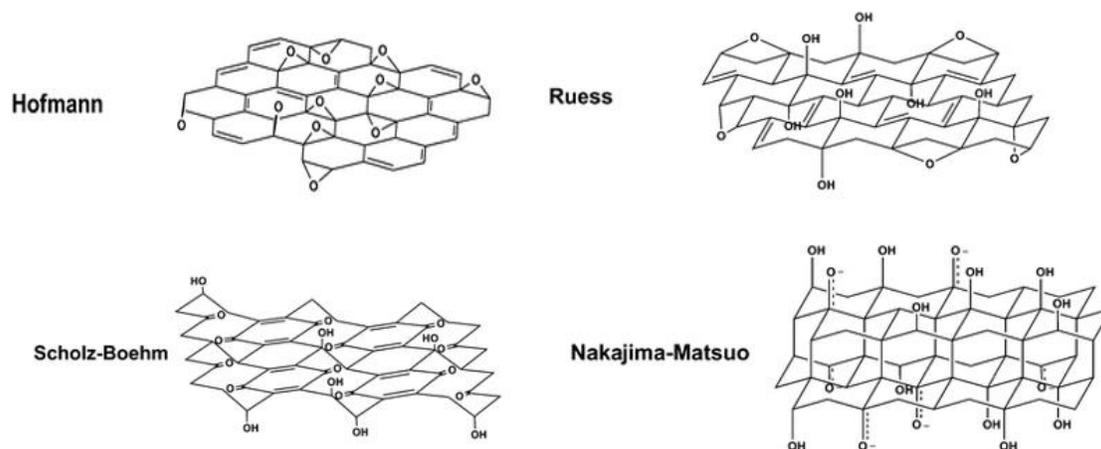


Fig 1.1 : Les différents modèles structuraux de l'OG (Szabó et al., 2006).

Toutes ces recherches ont permis la participation à la compréhension de la structure de l'oxyde de graphène, le modèle le plus connu et le plus utilisé est celui de Lerf et Klinowski (Fig 1.2). Plusieurs articles ont été publiés par Anton Lerf et Jacek Klinowski qui portent sur la structure et le comportement d'hydratation de l'oxyde de graphène, et ce sont les plus cités dans la littérature contemporaine (Dreyer *et al.*, 2010).

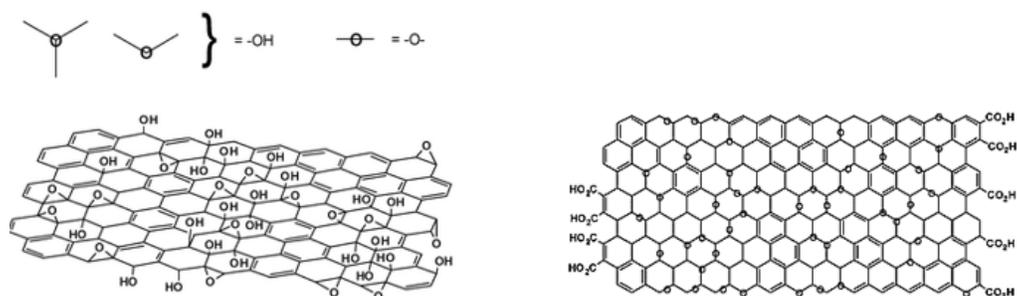


Fig 1.2 : Variations du modèle Lerf-Klinowski indiquant une ambiguïté en ce qui concerne la présence (à droite, une adaptation de (Lerf et al., 1998) ou l'absence (à gauche, adapté de (He et al., 1998)) d'acides carboxyliques sur la périphérie du plan de base des graphitiques.

1.2.3 Propriété de l'oxyde de graphène

En raison de l'abondance des fonctions oxygène sur sa surface, l'oxyde de graphène est facilement dispersé dans l'eau ou autre solvant organique (**Lerf et al., 1998**), grâce à la rupture de la conjugaison et la formation de zones avec des liaisons sp³, l'oxyde de graphène est un isolant électrique (**Gómez-Navarro et al., 2007**). De plus, l'oxyde de graphène a une grande surface, elle peut être déterminée par la méthode de Brunauer–Emmett–Teller (BET), et en solution aqueuse, il s'est avéré que sa surface était 736,6 m²/g (**Montes-Navajas et al., 2013**).

1.2.4 Application de l'oxyde de graphène

Les groupements oxygène de l'oxyde de graphène lui confèrent un large potentiel dans différentes applications tel que le stockage d'énergie, l'électronique, les biocapteurs, les tuyaux, la médecine et le traitement des eaux usées (**Arvidsson et al., 2013; Novoselov et al., 2012; Zhao, G. et al., 2011; Zurutuza et Marinelli, 2014**), les transistors à effet de champ (**Peralta-Videa et al., 2011**), les cellules solaires (**Yin et al., 2014**), les batteries lithium – ion (**Kucinskis et al., 2013**) et la catalyse hétérogène (**Garg et al., 2014**).

1.3 Les essais toxicologiques

Les essais toxicologiques en milieu aquatique servent à déterminer et à surveiller les effets toxiques de substances ou de matières susceptibles d'être nocives pour la vie aquatique. Il est possible de se baser sur les résultats de ces essais à diverses fins, notamment pour établir la nécessité de réglementer les rejets et d'entreprendre des recherches, de même que pour fixer des normes relatives à la qualité des effluents. La plante *Lemna minor* a été désignée comme un modèle macrophyte pour les essais toxicologiques (**Environnement Canada, 1999**).

1.4 La plante aquatique *Lemna minor*

Lemna minor, appelée couramment lentille d'eau, est une macrophyte aquatique vasculaire de petite taille qui appartient à la famille des lemnacées. *L. minor* est présente dans les eaux douces relativement dormantes (étangs, lacs, eaux stagnantes et cours d'eau calmes) et les estuaires des zones tropicales à tempérées. C'est une espèce cosmopolite dont la répartition est presque mondiale (**Environnement Canada, 1999**). En Amérique du Nord, *L. minor* est l'une des lenticules les plus communes et les plus répandues. Ses thalles croissent séparément ou en

petites grappes, sont plats et presque ovales, atteignant de 2 à 4 mm de longueur. Ils sont verts et possèdent une radicelle unique qui prend naissance au centre de la face inférieure de la feuille (**Environnement Canada, 1999**).

Elle a été utilisée auparavant comme un modèle d'évaluation du stress des métaux lourds (**Drost et al., 2007**) en raison de sa fonction écologique importante, de son temps de reproduction et de son utilisation facilitée en laboratoire (**Environnement Canada, 1999**). Les plantes sont également faciles à cultiver et à manipuler grâce à leurs fines racines et ses frondes flottantes. Selon la littérature, il n'y a eu aucune étude qui traite de l'effet de l'interaction entre l'oxyde de graphène et le cadmium sur la plante quantique *L. minor*. Par conséquent *L. minor* a été choisie comme modèle pour explorer le mécanisme de la toxicité combinée de l'OG et du cadmium dans ce présent projet de recherche.

Chapitre II

Partie I Techniques de caractérisation de l'oxyde de graphène

2.1.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)

La Microscopie à Force Atomique AFM (Atomic Force Microscopy) a été introduite en 1986 par **(Binnig et al., 1987)** comme une application du concept de microscope à effet tunnel STM (Scanning Tunneling Microscope) qui permet l'étude de surfaces de matériaux isolants à l'échelle atomique. Ils lui ont attribué une définition comme étant une combinaison des principes du microscope à effet tunnel et du profilomètre à stylet qui permet d'observer les atomes à la surface d'échantillons cristallins sous vide ou dans l'air.

L'AFM ne contient pas un système de lentille optique ou électromagnétique, son principe consiste à positionner une sonde à une distance de la surface à étudier de l'ordre du nanomètre en déterminant localement, point par point, la valeur d'une grandeur physique (transfert d'électrons, flux de photons ou d'ions, topographie ou température) **(Giocondi et al., 2003)**. Elle est basée sur la mesure des forces entre un fin stylet et la surface étudiée, un capteur de force est un ressort-lame (stylet) encastré à une extrémité et muni d'une pointe à l'autre extrémité « cantilever », les forces d'interaction modifient la déflexion ou la torsion statique ou oscillante du stylet **(Rivoal et Fréty, 2005)**, Fig 2.1. La mesure des déformations du « cantilever » dans les microscopes de force actuels s'effectue, le plus souvent, grâce à la déviation d'un faisceau lumineux « diode laser » réfléchi par l'extrémité du stylet, méthode proposée en 1988 par **(Amer et Meyer, 1988)**.

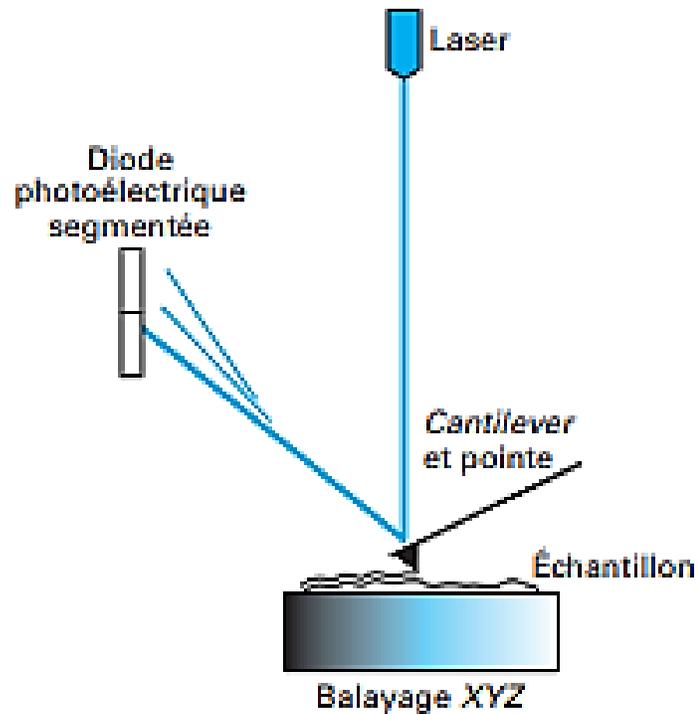


Fig 2.1 : Principe de microscopie à force atomique (Rivoal et Frétigny, 2005).

2.1.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB) ou (Scanning Electron Microscopy SEM) est une technique adéquate qui nous renseigne sur la topographie des surfaces, elle est basée fondamentalement sur la détection des électrons secondaires émergents de la surface sous l'impact d'un très fin pinceau d'électrons primaires qui balaye la surface observée et permet d'acquérir des images avec un pouvoir séparateur souvent inférieur à 5 nm et une grande profondeur de champ (paqueton et ruste, 2006), Fig 2.2. Le bombardement de l'échantillon se fait par des électrons primaires issus du canon à électron pour générer des électrons secondaires d'une faible énergie, toutefois, ces interactions tel qu'émergence des électrons rétrodiffusés, absorption des électrons primaires, ainsi que l'émission de photons X (paqueton et ruste, 2006).

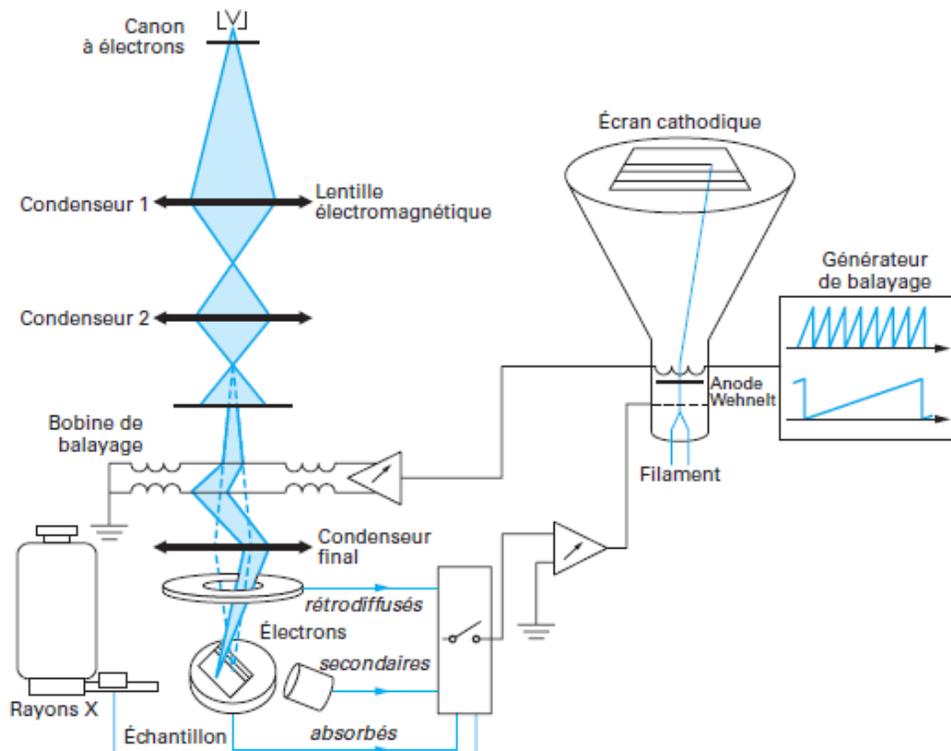


Fig 2.2 : Schéma d'un microscope électronique à balayage (paqueton et ruste, 2006).

2.1.3 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie FTIR est une technique basée sur la détermination de l'interaction entre un rayonnement IR et un échantillon qui peut être solide, liquide ou gazeux. La bande de rayonnement dans la région infrarouge, qui est généralement de $200-4000\text{ cm}^{-1}$, mesure les fréquences auxquelles l'échantillon absorbe, ainsi que les intensités de ces absorptions. Les fréquences sont utiles pour l'identification de la composition chimique de l'échantillon, car les groupes fonctionnels chimiques sont responsables de l'absorption du rayonnement à différentes fréquences (Lin-Vien et al., 1991; Simonescu, 2012), Fig 2.3. De plus, la concentration du composant peut être déterminée en fonction de l'intensité de l'absorption, la FTIR est connue par sa rapidité dans l'analyse ainsi qu'une très haute sensibilité (Manohar, 2008).

L'échantillon est soumis à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueur d'onde du centre infrarouge ($2,5\ \mu\text{m} < \lambda < 50\ \mu\text{m}$). Le champ électrique induit par l'onde électromagnétique peut interagir avec un moment dipolaire d'une entité moléculaire présente dans le matériau (Lin-Vien et al., 1991). Lorsque la fréquence du champ coïncide avec la

fréquence de vibration d'un mode propre de la molécule, l'interaction créée engendre la vibration de certaines liaisons et l'absorption de l'énergie de l'onde excitatrice correspondante. La fréquence à laquelle est absorbé le rayonnement dépend de la nature des liaisons, de la masse des atomes concernés et de l'environnement proche du groupement considéré (Borella, 2006).

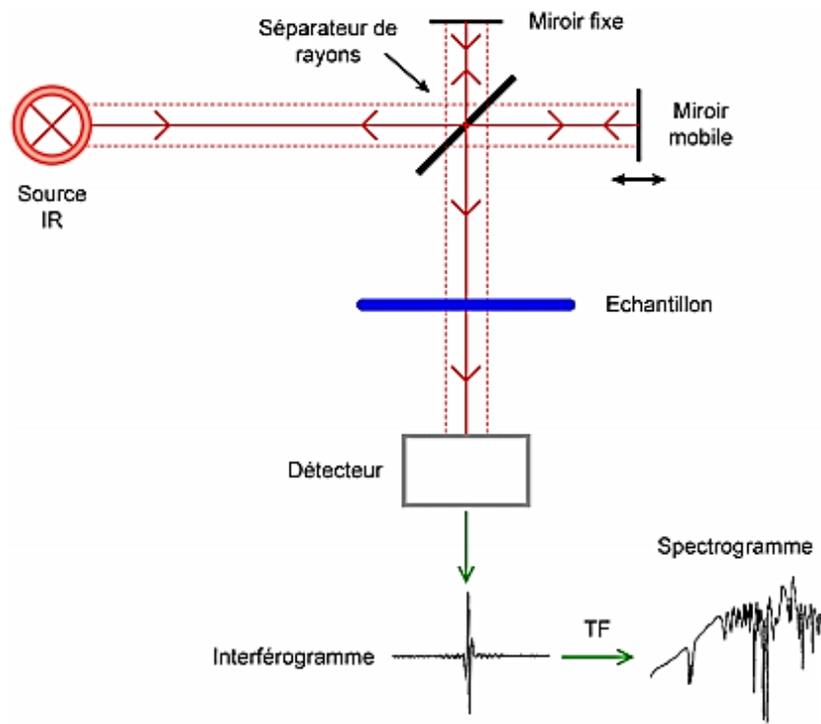


Fig 2.3 : Schéma illustratif du fonctionnement d'un FTIR (Borella, 2006).

2.1.4 Spectroscopie Raman

Cette technique est non destructive, elle permet l'observation et la caractérisation de la composition moléculaire de l'échantillon (**Vandenabeele et al., 2007**). Elle est basée principalement sur l'analyse de la diffusion inélastique de la lumière par un matériau (**Meunier, 2011**). Elle permet l'identification et la mesure de l'aspect vibrationnelle des matériaux, qu'ils soient cristallins ou moléculaires, et elle permet plusieurs caractéristiques du matériau à l'étude telles que la température, le dopage et le stress (**Anglaret et al., 2006; Geng et Feng, 2010**).

L'origine de la spectroscopie Raman est un effet de diffusion inélastique. Dans ce cas, la source de rayonnement d'excitation est monochromatique et est beaucoup plus énergétique que le rayonnement infrarouge. Une diffusion élastique et inélastique du rayonnement par l'échantillon est observée dans une expérience Raman. En diffusion élastique (diffusion Rayleigh), la molécule est excitée à un état virtuel, puis se détend à l'état vibratoire d'origine en réémettant un photon à la même fréquence que la lumière incidente, la molécule n'absorbe aucune énergie du rayonnement incident dans ce cas (**Lin-Vien et al., 1991**), Fig 2.4.

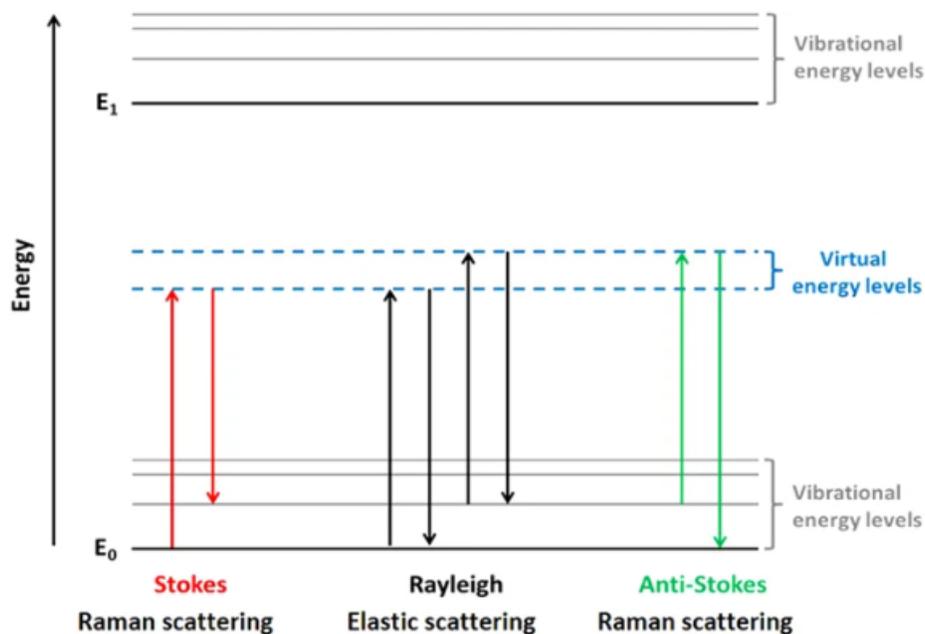


Fig 2.4 : Diagramme de style "Jablonski" des transitions énergétiques impliquées dans la diffusion Raman et la diffusion de Rayleigh (**Ember et al., 2017**).

