



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Appliquée

Par :

BOUMEDIUO KHAYRA

Sur le thème

Etude de l'activité antibactérienne des matériaux nanostructurés à base d'argent

Soutenu publiquement le 13 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Président	Mr BENABDALLAH Mohamed	MCB	Université de Tlemcen
Encadrante	Mme CHAKER Hanane	MCA	Université d'Ain Tmouchent
Examinateur	Mr CHOUKCHOU-BRAHAM Abderrahim	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme BENAÏSSA Sihem	MCB	ENSTP Alger

*Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique
BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

Dédicace

À mes plus chers au monde, à mes parents. À mon père, grâce à ton soutien, tes conseils, tes orientations, ton aide et tes prières que je suis là. Espérant que je suis à la hauteur de tes pensées. Que dieu te donne de la santé et te protège pour nous. À ma mère, grâce à ton amour, tes inquiétudes, tes sacrifices, tes encouragements, et tes prières que j'arrive là. Espérant que tu es satisfaite de ta fille. Que dieu te donne de la santé et te garde pour nous.

À mes frères et leurs femmes, à ma sœur pour tes encouragements et ton soutien, tu as tout mon estime et ma gratitude. Que dieu te protège et te garde.

À mon fiancé, grâce à ta compréhension, tes encouragements, ton soutien et pour ta confiance.

Remerciement

Ce travail a été réalisé au laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique (LCSCO) de l'Université de Tlemcen.

Je voudrais remercier vivement Mr Nouredine CHOUKCHOU-BRAHAM, Professeur à l'Université de Tlemcen pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique

Je tiens à remercier tout particulièrement mon encadreur « **Madame Hanane CHAKER** » d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Un grand merci pour les conseils précieux et l'orientation ficelée, la sympathie, la gentillesse, la confiance, la patience, et la disponibilité que vous avez manifestés à notre égard tout au long de notre travail. Merci madame.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur **Mohammed AISSAOUI** et monsieur **Ilyas CHIKHI** pour leur aide, leur orientation et leur présence au cours de mon test biologique.

Je tiens à remercier également Monsieur **BENABDELLAH** Maître de conférence à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le Jury de ce mémoire de Master.

J'aimerais exprimer ma sincère reconnaissance aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer ce travail : à Monsieur **Abderrahim CHOUKCHOU-BRAHAM** Professeur à l'Université de Tlemcen et Madame **Sihem BENAÏSSA** Maître de conférence à l'ENSTP Alger.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur **Abdelkader. BENGUEDDACH** Professeur à l'université d'Oran pour les de mes échantillons.

Sans oublier bien sûr de remercier Madame **Sumeya Bedran** Professeur à l'université de Tlemcen pour tous ses conseils et ses orientations

Je tiens aussi à remercier Fatima Mokri pour leur aide, SUMEYA Miloudi pour la DRX et tous les membres du laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique (LCSCO).

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I.1.Bactéries étudiées.....	2
I.1.a.Définition des bactéries.....	2
• Eschrichia coli.....	2
• Staphylococcus aureus.....	2
• Acinitobacter.....	2
• Enterobacter cloacae.....	3
I.2.Agents antimicrobiens.....	3
I.2.1.Produits utilisant le tricolson.....	3
I.2.2.Agents antimicrobiens organiques.....	4
➤ Huiles essentielles.....	4
➤ Chlorure de poly (hexaméthylène Biguanide) PHMB.....	4
➤ Hexaméthylène tétramine (HMT) en tant que biocide	4
I.2.3.Agents antimicrobiens inorganique.....	4
I.2.3.1.Le dioxyde de titane.....	5
I.2.3.1.a.Les différentes formes de TiO ₂	5
I.2.3.1.b. Modification de dioxyde de titane.....	5
• Modification de TiO ₂ avec les métaux	6
• Dopage de TiO ₂ avec l'argent.....	6
• Le mécanisme d'action d'Ag.....	7
I.2.3.2.L'oxyde de cuivre.....	7
• Mécanisme d'action.....	8
I.4.activité antioxydante.....	8
I.4.1.le stress oxydatif.....	8
I.4.2.le système antioxydant.....	9
Chapitre II : Partie expérimentale	
II.1.Préparation des matériaux.....	10
II.1.1.Produits utilisés.....	10
II.1.2.Matériels biologiques.....	10

II.1.3. Préparation de TiO ₂ mésoporeux.....	10
II.1.4.Préparation de TiO ₂ dopé à l'argent.....	10
II.1.5.Préparation de l'oxyde de cuivre mésoporeux.....	11
II.1.5.a.Synthèse de SBA-15.....	11
II.1.5.b.Synthèse de l'oxyde de cuivre mésoporeux.....	11
II.2.Théchniques de caractérisation des matériaux.....	11
II.2.1.Diffraction des rayons X (DRX).....	11
• Principe.....	12
• Apareillage.....	12
II.2.2. Caractérisation par UV-Visible en réflexion diffuse (UV-Vis en RD).....	13
• Principe.....	13
• Reflexion diffuse.....	13
• Appareillage.....	13
II.2.3.Adsorption-désorption d'azote.....	13
• Principe.....	13
• Détermination de la surface BET.....	14
• Appareillage.....	15
II.2.4.Caractérisation par infrarouge à transsformée de Fourier (FTIR).....	15
• Principe.....	15
II.3.test biologique.....	15
II.3.1.Activité antibactérienne.....	15
• Première partie.....	16
• Deuxième partie.....	16
• Troisième partie.....	16
II.3.2.Activité antioxydante.....	17
II.3.2.a.Téchnique d'évaluation de l'activité antioxydante.....	17
• Test de réduction du radical DPPH°.....	17
II.3.2.b.Protocole.....	18
II.3.2.c.Expression des résultats.....	18

Chapitre III : A. Caractérisation de TiO₂ mésoporeux dopé à l'argent

B.Activité antibactérienne vis-à-vis quatres souches bactérienne

C.Activité antioxydante vis-à-vis DPPH

III.A.Caractérisation des catalyseurs à base de TiO ₂ dopés à l'argent.....	19
III.A.1.Étude des catalyseurs synthétisés par diffraction des rayons X (DRX).....	19
III.A.2. Étude des catalyseurs synthétisés par spectroscopie UV Visible en Réflexion Diffuse (UV -Vis /RD).....	20
III.A.3 Étude des catalyseurs synthétisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	21
III.A.4. Caractérisation par adsorption d'azote des catalyseurs à base d'argent.....	22
III.B. Activité antibactérienne.....	24
III.C.Activité antioxydante.....	27
• Test de réduction du radical DPPH°.....	27
❖ Discussion des résultats obtenus.....	29
Conclusion générale.....	30

Liste des figures

Figure I.1. Images MEB de (a) :E.coli, (b) :S.aureus, (c) A.bacter et (d) :E.bacter

Figure I.2. Produits commerciaux contenant du tricolson

Figure I.3 : schéma représentatif des structures cristallines de TiO₂

Figure I.4: schéma représentatif de mécanisme d'action des NPs d'argent

Figure II.1. Loi de Bragg donnant les valeurs de la distance interréticulaires d

Figure II.2. Diffractomètre Rigaku MiniFlex 600

Figure II.3. schéma représentatif des deux composant de reflexion : spéculaire(Rs) et diffuse(Rd)

Figure II.4. Les types d'isotherme selon la classification de l'IUPAC

Figure II.5. Appareil de mesure BET « Nova1000 »

Figure II.6. Agilent technologies Cary 640 série IRTF

Figure II.7. Etape d'ensemencement des bactéries

Figure II.8. Préparation de l'inoculum

Figure II.9. Incubation des bactéries avec les catalyseurs préparés

Figure II.10. Structure de : 1) DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et 2) DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine)

Figure III.1 : Diffractogrammes des différents catalyseurs préparés en fonction de la teneur en Ag

Figure III.2 : Spectres UV-Vis/RD des différents catalyseurs préparés

Figure III. 3. Caractérisation par IR des matériaux à base d'argent.

Figure III.4. Isothermes d'adsorption et de désorption d'azote et la distribution de tailles des pores des matériaux préparés

Figure III.5. Effet antibactérien de TiO₂ pur et 0,1% Ag/TiO₂ à différentes concentrations ; A)20 mg de TiO₂, B)2,5 mg Ag/TiO₂5mg et C)5mg et D) 10mg sur 1)*S.aureus*, 2) *A.baumannii*, 3)*E.cloacae* et 4)*E.coli* ATCC 8739

Figure III.6. Résultat après 24h d'incubation à 1,5%Ag/TiO₂ **1)** :*S.aureus* **2)**: *E.coli* **3)** : *E.bacter cloacae* **4)** : *A.bacter baumannii*

Figure III.7.Résultat du test biologique après 24 h d'incubation **A)** 3%Ag/TiO₂ **B)** 5%Ag/TiO₂ **C)** 10%Ag/TiO₂ sachant que **1)**: *E.coli* ATCC 8739 ,**2)***E.cloacae* 13047 , **3)** :*S.aureus* ATCC 6538 et **4)** : *A.bacter baumannii*

Liste des tableaux

Tableau I.1. Principales propriétés des formes de TiO₂

Tableau I.2. Activité antibactérienne de TiO₂ modifié

Tableau II.1. Caractéristiques des produits chimiques utilisés

Tableau III.1: Tailles moyennes des particules calculées pour les particules de titane et pour les différentes espèces d'argent dans l'ensemble des catalyseurs préparés) (n.d. = non déterminée)

Tableau III.2. Propriétés texturales de la série des matériaux préparés en fonction de la teneur en Ag

Tableau III.3. Concentrations minimales inhibitrice de X% Ag/TiO₂ vis-à-vis des quatres souches (mg/mL).