2.1.5 Analyse thermogravimétrique (TGA)

Les analyses thermogravimétriques (TGA) sont des techniques d'analyse destructives basées sur la caractérisation d'un composé en mesurant la variation en masse en fonction de l'augmentation de la température. Les mesures d'analyse thermique sont effectuées dans le but d'évaluer les changements physiques et chimiques qui peuvent survenir suite aux réactions induites thermiquement dans l'échantillon (**Coats et Redfern, 1963**).

Partie 2 : Les techniques d'analyses pour l'évaluation du potentiel de toxicité du CdCl₂ et de l'interaction du système CdCl₂/OG sur la plante aquatique *Lemna minor*

2.2.1 Spectrophotomètre UV-VIS

La spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible est une méthode très utilisée dans les laboratoires. Elle nous renseigne sur les groupes fonctionnels et les liaisons présents dans l'échantillon. L'UV s'étend de 200 à 400 nm et le spectre visible de 400 à 800 nm (Yahiatene, 2016), Fig 2.5. La spectrophotométrie UV-VIS est une méthode de caractérisation basée sur la mesure de la densité optique d'un milieu à une longueur d'onde donnée, un spectre d'absorption est obtenu lorsque les variations de la densité optique sont représentées en fonction des longueurs d'onde (Haddou, 2010).

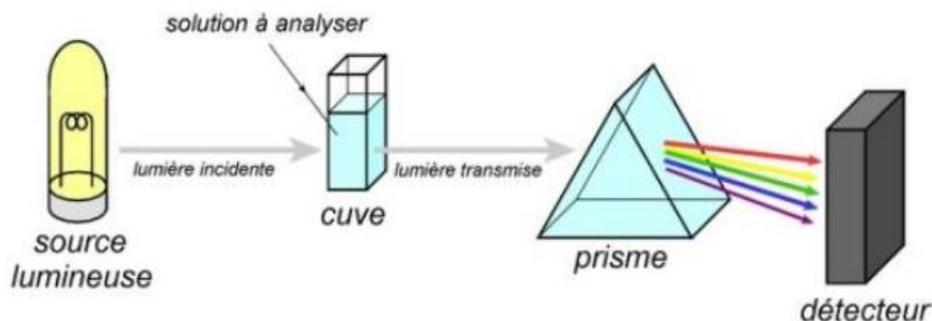


Fig 2.5 : Principe de la spectrophotométrie UV-visible (Yahiatene, 2016).

2.2.2 Lecteur de Microplaques à fluorescence

Un appareil qui peut faire la lecture des dosages en fluorescence, en luminescence ou en absorbance sur des microplaques. Toutes les données de fluorescence sont recueillies à l'aide d'un lecteur de microplaque à fluorescence (Oukarroum *et al.*, 2013).

2.2.3 Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-OES)

La spectroscopie à plasma à couplage inductif (ICP-OES) est une technique analytique instrumentale qui permet la quantification des traces élémentaires jusqu'à 10 mg/L pour certains éléments sélectionnés (Hill et al., 2007) dans des solutions liquides. La préparation de la dissolution de l'échantillon se fait dans un acide, par la suite l'ionisation de l'échantillon se fait en l'injectant dans le plasma sous forme d'un fin aérosol, généré par un dispositif pneumatique (nébuliseur) (Caruso et al., 2017), Fig 2.6.

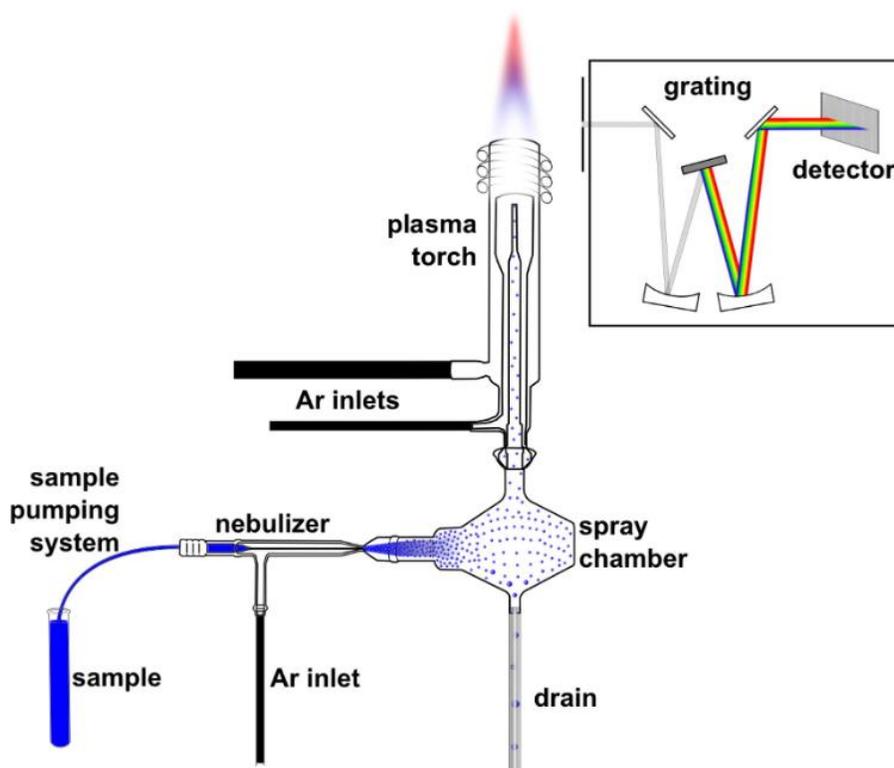


Fig 2.6 : Un diagramme schématique d'un instrument ICP-OES typique avec le système de détection en mode radial (Caruso et al., 2017)

Chapitre III : Matériel et méthodes

3.1 Caractérisation de l'oxyde de graphène

La poudre d'OG a été synthétisée par l'un des laboratoires au sein de l'Université du Québec à Montréal (FEN laboratoire de professeur Mohamed Siaj). Une solution mère de 100 mg/L a été préparée et agitée pendant 24 h, puis traitée aux ultrasons pendant 15 minutes avant chaque utilisation afin de disperser les nanofeuilles de l'oxyde de graphène.

Par la suite, des gouttes de suspension aqueuses de OG diluée avec de l'éthanol à 95 % ont été déposées sur un substrat de mica pour effectuer une caractérisation de morphologie par un microscope à force atomique (Modèle Bruker, MultiMode8).

La poudre d'OG a été utilisée afin de caractériser l'aspect topographique par le microscope électronique à balayage (MEB) « EOLJSM7600F ». La spectroscopie Raman (Renishaw, inVia Reflex) a été utilisée pour l'identification des pics de l'OG, et la spectroscopie infrarouge (Thermo Scientific, Nicolet 6700 / Smart iTR) a été utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels qui se trouve à la surface de l'oxyde de graphène, et le TGA (TA Instruments, TGA Q500/Discovery MS) a été utilisé pour déterminer à quelle température on a une perte de masse importante de l'OG.

3.2 Culture de *Lemna minor*

La plante *L. minor* a été obtenue de la part d'Environnement Canada Centre Saint-Laurent. La solution nutritive utilisée pour la croissance était un milieu modifié de la norme suédoise (SIS) préparé selon les directives (OECD, 2006) contenant les nutriments suivants figurés sur le tableau suivant :

Tableau 3.1 : Les solutions mères du milieu modifié de la norme suédoise (SIS) préparé selon les directives de l'OCDE (OECD, 2006).

Solution mère n°	Substance	Concentration dans la solution mère (g/L)	Volume de chaque solution mère pour 1 L de milieu SIS (mL)
I	NaNO ₃	8,50	10
	KH ₂ PO ₄	1,34	
II	MgSO ₄ .7H ₂ O	15	5
III	CaCl ₂ .2H ₂ O	7,2	5
IV	Na ₂ CO ₃	4	5
V	H ₃ BO ₃	1	1
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,20	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,010	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,050	
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0050	
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,010	
VI	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,17	5
	Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	0,28	
VII	MOPS (tampon)	490	1

- Les solutions mères I - V ont été stérilisées par filtration sur une membrane (avec des pores d'environ 0,2 µm);
- Toutes les solutions mères stériles ont été entreposées au frais et à l'obscurité ;
- Les solutions mères I -V ont été éliminées après six mois, tandis que la solution mère VI et la solution mère VII, sont périmées après 1 mois (OECD, 2006).

Le pH des solutions est ajusté à $6,5 \pm 0,2$ avec du HCl ou du NaOH 0,1 ou 1 M.

Différentes concentrations ont été appliquées, qui sont présentées dans le tableau 3.2, pour évaluer la toxicité de la substance du CdCl₂ seul, et en interaction avec l'oxyde de graphène, pour mesurer les effets chez la plante *L. minor*.

Tableau 3.2 : Les différents traitements étudiés en CdCl₂ et/ou OG sur six répliques

Récepteur	[CdCl ₂] mg/L	[OG] mg/L
Témoin	0	0
1	0	1
2	0	5
3	0,05	0
4	0,05	1
5	0,05	5
6	0,5	0
7	0,5	1
8	0,5	5
9	1	0
10	1	1
11	1	5

Pour les tests de toxicité, des plantes à croissance rapide avec quatre frondes et sans lésions visibles ni chlorose. Des gobelets en plastique de 200 mL ont été utilisés pour la croissance des lentilles d'eau. Chaque gobelet contenait 150 mL et 10 plantes de lentilles d'eau (40 frondes). Les gobelets ont été placés dans un incubateur (24 ± 2 °C) avec une photopériode de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité pendant sept jours. Fig 3.1

**Fig 3.1** : Plante *L. minor* en bonne santé.

L'évaluation du cadmium seul et en interaction avec l'oxyde de graphène a été étudiée via les paramètres tel que : le taux de croissance spécifique moyen, la teneur en chlorophylle ($\mu\text{g}/\text{mg}$ poids frais), la production d'espèces réactives en oxygène (ROS), et la capacité d'adsorption maximal (mg/g).

3.3- Exposition à l'oxyde de graphène et CdCl_2

En bref, 12 gobelets en plastique de 200 mL ont été utilisés pour la croissance des lentilles d'eau. Chaque récipient contenait 150 mL de milieu de culture et 10 plantes. Les gobelets ont été mis dans un incubateur (à $24 \pm 2^\circ \text{C}$) avec une photopériode de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité pendant sept jours (Fig 3.2). Les concentrations auxquelles les plantes ont été exposées pendant sept jours sont les suivants :

CdCl_2 (mg/L) + OG (mg/L) respectivement spécifié au tableau 3.2



Fig 3.2 : Exposition de la plante *L. minor* aux différents traitements du CdCl_2 et/ou d'oxyde de graphène pendant sept jours.

Après sept jours d'exposition, le nombre des frondes a été enregistré, puis l'humidité des plantes de chaque traitement a été adsorbée avec du papier pour déterminer le poids frais.

Le taux de croissance spécifique moyen durant une période donnée a été calculé en fonction de l'accroissement logarithmique des variables de la croissance tel que le nombre de frondes et le poids frais au moyen de la formule ci-dessous pour chaque expérience identique des groupes traités et témoins :

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t}$$

Où :

μ_{i-j} est le taux de croissance spécifique moyen du temps i au temps j;

N_i est la variable mesurée dans le récipient témoin ou traité au temps i.

N_j est la variable mesurée dans le récipient témoin ou traité au temps j

La variable mesurée est le nombre de fronde et le poids frais.

Le pourcentage d'inhibition du taux de croissance (I_t) peut ensuite être calculé selon la formule suivante :

$$\% I_t = \frac{(\mu_C - \mu_T)}{\mu_C} \times 100$$

Où :

$\% I_t$ est le pourcentage d'inhibition du taux de croissance spécifique moyen;

μ_C est la valeur moyenne de μ dans le groupe témoin;

μ_T est la valeur moyenne de μ dans le groupe traité.

3.4 Teneur en chlorophylle (Chl a et Chl b)

Après sept jours d'exposition, les teneurs en chl *a* et chl *b*, et la teneur totale en chl des plantes ont été analysées selon Lichtenthaler (**Lichtenthaler, 1987**). Les plantes ont été triturées et extraites avec 8 mL d'éthanol à 96% dans l'obscurité à température ambiante. Après 24 h, les extraits de pigments ont été centrifugés à $4600 \times g$ pendant 10 minutes. Par la suite, l'absorbance a été mesurée à 665 et 648 nm en utilisant un spectrophotomètre (Fig 3.3)

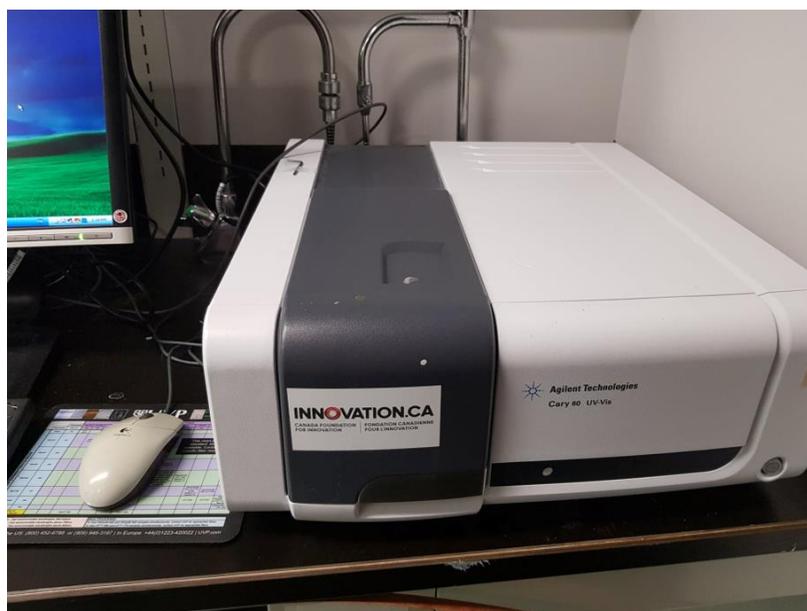


Fig 3.3 : Spectrophotomètre (Agilent technologies Cary 60 UV-Vis).

Les équations utilisées pour calculer la teneur en chlorophylle sont les suivantes selon (**Lichtenthaler, 1987**) :

Chl *a* (chlorophylle *a*) : $13,36A_{665} - 5,19A_{648}$

Chl *b* (chlorophylle *b*) : $27,43A_{648} - 8,12A_{665}$

Chl *a+b* (chlorophylle total) : $5,24A_{665} + 22,24A_{648}$

3.5- Espèces réactives de l'oxygène

La plante *L. minor* a été incubée pendant sept jours dans le milieu de culture avec différents niveaux de OG ou le système OG/Cd²⁺. La production totale de ROS a été déterminée comme étant décrite dans (Oukarroum et al., 2013) à l'aide d'un indicateur préalable de diacétate 2',7'-dichlorodihydrofluorescéine (H₂DCFDA) (Gerber et Dubery, 2004). Les estérases cellulaires hydrolysent la sonde en composé non fluorescent déacétylé 2',7'-dichlorodihydro-fluorescéine (H₂DCF), qui est mieux retenu dans les cellules. En présence de ROS et de peroxydases cellulaires, le H₂DCF est transformé en un composé hautement fluorescent, le 2',7'-dichloro-fluorescéine (DCF) (Haugland, 2005). Les plantes ont été traitées avec 5 µM de H₂DCFDA dans 8 mL de milieu de solution pendant 30 min à 25 °C. L'émission de fluorescence à 530 nm a été mesurée en utilisant la longueur d'onde d'excitation à 485 nm. Les données de fluorescence ont été normalisées en fonction du poids frais. Toutes les données de fluorescence ont été recueillies à l'aide d'un lecteur de plaque à fluorescence (Fig 3.4).

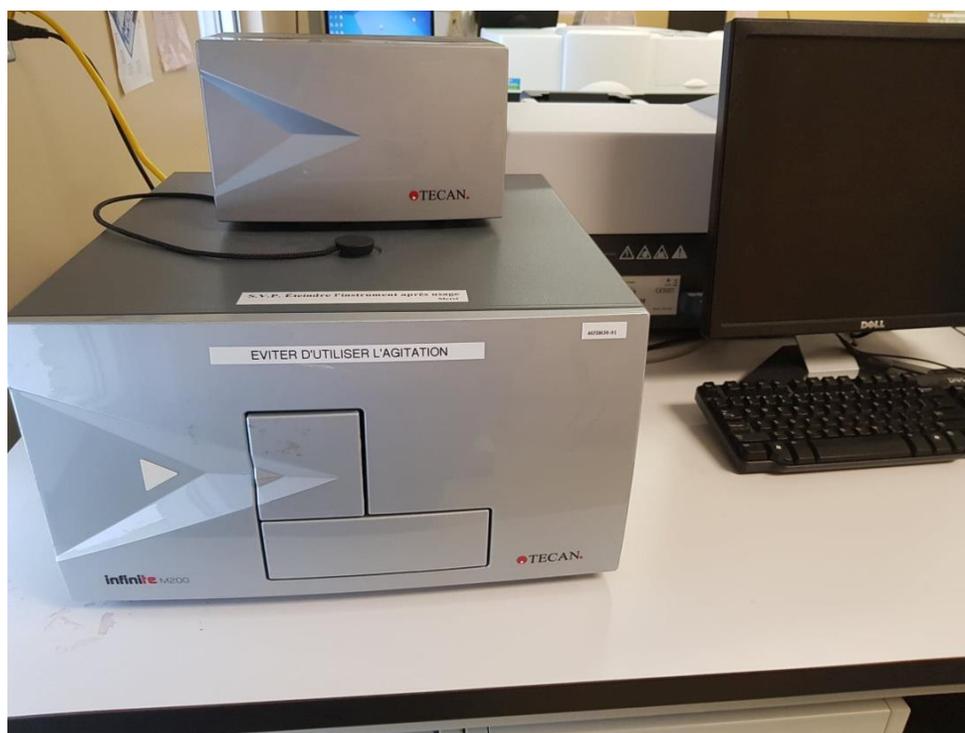


Fig 3.4 : Lecteur de plaques fluorescence (TECAN).