Tableau III.4. Test de réduction du radical DPPH° par les catalyseurs à base d'argent

Liste des abréviations

A.bacter	Acinitobacter
BET	Théorie Brunauer ; Emmet et Teller
CDC	Centre de contrôle et de prévention des maladies
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DPPH°	le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
DPPH-H	2,2-diphényl-1-picrylhydrazine
DRX	Diffraction des rayons X
E.bacter	Enterobacter
E.cloacae	Enterobacter cloacae
E.coli	Escherichia coli
EPA	Agence américaine de protection de l'environnement
ERN	Espèces réactive de nitrogène
ERO	Espèces réactive à l'oxygène
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Transmission infrarouge à fourier
HMT	Hexaméthylène tétramine
IC ₅₀ (EC ₅₀)	le taux de réduction de 50% de DPPH°
OMS	Organisation mondiale de la santé
PHMB	Chlorure de poly(hexaméthylène Biguanide)
ROS	Espèces réactive de l'oxygène
TCS	Tricolson

Introduction générale

Introduction générale

99% des bactéries qui sont présentes dans notre environnement vivent sur des surfaces solides : les micro-portables, les hôpitaux... On les trouve dans les aliments comme les produits laitiers, les viandes, les fruits... Ces bactéries ont des effets néfastes surtout sur la santé humaine.

L'OMS estime que plus d'une personne sur 10 tombe malade en mangeant des aliments contaminés et cause 420 000 décès chaque année dans le monde. Selon le CDC, plus de 250 maladies d'origine alimentaire connues sont causées par 31 agents pathogènes microbiens (bactéries, champignons, virus et parasites.....)[1]. Par ailleurs, les pathologies d'origine alimentaires n'arrêtent pas d'augmenter dans le monde entier. L'adhésion et la diffusion bactérienne sont une préoccupation sérieuse dans la vie quotidienne, elles sont responsables des dommages importants dans plusieurs secteurs, y compris le textile, le traitement des eaux usées, le transport, la médecine et l'emballage alimentaire[2].

Le développement de la nanotechnologie conduit au développement des nanomatériaux qui constituent une approche prometteuse pour contrôler l'activité bactérienne et fournir des solutions aux défis rencontrés surtout par le secteur agroalimentaire et biomédicale en raison de leurs propriétés spéciales et de leurs dimensions réduites[3]. A cet égard, les nanoparticules d'argent sont des candidats prometteurs à utiliser comme des agents antibactériens dans l'emballage alimentaire, la cosmétique, la peinture...etc. Ils possèdent une très forte activité contre une large gamme de microorganisme y compris : les champignons, les bactéries, les virus même à des concentrations relativement faibles[4]. Récemment, les nanoparticules d'Ag ont attiré de plus en plus l'attention des chercheurs en raison de leurs applications thérapeutiques anti cancérogène [5, 6], des résultats positifs ont été obtenus lors de l'intégration de nanoparticules d'Ag dans des traitements du cancer[6]. Le présent travail s'intéresse beaucoup plus à l'activité antibactérienne et antioxydante des nanoparticules d'argent supportées, il a été prouvé que l'association des nanoparticules d'Ag avec un oxyde métallique mésoporeux permet l'amélioration des performances des catalyseurs.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante des nanoparticules d'Ag supportées. Ce mémoire est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre est relatif à une synthèse bibliographique sur les bactéries les plus fréquemment rencontrées. Nous focalisons nos efforts sur l'état de l'art notamment sur les agents qui peuvent être incorporés dans des surfaces solides sous forme de couches telles que l'argent et son mécanisme d'action. La deuxième partie de ce chapitre aborde une petite recherche sur l'activité antioxydante.

Le second chapitre concerne les protocoles suivis pour la préparation des catalyseurs à base d'argent supporté sur TiO_2 et CuO avec différents teneurs suivis par diverses techniques physico-chimiques employées pour étudier les propriétés texturales et structurales, et en fin les tests antibactériens et antioxydants pour l'évaluation des matériaux nanostructurés à base d'Ag.

Le troisième chapitre regroupe les différents résultats obtenus tout en étudiant les propriétés texturales et structurales des catalyseurs synthétisés ($X\% \text{Ag}/\text{TiO}_2$ et $Y\% \text{Ag} / \text{CuO}$) .

En fin la discussion des résultats obtenus pour les tests antibactériens et antioxydants aura lieu.

Chapitre 9 :

Recherches bibliographiques

I.1. Bactéries étudiées :

I.1.a. Définition des bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes unicellulaires, au même titre que les virus et les champignons, elles ne possèdent pas d'organite ni de noyau. Elles sont très nombreuses et ont souvent été considérées comme des agents pathogènes. La cellule bactérienne est entourée par une membrane plasmique et une enveloppe rigide (la paroi) qui lui donne sa forme. Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif par une différence de composition pariétale. La paroi des bactéries à Gram positif est riche en acide teichoïque et en acide diaminopimélique qui sont absents ou moins abondants chez les bactéries à Gram négatif, lesquelles ont une paroi plus riche en lipides

Nous avons étudié quatre souches de bactéries :

- *Escherichia coli* :

E. coli est un bacille à Gram négatif qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. *E. coli* c'est une espèce bactérienne aérobie commensale la plus fréquente du microbiome digestif. Elle est également un pathogène majeur chez l'homme, responsable de pathologies intestinales : gastro-entérite et toxi-infection alimentaire, mais aussi de pathologies extra-intestinales : infections urinaires, syndromes hémolytiques et urémiques, bactériémies et méningites néonatales [7]. Elle s'établit dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. C'est l'une des bactéries de référence, généralement peu pathogène et d'une opération peu complexe. Dans des conditions favorables pour la croissance, la décélération observée in vivo s'explique par une période de latence plus longue liée au milieu nutritif. Généralement elle est sous forme de bâtonnets de longueur de 2-4 μm (**Figure I.1.a**)

- *Staphylococcus aureus* :

Ou le *staphylocoque doré* est la souche de *staphylocoque* la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et vétérinaire. Son nom a été adopté par *Rosenbach* en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique [8]. C'est l'une des bactéries à Gram positif. C'est une bactérie pyogène et toxigène responsable d'infections nosocomiales et communautaires représentant par conséquent de graves problèmes de santé [9], elle est également en tête des bactéries responsables d'intoxications alimentaires. Généralement, elle est sous forme de coque sphérique de diamètre sphérique d'1 μm . (**Figure I.1.b**)

- *Acinetobacter* :

Sont des bacilles aérobie à Gram négatif, non fermentant, catalase-positifs, oxydase-négatifs et immobiles, appartenant à la famille des *Moraxellaceae* [10] font souvent partie de la flore cutanée saprophyte saine de la peau humaine dont au moins un quart des personnes portent cette bactérie sans danger sur leurs peaux ; cette bactérie est ubiquitaire (sol, eau, végétaux...) et souvent retrouvée dans les endroits humides [11]. Cependant, certaines souches ont été

impliquées dans de nombreuses maladies contagieuses où elles peuvent provoquer des graves infections surtout chez les personnes immunodéprimées et qui sont souvent résistantes aux antibiotiques y compris *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) qui cause la pneumonie et la bactériémie (infection du sang)[12](Figure I.1.c)

- *Enterobacter cloacae* :

Est une bactérie ubiquitaire à Gram négatif, anaérobie facultative, en forme de bâtonnet appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* ; *E. cloacae* est trouvée en commensal dans la flore intestinale de nombreux humains et animaux [13]. Les *enterobacters* sont également parmi les agents pathogènes nosocomiaux les plus répandus qui sont responsables d'une diversité d'infections opportunistes graves, y compris les bactériémies, les infections intra-abdominales, des voies respiratoires inférieures, des voies urinaires, de la peau et des tissus mous, ainsi que l'endocardite, l'ostéomyélite, l'arthrite septique et la septicémie acquise à l'hôpital.[14](Figure I.1.d)

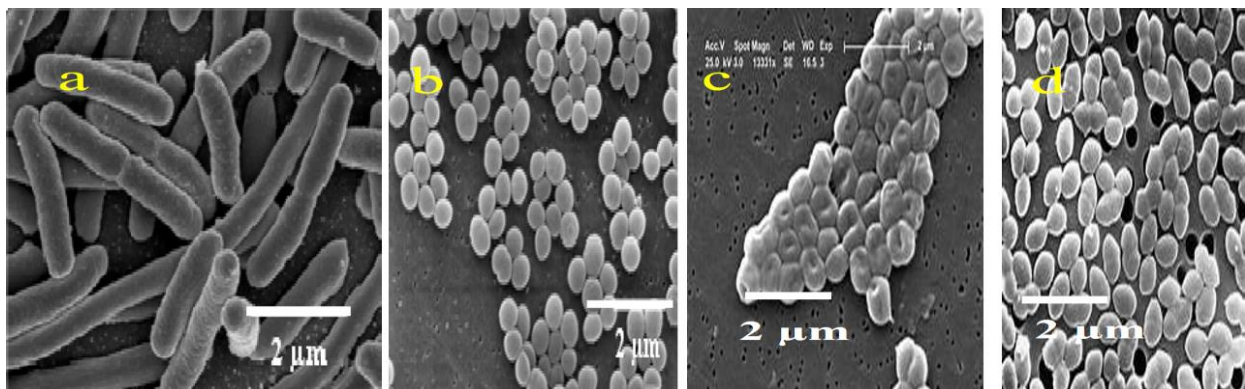


Figure I.1. images de MEB des différentes bactéries étudiées ; (a) :*E.coli*, (b) :*S.aureus*, (c) : *A.bacter* et (d) :*E.bacter*

I.2.Agents antimicrobiens :

I.2.1.Produits utilisant le tricolsone :

Le tricolsone (TCS) est un composé antimicrobien largement utilisé depuis les années 1970, et utilisé massivement dans des centaines de produits courants depuis le début des années 1990, dont plus de 2000 produits de consommation tels que le dentifrice, les déodorants, les savons, d'autres produits cosmétiques, des ustensiles de cuisine et des jouets [15] il est également utilisé dans les produits pharmaceutiques comme les soins personnels [16], au point qu'en 2018 l'exposition au tricolsone est pratiquement inévitable aux États-Unis [15].