3.6- Adsorption du CdCl₂ sur la surface de l'oxyde de graphène

Le comportement d'adsorption de CdCl₂ sur OG a été étudié comme mentionné dans **(Tang et al., 2015)**. Du CdCl₂ a été dissous dans de l'eau pour préparer une solution mère de CdCl₂. La solution a été diluée avec le milieu de culture à différentes concentrations (mg/L) : 0,05, 0,5 et 1 mg/L. Le pH de chaque solution a été ajusté à 6.5 avec HCl 0,01 mM ou NaOH. De l'OG a été ajouté à chaque récipient à une concentration de 1 et 5 mg/L. Les suspensions mixtes ont ensuite été agitées pendant 1 h pour atteindre l'équilibre d'adsorption. Après centrifugation à 4600 tr / min pendant dix minutes, le surnageant a été récupéré et la concentration de CdCl₂ restante a été déterminée par spectroscopie d'émission atomique avec plasma à couplage inductif (ICP-OES Agilent Technologies, 5100). Par la suite les données ont été ajustées avec le modèle de Langmuir **(Tan et al., 2008)** selon sa version comme mentionné dans **(Louragini, 2016)** :

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{b \times q_m} \times \frac{1}{C_e} \quad (1)$$

où q est la quantité de Cd²⁺ adsorbée par l'OG (mg/g), C_e est la concentration d'équilibre de Cd²⁺ dans une solution (mg/L), b est la constante de Langmuir (L/mg), et q_m est la capacité théorique de saturation de la monocouche (mg/g).

3.7- Comportement de l'oxyde de graphène dans le milieu de culture

Après avoir préparé une solution mère de 100 mg/L de l'OG, cette solution a été diluée à des concentrations de 1 et 5 mg/L dans le milieu de culture dans des contenants de 200 mL portant un volume total de 150 mL de solution. Ces contenants ont été exposés dans un incubateur (à 24 ± 2 °C) avec une photopériode de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité pendant sept jours. Après sept jours, les solutions ont été récupérées et lyophilisées pour obtenir une poudre, et par la suite, cette poudre a été caractérisée par AFM et MEB pour évaluer le comportement de l'OG à ses deux concentrations dans le milieu de culture.

Chapitre IV : Résultats et discussion

4.1 Analyses statistiques

Les résultats sont présentés en des termes de moyennes arithmétiques et de leurs écarts-types correspondants ($n = 6$ dans toutes les analyses). Les différences entre les traitements ont été testées pour leur niveau significatif en utilisant une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) avec le logiciel Origin 8.5 (OriginLab). En utilisant les tests de comparaisons multiples de Tukey, $p < 0,05$ a été considéré comme très significatif.

4.2 Caractérisation de l'oxyde de graphène

Une dispersion de solution mère d'OG visiblement homogène a été diluée avec l'éthanol 96 % sur un substrat mica. L'image AFM (fig. 4.1) montre que l'oxyde de graphène est sous forme de nanofeuilles avec une dimension latérale de $2 \mu\text{m}$. L'observation par MEB (fig. 4.2) illustre que les nanofeuilles d'OG sont larges et intactes et enchevêtrées les unes sur les autres pour deux différents agrandissements.

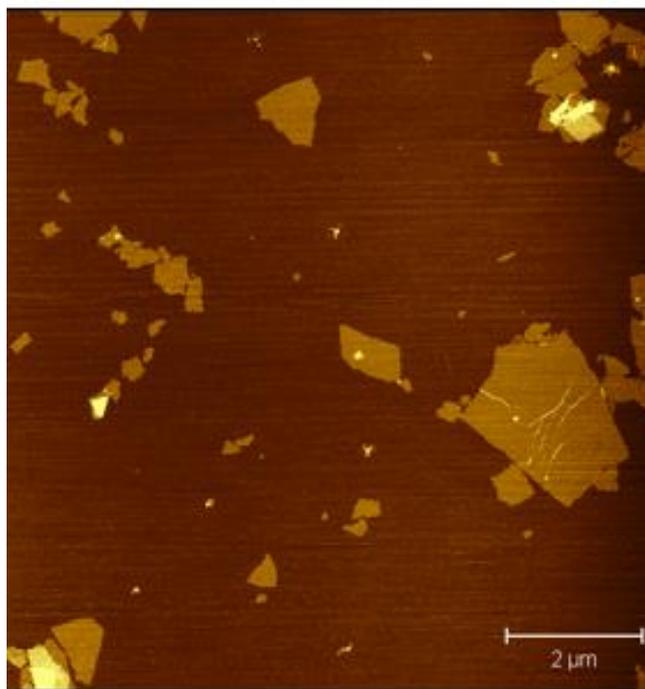


Fig 4.1 : Caractérisation d'une solution de l'oxyde de graphène par AFM.

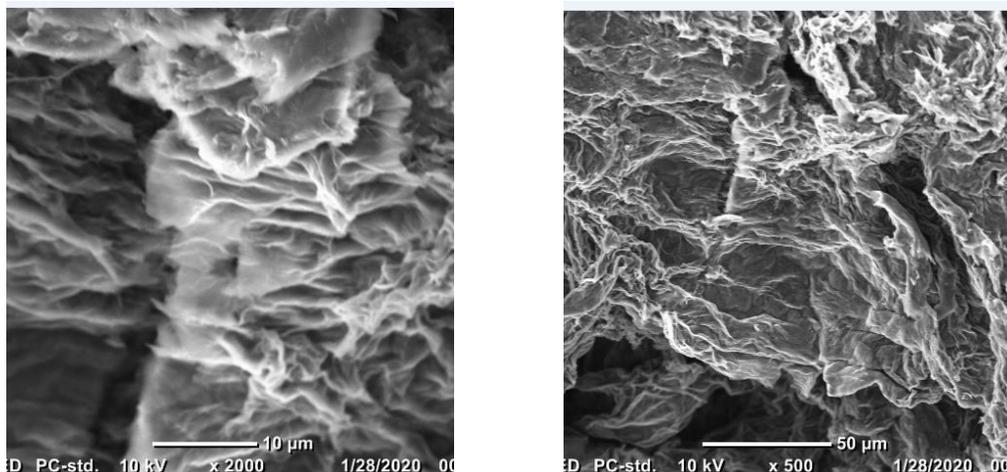


Fig 4.2 : Caractérisation d'une poudre de l'oxyde de graphène par MEB à deux différents agrandissements.

La Figure 4.3 montre le spectre Raman d'un échantillon solide d'OG. L'OG a des signaux Raman intenses associés aux pics D et G à 1350 cm^{-1} et 1592 cm^{-1} , respectivement, qui sont caractéristiques de l'OG (Dreyer et al., 2010 ; Ferrari et Basko, 2013; Marcano et al., 2010). Le signal G provient du mode de vibration associé aux étirements des liens C=C sp² dans le plan pour les cycles aromatiques et aliphatiques, tandis que le signal D est causé par le mode de vibration radial des cycles aromatiques (Zhao et al., 2015).

Le spectre de spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (FT-IR) (Fig. 4.4) montre les bandes d'élongation caractéristiques de l'OG (Dreyer et al., 2010 ; Marcano et al., 2010), et l'OG possède des bandes d'élongation intenses associées aux vibrations d'allongement des fonctions hydroxyles à 3450 cm^{-1} 1J(C-OH), cétones à 1735 cm^{-1} 1J(C=O), alcènes à 1615 cm^{-1} 1J(C=C) et époxydes à 1230 cm^{-1} 1J(C-O-C, C-O). L'OG est fortement hygroscopique et la large bande d'élongation 1J(H-OH) ($3700\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$) associée à l'eau piégée dans la structure de l'OG est superposée à la bande d'élongation hydroxyle sur le spectre FTIR.

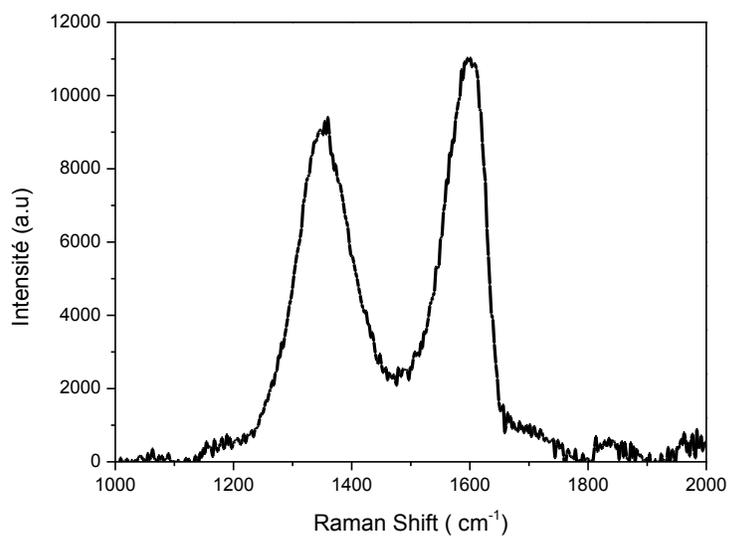


Fig 4.3 : Spectre Raman d'une poudre d'oxyde de graphène.

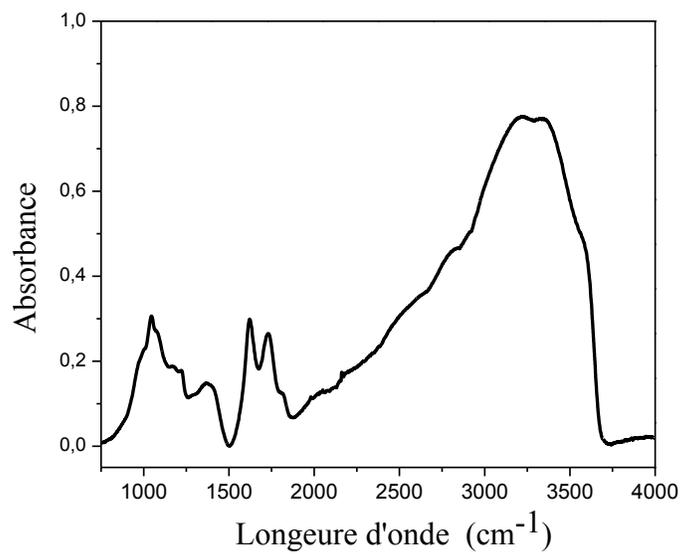


Fig. 4.4 : Spectre FTIR de l'oxyde de graphène.

La figure 4.5 montre les résultats obtenus par les analyses thermogravimétriques, et la principale perte de masse ($\sim 20\%$) se produit aux alentours de $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, ce qui est attribuée à la décomposition des groupes fonctionnels labiles de l'oxygène (**Paredes et al., 2008**). Bien que l'OG soit thermiquement instable même en dessous de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, on observe une perte de masse à des températures inférieures à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\sim 15\%$) qui peut être attribuée à l'élimination de l'eau adsorbée, tandis que la perte régulière observée pour des températures supérieures à $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ce qui équivaut à $\sim 5\%$) est attribuée à la libération des fonctionnalités de l'oxygène plus stables (**Paredes et al., 2008**).

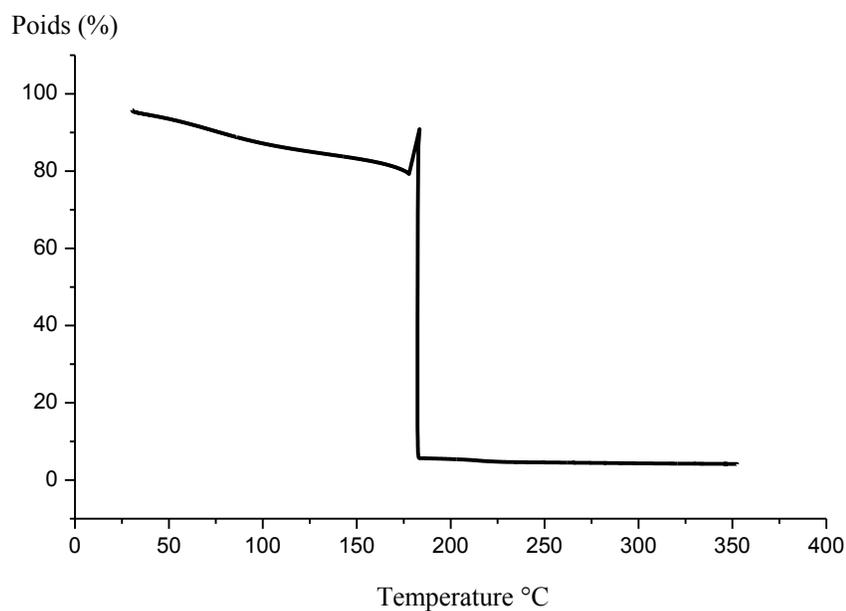


Fig. 4.5 : Analyses thermogravimétriques de l'oxyde de graphène.

4.3 La caractérisation de l'oxyde de graphène dans le milieu de culture

La poudre de l'oxyde de graphène a été fournie par le laboratoire du prof. Mohamed Siaj (FEN – Functional & Electroactive Nanomaterials Lab) et du produit au sein du département de chimie à l'Université du Québec à Montréal. Les particules d'OG ont été dispersées dans de l'eau déionisée (DI) pour préparer la solution mère. Cette dernière a été traitée aux ultrasons pendant 30 min avant d'être diluée à différentes concentrations d'exposition qui sont 1 et 5 mg/L dans le milieu de culture. Après une période d'incubation de sept jours, la solution a été récupérée, lyophilisée et caractérisée par AFM et MEB, à 1 mg/L (Fig. 4.6), beaucoup moins d'agglomération ont été observées par rapport à 5 mg/L (Fig 4.7), ce qui peut limiter la fixation des Cd^{+2} sur les groupements fonctionnels de l'oxyde de graphène, par conséquent affectant sa capacité d'adsorption.

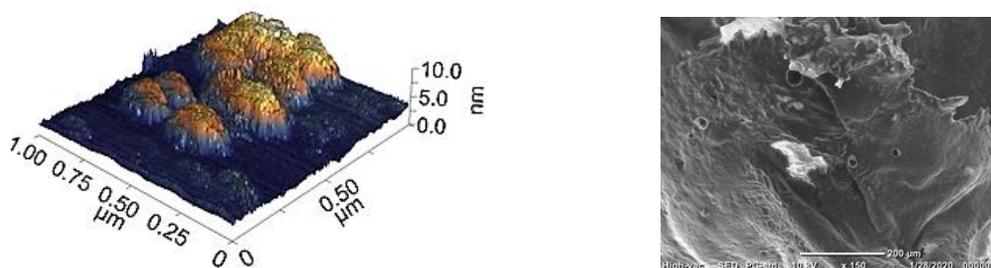


Fig. 4.6 : Caractérisation de l'oxyde de graphène tout seul dans le milieu de croissance SIS à 1 mg/L.

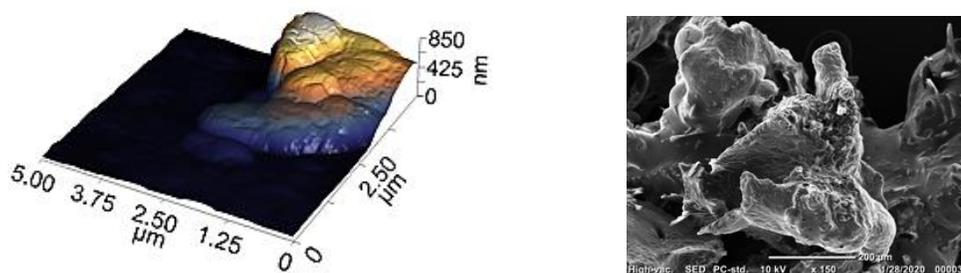


Fig. 4.7 : Caractérisation de l'oxyde de graphène tout seul dans le milieu de croissance SIS à 5 mg/L.

4.4 Effets de l'oxyde de graphène et du CdCl₂ sur la croissance de *L. minor*

Pour la plante témoin, le nombre de frondes a augmenté pendant la période d'incubation de sept jours en passant de 40 à 120 frondes (Fig. 4.8). Lorsque la plante *L. minor* a été exposée à l'OG seul à une concentration de 5 mg/L ou aux différentes concentrations de CdCl₂ (0,05, 0,5 et 1 mg/L), on observe une inhibition de la croissance très significative ($p < 0,05$) par rapport au témoin.

De plus, le pourcentage d'inhibition basée sur le nombre de frondes (Fig. 4.9) n'était pas significatif ($p < 0,05$) sous le traitement de l'OG à 1 et 5 mg/L. Lorsque *L. minor* a été exposée à 0,05, 0,5 et 1 mg/L de CdCl₂, la valeur du pourcentage d'inhibition était significativement plus élevée ($p < 0,05$) que pour le témoin, suggérant que le CdCl₂ a un impact négatif sur la croissance des plantes. La même tendance a été obtenue avec les résultats d'inhibition de la croissance de la biomasse totale des plantes (fig. 4.10 et fig 4.11). Par contre, une comparaison des résultats des tests de croissance basés sur le nombre de frondes et le poids frais montre que l'analyse du changement du poids frais (biomasse) a été plus précise que l'analyse du nombre de frondes. En fait, l'inhibition de la croissance de la biomasse totale des plantes (basée sur le poids frais) a été plus sensible envers les effets toxiques du CdCl₂.

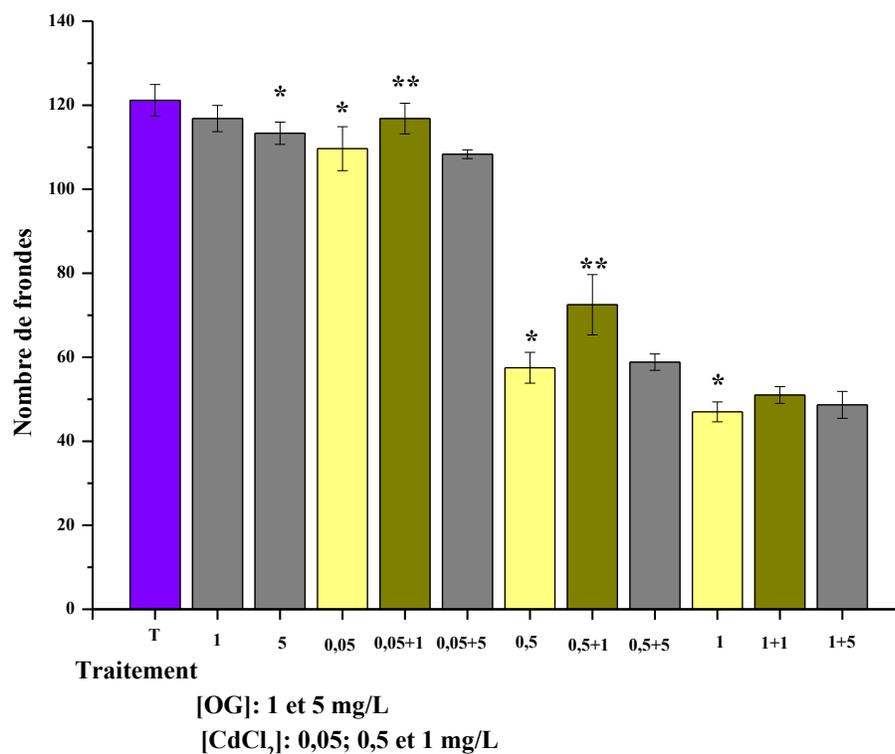
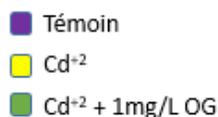


Fig 4.8 : Effets de l'OG et du CdCl₂ sur le nombre de frondes de *L. minor* après une exposition de sept jours à diverses concentrations CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. Les valeurs représentent une moyenne pour six réplicas. * la valeur est significativement différente pour ($p < 0,05$) par rapport au témoin. ** la valeur qui définit le traitement de CdCl₂ avec 1 mg/L d'OG est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport à 0,05 et 0,5 mg/L de CdCl₂ (sans OG).