L'utilisation du TCS a été limitée par le FDA dans les produits de consommation et de lavage[17] car il pose un souci pour l'environnement .



Figure I.2 : Produits commerciaux contenant du tricloson [18]

I.2.2. Agents antimicrobiens organiques :

➤ Huiles essentielles :

Elles sont des composés aromatiques obtenues par distillation extractive des plantes (herbes, roses, feuilles, fruits, graines, bourgeons, écorces et racines). Il y a plusieurs types d'huiles nécessaires connus pour leurs propriétés antibactériennes (essence de térébenthine, de romarin, de lavande, d'anis, etc...)[19]

➤ Chlorure de poly(hexaméthylène Biguanide)PHMB :

Le PHMB (son nom commercial est Vantocil,) est constitué par une succession de molécules de biguanide et d'hexaméthylène. Sa masse molaire est d'approximativement 2500 g/mol. Il y a formation de cations quand il est en milieu aquatique, ce qui lui donne son caractère antibactérien [20]

➤ Hexaméthylène tétramine (HMT) en tant que biocide :

Celui-ci est un intermédiaire antimicrobien tiré des entreprises médicales dont l'action est la conséquence de la libération de formaldéhyde qui agit sur les enzymes et les protéines présentes dans la cellule bactérienne. L'incorporation de 5 % de HMT dans le polyéthylène à basse densité (PEBD)[21] permettant la diminution de la quantité des bactéries lactiques de 108 UFC/g à 106,5 UFC/g

I.2.3. Agents antimicrobiens inorganiques :

Les agents antimicrobiens inorganiques sont généralement des matériaux de type oxyde métallique, les sels métalliques, et des métaux supportés. La naissance des agents pathogènes résistants aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique. De ce fait, plusieurs études ont été effectuées pour conforter ce problème.

Il a été rapporté que plus de 70 % des infections bactériennes sont résistantes à des antibiotiques[22]. Ainsi, l'utilisation de nanomatériaux et d'oxydes métalliques comme agents antibactériens est une grande alternative.

Il a été prouvé que plusieurs nanoparticules métalliques sont toxiques pour les microorganismes citant Au, Ag, Cu [23], les oxydes métallique : CuO [24], MgO [25-27], Fe₂O₃ [20], CaO [28], TiO₂ [29, 30], ZnO [31, 32]. Elles sont connues par leurs activités photocatalytiques et antibactériennes prononcées même à des faibles concentrations [4, 33, 34]. Les oxydes métalliques ayant une haute stabilité thermique et réutilisable après plusieurs cycles, ce que les rend plus intéressants que les agents organiques.

I.2.3.1. Le dioxyde de titane :

I.2.3.1.a. Les différentes formes de TiO₂ :

Le TiO₂ est caractérisé par plusieurs variétés allotropiques dépendent de la température d'élaboration dont les plus stables et les plus connues sont : l'anatase, le rutile et la brookite. L'anatase est la forme la plus stable et la plus active.

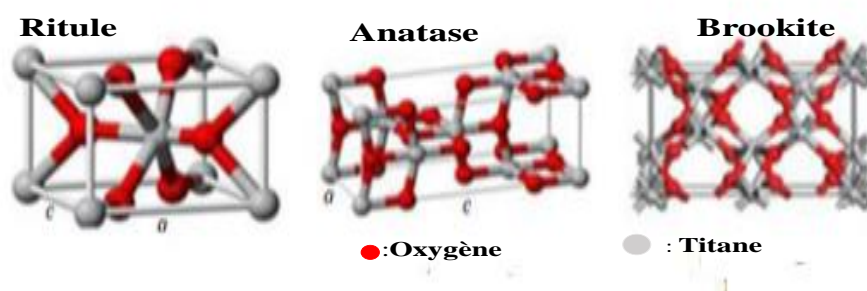


Figure I.3 : schéma représentatif des structures cristallines de TiO₂

Dans la structure cristalline de TiO₂, chaque ion Ti⁴⁺ est entouré d'un octaèdre de six atomes d'oxygène (O₂⁻), tandis que chaque atome d'oxygène contient trois atomes de titane. L'octaèdre en rutile est irrégulier, L'octaèdre dans l'anatase est significativement déformé de sorte que sa symétrie est inférieure à orthorhombique [35].

Le tableau suivant regroupe les principales propriétés physicochimiques et structurales des différentes formes du dioxyde de titane :

Tableau I.1: principales propriétés des formes de TiO₂

Phase	anatase	rutile	brookite
Système cristallin	quadratique	quadratique	orthodromique
Masse volumique (g/cm³)	3,79	4,23	4,12
Energie de gap (eV)	3,2	3,0	3,14
Indice de réfraction	2,561 – 2,488	2,605 - 2,903	2,583 – 2,7

I.2.3.1.b. Modification de dioxyde de titane :

En 1985, Matsunaga et al. ont donné le mécanisme photocatalytique de la destruction des cellules microbiennes : *Escherichia coli* et *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerisaie* (levure) et *Chlorella vulgaris* (algues vertes) dans l'eau en présence de Pt-TiO₂ comme photocatalyseur [36]. Par la suite plusieurs recherches ont été effectuées sur les performances photocatalytiques antimicrobiennes des nanoparticules de TiO₂ [34, 37, 38].

Le dopage de TiO₂ a été adopté pour améliorer l'activité photocatalytique des matériaux, tout en diminuant l'énergie de gap et étendre son activité dans le domaine du visible et sert aussi à améliorer son activité antibactérienne [36, 39].

Zhao et al. [40] ont évalué l'activité antibactérienne de TiO₂ dopé à S, Mg, Li, Fe et Co sur deux bactéries de référence : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ils ont trouvé que *S.aureus* est plus résistante que le *E.coli* et l'activité antibactérienne du dioxyde de titane été meilleure en présence des nanoparticules métalliques incorporées dans la surface.

- **Modification de TiO₂ avec les métaux :**

L'effet antibactéricide des éléments métalliques y compris l'argent et le cuivre est connu depuis la période romaine en utilisaient des assiettes et des verres composés de l'argent pour leurs effet antibactéricide. Différents types des nanomatériaux ont été étudiés pour évaluer leurs activités contre les bactéries : Zn [41] mais ils est trop critiqué en raison de son faible activité, Pt [42], Au [43, 44], Ni [45] qui un élément très dangereux pour l'homme, Ge [46], Cu [47, 48], Ag [49, 50], les nanoparticules d'argent ont été considérées comme les plus efficaces pour lutter contre les bactéries et même les virus, champignons et d'autres microorganismes [51].

- **Dopage de dioxyde de titane avec l'argent :**

L'association de l'argent avec TiO₂ vise à tirer profit des propriétés photocatalytiques de ce semiconducteur : sa haute stabilité chimique, son faible cout, son inertie chimique, sa grande surface spécifique et sa large bande interdite, ces avantages font du dioxyde de titane un semiconducteur multifonctionnel ; l'activité antibactérienne d'Ag/TiO₂ est largement étudiée dans la littérature [52-54].

Il a été prouvé que l'incorporation des nanoparticules d'argent dans le dioxyde de titane améliore l'activité antibactérienne de ce dernier [53, 54]. D'autres chercheurs ont étudié l'effet de la teneur en argent, ils ont montré que plus la teneur en argent est importante, meilleure est l'activité antibactérienne [4, 34].

Tableau I.2. Activité antibactérienne de TiO₂ modifié

Catalyseurs	Résultats	Références
TiO ₂	Activité antibactérienne après 24h d'incubation	[29]
TiO ₂	Dégradation de 10% des bactéries après 2h	[30]
Ag-TiO ₂	Réduction de 97,5% des bactéries après 24h	[53]
Ag-TiO ₂	Réduction de 50,7% du <i>S.aureus</i> après 1h	[54]
Ag-TiO ₂	Inhibition de 99,9% des bactéries après 18h	[52]
X%Ag-TiO ₂ (X=2-4-6 et8)	Catalyseur le plus optimal 8%Ag-TiO ₂	[34]

Aujourd'hui, les recherches se focalisent sur le cuivre et l'argent.

- **Le mécanisme d'action d'Ag :**

L'activité antibactérienne des nanoparticules dépend de deux facteurs [55] :

- Propriétés physicochimiques des nanoparticules.
- Type de la bactérie.

Le mécanisme d'activité antibactérienne n'est pas trop précis dans la littérature. Divers travaux ont été effectués sur cette activité. Dhank et al. [56], Sunguinedo et al. [57], Rolim et al. [58] ont étudié l'efficacité de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent sur deux bactéries à Gram positif (*S. aureus*) et à gram négatif (*E. coli*). Ils ont trouvé qu'en milieu aqueux l'argent cède des ions d'argent biologiquement actifs, les ions d'argent libérés interagissent avec les parois de la membrane cellulaire de la bactérie, ce qui provoque sa décomposition et par conséquent la mort de la bactérie [59].

D'autres études ont montré que les nanoparticules d'Ag et/ou les ions d'Ag interagissent avec des composés contenant du soufre et de groupement phosphore tel que l'ADN [60].

L'effet anti-bactéricide de l'argent était expliqué par la formation des espèces réactives à partir des réactions redox avec l'oxygène ou l'eau dans le milieu de culture des bactéries ce qui provoque l'endommagement directe de la bactérie en détruisant l'ADN, la mitochondrie et la membrane cellulaire [51, 55, 61]

1.2.3.2.L'oxyde de cuivre :

Le cuivre est un oligo-élément, contrairement à l'argent le cuivre est un élément essentiel pour la santé humaine il est présent dans l'organisme à faible concentrations [62], il est nécessaire au maintien de l'homéostasie, indispensable pour le fonctionnement de certains enzymes tels que la lysyl oxydase, les métalloprotéinases, les glycosaminoglycanes et les petits protéoglycanes [63] également pour la stimulation de système immunitaire vis-à-vis des infections. Le cuivre est bénéfique pour les organismes supérieur (animaux) où ce n'est pas le cas pour les organismes inférieurs (bactéries), Il est toxique pour les microorganismes pour lequel l'existence des nanoparticules de cuivre au sein de la cellule bactérienne est considérée comme étant étrangère [64, 65].

Le cuivre a été utilisé dans plusieurs produits commerciaux, dans les produits fongiques et les peintures, il est employé aussi pour la réduction des risques de pathologies cutanées chez les diabétiques (en utilisant des chaussettes imprégnées de cuivre) [63].

L'EPA a approuvé l'enregistrement des alliages de cuivre et des surfaces polymères contenant des particules d'oxyde de cuivre comme des agents antimicrobiens ayant des propriétés qui peuvent tuer >99,9% des bactéries Gram négatif et Gram positif dans les 2 h d'exposition, ce qui fait du cuivre le seul métal qui peut être utilisé dans les hôpitaux pour réduire la charge microbienne [66].

- Mécanisme d'action :

Diverses études ont été menées pour étudier l'effet antibactérien des NPs de Cu contre plusieurs organismes, L'activité antibactérienne des NPs de Cu, CuO et de Ag/CuO se fait selon le même mécanisme suivit par les NPs Ag/TiO₂ qui est basée sur la génération des ROS conduisant à la destruction de l'ADN, des protéines, la membrane cellulaire et les autres constituants vivants de la cellule bactérienne ou par la génération des ions de Cu²⁺ [67].

Ghasmiet al. [68] Ont étudié l'effet bactéricide des NPs de CuO et Ag/CuO vis-à-vis de *Streptococcus pneumoniae*, ils ont trouvé que les catalyseurs procèdent un effet bactéricide positif contre la bactérie, l'activité antibactérienne augmente avec l'augmentation de la concentration en Ag.

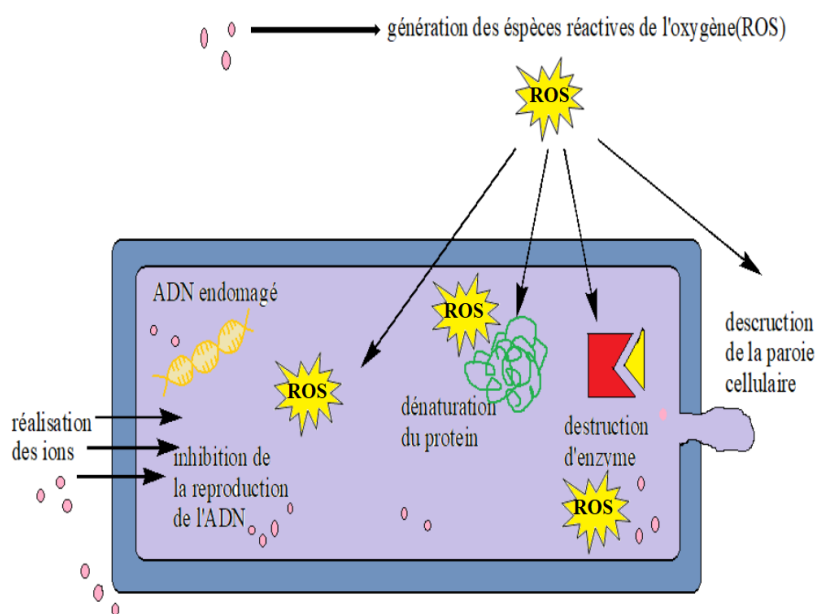


Figure I.4: schéma représentatif de mécanisme d'action des NPs[33]

II.4. Activité antioxydante :

II.4.1. Le stress oxydatif :

L'oxygène O₂ est l'élément fondamental pour la vie des organismes aérobies notamment à celle de l'homme qui produit en permanence des espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) au niveau de la mitochondrie. Ces EROs agissent comme des transmetteurs secondaires et activent différents gènes ou facteurs intervenant dans le développement de plusieurs pathologies y compris la maladie de Parkinson ou encore l'athérosclérose, l'Alzheimer, le diabète et le cancer. Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre les espèces oxydantes et les antioxydants in vivo qui sont la résultante soit d'un déficit en antioxydants soit d'un excès d'ERO(ROS) ou ERN. Le déséquilibre peut être provoqué et aggravé par des facteurs de risque dont notamment : le tabagisme [69], l'alcool ou vieillissement [70].

II.4.2. Le système antioxydant :

Pour lutter contre les effets de ces attaques oxydatives, notre corps possède plusieurs stratégies basées sur des agents réducteurs réagissant avec ces ERO en diminuant leurs concentrations. Les antioxydants sont définis comme étant des composés naturels ou synthétiques permettant le ralentissement du phénomène d'oxydation à des concentrations relativement faibles [71]

et la protection du système cellulaire de la nocivité potentielle des processus causant une oxydation excessive, notamment la stabilisation des radicaux libres et leur empêche de continuer leur travail destructif. Ils empêchent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en formant des agents terminaux qui peuvent piéger ou dériver les radicaux libres et ils agissent en créant des produits non-radicalaires.

D'autres perturbent les réactions en chaîne de peroxydation et réagissent avec un acide gras avant qu'il puisse réagir avec un autre acide gras. Ces entités antioxydantes servent à neutraliser d'une façon directe ou indirecte les ERO. Cependant, le corps humain n'est pas en mesure d'assurer la biosynthèse de la majorité des antioxydants, en particulier ceux de nature phénolique.

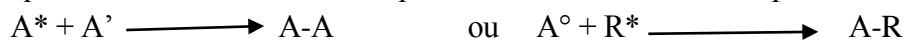
Il est nécessaire donc qu'il les retrouve dans son alimentation pour assurer le bon fonctionnement de ses cellules, L'évaluation de l'activité antioxydante des nanomatériaux est devenue l'une des études plus ou moins importantes en nanoscience, dans ce cadre, certain recherche ont été effectuées

Il y a deux types des antioxydants :

- Primaires ou radicalaires permettant la rupture de la chaîne autocatalytique

Par exemple : $HA + R^\circ \longrightarrow A^\circ + RH$

La molécule HA est considérée antioxydante si le radical A° obtenu est le plus stable, On peut expliquer la stabilité du radical A° par sa transformation en composés non radicalaire :



- Secondaires ou préventifs qui inhibent la formation des radicaux libres en décomposants. Les radicaux hydroxydes en alcool, des thioles ou des disulfures, des agents protégeant contre les UV comme les carotènes....

Chapitre 99 :

Partie expérimentale

II.1.Préparation des matériaux

II.1.1.Produits utilisés

Le tableau suivant regroupe l'ensemble des produits chimiques exploités au cours de ce stage et leurs caractéristiques :

Tableau II.1.Caractéristiques des produits chimiques utilisés

produits	rôle	pureté	caractéristiques
Isopropoxide de titane	Source de titane	97%	M=284,22g/mol d=0,96
Acide acétique	solvant	≥ 99%	M=60,05g/mol d=0 ,497
Pluronique (P123)	Agent structurant	80%	d=1,018
Ethanol	solvant	96%	M=46,07g/mol d=0,789
AgNO₃	Source d'argent	≥ 99%	M=169,87 g/mol
CuNO₃.3H₂O	Source de cuivre	-	M=241,54 g/mol
HCl	acidité du milieu	96%	M=36,46g/mol
Tétraéthylorthosilicate	Source de silicium	98%	M=208,327g/mol d=0,94

II.1.2.Matériel biologique

Tubes à essai, bec benuen, boîte pétri, pipette pasteur stérile, milieu de culture en poudre : Agar, Nutrient Agar (21g dans 1L d'eau distillé) et Muller Hinton Broth (28g dans 1L d'eau distillé)

II.1.3. Préparation de TiO₂ mésoporeux

Le protocole suivant décrit la préparation de TiO₂ mésoporeux, utilisé au sein de l'équipe par Chaker et al.[72]opté pour la méthode soft-template : dans un premier temps la solution « A » a été obtenue en ajoutant 5 g d'isopropoxide de titane goutte à goutte à 30 mL d'une solution d'acide acétique à 20%, l'ensemble est maintenu sous agitation durant 4 heures à température ambiante. D'autre part 3g de tribloc copolymère (pluronique P123) a été dissoute dans 20 mL d'éthanol pour l'obtention de la solution « B ». La solution « B » était ajoutée goutte à goutte à la solution « A ».Le mélange réactionnel obtenu est maintenu sous agitation durant 24 heures

à température ambiante, transféré dans des autoclaves en téflon et mis dans une étuve à 100 °C pendant 48 heures. Le précipité obtenu a été filtré et bien lavé avec l'eau distillée puis séché dans une étuve à 80°C durant une nuit. Finalement, le solide obtenu est calciné à 500°C (1°/min) durant 4h.