Nota bene: Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau 2). Les résultats de la différence significative sont présentés dans l'annexe A.1

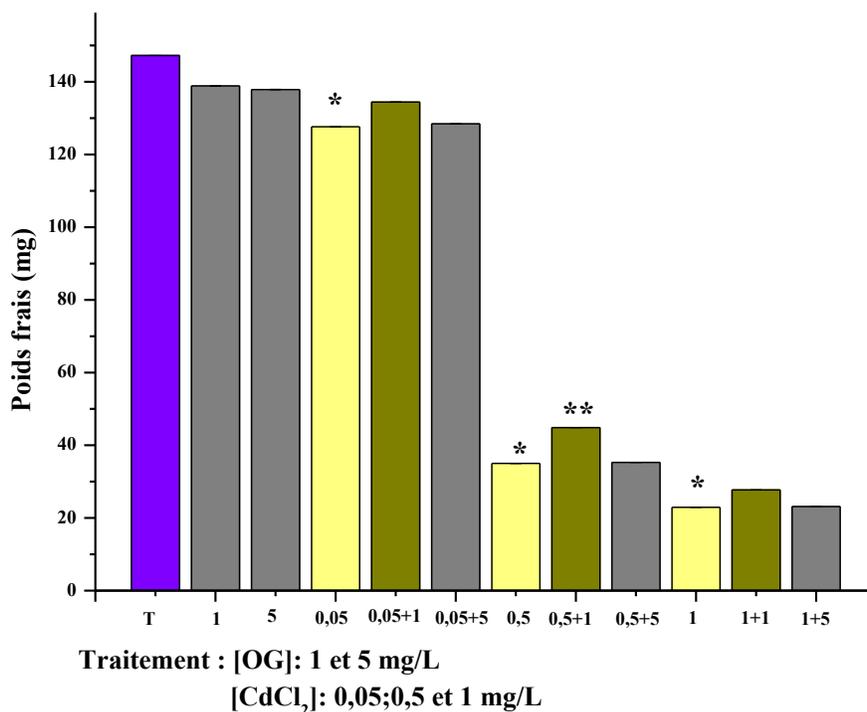
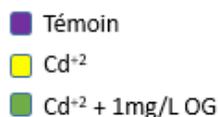


Fig 4.9 : Effets de l'OG et du CdCl₂ sur le poids frais de *L. minor* après une exposition de sept jours à diverses concentrations CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. * la valeur est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport au témoin. ** la valeur qui définit le traitement CdCl₂ avec 1 mg/L d'OG est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport à 0,05 et 0,5 mg/L de CdCl₂ (sans OG)

. **Nota bene**: Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau 2). Les résultats de la différence significative sont présentés dans l'annexe A.2

■ Cd⁺²
■ Cd⁺²+ 1mg/L OG

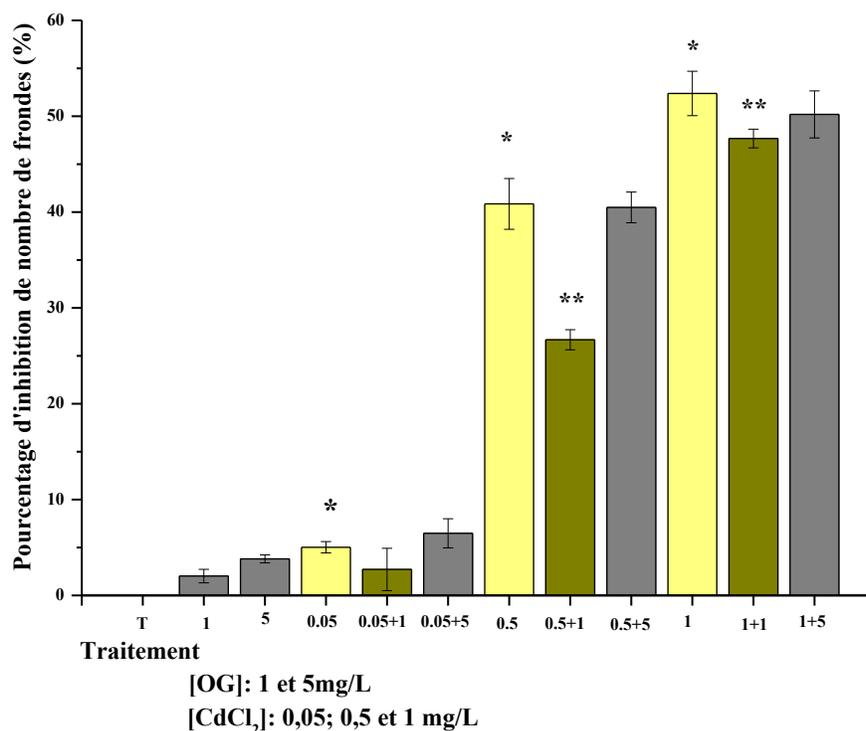


Fig 4.10 : Pourcentage d'inhibition du nombre de frondes après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. * la valeur est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport au témoin. ** la valeur qui définit le traitement CdCl₂ avec 1 mg/L d'OG est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport à 0,05 et 0,5 mg/L de CdCl₂ (sans OG).

Nota bene : Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau 2). Les résultats de la différence significative sont présentés dans l'annexe A.3

■ Cd⁺²
■ Cd⁺²+ 1mg/L OG

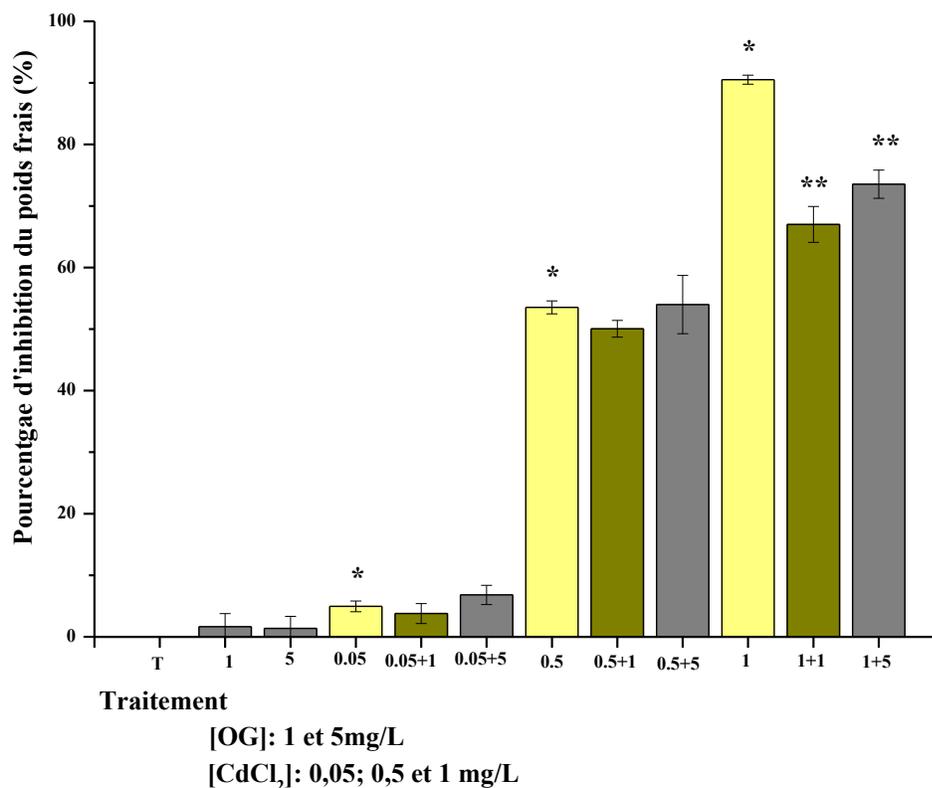


Fig 4.11 : Pourcentage d'inhibition du poids frais après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. * la valeur est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport au témoin. ** la valeur qui définit le traitement CdCl₂ avec 1 mg/L et 5 mg/L d'OG est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport à 1 mg/L de CdCl₂ (sans OG).

Nota bene: Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau 2).

D'après les résultats des tests de croissance basés sur la biomasse, il a été déterminé que la valeur de la concentration efficace médiane (CE₅₀) du Cdcl₂ sur la croissance de la plante *L. minor* est environ de 0,5 mg/L.

Pour examiner l'effet de l'OG sur la toxicité du CdCl₂, deux concentrations de traitement (1 et 5 mg/L) d'OG ont été testées pour chacun des traitements de CdCl₂. Sous les traitements de 0,05 et 0,5 mg/L de CdCl₂, l'addition d'OG n'a pas causé de changement significatif sur la croissance de la biomasse. Cependant, pour ce qui concerne le traitement à 1 mg/L de CdCl₂, le pourcentage d'inhibition de croissance de la biomasse a diminué d'une façon très significative ($p < 0,05$) lors de l'ajout d'OG à 1 et 5 mg/L, ce qui suggère qu'une faible concentration d'OG de 1 mg/L protège les *L. minor* contre les risques causés par le stress du CdCl₂.

Comme le graphe le montre, le symbole ** signifie que la valeur était significativement différente ($p < 0,05$) par rapport aux échantillons traités avec CdCl₂ seul. Sur la base de ces résultats, une concentration de 1 et 5 mg/L d'OG a eu un effet protecteur chez la plante *L. minor* (ou un mécanisme antagoniste) contre la toxicité causée par le CdCl₂.

4.5 La teneur en chlorophylle

La figure 4.12 montre la teneur totale en chlorophylle ($\mu\text{g} / \text{mg}$ poids frais) chez les plantes après une exposition de sept jours. Sur la base de ce paramètre, l'OG seul n'a eu aucun effet sur les plantes de *Lemna*. De même, le CdCl₂ à une concentration de 0,05 mg/L n'a eu aucun impact sur la teneur en chlorophylle. Lorsque la concentration en CdCl₂ a atteint des concentrations de 0,5 et 1 mg/L, la teneur en chlorophylle totale a diminué d'une manière très significative ($p < 0,05$), ce qui suggère une inhibition de la biosynthèse de la chlorophylle. Les résultats de la teneur en chlorophylle de l'interaction du système OG/Cd⁺² n'était pas significativement différente ($p < 0,05$) par rapport aux traitements sans OG. Ces résultats sont cohérents avec ceux apportés dans (Hu et al.,2018) qui avaient démontré aucun effet impact sur la teneur en chlorophylle à 1 et 5 mg/L. Les résultats de la différence significative est présentée dans l'annexe A.4

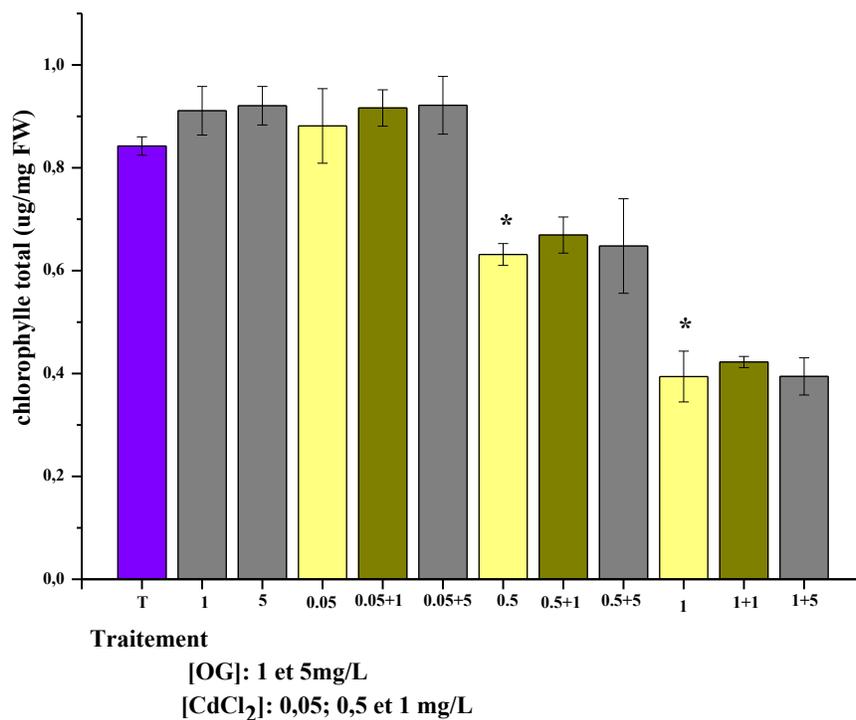
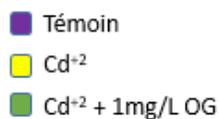


Fig. 4.12 : Teneur totale en chlorophylle ($\mu\text{g}/\text{mg}$ poids frais) après une exposition de sept jours à diverses concentrations CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. * la valeur est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport au témoin. **Nota bene**: Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau2).

4.6 Production d'espèces réactives d'oxygène

L'inhibition de la croissance de *L. minor* était évidemment causée par une altération de l'état physiologique des cellules végétales. L'effet toxicologique du Cd^{+2} bioaccumulé a été indiqué par l'induction d'un stress oxydatif qui était directement liée à l'augmentation de la production intracellulaire de ROS. En effet, il a été constaté que la formation de ROS augmentait de plus de 700 % par rapport au témoin lorsque la plante *L. minor* a été exposée à une concentration élevée de CdCl_2 (1 mg/L). Le niveau des ROS est un facteur clé du degré de toxicité cellulaire. La génération des ROS dans les cellules peut causer une inhibition de la photosynthèse et d'autres activités métaboliques (**Tang et al., 2015**). L'exposition au CdCl_2 et au système OG/ Cd^{+2} pendant sept jours a causé une augmentation du niveau de ROS intracellulaire, ce qui est illustré à la Fig. 4.6. Le niveau de ROS intracellulaire induit par le CdCl_2 a évidemment augmenté à mesure que la concentration testée augmentait. Ces résultats indiquent bien qu'un stress oxydatif s'est produit dans les échantillons traités au CdCl_2 . Le niveau de ROS dans les plantes traitées simultanément avec l'OG/ Cd^{+2} était considérablement inférieur à celui des plantes traitées uniquement au CdCl_2 correspondant. Sur la base de ces résultats, l'interaction de l'OG (1-5 mg/L) avec les ions Cd^{2+} cause une réduction significative du stress oxydatif ($p < 0,05$). Cela concorde avec les résultats obtenus sur l'inhibition de la croissance de la biomasse. Une étude antérieure (**Tang et al., 2015**) a aussi démontré que 5 mg/L d'OG pouvait diminuer le stress oxydatif induit par les ions Cd^{2+} chez *Microcystis aeruginosa*. Les résultats de la différence significative sont présentés dans l'annexe A.5

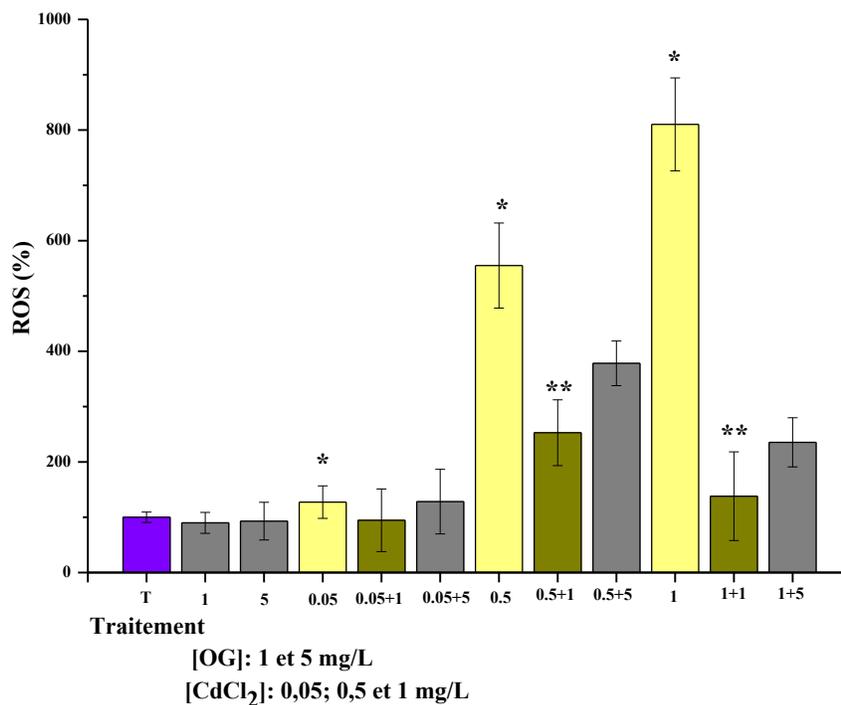
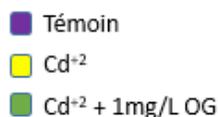


Fig 4.13 : Pourcentage de production des espèces réactives de l'oxygène dans la plante *L. minor* après une exposition de sept jours à diverses concentrations de CdCl₂ et/ou d'oxyde de graphène. * la valeur est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport au témoin.

** la valeur qui définit le traitement CdCl₂ avec 1 mg/L d'OG est significativement différente ($p < 0,05$) par rapport à 0,5 mg/L et 1 mg/L de CdCl₂ (sans OG). **Nota bene**: Dans chaque traitement au CdCl₂, un traitement d'oxyde de graphène a été ajouté, comme indiqué précédemment (Chapitre III – tableau 2).

4.7 L'adsorption des ions de Cd^{+2} sur l'oxyde de graphène

L'interaction des Cd^{+2} avec l'OG a été démontrée en déterminant la concentration d'équilibre d'adsorption. Deux concentrations d'OG ont été utilisées (1 et 5 mg/L). Dans l'expérience de l'isotherme d'adsorption, la corrélation entre la quantité de Cd^{+2} adsorbée sur l'OG (q_e , mg/g) et la concentration de Cd^{+2} non adsorbé (C_e , mg/L) dans le milieu de culture était déterminé par un modèle d'isotherme de Langmuir pour ajuster les données d'adsorption (Fig. S1, Annexe C). Les Figures 4.14 et 4.15 illustrent la quantité de Cd^{+2} adsorbée sur l'OG des à des concentrations de 1 mg/L et 5mg/L. Selon le modèle de Langmuir, une capacité d'adsorption (Q_{max}) de 813 mg Cd^{+2} pour 1 mg/L d'OG et 166 mg Cd^{+2} pour 5 mg/L d'OG avec un coefficient de corrélation (R^2) égale à 0,99 pour les deux conditions a été obtenue.

Cependant, cette valeur estimée de Q_{max} était supérieure à celle rapportée dans une étude antérieure (**Tang et al., 2015**) qui a montré une valeur de 57 mg Cd^{+2} /g de OG. Cet écart peut s'expliquer par les différents milieux aqueux utilisés (différente composition chimique) dans les expériences et leur façon de préparation.