II.1.4.Préparation de TiO₂ dopé à l'argent

La méthode post-synthétique de modification de TiO₂, pour la préparation des catalyseurs X%Ag/TiO₂ est l'imprégnation à humidité naissante qui est utilisée également par Chaker et al.[72].Le protocole est le suivant : 1g de TiO₂ a été dispersée dans 100 mL d'une solution aqueuse de nitrate d'argent, dont les masses ont été choisies de façon à avoir un pourcentage en poids massique égal à : 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1,5%, 3%, 5% et 10 % et L'imprégnation a été faite dans un évaporateur rotatif à 60°C, après 2 h d'agitation la solution obtenue a été évaporée sous vide pour éliminer l'eau ; le solide obtenu était séché à 80 °C pendant 24 h et subit un traitement thermique sous air à 400°C (1°/min) durant 4h.

II.1.5.Préparation de l'oxyde de cuivre mésoporeux

Les matériaux à base d'oxyde de cuivre mésoporeux étaient préparés par la méthode Hard Template, en employant le nitrate de cuivre comme précurseur et la SBA-15 synthétisée comme moule.[73]

II.1.5.a.Synthèse de SBA-15

La SBA-15 était synthétisée selon le protocole décrit par Yue et al.[74], utilisé au sein de l'équipe par Bendahou et al. Le protocole est le suivant : 4g de tribloc copolymère « pulronic 123» a été dissoute dans 120 ml d'eau distillée et 7,5 ml d'une solution d'acide chlorhydrique 0,23M (pH=0,83). Le mélange est laissé sous agitation jusqu'à dissolution complète du P123 à 40°C, puis 9,15 ml de tétraéthylorthosilicate (TEOS) était ajouté à ce mélange. Après 24 h d'agitation la solution était transvasée dans des autoclaves en téflon dans une étuve réglée à 100°C durant 48h. Par la suite, le solide obtenu a été filtré et lavé avec l'eau distillée. Enfin, la structure finale de SBA est déterminée par l'élimination de P123 par une calcination sous air à 500 °C (1°/C) durant 5h.

II.1.5.b.Synthèse de l'oxyde de cuivre mésoporeux

La méthode de préparation de l'oxyde de cuivre a été décrite par Yue et al.[74]. La synthèse était faite par la méthode Hard Template en utilisant la SBA-15 comme moule, selon le mode opératoire suivant: Une millimole de nitrate de cuivre CuNO₃.3H₂O était additionnée a 0,15g de SBA-15 calcinée, le mélange des deux masses a été homogénéisé par un simple broyage puis calciné à 500°C pendant 5h et lavé avec NaOH (0,5M) pour récupérer à la fin l'oxyde de cuivre mésoporeux.

II.2.Théchniques de caractérisation des matériaux

Les catalyseurs préparés ont été caractérisés par quatre techniques :

- Diffraction des rayons X (DRX).
- Analyse par spectroscopie UV-Visible en réflexion diffuse (UV-Vis/ RD).
- Mesure de la surface spécifique par l'adsorption d'azote.
- Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).

II.2.1. Diffraction des rayons X (DRX)

La DRX est une méthode d'analyse physicochimique qualitative et quantitative permet la détermination des structures et des phases cristallines d'un solide, les orientations privilégiées d'un cristal et d'autres paramètres structuraux tels que la taille moyenne de cristallites.

• Principe

L'état cristallin est caractérisé par la répartition tri périodique dans l'espace d'un motif atomique. Cette répartition ordonnée constitue des plans parallèles et équidistants que l'on nomme plans réticulaires h,k,l. Les distances interréticulaires sont de l'ordre de 0,15 Å- 15 Å et dépendent de la disposition et du diamètre des atomes dans le réseau cristallin. Elles sont constantes, caractéristiques du cristal et peuvent être calculées par la DRX ; Un faisceau de rayons X monochromatique et parallèle qui frappe un cristal est diffracté dans une direction donnée par chacune des familles des plans réticulaires à chaque fois que la condition ou loi de Bragg est réalisée[75] :

$$n \lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad \text{ordre de la diffraction} \quad (1)$$

- ✓ **n** : ordre de la diffraction (nombre entier)
- ✓ **λ (nm)**: la longueur d'onde du faisceau de rayons X
- ✓ **d_{hkl} (nm)**: distance interréticulaire du plan hkl
- ✓ **θ (°)** : angle de diffraction (angle d'incidence des rayons X)

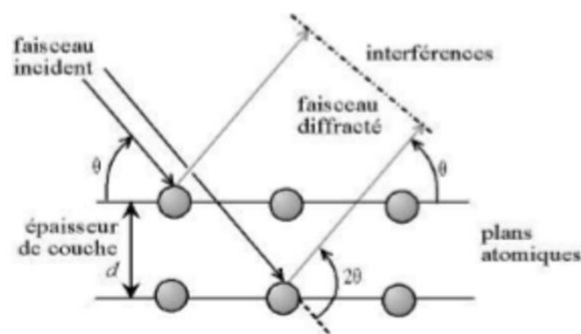


Figure II.1. Loi de Bragg donnant les valeurs de la distance interréticulaires d

- **Aparaeillage :**

L'acquisition des diagrammes de diffraction des rayons X a été effectuée au sein de notre laboratoire LCSCO sur un diffractomètre RigakuMiniFlex 600 avec une anticathode de cuivre (Cu K α) ; les diffractogrammes ont été enregistrés à une température ambiante dans une gamme angulaire allant de 20° jusqu'à 80°, un pas angulaire de 0,01° et un temps d'acquisition de 2°/min.



Figure II.2. Diffractomètre **RigakuMiniFlex 600**

II.2.2. Caractérisation par UV-Visible en réflexion diffuse (UV-Vis en RD)[76]

- **Principe**

C'est une méthode d'analyse qualitative permettant d'identifier la nature des liaisons d'un échantillon et qualitative permet de déterminer les concentrations des espèces qui sont responsables de l'absorption dans les deux domaines : Ultraviolet compris entre 185 et 380nm et le Visible d 380 à 800nm ; l'adsorption des molécules dans ces deux domaines sert également à identifier leurs structures électroniques. La spectroscopie électronique concernant les transitions électroniques (électrons de valence des ions) d'un orbitale moléculaire à un autre. Lorsqu'un rayon d'intensité I_0 traverse une espèce absorbante contenue dans un milieu homogène d'une épaisseur « l », l'atténuation de ce rayon lumineux est facilement mesurée par la spectroscopie électronique. La fameuse loi de Beer-Lambert fournit une relation qui donne l'intensité d'un rayon transmis :

$$A = \log I_0/I = \epsilon C l \quad (2)$$

- ✓ **A** : l'absorbance
- ✓ **I_0** : intensité de la lumière incidente **$I < I_0$**
- ✓ **I** : intensité de la lumière transmise
- ✓ **ϵ (dm³.mol⁻¹.cm⁻¹)**: coefficient d'absorption molaire ou d'extinction
- ✓ **C** : la concentration molaire de l'espèce absorbante.

- **Réflexion diffuse**

Elle est applicable que pour les échantillons qui sont sous forme de poudres et de pâtes, la réflexion est formé de : la réflectance spéculaire « R_s » qui est la réflexion-miroir de la surface de l'échantillon et aussi la réflectance diffuse « R_d » a lieu quand la surface réfléchit la lumière dans divers orientations donne à la surface ce qui est connu par l'aspect mat.

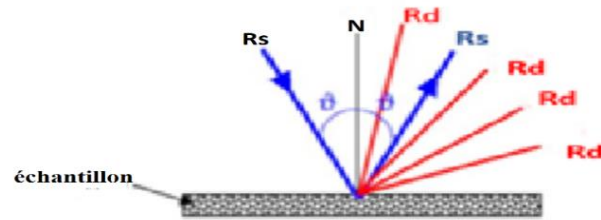


Figure II.3. Schéma représentatif des deux composant de réflexion : spéculaire (R_s) et diffuse (R_d)

- **Appareillage**

La caractérisation par spectroscopie UV-Visible des catalyseurs synthétisés a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de type « SPECORD 210 Plus » constitué d'une chambre de réflexion diffuse de model « Analytik Jina » au laboratoire de matériaux à Oran.

II.2.3. Adsorption-désorption d'azote

- **Principe**

C'est l'une des méthodes utilisées pour la caractérisation des matériaux mésoporeux, elle sert à déterminer leurs différentes propriétés texturales dont la surface spécifique, le volume poreux et même la taille des pores. Le principe de cette technique consiste à évaluer la quantité du gaz physisorbée sur un solide. Une isotherme d'adsorption et de désorption est représentée par une courbe donnant la quantité d'azote adsorbée et désorbée par un matériau à température constante (77 K) en fonction de la pression ou de la concentration d'équilibre. Selon la classification de l'IUPAC[77] ; il existe 6 catégories d'isotherme présentées à la **Figure II.4**:

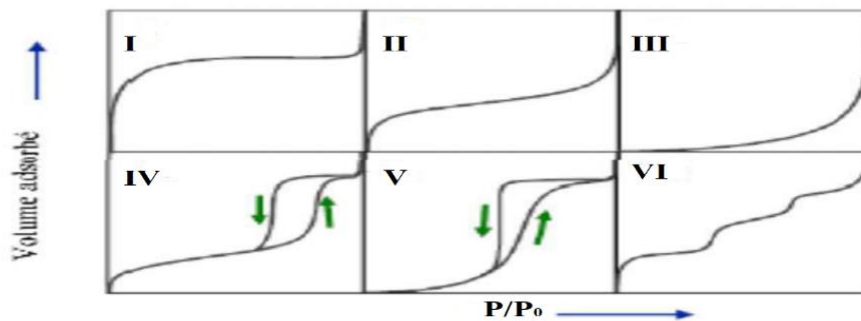


Figure II.4. Les types d'isotherme selon la classification de l'IUPAC[77]

- ✓ **Type I** : obtenu sur un adsorbant microporeux, $d < 2\text{nm}$
- ✓ **Type II** : obtenu sur un adsorbant microporeux ou non poreux, $d > 50\text{nm}$
- ✓ **Type III** : obtenu sur un solide macroporeux ou non poreux, il est très rare
- ✓ **Type IV** : obtenu sur un solide mésoporeux, $2\text{nm} < d < 50\text{nm}$
- ✓ **Type V** : obtenu sur un solide mésoporeux (rarement rencontré).
- ✓ **Type VI** : très rare obtenu sur un solide dont les surfaces sont assez bien définies.

- **Détermination de la surface BET**

La théorie de Brunauer ; Emmet et Teller sert à déterminer la surface spécifique de l'adsorbant, cette théorie est basée sur l'équation :

$$P / [V(P_0 - P)] = [1/(V_m \cdot C)] + [(C-1)/V_m \cdot C] P/P_0$$

- **P** : Pression d'équilibre,
- **P₀** : Pression de vapeur saturante de l'adsorbant à la température de mesure,
- **V** : Volume du gaz adsorbé par gramme de solide à la pression P,
- **V_m** : Volume de gaz nécessaire pour recouvrir entièrement la surface du solide d'une couche monomoléculaire d'adsorbant
- **C** : constante caractéristique du système gaz/solide étudié.

Le volume **V_m** est calculé à partir d'une droite linéaire de formule $P / [V(P_0 - P)] = f(P/P_0)$ sachant que : la pente $\alpha = (C-1)/(V_m \cdot C)$, l'ordonnée à l'origine $\beta = 1/V_m \cdot C$ est le volume ; sera calculé à l'aide de ces deux valeurs avec la relation : $V_m = 1/(\alpha + \beta)$ puis la surface BET à partir de la formule suivante :

$$S_{BET} (m^2/g) = N \cdot A \cdot V_m \cdot 10^{-20} / m \cdot V_M$$

- **N** : nombre d'Avogadro ($6,023 \cdot 10^{23}$ mol),
- **A** : aire occupé par une molécule d'adsorbant en A^2 (sachant que $16,2 A^2$ pour N_2),
- **m** : masse du solide dégazé,
- **V_M** : volume molaire ($V_M = 22414 \text{ cm}^3/\text{mol}$)

- **Appareillage**

Les mesures des surfaces spécifiques des catalyseurs synthétisés ont été effectuées au sein de notre laboratoire LCSCO avec un appareil NOVA 1000e (Quantachrome instrument) (Figure II.5)



Figure II.5.Appareil de mesure BET « Nova1000 »

II.2.4. Caractérisation par infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

- **Principe**

Lors de l'irradiation d'un échantillon avec un rayonnement infrarouge, il se résulte des transitions électroniques entre les niveaux énergétiques vibrationnels et rotationnels des molécules du matériau analysé ; l'énergie absorbe une énergie qui varie selon la force des liaisons et la nature des atomes créant des bandes d'adsorptions caractéristiques aux fonctions

chimiques. Les analyses ont été effectués au niveau du notre laboratoire LCSCO par un appareil Agilant technologies Cary 640 série IRTF.



Figure II.6. Agilant technologies Cary 640 série IRTF

II.3. Test biologique

L'objectif de notre travail est d'optimiser les propriétés antibactériennes et antioxydantes de nos catalyseurs nanostructurés par l'argent. Pour cela plusieurs tests ont été effectués.

II.3.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été effectuée sur quatre souches de différent Gram : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae* et *Acinitobacter baumannii*. Le test a été effectué au Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques physico-chimie, synthèse et activité biologique, de l'université de Tlemcen.

- **Première partie : Préparation de milieu de culture des bactéries**

Le milieu a été préparé en dissolvant une 28g de Muller Hinton Broth dans 1L d'eau distillé, la solution est maintenue sous agitation et chauffage jusqu'à l'ébullition puis versée dans des bouteilles en verre, recouverte avec l'aluminium puis stérilisée dans un autoclave pendant 20 min à 120°C.

- **Deuxième partie : Préculture**

A partir des souches bactériennes conservées à 4°C, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur puis ensemencées dans des boites pétris contenant de la gélose nutritive, les boites pétries ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.



Figure II.7. Etape d'ensemencement des bactéries

-Préparation de l'inoculum

Quelques colonies ont été prélevées à partir de la préculture puis transférées dans des tubes à vices contenant de l'eau physiologie à 0,9% puis agitées dans le vortex afin d'homogénéiser la solution. La suspension bactérienne a été fixée à l'aide d'un spectrophotomètre à 625nm avec une densité optique qui est entre 0,08 et 0,12 ce qui correspond à 10^8 UFC/mL.

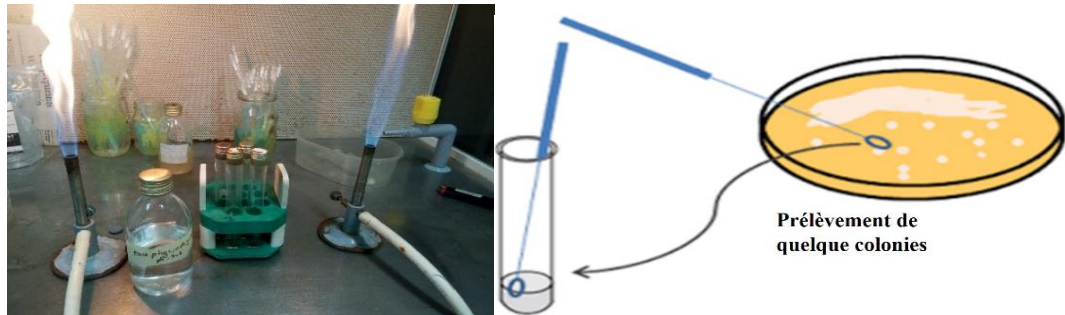


Figure II.8. : Préparation de l'inoculum

- **Troisième étape :** Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

20 ml de Mueller Hinton ont été mélangés avec différentes masses de catalyseur, par la suite le mélange contenant le milieu de culture et le catalyseur a été versé dans des boîtes pétries. Après solidification du mélange 5 μ L de la suspension bactérienne ont été prélevés puis ensemencés en spot sur les boîtes pétries préparées précédemment. En parallèle, les boîtes témoins ont été préparées en ajoutant 20mg/mL du TiO₂ et 20 mL du milieu de culture. L'ensemble des boîtes pétries ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, la détermination de la CMI a été effectuée à l'œil nu dans laquelle aucune croissance visuelle n'est détectée. Il est à noter que chaque manipulation a été répétée 3 fois pour bien confirmer les résultats.



Figure II.9. Incubation des bactéries avec les catalyseurs préparés

II.3.2. Activité antioxydante

L'effet antioxydant des catalyseurs préparés a été testé sur un radical modèle: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle symbolisé DPPH° ; les manipulations ont été effectuées au laboratoire des substances naturelles et biologiques de l'université de Tlemcen.

II.3.2.a. Technique d'évaluation de l'activité antioxydante

- Test de réduction du radical DPPH°

le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle symbolisé DPPH° est un radical libre, stable caractérisé par sa couleur violette[78], possède un maximum d'adsorption dans l'éthanol ou méthanol à 517nm[79] La délocalisation des électrons sur toute la molécule assure sa stabilité et la rend non dimérisable.