Les mécanismes d'interaction des métaux adsorbés sur l'OG peuvent avoir deux possibilités. Une faible agglomération et une grande solubilité de l'OG dans l'eau peut augmenter la probabilité de contact avec les ions métalliques en solution (**Wu et al., 2011**). Ainsi, les métaux à charges positives se fixent sur la charge négative de la surface de l'OG en raison de la déprotonation (**Zhao, G. et al., 2011**). Par conséquent, l'adsorption des Cd^{2+} sur l'OG a été dépendante de la concentration de l'OG dans le milieu de culture, ce qui a influencé les effets des Cd^{2+} sur la croissance de la plante *L. minor*.

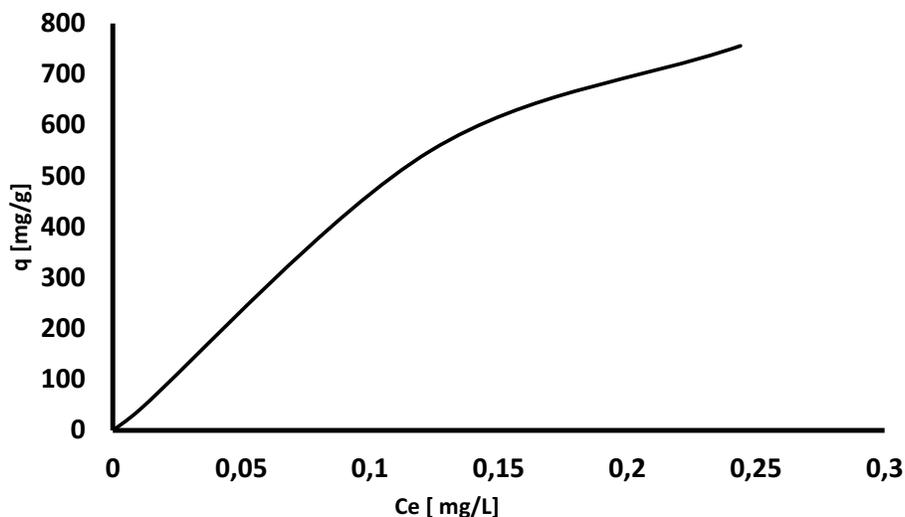


Fig. 4.14 : La quantité de Cd^{2+} adsorbée sur l'OG (1 mg/L)

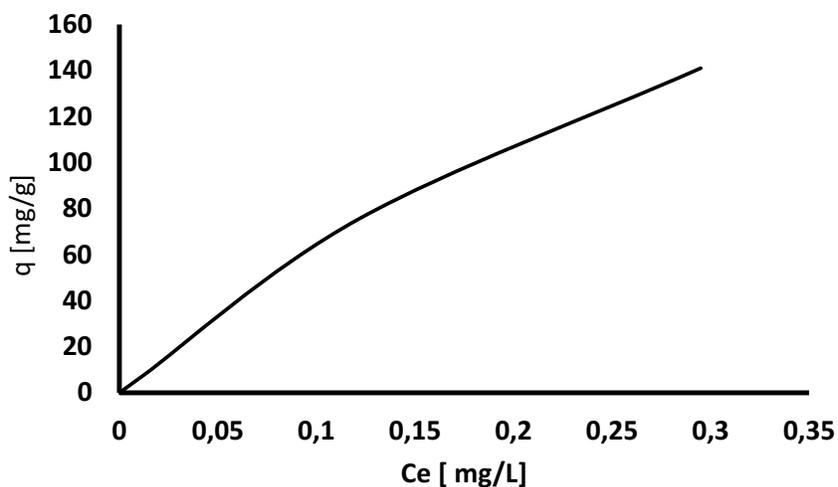


Fig. 4.15 : La quantité de Cd^{2+} adsorbée sur l'OG (5 mg/L).

Les résultats analytiques représentés dans l'annexe B, ont été obtenus par un appareil ICP-OES suite à un mode opératoire suivi comme indiqué dans (Tang et al 2015), pour calculer la concentration du Cd^{2+} à l'équilibre, et ce après avoir préparé plusieurs échantillon aux différentes concentrations qui sont présentées dans le tableau 4.1, ces échantillons ont été mélangés pendant 1h, puis centrifugés à 4600 xg, le surnageant a été récupéré par la suite, l'acide nitrique dilué à 5% a été ajouté dans chaque échantillon, en parallèle, une série en dilution de standard de la solution mère (CdCl_2) avec un blanc pour pouvoir faire le dosage de

la concentration de Cd^{+2} à l'équilibre a été préparée, il est donc possible déduire la quantité du Cd^{+2} qui est restée liée à l'oxyde de graphène dans chaque condition à savoir ;

Tableau 4-1 : Quantité du Cd^{+2} adsorbée sur la surface de l'oxyde de graphène dans chaque condition étudiée

Conditions	Quantité du Cd^{+2} liée à l'OG	Ecart type sur une moyenne de 6 essais
0.05 mg/L Cd^{+2} et 1 mg/L OG	40 mg Cd^{+2} / g OG	0,0005
0.05 mg/L Cd^{+2} et 5 mg/L OG	7,56 mg Cd^{+2} / g OG	0,0016
0.5 mg/L Cd^{+2} et 1 mg/L OG	390 mg Cd^{+2} / g OG	0,011
0.5 mg/L Cd^{+2} et 5 mg/L OG	57,64 mg Cd^{+2} / g OG	0,007
1 mg/L Cd^{+2} et 1 mg/L OG	738 mg Cd^{+2} / g OG	0,016
1 mg/L Cd^{+2} et 5 mg/L OG	141 mg Cd^{+2} / g OG	0,04

D'après ce tableau, il est donc possible de déduire et voir clairement la quantité du Cd^{+2} qui est fixée sur l'OG à ses deux conditions, la différence entre les deux concentrations 1 et 5 mg/L est flagrante, la quantité fixée à 1mg /L est beaucoup supérieure que dans 5mg /L, ces résultats peuvent s'expliquer par l'empêchement de fixation des ions du cadmium sur les groupements fonctionnels de l'OG en raison des agglomérats étant donné le comportement de l'oxyde de graphène à 5mg/L dans le milieu de culture tel que discuté à la section 4.3. Donc, 1mg/L d'oxyde de graphène est une concentration optimale pour l'adsorption de Cd^{+2} à 0,05 ; 0,5 et 1mg/L dans cette étude.

Conclusion générale

L'objectif de cette recherche était d'évaluer la toxicité du cadmium sur la plante *L. minor* en évaluant les paramètres de croissance, la teneur en chlorophylle et la production des espèces réactives de l'oxygène, et d'étudier l'effet de l'oxyde de graphène sur le stress physiologique causé par le cadmium chez la plante *L. minor*. Les travaux de recherche ont permis la compréhension des différents mécanismes interagissant entre l'oxyde de graphène et les métaux lourds en particulier le cadmium.

Les effets toxiques du cadmium ont été étudiés sur la plante *L. minor*, et il a été démontré qu'une concentration de 0,5 mg/L de CdCl₂ correspondant à une concentration efficace médiane (CE₅₀) a entraîné une diminution du taux de croissance de 53,50 % (P<0.05) par rapport à la valeur témoin. Le métal a également altéré la biosynthèse de la chlorophylle en provoquant une réduction de la teneur en pigments. Aussi, l'augmentation significative de la formation des ROS a atteint les 700 % à cause des effets toxiques des Cd⁺² qui indique que le stress oxydatif est un mécanisme important de toxicité pour le CdCl₂. Cependant, il a été démontré qu'une concentration faible d'oxyde de graphène, en particulier 1 mg/L, réduit significativement le stress oxydatif chez la plante *L. minor* causé par le cadmium et protège en partie sa croissance. Dans cette étude, l'oxyde de graphène a démontré son efficacité d'adsorption en réduisant le potentiel de toxicité du cadmium chez la plante *L. minor*. Cependant, la toxicité des Cd⁺² sur la croissance des plantes exposées n'a pas été complètement éliminée.

Cela suggère que la concentration libre de Cd⁺² qui n'a pas été adsorbé par l'oxyde de graphène a été suffisante pour causer des effets toxiques chez les plantes traitées. En conclusion, l'oxyde de graphène a une capacité limitée de réduire les effets des Cd⁺² chez les *Lemna* dans le milieu de culture SIS. En perspective, il serait intéressant d'étudier les interactions chimiques entre d'autres métaux et l'oxyde de graphène dans des solutions aqueuses ayant différentes compositions chimiques.

Annexe A.1 Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA ‘Origin 8.5’ -Tukey test du nombre de fronde-

ANOVAOneWay (15/07/2020 17:50:24)

Descriptive Statistics

	Sample Size	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
t	6	121,16667	3,76386	1,53659
2	6	116,83333	3,12517	1,27584
5	6	113,33333	2,65832	1,08525
0,05	6	109,66667	5,24087	2,13957
0,05+1	6	116,83333	3,65605	1,49257
0,05+5	6	108,33333	1,0328	0,42164
0,5	6	57,5	3,67423	1,5
0,5+1	6	63,33333	3,20416	1,30809
0,5+5	6	58,83333	1,94079	0,79232
1	6	47	2,36643	0,96609
1+1	6	51	2	0,8165
1+5	6	48,66667	3,20416	1,30809

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	11	66697,375	6063,39773	604,8277	0
Error	60	601,5	10,025		
Total	71	67298,875			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,99106	0,03753	3,16623	84,375

Means Comparisons

Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
2 t	-4,33333	1,82802	3,3524	0,44111	0,05	0	-10,54881	1,88214
5 t	-7,83333	1,82802	6,0601	0,00357	0,05	1	-14,04881	-1,61786
5 2	-3,5	1,82802	2,70771	0,74554	0,05	0	-9,71547	2,71547
0,05 t	-11,5	1,82802	8,89675	2,59436E-6	0,05	1	-17,71547	-5,28453
0,05 2	-7,16667	1,82802	5,54435	0,0113	0,05	1	-13,38214	-0,95119
0,05 5	-3,66667	1,82802	2,83664	0,68771	0,05	0	-9,88214	2,54881
0,05+1 t	-4,33333	1,82802	3,3524	0,44111	0,05	0	-10,54881	1,88214
0,05+1 2	-1,42109E-14	1,82802	1,09939E-14		1	0,05	-6,21547	6,21547
0,05+1 5	3,5	1,82802	2,70771	0,74554	0,05	0	-2,71547	9,71547
0,05+1 0,05	7,16667	1,82802	5,54435	0,0113	0,05	1	0,95119	13,38214
0,05+5 t	-12,83333	1,82802	9,92825	1,73137E-7	0,05	1	-19,04881	-6,61786
0,05+5 2	-8,5	1,82802	6,57586	0,00105	0,05	1	-14,71547	-2,28453
0,05+5 5	-5	1,82802	3,86815	0,23501	0,05	0	-11,21547	1,21547
0,05+5 0,05	-1,33333	1,82802	1,03151	0,99985	0,05	0	-7,54881	4,88214
0,05+5 0,05+1	-8,5	1,82802	6,57586	0,00105	0,05	1	-14,71547	-2,28453
0,5 t	-63,66667	1,82802	49,25446	3,60624E-7	0,05	1	-69,88214	-57,45119
0,5 2	-59,33333	1,82802	45,90206		0	0,05	-65,54881	-53,11786
0,5 5	-55,83333	1,82802	43,19435		0	0,05	-62,04881	-49,61786
0,5 0,05	-52,16667	1,82802	40,35771		0	0,05	-58,38214	-45,95119
0,5 0,05+1	-59,33333	1,82802	45,90206		0	0,05	-65,54881	-53,11786
0,5 0,05+5	-50,83333	1,82802	39,3262		0	0,05	-57,04881	-44,61786
0,5+1 t	-57,83333	1,82802	44,74162		0	0,05	-64,04881	-51,61786
0,5+1 2	-53,5	1,82802	41,38922		0	0,05	-59,71547	-47,28453
0,5+1 5	-50	1,82802	38,68151		0	0,05	-56,21547	-43,78453
0,5+1 0,05	-46,33333	1,82802	35,84487		0	0,05	-52,54881	-40,11786
0,5+1 0,05+1	-53,5	1,82802	41,38922		0	0,05	-59,71547	-47,28453
0,5+1 0,05+5	-45	1,82802	34,81336		0	0,05	-51,21547	-38,78453
0,5+1 0,5	5,83333	1,82802	4,51284	0,08538	0,05	0	-0,38214	12,04881
0,5+5 t	-62,33333	1,82802	48,22295	3,44369E-7	0,05	1	-68,54881	-56,11786

0,5+5	z	-30	1,82802	44,01000	0	0,05	1	-60,21547	-31,78453
0,5+5	5	-54,5	1,82802	42,16285	0	0,05	1	-60,71547	-48,28453
0,5+5	0,05	-50,83333	1,82802	39,3262	0	0,05	1	-57,04881	-44,61786
0,5+5	0,05+1	-58	1,82802	44,87055	0	0,05	1	-64,21547	-51,78453
0,5+5	0,05+5	-49,5	1,82802	38,2947	0	0,05	1	-55,71547	-43,28453
0,5+5	0,5	1,33333	1,82802	1,03151	0,99985	0,05	0	-4,88214	7,54881
0,5+5	0,5+1	-4,5	1,82802	3,48134	0,3832	0,05	0	-10,71547	1,71547
1	t	-74,16667	1,82802	57,37758	0	0,05	1	-80,38214	-67,95119
1	2	-69,83333	1,82802	54,02518	0	0,05	1	-76,04881	-63,61786
1	5	-66,33333	1,82802	51,31747	6,28427E-8	0,05	1	-72,54881	-60,11786
1	0,05	-62,66667	1,82802	48,48083	3,48478E-7	0,05	1	-68,88214	-56,45119
1	0,05+1	-69,83333	1,82802	54,02518	0	0,05	1	-76,04881	-63,61786
1	0,05+5	-61,33333	1,82802	47,44932	1,03268E-6	0,05	1	-67,54881	-55,11786
1	0,5	-10,5	1,82802	8,12312	2,02635E-5	0,05	1	-16,71547	-4,28453
1	0,5+1	-16,33333	1,82802	12,63596	4,16512E-8	0,05	1	-22,54881	-10,11786
1	0,5+5	-11,83333	1,82802	9,15462	1,279E-6	0,05	1	-18,04881	-5,61786
1+1	t	-70,16667	1,82802	54,28305	0	0,05	1	-76,38214	-63,95119
1+1	2	-65,83333	1,82802	50,93066	6,14193E-8	0,05	1	-72,04881	-59,61786
1+1	5	-62,33333	1,82802	48,22295	3,44369E-7	0,05	1	-68,54881	-56,11786
1+1	0,05	-58,66667	1,82802	45,38631	0	0,05	1	-64,88214	-52,45119
1+1	0,05+1	-65,83333	1,82802	50,93066	6,14193E-8	0,05	1	-72,04881	-59,61786
1+1	0,05+5	-57,33333	1,82802	44,3548	0	0,05	1	-63,54881	-51,11786
1+1	0,5	-6,5	1,82802	5,0286	0,03275	0,05	1	-12,71547	-0,28453
1+1	0,5+1	-12,33333	1,82802	9,54144	4,60019E-7	0,05	1	-18,54881	-6,11786
1+1	0,5+5	-7,83333	1,82802	6,0601	0,00357	0,05	1	-14,04881	-1,61786
1+1	1	4	1,82802	3,09452	0,56426	0,05	0	-2,21547	10,21547
1+5	t	-72,5	1,82802	56,08819	0	0,05	1	-78,71547	-66,28453
1+5	2	-68,16667	1,82802	52,73579	6,79223E-8	0,05	1	-74,38214	-61,95119
1+5	5	-64,66667	1,82802	50,02809	5,80334E-8	0,05	1	-70,88214	-58,45119
1+5	0,05	-61	1,82802	47,19144	9,42372E-7	0,05	1	-67,21547	-54,78453
1+5	0,05+1	-68,16667	1,82802	52,73579	6,79223E-8	0,05	1	-74,38214	-61,95119
1+5	0,05+5	-59,66667	1,82802	46,15994	0	0,05	1	-65,88214	-53,45119
1+5	0,5	-8,83333	1,82802	6,83373	5,60511E-4	0,05	1	-15,04881	-2,61786
1+5	0,5+1	-14,66667	1,82802	11,34658	5,1803E-8	0,05	1	-20,88214	-8,45119
1+5	0,5+5	-10,16667	1,82802	7,86524	4,00203E-5	0,05	1	-16,38214	-3,95119
1+5	1	1,66667	1,82802	1,28938	0,99875	0,05	0	-4,54881	7,88214
1+5	1+1	-2,33333	1,82802	1,80514	0,97907	0,05	0	-8,54881	3,88214

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.

Annexe A.2 Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA 'Origin -
Tukey test du pourcentage d'inhibition du nombre de fronde-

ANOVAOneWay (15/07/2020 21:05:13)

Descriptive Statistics

	Sample Size	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
t	6	0	0	0
2	6	2,01937	0,76875	0,31384
5	6	3,81566	0,45457	0,18558
0,05	6	5,02484	0,64658	0,26397
0,05+1	6	2,71148	2,41681	0,98666
0,05+5	6	6,48269	1,66498	0,67973
0,5	6	40,85414	2,90338	1,1853
0,5+1	6	26,67535	1,151	0,46989
0,5+5	6	40,48812	1,75311	0,7157
1	6	52,37557	2,53469	1,03478
1+1	6	47,67599	1,06944	0,4366
1+5	6	50,19014	2,68648	1,09675

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	11	31161,46229	2832,86021	907,9168	0
Error	60	187,21056	3,12018		
Total	71	31348,67285			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
0,99403	0,07616	1,7664	23,19278

Means Comparisons

Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
2 t	2,01937	1,01983	2,80028	0,70441	0,05	0	-1,44817	5,48691
5 t	3,81566	1,01983	5,29122	0,01927	0,05	1	0,34812	7,2832
5 2	1,7963	1,01983	2,49095	0,83161	0,05	0	-1,67124	5,26384
0,05 t	5,02484	1,01983	6,968	4,013E-4	0,05	1	1,5573	8,49238
0,05 2	3,00547	1,01983	4,16772	0,15104	0,05	0	-0,46207	6,47301
0,05 5	1,20918	1,01983	1,67678	0,98818	0,05	0	-2,25836	4,67672
0,05+1 t	2,71148	1,01983	3,76004	0,27205	0,05	0	-0,75606	6,17902
0,05+1 2	0,69211	1,01983	0,95976	0,99992	0,05	0	-2,77543	4,15965
0,05+1 5	-1,10419	1,01983	1,53119	0,99437	0,05	0	-4,57173	2,36335
0,05+1 0,05	-2,31336	1,01983	3,20797	0,50932	0,05	0	-5,7809	1,15418
0,05+5 t	6,48269	1,01983	8,98962	1,98906E-6	0,05	1	3,01515	9,95023
0,05+5 2	4,46332	1,01983	6,18934	0,00265	0,05	1	0,99578	7,93086
0,05+5 5	2,66702	1,01983	3,69839	0,29475	0,05	0	-0,80052	6,13456
0,05+5 0,05	1,45785	1,01983	2,02162	0,95274	0,05	0	-2,00969	4,92539
0,05+5 0,05+1	3,77121	1,01983	5,22958	0,02188	0,05	1	0,30367	7,23875
0,5 t	40,85414	1,01983	56,6529	0	0,05	1	37,3866	44,32168
0,5 2	38,83477	1,01983	53,85262	0	0,05	1	35,36723	42,30231
0,5 5	37,03847	1,01983	51,36167	6,30043E-8	0,05	1	33,57093	40,50601
0,5 0,05	35,8293	1,01983	49,6849	3,67266E-7	0,05	1	32,36176	39,29684
0,5 0,05+1	38,14266	1,01983	52,89286	6,84715E-8	0,05	1	34,67512	41,6102
0,5 0,05+5	34,37145	1,01983	47,66328	4,8722E-8	0,05	1	30,90391	37,83899
0,5+1 t	26,67535	1,01983	36,99101	0	0,05	1	23,20781	30,14289
0,5+1 2	24,65598	1,01983	34,19073	0	0,05	1	21,18844	28,12352
0,5+1 5	22,85968	1,01983	31,69978	0	0,05	1	19,39214	26,32722
0,5+1 0,05	21,65051	1,01983	30,023	0	0,05	1	18,18297	25,11805
0,5+1 0,05+1	23,96387	1,01983	33,23097	0	0,05	1	20,49633	27,43141
0,5+1 0,05+5	20,19266	1,01983	28,00139	0	0,05	1	16,72512	23,6602
0,5+1 0,5	-14,17879	1,01983	19,66189	1,48376E-8	0,05	1	-17,64633	-10,71125
0,5+5 t	40,48812	1,01983	56,14533	0	0,05	1	37,02058	43,95566

0,5+0 2	30,40073	1,01983	33,34303	7,00301E-8	0,05	1	33,00121	41,83029
0,5+5 5	36,67245	1,01983	50,85411	6,11357E-8	0,05	1	33,20491	40,13999
0,5+5 0,05	35,46328	1,01983	49,17733	3,59425E-7	0,05	1	31,99574	38,93082
0,5+5 0,05+1	37,77664	1,01983	52,38529	6,66872E-8	0,05	1	34,3091	41,24418
0,5+5 0,05+5	34,00543	1,01983	47,15571	9,40943E-7	0,05	1	30,53789	37,47297
0,5+5 0,5	-0,36602	1,01983	0,50757	1	0,05	0	-3,83356	3,10152
0,5+5 0,5+1	13,81277	1,01983	19,15432	1,42009E-8	0,05	1	10,34523	17,28031
1 t	52,37557	1,01983	72,6298	0	0,05	1	48,90803	55,84311
1 2	50,35621	1,01983	69,82953	0	0,05	1	46,88867	53,82375
1 5	48,55991	1,01983	67,33858	0	0,05	1	45,09237	52,02745
1 0,05	47,35073	1,01983	65,6618	0	0,05	1	43,88319	50,81827
1 0,05+1	49,6641	1,01983	68,86977	0	0,05	1	46,19656	53,13164
1 0,05+5	45,89289	1,01983	63,64019	0	0,05	1	42,42534	49,36043
1 0,5	11,52143	1,01983	15,9769	2,48821E-8	0,05	1	8,05389	14,98897
1 0,5+1	25,70023	1,01983	35,6388	0	0,05	1	22,23269	29,16777
1 0,5+5	11,88746	1,01983	16,48447	0	0,05	1	8,41992	15,355
1+1 t	47,67599	1,01983	66,11284	0	0,05	1	44,20845	51,14353
1+1 2	45,65662	1,01983	63,31256	0	0,05	1	42,18908	49,12416
1+1 5	43,86032	1,01983	60,82161	0	0,05	1	40,39278	47,32787
1+1 0,05	42,65115	1,01983	59,14483	0	0,05	1	39,18361	46,11869
1+1 0,05+1	44,96451	1,01983	62,3528	0	0,05	1	41,49697	48,43205
1+1 0,05+5	41,1933	1,01983	57,12322	0	0,05	1	37,72576	44,66084
1+1 0,5	6,82185	1,01983	9,45994	5,69243E-7	0,05	1	3,35431	10,28939
1+1 0,5+1	21,00064	1,01983	29,12183	0	0,05	1	17,5331	24,46818
1+1 0,5+5	7,18787	1,01983	9,96751	1,57488E-7	0,05	1	3,72033	10,65541
1+1 1	-4,69958	1,01983	6,51697	0,00122	0,05	1	-8,16712	-1,23204
1+5 t	50,19014	1,01983	69,59924	0	0,05	1	46,7226	53,65768
1+5 2	48,17077	1,01983	66,79896	0	0,05	1	44,70323	51,63831
1+5 5	46,37448	1,01983	64,30801	0	0,05	1	42,90694	49,84202
1+5 0,05	45,1653	1,01983	62,63124	0	0,05	1	41,69776	48,63284
1+5 0,05+1	47,47866	1,01983	65,8392	0	0,05	1	44,01112	50,9462
1+5 0,05+5	43,70745	1,01983	60,60962	0	0,05	1	40,23991	47,17499
1+5 0,5	9,336	1,01983	12,94634	3,99375E-8	0,05	1	5,86846	12,80354
1+5 0,5+1	23,51479	1,01983	32,60823	0	0,05	1	20,04725	26,98233
1+5 0,5+5	9,70202	1,01983	13,45391	3,72335E-8	0,05	1	6,23448	13,16956
1+5 1	-2,18543	1,01983	3,03056	0,59533	0,05	0	-5,65297	1,28211
1+5 1+1	2,51415	1,01983	3,4864	0,38099	0,05	0	-0,95339	5,98169

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.

Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.

Annexe A.3 Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA 'Origin - Tukey test du pourcentage d'inhibition du poids frais

ANOVAOneWay (15/07/2020 21:14:42)

Descriptive Statistics

	Sample Size	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
t	6	0	0	0
2	6	1,63727	2,33497	0,95325
5	6	1,36944	2,13775	0,87273
0,05	6	4,94817	0,95465	0,38974
0,05+1	6	3,78176	1,77554	0,72486
0,05+5	6	6,81322	1,71209	0,69896
0,5	6	53,52745	1,15157	0,47013
0,5+1	6	50,04731	1,48846	0,60766
0,5+5	6	53,98039	5,18101	2,11514
1	6	90,52439	0,80083	0,32694
1+1	6	67,00507	3,18807	1,30153
1+5	6	73,54043	2,50858	1,02412

One Way ANOVA**Overall ANOVA**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	11	75900,93453	6900,08496	1283,7397	0
Error	60	322,49926	5,37499		
Total	71	76223,43378			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,99577	0,06833	2,3184	33,93124

Means Comparisons**Tukey Test**

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
2 t	1,63727	1,33853	1,72985	0,9849	0,05	0	-2,91387	6,18842
5 t	1,36944	1,33853	1,44687	0,99652	0,05	0	-3,18171	5,92058
5 2	-0,26783	1,33853	0,28298	1	0,05	0	-4,81898	4,28331
0,05 t	4,94817	1,33853	5,22795	0,02195	0,05	1	0,39703	9,49932
0,05 2	3,3109	1,33853	3,4981	0,37593	0,05	0	-1,24025	7,86204
0,05 5	3,57873	1,33853	3,78108	0,26456	0,05	0	-0,97241	8,12988
0,05+1 t	3,78176	1,33853	3,99559	0,19597	0,05	0	-0,76938	8,33291
0,05+1 2	2,14449	1,33853	2,26574	0,90154	0,05	0	-2,40666	6,69563
0,05+1 5	2,41232	1,33853	2,54872	0,8103	0,05	0	-2,13882	6,96347
0,05+1 0,05	-1,16641	1,33853	1,23236	0,99917	0,05	0	-5,71756	3,38473
0,05+5 t	6,81322	1,33853	7,19845	2,24503E-4	0,05	1	2,26207	11,36436
0,05+5 2	5,17595	1,33853	5,46861	0,01328	0,05	1	0,6248	9,72709
0,05+5 5	5,44378	1,33853	5,75158	0,00718	0,05	1	0,89263	9,99492
0,05+5 0,05	1,86505	1,33853	1,9705	0,96041	0,05	0	-2,6861	6,41619
0,05+5 0,05+1	3,03146	1,33853	3,20286	0,51178	0,05	0	-1,51969	7,5826
0,5 t	53,52745	1,33853	56,55401	0	0,05	1	48,9763	58,07859
0,5 2	51,89017	1,33853	54,82416	0	0,05	1	47,33903	56,44132
0,5 5	52,15801	1,33853	55,10714	0	0,05	1	47,60686	56,70915
0,5 0,05	48,57928	1,33853	51,32606	6,28741E-8	0,05	1	44,02813	53,13042
0,5 0,05+1	49,74569	1,33853	52,55842	6,72989E-8	0,05	1	45,19454	54,29683
0,5 0,05+5	46,71423	1,33853	49,35556	3,62192E-7	0,05	1	42,16308	51,26537
0,5+1 t	50,04731	1,33853	52,8771	6,84165E-8	0,05	1	45,49617	54,59846
0,5+1 2	48,41004	1,33853	51,14726	6,22184E-8	0,05	1	43,8589	52,96119
0,5+1 5	48,67787	1,33853	51,43023	6,32546E-8	0,05	1	44,12673	53,22902
0,5+1 0,05	45,09914	1,33853	47,64915	4,86644E-8	0,05	1	40,548	49,65029
0,5+1 0,05+1	46,26555	1,33853	48,88151	3,54802E-7	0,05	1	41,71441	50,8167
0,5+1 0,05+5	43,23409	1,33853	45,67865	0	0,05	1	38,68295	47,78524
0,5+1 0,5	-3,48013	1,33853	3,67691	0,30293	0,05	0	-8,03128	1,07101
0,5+5 t	53,98039	1,33853	57,03257	0	0,05	1	49,42925	58,53154

0,5+5 2	52,54312	1,33853	55,5857	0	0,05	1	47,18181	50,69420
0,5+5 5	52,61095	1,33853	55,5857	0	0,05	1	48,05981	57,1621
0,5+5 0,05	49,03222	1,33853	51,80462	6,46119E-8	0,05	1	44,48108	53,58337
0,5+5 0,05+1	50,19863	1,33853	53,03698	6,89731E-8	0,05	1	45,64749	54,74978
0,5+5 0,05+5	47,16717	1,33853	49,83411	5,72938E-8	0,05	1	42,61603	51,71832
0,5+5 0,5	0,45294	1,33853	0,47855	1	0,05	0	-4,0982	5,00409
0,5+5 0,5+1	3,93308	1,33853	4,15546	0,15395	0,05	0	-0,61807	8,48422
1 t	90,52439	1,33853	95,64285	0	0,05	1	85,97325	95,07554
1 2	88,88712	1,33853	93,91301	0	0,05	1	84,33598	93,43827
1 5	89,15496	1,33853	94,19598	0	0,05	1	84,60381	93,7061
1 0,05	85,57622	1,33853	90,4149	0	0,05	1	81,02508	90,12737
1 0,05+1	86,74263	1,33853	91,64726	0	0,05	1	82,19149	91,29378
1 0,05+5	83,71118	1,33853	88,4444	0	0,05	1	79,16003	88,26232
1 0,5	36,99695	1,33853	39,08884	0	0,05	1	32,4458	41,54809
1 0,5+1	40,47708	1,33853	42,76575	0	0,05	1	35,92594	45,02823
1 0,5+5	36,544	1,33853	38,61029	0	0,05	1	31,99286	41,09515
1+1 t	67,00507	1,33853	70,79369	0	0,05	1	62,45393	71,55622
1+1 2	65,3678	1,33853	69,06385	0	0,05	1	60,81665	69,91894
1+1 5	65,63563	1,33853	69,34682	0	0,05	1	61,08449	70,18678
1+1 0,05	62,0569	1,33853	65,56574	0	0,05	1	57,50576	66,60805
1+1 0,05+1	63,22331	1,33853	66,7981	0	0,05	1	58,67217	67,77446
1+1 0,05+5	60,19185	1,33853	63,59524	0	0,05	1	55,64071	64,743
1+1 0,5	13,47762	1,33853	14,23968	3,1226E-8	0,05	1	8,92648	18,02877
1+1 0,5+1	16,95776	1,33853	17,91659	1,25223E-8	0,05	1	12,40661	21,5089
1+1 0,5+5	13,02468	1,33853	13,76113	3,51256E-8	0,05	1	8,47353	17,57583
1+1 1	-23,51932	1,33853	24,84916	1,96E-8	0,05	1	-28,07047	-18,96818
1+5 t	73,54043	1,33853	77,69858	0	0,05	1	68,98929	78,09158
1+5 2	71,90316	1,33853	75,96873	0	0,05	1	67,35201	76,4543
1+5 5	72,17099	1,33853	76,25171	0	0,05	1	67,61985	76,72214
1+5 0,05	68,59226	1,33853	72,47062	0	0,05	1	64,04111	73,1434
1+5 0,05+1	69,75867	1,33853	73,70299	0	0,05	1	65,20752	74,30981
1+5 0,05+5	66,72721	1,33853	70,50012	0	0,05	1	62,17607	71,27836
1+5 0,5	20,01298	1,33853	21,14456	9,92784E-8	0,05	1	15,46184	24,56413
1+5 0,5+1	23,49312	1,33853	24,82147	1,95821E-8	0,05	1	18,94197	28,04426
1+5 0,5+5	19,56004	1,33853	20,66601	9,48134E-8	0,05	1	15,00889	24,11118
1+5 1	-16,98396	1,33853	17,94428	1,25618E-8	0,05	1	-21,53511	-12,43282
1+5 1+1	6,53536	1,33853	6,90488	4,69748E-4	0,05	1	1,98421	11,0865

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.

Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.

Annexe A.4 Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA 'Origin - Tukey test de la teneur en chlorophylle totale

ANOVAOneWay (15/07/2020 22:43:12)

Descriptive Statistics

	Sample Size	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
t	6	0,84233	0,01749	0,00714
2	6	0,911	0,04274	0,01745
5	6	0,92069	0,03967	0,01619
0,05	6	0,88146	0,06524	0,02663
0,05+1	6	0,91635	0,03408	0,01391
0,05+5	6	0,92161	0,06527	0,02664
0,5	6	0,63147	0,01954	0,00798
0,5+1	6	0,66927	0,03218	0,01314
0,5+5	6	0,64788	0,08299	0,03388
1	6	0,39415	0,04416	0,01803
1+1	6	0,42238	0,02946	0,01203
1+5	6	0,39438	0,03289	0,01343

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	11	3,07653	0,27968	131,1672	0
Error	60	0,12794	0,00213		
Total	71	3,20446			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,96008	0,06479	0,04618	0,71275

Means Comparisons

Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
2 t	0,06867	0,02666	3,64244	0,31632	0,05	0	-0,02198	0,15931
5 t	0,07836	0,02666	4,15652	0,1537	0,05	0	-0,01229	0,169
5 2	0,00969	0,02666	0,51408	1	0,05	0	-0,08096	0,10034
0,05 t	0,03913	0,02666	2,07572	0,94352	0,05	0	-0,05152	0,12978
0,05 2	-0,02954	0,02666	1,56672	0,99318	0,05	0	-0,12018	0,06111
0,05 5	-0,03923	0,02666	2,0808	0,9426	0,05	0	-0,12987	0,05142
0,05+1 t	0,07402	0,02666	3,92643	0,21654	0,05	0	-0,01663	0,16467
0,05+1 2	0,00535	0,02666	0,28398	1	0,05	0	-0,08529	0,096
0,05+1 5	-0,00434	0,02666	0,2301	1	0,05	0	-0,09498	0,08631
0,05+1 0,05	0,03489	0,02666	1,8507	0,97479	0,05	0	-0,05576	0,12554
0,05+5 t	0,07928	0,02666	4,20551	0,14233	0,05	0	-0,01137	0,16993
0,05+5 2	0,01061	0,02666	0,56306	1	0,05	0	-0,08003	0,10126
0,05+5 5	9,23393E-4	0,02666	0,04898	1	0,05	0	-0,08972	0,09157
0,05+5 0,05	0,04015	0,02666	2,12978	0,93314	0,05	0	-0,0505	0,1308
0,05+5 0,05+1	0,00526	0,02666	0,27908	1	0,05	0	-0,08539	0,09591
0,5 t	-0,21086	0,02666	11,18554	5,43676E-8	0,05	1	-0,30151	-0,12022
0,5 2	-0,27953	0,02666	14,82798	3,02588E-8	0,05	1	-0,37018	-0,18888
0,5 5	-0,28922	0,02666	15,34207	2,79145E-8	0,05	1	-0,37987	-0,19857
0,5 0,05	-0,24999	0,02666	13,26126	3,8249E-8	0,05	1	-0,34064	-0,15935
0,5 0,05+1	-0,28488	0,02666	15,11197	2,90322E-8	0,05	1	-0,37553	-0,19424
0,5 0,05+5	-0,29014	0,02666	15,39105	2,76779E-8	0,05	1	-0,38079	-0,1995
0,5+1 t	-0,17307	0,02666	9,18049	1,19363E-6	0,05	1	-0,26371	-0,08242
0,5+1 2	-0,24173	0,02666	12,82293	4,06116E-8	0,05	1	-0,33238	-0,15108
0,5+1 5	-0,25142	0,02666	13,33701	3,78484E-8	0,05	1	-0,34207	-0,16078
0,5+1 0,05	-0,2122	0,02666	11,25621	5,31505E-8	0,05	1	-0,30284	-0,12155
0,5+1 0,05+1	-0,24708	0,02666	13,10691	3,90716E-8	0,05	1	-0,33773	-0,15644
0,5+1 0,05+5	-0,25235	0,02666	13,38599	3,75902E-8	0,05	1	-0,34299	-0,1617
0,5+1 0,5	0,0378	0,02666	2,00506	0,95533	0,05	0	-0,05285	0,12845
0,5+5 t	-0,19445	0,02666	10,31482	7,18591E-8	0,05	1	-0,2851	-0,1038

0,5+5 2	-0,20512	0,02000	13,30727	3,41173E-8	0,05	1	-0,33370	-0,17247
0,5+5 5	-0,27281	0,02666	14,47135	3,20288E-8	0,05	1	-0,36345	-0,18216
0,5+5 0,05	-0,23358	0,02666	12,39055	4,32293E-8	0,05	1	-0,32423	-0,14293
0,5+5 0,05+1	-0,26847	0,02666	14,24125	3,1218E-8	0,05	1	-0,35912	-0,17782
0,5+5 0,05+5	-0,27373	0,02666	14,52033	2,78429E-8	0,05	1	-0,36438	-0,18308
0,5+5 0,5	0,01641	0,02666	0,87072	0,99997	0,05	0	-0,07423	0,10706
0,5+5 0,5+1	-0,02138	0,02666	1,13434	0,99962	0,05	0	-0,11203	0,06926
1 t	-0,44818	0,02666	23,77416	1,88984E-8	0,05	1	-0,53883	-0,35753
1 2	-0,51684	0,02666	27,4166	0	0,05	1	-0,60749	-0,4262
1 5	-0,52654	0,02666	27,93069	0	0,05	1	-0,61718	-0,43589
1 0,05	-0,48731	0,02666	25,84988	2,01963E-8	0,05	1	-0,57796	-0,39666
1 0,05+1	-0,5222	0,02666	27,70059	0	0,05	1	-0,61284	-0,43155
1 0,05+5	-0,52746	0,02666	27,97967	0	0,05	1	-0,61811	-0,43681
1 0,5	-0,23731	0,02666	12,58862	4,19189E-8	0,05	1	-0,32796	-0,14667
1 0,5+1	-0,27511	0,02666	14,59368	2,74769E-8	0,05	1	-0,36576	-0,18447
1 0,5+5	-0,25373	0,02666	13,45934	3,72051E-8	0,05	1	-0,34438	-0,16308
1+1 t	-0,41995	0,02666	22,27678	3,85694E-7	0,05	1	-0,5106	-0,3293
1+1 2	-0,48862	0,02666	25,91922	2,02341E-8	0,05	1	-0,57926	-0,39797
1+1 5	-0,49831	0,02666	26,4333	1,86531E-8	0,05	1	-0,58895	-0,40766
1+1 0,05	-0,45908	0,02666	24,3525	1,92672E-8	0,05	1	-0,54973	-0,36843
1+1 0,05+1	-0,49397	0,02666	26,2032	2,03839E-8	0,05	1	-0,58462	-0,40332
1+1 0,05+5	-0,49923	0,02666	26,48229	1,8677E-8	0,05	1	-0,58988	-0,40858
1+1 0,5	-0,20909	0,02666	11,09124	5,62744E-8	0,05	1	-0,29973	-0,11844
1+1 0,5+1	-0,24688	0,02666	13,09629	3,91285E-8	0,05	1	-0,33753	-0,15624
1+1 0,5+5	-0,2255	0,02666	11,96195	4,59548E-8	0,05	1	-0,31615	-0,13485
1+1 1	0,02823	0,02666	1,49738	0,99534	0,05	0	-0,06242	0,11887
1+5 t	-0,44795	0,02666	23,76209	1,88893E-8	0,05	1	-0,5386	-0,3573
1+5 2	-0,51662	0,02666	27,40453	0	0,05	1	-0,60726	-0,42597
1+5 5	-0,52631	0,02666	27,91861	0	0,05	1	-0,61695	-0,43566
1+5 0,05	-0,48708	0,02666	25,83781	2,01897E-8	0,05	1	-0,57773	-0,39643
1+5 0,05+1	-0,52197	0,02666	27,68851	0	0,05	1	-0,61262	-0,43132
1+5 0,05+5	-0,52723	0,02666	27,9676	0	0,05	1	-0,61788	-0,43658
1+5 0,5	-0,23709	0,02666	12,57655	4,19874E-8	0,05	1	-0,32773	-0,14644
1+5 0,5+1	-0,27489	0,02666	14,5816	2,7537E-8	0,05	1	-0,36553	-0,18424
1+5 0,5+5	-0,2535	0,02666	13,44726	3,72684E-8	0,05	1	-0,34415	-0,16285
1+5 1	2,27576E-4	0,02666	0,01207	1	0,05	0	-0,09042	0,09087
1+5 1+1	-0,028	0,02666	1,48531	0,99565	0,05	0	-0,11865	0,06265

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.