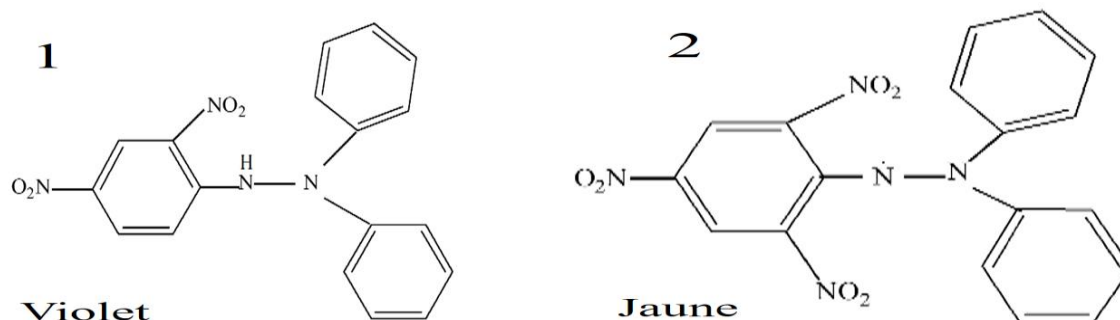


Figure II.10. Structure de : 1) DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) et 2) DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine)

La réduction du radical DPPH° a lieu lorsque ce dernier est mis en contact avec un donneur d'atome H(AH), elle aboutit à la forme réduite non radicalaire caractérisée par sa couleur jaune (c'est le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine : DPPH-H) et le radical A°. Nenadis et al. ont montré que plus l'élément a analysé à la tendance de céder son hydrogène au DPPH°, meilleure est l'activité antioxydante..[80]

$$A-H + DPPH^\circ \rightarrow A^\circ + DPPH-H \quad (1)$$

La réaction (1) est destinée pour assurer la liaison avec les réactions se produisant dans un système d'oxydation, comme l'auto-oxydation d'une autre substance ou d'un lipide insaturé ; cette réaction s'accompagne d'une diminution de l'absorbance.

II.3.2.b. Protocole

Le titrage des groupes oxydables d'origine naturelle ou synthétique antioxydant peut être effectué en utilisant le DPPH°, comme un réactif qui nous offre une méthode pratique et plus précise. La solution du DPPH° a été préparé en dissolvant 0,004g de DPPH° dans 50mL d'éthanol, par la suite 1mL de cette solution a été ajouté à un volume égal des catalyseurs testés à différentes concentrations (de 0,66 à 5,32 mg/mL) puis maintenu à l'obscurité durant 30min ; La dégradation de la solution de DPPH° a été suivie par spectroscopie Visible en enregistrant la variation de la bande d'absorption du DPPH° à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre «U.V/VIS Spectrophotometer, Optizen POP ». Une référence connue a été ajoutée, de sorte que la méthode est standardisée. Par exemple, un antioxydant standard très actif pris comme référence est utilisé pour un contrôle positif. Dans notre cas c'est l'acide ascorbique.

- Le contrôle positif est constitué d'1 mL d'éthanol et 1mL de la solution étalonique au DPPH°.
- Le contrôle ou le témoin positif est une solution d'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon testé[81].

II.3.2.c.Expression des résultats :**- Calcul des pourcentages d'inhibition :**

Le taux de réduction du DPPH° est calculé par la relation suivante :[82]

$$\% \text{ DPPH réduit} = [(\text{DO}_{\text{contrôle}} - \text{DO}_{\text{E}}) / \text{DO}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

DO_{contrôle} : absorbance du DPPH) à t₀.

DO_E : absorbance après l'ajout de l'échantillon à analyser.

- Calcul des IC50 :

IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50) représente la concentration de l'échantillon analysé nécessaire pour la réduction de 50% de radical DPPH°. Les valeurs d'IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés qui représentent les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage de réduction du DPPH°, pour chaque antioxydant les IC₅₀ calculés sert à les classer entre eux, les molécules sont plus antioxydantes lorsque les IC₅₀ sont petites.[82, 83]

Chapitre 999

Résultats et discussions

III.A.Caractérisation des catalyseurs à base de TiO₂ dopés à l'argent

III.A.1.Étude des catalyseurs synthétisés par diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse par Diffraction des rayons X permet de déterminer les différentes phases cristallines présentes dans les matériaux, elle permet notamment de calculer la taille des cristallites des particules présentes dans les matériaux par la relation de Debye-Scherrer (équation 1)

$$d_{cr} = \frac{0.98 \lambda}{\beta * \cos(\theta)} \dots \dots \dots \text{Eq. III.1.}$$

d_{cr}; la taille des cristallites en nm.

λ; la longueur d'onde en nm

β ; la largeur à mi-hauteur en rad

θ; l'angle de Bragg (°).

La **Figure III.1** regroupe les diffractogrammes des RX des différents catalyseurs préparés en fonction de la teneur en argent. Pour l'ensemble des catalyseurs élaborés, On constate la présence des raies bien résolues à 2θ=25°,67°, 37,49°, 38,21°, 48,39°, 54,31°, 55,40°, 63.12°, 69.16°, 70.66° et 75.53° caractéristiques de la phase anatase de TiO₂ (JCPDS-ICDD 01-070-7348). La comparaison entre les diffractogrammes montre que même après traitement thermique et incorporation des nanoparticules d'Ag la structure de TiO₂ est maintenue.

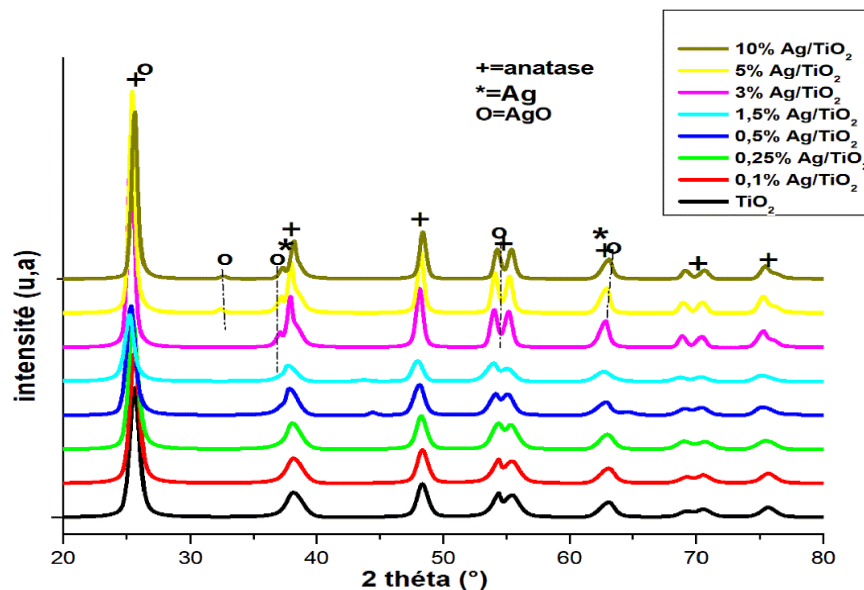


Figure III.1 : Diffractogrammes des différents catalyseurs préparés en fonction de la teneur en Ag

Puisque le détecteur de la technique RX est sensible à partir des petites quantités incorporées, les spectres de l'ensemble des catalyseurs dopés à l'argent à faibles concentrations (0,1%, 0,25%, 0,5%, 1,5% et 3%) ne peuvent pas exclure la formation des nanoparticules et de petites particules d'Ag. Il est intéressant de signaler que pour les catalyseurs 5%Ag/TiO₂ et 10%Ag/TiO₂ l'apparition des pics correspondants aux espèces d'argent, l'un d'entre eux apparaît à 2θ= 32,39°. Tandis que les autres sont épaulés à ceux de l'anatase, retirés par

le fichier (JCPDS-ICDD 01-073-1764). Le fichier correspondant montre que ces pics sont attribués sans ambiguïté à l'oxyde d'argent (AgO).

Le **Tableau III.1** rassemble les tailles moyennes des particules de TiO₂ et des espèces d'argent dans les différents catalyseurs dopés en utilisant l'équation (**Eq. III.1**).

Tableau III.1: Tailles moyennes des particules calculées pour les particules de titane et pour les différentes espèces d'argent dans l'ensemble des catalyseurs préparés) (n.d = non déterminée)

Matériaux	Taille des particules de TiO ₂	Taille des particules d'Ag métalliques	Taille des particules d'AgO
TiO ₂	11,68	n.d	n.d
0,1%Ag/TiO ₂	9,78	n.d	n.d
0,25%Ag/TiO ₂	9,61	n.d	n.d
0,5%Ag/TiO ₂	9,95	7,68	n.d
1,5%Ag/TiO ₂	9,82	7,76	n.d
3%Ag/TiO ₂	14,93	n.d	n.d
5%Ag/TiO ₂	16,69	n.d	14,41
10%Ag/TiO ₂	15,34	n.d	14,09

Ces résultats montrent clairement, qu'il y a une bonne dispersion des nanoparticules d'argent sur la surface de TiO₂ et une homogénéité des catalyseurs modifiés par imprégnation à humidité naissante. La taille moyenne des nanoparticules de TiO₂ est plus importante dans les catalyseurs dopés par l'Ag à grande teneurs, cela laisse penser qu'il y a une agglomération des nanoparticules d'argent due à la quantité importante incorporée du dopant.

III.A.2. Étude des catalyseurs synthétisés par spectroscopie UV Visible en Réflexion Diffuse (UV -Vis /RD)

L'étude par UV-Vis/RD apporte aux matériaux des informations essentielles sur la structure des matériaux, l'état d'oxydation des espèces dopantes et la quantité incorporée, la taille et la forme des nanoparticules et aussi les valences de certains atomes ou ions constituant les matériaux préparés.