Annexe A.5 Informations supplémentaires sur les analyses statistiques par ANOVA 'Origin - Tukey test de pourcentage de production des espèces réactives en oxygène

ANOVAOneWay (16/07/2020 02:32:30)

Descriptive Statistics

	Sample Size	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
t	6	227,99317	12,96131	5,29143
2	6	204,78667	18,41049	7,51605
5	6	211,945	29,05273	11,86073
0,05	6	290,357	25,47713	10,401
0,05+1	6	215,47967	43,97578	17,95304
0,05+5	6	262,67215	49,91586	20,37806
0,5	6	1176,30117	65,04722	26,55542
0,5+1	6	734,078	47,9203	19,56338
0,5+5	6	815,08285	54,79653	22,37059
1	6	2128,34417	111,35366	45,45994
1+1	6	1623,86483	111,47303	45,50867
1+5	6	1728,151	133,42025	54,46859

One Way ANOVA**Overall ANOVA**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	11	3,22096E7	2,92814E6	599,79843	0
Error	60	292912,69244	4881,87821		
Total	71	3,25025E7			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,99099	0,08717	69,87044	801,58797

Means Comparisons**Tukey Test**

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
2 t	-23,2065	40,33972	0,81356	0,99999	0,05	0	-160,36585	113,95285
5 t	-16,04817	40,33972	0,56261	1	0,05	0	-153,20752	121,11118
5 2	7,15833	40,33972	0,25095	1	0,05	0	-130,00102	144,31768
0,05 t	62,36383	40,33972	2,18633	0,92097	0,05	0	-74,79552	199,52318
0,05 2	85,57033	40,33972	2,99989	0,61019	0,05	0	-51,58902	222,72968
0,05 5	78,412	40,33972	2,74894	0,72749	0,05	0	-58,74735	215,57135
0,05+1 t	-12,5135	40,33972	0,43869	1	0,05	0	-149,67285	124,64585
0,05+1 2	10,693	40,33972	0,37487	1	0,05	0	-126,46635	147,85235
0,05+1 5	3,53467	40,33972	0,12392	1	0,05	0	-133,62468	140,69402
0,05+1 0,05	-74,87733	40,33972	2,62502	0,78027	0,05	0	-212,03668	62,28202
0,05+5 t	34,67898	40,33972	1,21576	0,99927	0,05	0	-102,48037	171,83833
0,05+5 2	57,88548	40,33972	2,02933	0,95149	0,05	0	-79,27387	195,04483
0,05+5 5	50,72715	40,33972	1,77837	0,98131	0,05	0	-86,4322	187,8865
0,05+5 0,05	-27,68485	40,33972	0,97056	0,99992	0,05	0	-164,8442	109,4745
0,05+5 0,05+1	47,19248	40,33972	1,65446	0,98938	0,05	0	-89,96687	184,35183
0,5 t	948,308	40,33972	33,2454	0	0,05	1	811,14865	1085,46735
0,5 2	971,5145	40,33972	34,05896	0	0,05	1	834,35515	1108,67385
0,5 5	964,35617	40,33972	33,80801	0	0,05	1	827,19682	1101,51552
0,5 0,05	885,94417	40,33972	31,05907	0	0,05	1	748,78482	1023,10352
0,5 0,05+1	960,8215	40,33972	33,68409	0	0,05	1	823,66215	1097,98085
0,5 0,05+5	913,62902	40,33972	32,02964	0	0,05	1	776,46967	1050,78837
0,5+1 t	506,08483	40,33972	17,74212	1,22716E-8	0,05	1	368,92548	643,24418
0,5+1 2	529,29133	40,33972	18,55568	1,34112E-8	0,05	1	392,13198	666,45068
0,5+1 5	522,133	40,33972	18,30473	1,30677E-8	0,05	1	384,97365	659,29235
0,5+1 0,05	443,721	40,33972	15,55579	2,68853E-8	0,05	1	306,56165	580,88035
0,5+1 0,05+1	518,59833	40,33972	18,18081	1,28955E-8	0,05	1	381,43898	655,75768
0,5+1 0,05+5	471,40585	40,33972	16,52636	0	0,05	1	334,2465	608,5652
0,5+1 0,5	-442,22317	40,33972	15,50328	2,71374E-8	0,05	1	-579,38252	-305,06382
0,5+5 t	587,08968	40,33972	20,58195	9,40141E-8	0,05	1	449,93033	724,24903

0,5+5 2	010,23010	40,33972	21,38002	1,01002E-7	0,00	1	413,13003	141,43003
0,5+5 5	603,13785	40,33972	21,14456	9,92784E-8	0,05	1	465,9785	740,2972
0,5+5 0,05	524,72585	40,33972	18,39563	1,3193E-8	0,05	1	387,5665	661,8852
0,5+5 0,05+1	599,60318	40,33972	21,02065	9,81362E-8	0,05	1	462,44383	736,76253
0,5+5 0,05+5	552,4107	40,33972	19,36619	0	0,05	1	415,25135	689,57005
0,5+5 0,5	-361,21832	40,33972	12,66345	4,14968E-8	0,05	1	-498,37767	-224,05897
0,5+5 0,5+1	81,00485	40,33972	2,83984	0,68623	0,05	0	-56,1545	218,1642
1 t	1900,351	40,33972	66,62174	0	0,05	1	1763,19165	2037,51035
1 2	1923,5575	40,33972	67,43531	0	0,05	1	1786,39815	2060,71685
1 5	1916,39917	40,33972	67,18435	0	0,05	1	1779,23982	2053,55852
1 0,05	1837,98717	40,33972	64,43541	0	0,05	1	1700,82782	1975,14652
1 0,05+1	1912,8645	40,33972	67,06043	0	0,05	1	1775,70515	2050,02385
1 0,05+5	1865,67202	40,33972	65,40598	0	0,05	1	1728,51267	2002,83137
1 0,5	952,043	40,33972	33,37634	0	0,05	1	814,88365	1089,20235
1 0,5+1	1394,26617	40,33972	48,87962	3,54773E-7	0,05	1	1257,10682	1531,42552
1 0,5+5	1313,26132	40,33972	46,03979	0	0,05	1	1176,10197	1450,42067
1+1 t	1395,87167	40,33972	48,93591	3,55655E-7	0,05	1	1258,71232	1533,03102
1+1 2	1419,07817	40,33972	49,74947	5,69697E-8	0,05	1	1281,91882	1556,23752
1+1 5	1411,91983	40,33972	49,49852	3,644E-7	0,05	1	1274,76048	1549,07918
1+1 0,05	1333,50783	40,33972	46,74958	0	0,05	1	1196,34848	1470,66718
1+1 0,05+1	1408,38517	40,33972	49,3746	3,62486E-7	0,05	1	1271,22582	1545,54452
1+1 0,05+5	1361,19268	40,33972	47,72015	4,89535E-8	0,05	1	1224,03333	1498,35203
1+1 0,5	447,56367	40,33972	15,69051	2,62409E-8	0,05	1	310,40432	584,72302
1+1 0,5+1	889,78683	40,33972	31,19379	0	0,05	1	752,62748	1026,94619
1+1 0,5+5	808,78198	40,33972	28,35395	0	0,05	1	671,62263	945,94133
1+1 1	-504,47933	40,33972	17,68583	1,219E-8	0,05	1	-641,63868	-367,31998
1+5 t	1500,15783	40,33972	52,59193	6,74169E-8	0,05	1	1362,99848	1637,31718
1+5 2	1523,36433	40,33972	53,40549	7,02458E-8	0,05	1	1386,20498	1660,52368
1+5 5	1516,206	40,33972	53,15454	6,93807E-8	0,05	1	1379,04665	1653,36535
1+5 0,05	1437,794	40,33972	50,4056	5,94607E-8	0,05	1	1300,63465	1574,95335
1+5 0,05+1	1512,67133	40,33972	53,03062	6,8951E-8	0,05	1	1375,51198	1649,83068
1+5 0,05+5	1465,47885	40,33972	51,37617	6,30573E-8	0,05	1	1328,3195	1602,6382
1+5 0,5	551,84983	40,33972	19,34653	1,44455E-8	0,05	1	414,69048	689,00918
1+5 0,5+1	994,073	40,33972	34,84981	0	0,05	1	856,91365	1131,23235
1+5 0,5+5	913,06815	40,33972	32,00998	0	0,05	1	775,9088	1050,2275
1+5 1	-400,19317	40,33972	14,02981	3,37471E-8	0,05	1	-537,35252	-263,03382
1+5 1+1	104,28617	40,33972	3,65602	0,311	0,05	0	-32,87318	241,44552

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.

Annexe B Informations supplémentaires sur l'analyse de la quantité de Cd²⁺ adsorbée sur la surface de l'oxyde de graphène et la calibration

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Path: C:\Users\dewez\Documents\Agilent\ICP Expert\My Results\Nesrime\Untitled 27 01 2020 .esws

Date created: 2020-01-27 12:45:21

Instrument used: AU14400020

Software Version : 7.3.1.9507

Firmware Version : 3442

Notes:

Drift correct with Argon lines: False

Peak track lines used :

Calibration Correlation Coefficient Limit: 0.999

Standard addition: Off

QC Active: Off

Reagent Blank: Off

IEC: Off

Reslope: Off

Oxygen Injection Mode: Off

Replicates: 3

Sample introduction: Agilent SPS 3

Pump Speed (rpm): 12

SVS 1 delay (s): N/A

Sample uptake fast pump: On

Sample Uptake Time (s): 25

Rinse time fast pump: On

Rinse time (s): 30

Condition Set 1

Read time (s): 5

Nebulizer flow(L/min): 0.7

RF power (kW): 1.2

Plasma flow(L/min): 12

Stabilization time (s): 15

Aux flow(L/min): 1

Viewing mode: Radial

Make up flow(L/min): 0

Viewing height (mm): 8

Oxygen %: 0

Element	Wavelength(nm)	Label	Type	Background Correction	Points Per Peak	Calibration Fit
Cd	214,439	Cd	Analyte	Fitted	2	Linear Weighted
Cd	226,502	Cd	Analyte	Fitted	2	Linear Weighted
Cd	228,802	Cd	Analyte	Fitted	2	Linear Weighted

Calibration parameters:

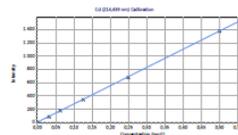
Label (Wavelength nm)	Minimum Concentration	Maximum Concentration	Calibration Error
Cd (214,439)	0 mg/L	0.55 mg/L	5 %
Cd (226,502)	0 mg/L	0.55 mg/L	5 %
Cd (228,802)	0 mg/L	0.55 mg/L	5 %

Calibration Curves:

Cd (214,439 nm)

Intensity = 2760,58505308 * Concentration + 4,07602675

Correlation coefficient: 0,99996



Standards	Intensity	Method Concentration	Calculated Concentration	% Error
Blank	4,96	0,00	0,00	N/A
Standard 1	88,38	0,03	0,03	2,28
Standard 2	180,76	0,06	0,06	2,41

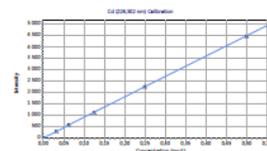
Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

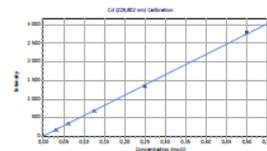
Standards	Intensity	Method Concentration	Calculated Concentration	% Error
Standard 3	348,13	0,13	0,12	0,30
Standard 4	684,86	0,25	0,25	1,36
Standard 5	1384,21	0,50	0,50	0,01

Cd (226,502 nm)
Intensity = 8988,56515836 * Concentration + 7,88354585
Correlation coefficient: 0,99999



Standards	Intensity	Method Concentration	Calculated Concentration	% Error
Blank	11,18	0,00	0,00	N/A
Standard 1	288,26	0,03	0,03	0,18
Standard 2	579,51	0,06	0,06	1,75
Standard 3	1137,83	0,13	0,13	0,57
Standard 4	2255,61	0,25	0,25	0,03
Standard 5	4479,03	0,50	0,50	0,51

Cd (228,802 nm)
Intensity = 5491,56176584 * Concentration + 8,77617496
Correlation coefficient: 0,99988



Standards	Intensity	Method Concentration	Calculated Concentration	% Error
Blank	8,51	0,00	0,00	N/A
Standard 1	181,24	0,03	0,03	0,50
Standard 2	340,13	0,06	0,06	3,46
Standard 3	687,07	0,13	0,12	1,19
Standard 4	1359,08	0,25	0,25	1,65
Standard 5	2794,23	0,50	0,51	1,44

Sample Name: Blank

Date: 2020-01-27 12:46:25

Rack:Tube: 1:1

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214,439 nm)	0,00	ppm	N/A	N/A	4,96	0,00 (ppm)
Cd (226,502 nm)	0,00	ppm	N/A	N/A	11,18	0,00 (ppm)
Cd (228,802 nm)	0,00	ppm	N/A	N/A	8,51	0,00 (ppm)

Replicates Concentration

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0.00	0.00	0.00	ppm
Cd (226.502 nm)	0.00	0.00	0.00	ppm
Cd (228.802 nm)	0.00	0.00	0.00	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	3.68	6.32	4.87
Cd (226.502 nm)	11.42	7.03	15.10
Cd (228.802 nm)	11.18	13.42	0.94

Sample Name: Standard 1

Date: 2020-01-27 12:48:02

Rack:Tube: 1:2

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0.03	ppm	N/A	N/A	88.38	0.03 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0.03	ppm	N/A	N/A	288.26	0.03 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0.03	ppm	N/A	N/A	181.24	0.03 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0.03	0.03	0.03	ppm
Cd (226.502 nm)	0.03	0.03	0.03	ppm
Cd (228.802 nm)	0.03	0.03	0.03	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	87.40	89.12	88.61
Cd (226.502 nm)	289.07	288.73	286.99
Cd (228.802 nm)	180.97	182.25	180.51

Sample Name: Standard 2

Date: 2020-01-27 12:49:40

Rack:Tube: 1:3

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0.06	ppm	N/A	N/A	180.76	0.06 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0.06	ppm	N/A	N/A	579.51	0.06 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0.06	ppm	N/A	N/A	340.13	0.06 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0.06	0.06	0.06	ppm
Cd (226.502 nm)	0.06	0.06	0.06	ppm

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (228.802 nm)	0,06	0,06	0,06	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	182,21	180,51	179,57
Cd (226.502 nm)	569,70	580,29	588,54
Cd (228.802 nm)	339,64	335,41	345,35

Sample Name: Standard 3

Date: 2020-01-27 12:51:16

Rack:Tube: 1:4

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,13	ppm	N/A	N/A	348,13	0,13 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,13	ppm	N/A	N/A	1137,83	0,13 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,13	ppm	N/A	N/A	687,07	0,13 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,13	0,13	0,13	ppm
Cd (226.502 nm)	0,13	0,13	0,13	ppm
Cd (228.802 nm)	0,13	0,13	0,13	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	351,24	341,52	351,62
Cd (226.502 nm)	1146,11	1135,91	1131,48
Cd (228.802 nm)	700,34	677,79	683,09

Sample Name: Standard 4

Date: 2020-01-27 12:52:52

Rack:Tube: 1:5

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,25	ppm	N/A	N/A	684,86	0,25 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,25	ppm	N/A	N/A	2255,61	0,25 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,25	ppm	N/A	N/A	1359,08	0,25 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,25	0,25	0,25	ppm
Cd (226.502 nm)	0,25	0,25	0,25	ppm
Cd (228.802 nm)	0,25	0,25	0,25	ppm

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	689,82	677,84	686,91
Cd (226.502 nm)	2265,26	2252,79	2248,78
Cd (228.802 nm)	1361,67	1353,71	1361,85

Sample Name: Standard 5

Date: 2020-01-27 12:54:29

Rack:Tube: 1:6

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,50	ppm	N/A	N/A	1384,21	0,50 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,50	ppm	N/A	N/A	4479,03	0,50 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,50	ppm	N/A	N/A	2794,23	0,50 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,50	0,50	0,50	ppm
Cd (226.502 nm)	0,50	0,50	0,50	ppm
Cd (228.802 nm)	0,50	0,50	0,50	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	1390,67	1388,23	1373,74
Cd (226.502 nm)	4513,62	4477,40	4446,07
Cd (228.802 nm)	2793,63	2785,91	2803,16

Sample Name: Sample 1

Date: 2020-01-27 12:56:06

Rack:Tube: 1:7

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,01	ppm	0,00	9,10	40,74	0,01 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,01	ppm	0,00	8,57	122,78	0,01 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,01	ppm	0,00	3,54	85,20	0,01 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,01	0,01	0,01	ppm
Cd (226.502 nm)	0,01	0,01	0,01	ppm
Cd (228.802 nm)	0,01	0,01	0,01	ppm

Replicates Intensity

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	44,56	38,41	39,24
Cd (226.502 nm)	130,52	126,11	111,69
Cd (228.802 nm)	87,83	82,42	85,36

Sample Name: Sample 2

Date: 2020-01-27 12:57:43

Rack:Tube: 1:8

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,01	ppm	0,00	11,37	41,15	0,01 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,01	ppm	0,00	3,61	116,95	0,01 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,01	ppm	0,00	4,09	81,88	0,01 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,01	0,02	0,01	ppm
Cd (226.502 nm)	0,01	0,01	0,01	ppm
Cd (228.802 nm)	0,01	0,01	0,01	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	39,51	45,94	38,00
Cd (226.502 nm)	115,61	121,38	113,86
Cd (228.802 nm)	85,33	80,37	79,94

Sample Name: Sample 3

Date: 2020-01-27 12:59:20

Rack:Tube: 1:9

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,12	ppm	0,00	1,75	339,62	0,12 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,12	ppm	0,00	1,17	1092,38	0,12 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,13	ppm	0,00	0,41	720,06	0,13 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,12	0,12	0,12	ppm
Cd (226.502 nm)	0,12	0,12	0,12	ppm
Cd (228.802 nm)	0,13	0,13	0,13	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	332,92	342,04	343,89
Cd (226.502 nm)	1080,15	1091,60	1105,39

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (228.802 nm)	720.19	722.93	717.07

Sample Name: Sample 4

Date: 2020-01-27 13:00:55

Rack:Tube: 1:10

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,12	ppm	0,00	1,62	340,61	0,12 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,12	ppm	0,00	0,51	1094,75	0,12 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,13	ppm	0,00	0,42	714,59	0,13 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,12	0,12	0,12	ppm
Cd (226.502 nm)	0,12	0,12	0,12	ppm
Cd (228.802 nm)	0,13	0,13	0,13	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	336,87	346,89	338,08
Cd (226.502 nm)	1088,45	1099,01	1096,80
Cd (228.802 nm)	711,13	716,14	716,49

Sample Name: Sample 5

Date: 2020-01-27 13:02:32

Rack:Tube: 1:11

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,27	ppm	0,00	0,95	761,97	0,27 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,27	ppm	0,00	1,03	2424,12	0,27 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,29	ppm	0,00	0,93	1588,67	0,29 (ppm)

Replicates Concentration

Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,27	0,28	0,28	ppm
Cd (226.502 nm)	0,27	0,27	0,27	ppm
Cd (228.802 nm)	0,29	0,29	0,29	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	753,77	764,99	767,14
Cd (226.502 nm)	2395,94	2442,98	2433,44
Cd (228.802 nm)	1574,20	1588,27	1603,55

Suite Annexe B

Untitled 27 01 2020 .esws

27 janvier 2020 13:07

Sample Name: Sample 6

Date: 2020-01-27 13:04:07

Rack:Tube: 1:12

Weight (g): 1

Volume (mL): 1

Dilution: 1

Analyte Results

Label	Solution Concentration	Unit	SD	%RSD	Intensity	Calculated Concentration
Cd (214.439 nm)	0,24	ppm	0,00	1,37	653,59	0,24 (ppm)
Cd (226.502 nm)	0,23	ppm	0,00	0,77	2103,18	0,23 (ppm)
Cd (228.802 nm)	0,25	ppm	0,00	0,54	1365,76	0,25 (ppm)

Replicates Concentration

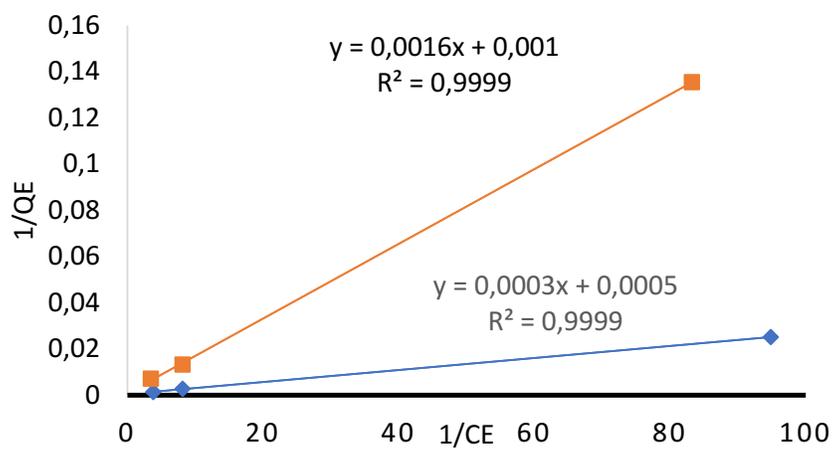
Label	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Units
Cd (214.439 nm)	0,23	0,24	0,24	ppm
Cd (226.502 nm)	0,23	0,23	0,23	ppm
Cd (228.802 nm)	0,25	0,25	0,25	ppm

Replicates Intensity

Label	Replicate 1 (c/s)	Replicate 2 (c/s)	Replicate 3 (c/s)
Cd (214.439 nm)	644,30	662,10	654,37
Cd (226.502 nm)	2112,29	2084,46	2112,79
Cd (228.802 nm)	1359,37	1373,80	1364,10

Annexe C Informations supplémentaires sur l'application de la version de l'isotherme d'adsorption de Langmuir

Figure S1. Ajustement des données analytiques d'adsorption du Cd²⁺ par oxyde de graphène par l'isotherme de Langmuir –



Références

- Amer, N. et Meyer, G. (1988). A simple method for a remote sensing of stylus deflection in AFM. *Bull. Am. Phys. Soc*, 33, 319.
- Anglaret, E., Dragin, F., Pénicaud, A. et Martel, R. (2006). Raman studies of solutions of single-wall carbon nanotube salts. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(9), 3949-3954.
- Ansari, M. I. et Malik, A. (2007). Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. *Bioresource technology*, 98(16), 3149-3153.
- Arvidsson, R., Molander, S. et Sandén, B. A. (2013). Review of potential environmental and health risks of the nanomaterial graphene. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 19(4), 873-887.
- Bechet, D., Couleaud, P., Frochot, C., Viriot, M.-L., Guillemin, F. et Barberi-Heyob, M. (2008). Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents. *Trends in biotechnology*, 26(11), 612-621.
- Behanzin, G. J., Adjou, E. S., Yessoufou, A. G., Ahoussi, E. D. et Sezan, A. (2014). Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. *Journal of Applied Biosciences*, 83(1), 7499-7505.
- Binnig, G., Gerber, C., Stoll, E., Albrecht, T. et Quate, C. (1987). Atomic resolution with atomic force microscope. *EPL (Europhysics Letters)*, 3(12), 1281.
- Borella, M. (2006). Contrôle de la fonctionnalisation de surface de revêtements obtenus par PECVD à partir d'un composé organosilicié cyclique. Institut National Polytechnique de Lorraine. 262 pp.
- Bourrelier, P.-H., Berthelin, J. et Pédro, G. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion:[organisé par l'Académie des sciences, 11 mai 1998] Tec & Doc.
- Caruso, F., Mantellato, S., Palacios, M. et Flatt, R. J. ICP-OES method for the characterization of cement pore solutions and their modification by polycarboxylate-based superplasticizers. *Cement and Concrete Research*, 91, 52-60.
- Chen, C. et Wang, X. (2006). Adsorption of Ni (II) from aqueous solution using oxidized multiwall carbon nanotubes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45(26), 9144-9149.

- Coats, A. et Redfern, J. (1963). Thermogravimetric analysis. A review. *Analyst*, 88(1053), 906-924.
- Das, P., Samantaray, S. et Rout, G. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental pollution*, 98(1), 29-36.
- Deng, X., Lü, L., Li, H. et Luo, F. The adsorption properties of Pb(II) and Cd(II) on functionalized graphene prepared by electrolysis method. *Journal of Hazardous Materials*, 183(1), 923-930.
- Di Benedetto, M. (1997). Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation: métaux lourds. axe: génie des procédés, centre spin, école des mines de Saint-Etienne.
- Di Toppi, L. S. et Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and experimental botany*, 41(2), 105-130.
- Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W. et Ruoff, R. S. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chemical society reviews*, 39(1), 228-240.
- Drost, W., Matzke, M. et Backhaus, T. (2007). Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. *Chemosphere*, 67(1), 36-43.
- Ember, K. J. I., Hoeve, M. A., McAughtrie, S. L., Bergholt, M. S., Dwyer, B. J., Stevens, M. M., Campbell, C. J. Raman spectroscopy and regenerative medicine: a review. *npj Regenerative Medicine*, 2(1), 12.
- Environnement Canada. (1999). Méthode d'essai biologique: Essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole *Lemna minor*. *Culture*, 2, 1.
- Ferrari, A. C. et Basko, D. M. Raman spectroscopy as a versatile tool for studying the properties of graphene. *Nature Nanotechnology*, 8(4), 235-246.
- Garg, B., Bisht, T. et Ling, Y.-C. (2014). Graphene-based nanomaterials as heterogeneous acid catalysts: a comprehensive perspective. *Molecules*, 19(9), 14582-14614.
- Geng, Z. et Feng, S. (2010). Doping and temperature dependence of electronic Raman response in cuprate superconductors. *Physics Letters A*, 375(2), 214-219.
- Gerber, I. B. et Dubery, I. A. Fluorescence microplate assay for the detection of oxidative burst products in tobacco cell suspensions using 2',7'-dichlorofluorescein. *Methods in Cell Science*, 25(3), 115-122.

- Giocondi, M.-C., Milhiet, P. E., Lesniewska, E. et Le, C. G. (2003). Atomic force microscopy: from cellular imaging to molecular manipulation. *Medecine sciences: M/S*, 19(1), 92-99.
- OGel, J., Kadirvelu, K., RajaOGpal, C. et Garg, V. (2006). Cadmium (II) uptake from aqueous solution by adsorption onto carbon aerogel using a response surface methodological approach. *Industrial & engineering chemistry research*, 45(19), 6531-6537.
- Gómez-Navarro, C., Weitz, R. T., Bittner, A. M., Scolari, M., Mews, A., Burghard, M. et Kern, K. (2007). Electronic transport properties of individual chemically reduced graphene oxide sheets. *Nano letters*, 7(11), 3499-3503.
- Guzzo, A. et DuBow, M. (1994). Identification and characterization of genetically programmed responses to toxic metal exposure in *Escherichia coli*. *FEMS microbiology reviews*, 14(4), 369-374.
- Haddou, M. (2010). Dégradation de dérivés de l'acide benzoïque par les procédés d'oxydation avancée en phase homogène et hétérogène: procédés Fenton, photo-Fenton et photocatalyse. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Haugland, R. P. (2005). *The handbook: a guide to fluorescent probes and labeling technologies*. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- He, H., Klinowski, J., Forster, M. et Lerf, A. A new structural model for graphite oxide. *Chemical Physics Letters*, 287(1), 53-56.
- Hill, S. J., Fisher, A. et Foulkes, M. (2007). Basic concepts and instrumentation for plasma spectrometry. *Inductively coupled plasma spectrometry and its applications*, 61.
- Hofmann, U. et Holst, R. Über die Säurenatur und die Methylierung von Graphitoxyd. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 72(4), 754-771.
- Hu, C., Liu, L., Li, X., Xu, Y., Ge, Z. et Zhao, Y. Effect of graphene oxide on copper stress in *Lemna minor* L.: evaluating growth, biochemical responses, and nutrient uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 341, 168-176.
- Hu, C., Wang, Q., Zhao, H., Wang, L., Guo, S. et Li, X. (2015). Ecotoxicological effects of graphene oxide on the protozoan *Euglena gracilis*. *Chemosphere*, 128, 184-190.
- Hummers, W. S. et Offeman, R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, 80(6), 1339-1339.

- Jansen, E., Michels, M., Van Til, M. et Doelman, P. (1994). Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. *Biology and Fertility of soils*, 17(3), 177-184.
- Kabata-Pendias, A. et Pendias, H. (2001). *Trace elements in soils and plants*, 3rd edn CRC Press. Boca Raton, FL, USA.
- Neupane, R. et Lekhak, H. (2003). Effect of industrial effluents on agricultural crops and soil, 86 pp.
- Kucinskis, G., Bajars, G. et Kleperis, J. (2013). Graphene in lithium ion battery cathode materials: A review. *Journal of Power Sources*, 240, 66-79.
- Lerf, A., He, H., Forster, M. et Klinowski, J. (1998). Structure of graphite oxide revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(23), 4477-4482.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Dans *Methods in Enzymology* (vol. 148, p. 350-382). Academic Press.
- Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G. et Grasselli, J. G. (1991). *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules* Elsevier.
- Louragini, D. (2016). Élimination du cuivre en solution par la sciure de bois. *École de technologie supérieure*. pp 111.
- Manohar, S. (2008). *FTIR Spectroscopic studies of atmospheric molecules in ice and on ice surfaces*: Bremen University: Bremen, Germany.
- Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A. et Tour, J. M. (2010). Improved synthesis of graphene oxide. *ACS nano*, 4(8), 4806-4814.
- Matlock, M. M., Howerton, B. S. et Atwood, D. A. (2002). Chemical precipitation of lead from lead battery recycling plant wastewater. *Industrial & engineering chemistry research*, 41(6), 1579-1582.
- Mendelssohn, I., McKee, K. et Kong, T. (2001). A comparison of physiological indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3), 263-275.

- Meunier, F. (2011). Montage et caractérisation d'un système de spectroscopie Raman accordable en longueur d'onde utilisant des réseaux de Bragg comme filtre: application aux nanotubes de carbone. 84 pp.
- Mohan, D. et Singh, K. P. Single- and multi-component adsorption of cadmium and zinc using activated carbon derived from bagasse—an agricultural waste. *Water Research*, 36(9), 2304-2318.
- Montes-Navajas, P., Asenjo, N. G., Santamaría, R., Menendez, R., Corma, A. et García, H. (2013). Surface area measurement of graphene oxide in aqueous solutions. *Langmuir*, 29(44), 13443-13448.
- Moreno-Castilla, C., Alvarez-Merino, M., López-Ramón, M. et Rivera-Utrilla, J. (2004). Cadmium ion adsorption on different carbon adsorbents from aqueous solutions. Effect of surface chemistry, pore texture, ionic strength, and dissolved natural organic matter. *Langmuir*, 20(19), 8142-8148.
- Nakajima, T., Mabuchi, A. et Hagiwara, R. A new structure model of graphite oxide. *Carbon*, 26(3), 357-361.
- Novoselov, K. S., Fal, V., Colombo, L., Gellert, P., Schwab, M. et Kim, K. (2012). A roadmap for graphene. *Nature*, 490(7419), 192-200.
- OECD. (2006). 221: *Lemna* sp. growth inhibition test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals; Organization for Economic Cooperation and Development: Paris, France.
- Ouariti, O., Oguia, H. et Ghorbal, M. H. (1997). Responses of bean and tomato plants to cadmium: growth, mineral nutrition, and nitrate reduction. *Plant physiology and biochemistry (Paris)*, 35(5), 347-354.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L. et Dewez, D. Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(4), 902-907.
- Ozbas, B., O'Neill, C. D., Register, R. A., Aksay, I. A., Prud'homme, R. K. et Adamson, D. H. (2012). Multifunctional elastomer nanocomposites with functionalized graphene single sheets. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 50(13), 910-916.
- Paqueton, H. et Ruste, J. (2006). Microscopie électronique à balayage Principe et équipement. *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation*, (P865v2).

- Paredes, J., Villar-Rodil, S., Martínez-Alonso, A. et Tascon, J. (2008). Graphene oxide dispersions in organic solvents. *Langmuir*, 24(19), 10560-10564.
- Peralta-Videa, J. R., Zhao, L., Lopez-Moreno, M. L., de la Rosa, G., Hong, J. et Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Nanomaterials and the environment: a review for the biennium 2008–2010. *Journal of hazardous materials*, 186(1), 1-15.
- Rivoal, J.-C. et Frétygny, C. (2005). Microscopie à force atomique (AFM). *Techniques de l'ingénieur. Mesures et contrôle*, (R1394).
- Ruess, G. (1947). Über das graphitoxhydroxyd (graphitoxyd). *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*, 76(3-5), 381-417.
- Scholz, W. et Boehm, H. P. Untersuchungen am Graphitoxid. VI. Betrachtungen zur Struktur des Graphitoxids. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 369(3-6), 327-340. doi: 10.1002/zaac.19693690322
- Simonescu, C. M. (2012). Application of FTIR spectroscopy in environmental studies. *Advanced Aspects of Spectroscopy*, 49-84.
- Stobart, A. K., Griffiths, W. T., Ameen-Bukhari, I. et Sherwood, R. P. (1985). The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiologia Plantarum*, 63(3), 293-298.
- Szabó, T., Berkesi, O., Forgó, P., Josepovits, K., Sanakis, Y., Petridis, D. et Dékány, I. Evolution of Surface Functional Groups in a Series of Progressively Oxidized Graphite Oxides. *Chemistry of Materials*, 18(11), 2740-2749.
- Tan, I., Ahmad, A. et Hameed, B. (2008). Adsorption of basic dye on high-surface-area activated carbon prepared from coconut husk: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Journal of hazardous materials*, 154(1-3), 337-346.
- Tang, Y., Tian, J., Li, S., Xue, C., Xue, Z., Yin, D. et Yu, S. Combined effects of graphene oxide and Cd on the photosynthetic capacity and survival of *Microcystis aeruginosa*. *Science of The Total Environment*, 532, 154-161.
- Tkalec, M., Prebeg, T., Roje, V., Pevalek-Kozlina, B. et Ljubešić, N. Cadmium-induced responses in duckweed *Lemna minor* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(6), 881-890.

- Vandenabeele, P., Edwards, H. G. et Moens, L. (2007). A decade of Raman spectroscopy in art and archaeology. *Chemical reviews*, 107(3), 675-686.
- Wu, M., Kempaiah, R., Huang, P.-J. J., Maheshwari, V. et Liu, J. (2011). Adsorption and desorption of DNA on graphene oxide studied by fluorescently labeled oliOGnucleotides. *Langmuir*, 27(6), 2731-2738.
- Yahiatene, D. (2016). Mise au point et validation d'une méthode de dosage de la méthylprédnisolone par spectrophotométrie UV/Visible. universite de bouira.
- Yin, Z., Zhu, J., He, Q., Cao, X., Tan, C., Chen, H., Zhang, H. (2014). Graphene-based materials for solar cell applications. *Advanced energy materials*, 4(1), 1300574.
- Zhao, G., Li, J., Ren, X., Chen, C. et Wang, X. Few-Layered Graphene Oxide Nanosheets As Superior Sorbents for Heavy Metal Ion Pollution Management. *Environmental Science & Technology*, 45(24), 10454-10462. doi: 10.1021/es203439v
- Zhao, J., Liu, L. et Li, F. (2015). *Graphene oxide: physics and applications* (vol. 1) Springer.
- Zurutuza, A. et Marinelli, C. (2014). Challenges and opportunities in graphene commercialization. *Nature nanotechnology*, 9(10), 730-734.