Les catalyseurs élaborés ont été caractérisés par UV-vis/ RD, les spectres sont reportés sur la **Figure III.2**

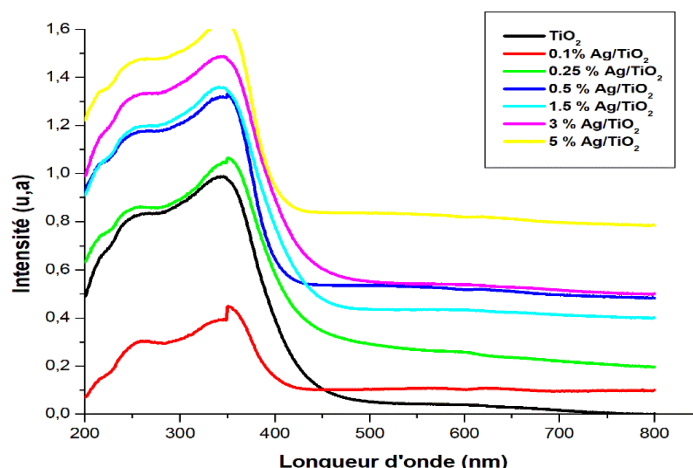


Figure III.2 : Spectres UV-Vis/RD des différents catalyseurs préparés.

Pour l'ensemble des catalyseurs préparés ; On constate une forte absorption dans la zone UV du spectre liée à la structure de support TiO_2 [76]. Lors de l'ajout de l'Ag, deux phénomènes ont été observés ; d'une part l'intensité de cette bande change d'un matériau à un autre, cela peut être expliqué par l'interaction métal/support [84], d'autre part l'apparition d'une bosse dans la partie visible des spectes assignée aux espèces d'argent[85, 86].

Cette bande varie en fonction de la concentration en Ag et son état d'oxydation, elle est plus importante dans les catalyseurs dopés à l'Ag à fortes concentrations. Une déconvolution des spectre est nécessaire pour identifier la forme, la taille et l'état d'oxydation des nanoparticules d'Ag.

III.A.3 Étude des catalyseurs synthétisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La **Figure III.3** regroupe les spectres FTIR de TiO_2 pur et TiO_2 nanostructuré à différentes concentrations en Ag.

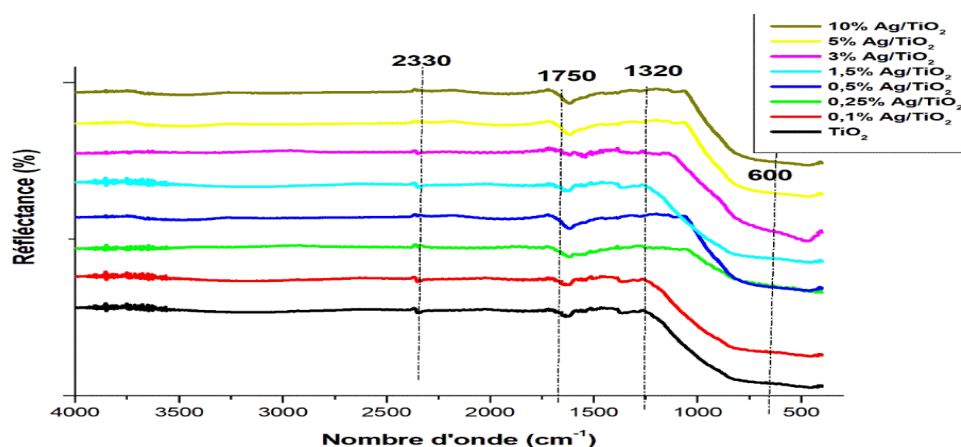


Figure III.3. Caractérisation par FTIR des matériaux nanostructurés à base d'argent.

Pour l'ensemble des catalyseurs, on constate des bandes centrées aux alentours de 600 cm^{-1} attribuées à la vibration d'élongation Ti-O de TiO_2 [87, 88]. Outre, l'apparition d'une autre bande plus au moins intense à 2330 cm^{-1} due aux particules de CO confinées dans les pores, cela montre que l'Ag n'a pas été totalement oxydé lors de la calcination, ce qui est confirmé par l'analyse des rayons X, où différents états d'oxydation d'Ag ont été détectés [89].

En plus de cette bande, la présence de deux faibles bandes assignées à 1320 cm^{-1} et 1750 cm^{-1} qui semblent plus intéressantes lors de l'introduction de l'Ag dues à la vibration de l'élongation H-O de la molécule H_2O physisorbée [87].

III.A.4. Caractérisation par adsorption d'azote des catalyseurs à base d'argent

Les isothermes d'adsorption et de désorption d'azote de TiO_2 mésoporeux et 0,1%, 0,25% et 3 % Ag/ TiO_2 mésoporeux sont représentées sur la **Figure III.4**.

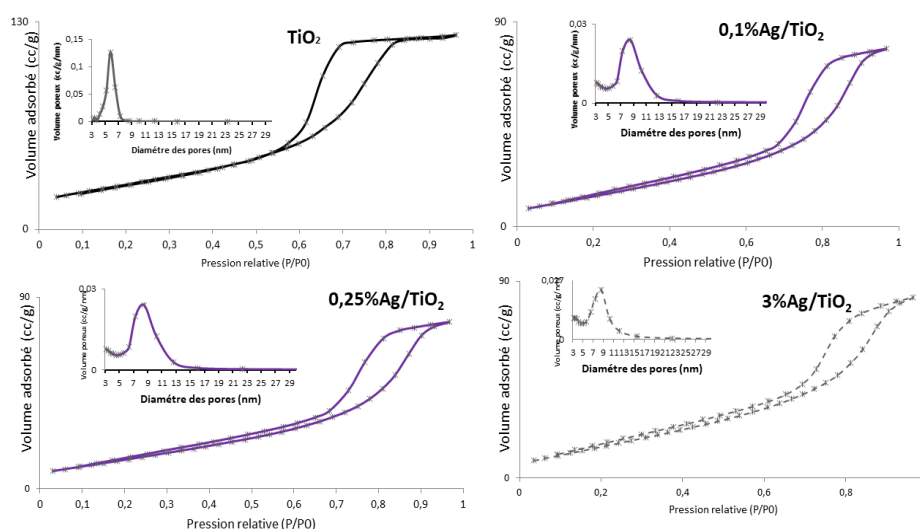


Figure III.4. Isothermes d'adsorption et de désorption d'azote et la distribution des tailles des pores des matériaux préparés.

La **Figure III.4.** montre des isothermes de type IV, caractéristiques des matériaux mésoporeux selon la classification de l'IUPAC [76].

Le saut de condensation capillaire est abrupt pour les catalyseurs dopés, il est plus prononcé pour le catalyseur 3%Ag/ TiO_2 , signifiant des tailles de pores homogènes. La comparaison entre ces isothermes montre que la structure mésoporeuse est maintenue après dopage à l'argent et ceci quelle que soit la quantité incorporée.

Les aires spécifiques ainsi que les volumes et les diamètres des pores de l'ensemble des matériaux préparés en fonction de la concentration en argent sont regroupés dans le **Tableau III.2**.

Tableau III.2. Propriétés texturales des différents matériaux préparés en fonction de la teneur en Ag.

Matériaux	S _{BET} (m ² /g)	Volume des pores (cc/g)	Diamètres des pores (nm)
TiO ₂	102	0,202	5,9
0,1%Ag/TiO ₂	213	0,212	8,2
0,5%Ag/TiO ₂	170	0,274	8,2
1,5%Ag/TiO ₂	183	0,238	5,7
3%Ag/TiO ₂	263	0,336	7,9
5%Ag/TiO ₂	67	0,515	6,2

On constate que les surfaces spécifiques des catalyseurs X%Ag/TiO₂ (X= 0, 1, 0,25 , 0,5 , 1,5 et 3) sont plus élevées que celle de TiO₂ pur ; ceci laisse penser que l'Ag participe dans l'adsorption, ce qui est en accord avec les résultats trouvés par d'autres chercheurs[90, 91]. Tandis que pour le catalyseur 5%Ag/TiO₂ la surface spécifique a chuté, cela peut être dû aux différentes tailles des nanoparticules d'Ag formées sur la surface de TiO₂. La formation de nanoparticules de différentes tailles sur la surface des matériaux peut expliquer cette diminution des aires spécifiques obtenues[92]. Il est connu qu'une grande dispersion des nanoparticules est obtenue pour des faibles concentrations en dopant[92] et une agglomération des nanoparticules conduit à une diminution dans la surface spécifique ce qui est le cas du catalyseur 5%Ag/TiO₂ et 10%Ag/TiO₂. [92, 93]

III.B. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des deux séries préparées : [TiO₂ pur et X%Ag/TiO₂] et [CuO et Y%Ag/CuO] a été évaluée quantitativement en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI). Pour cette raison différentes concentrations en argent ont été testées voir ; 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL et 0,125 mg/mL. La valeur de CMI est la plus faible concentration d'Ag supporté sur les matériaux mésoporeux en solution aqueuse qui inhibe la croissance visuelle[4].

N.B : dans cette partie on va présenter que l'activité antibactérienne à base de TiO₂.

L'évaluation de l'activité antibactérienne en présence des catalyseurs synthésés a été étudiée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Notre choix a été porté sur quatre souches : deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 8739, et *Acinitobacter baumannii* ATCC 19606) et deux autres à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterobacter cloacae* ATCC 13047).

Les CMI observées sont données dans La **figure III.5** (A) ; Les photos étaient prises après 24h d'incubation.

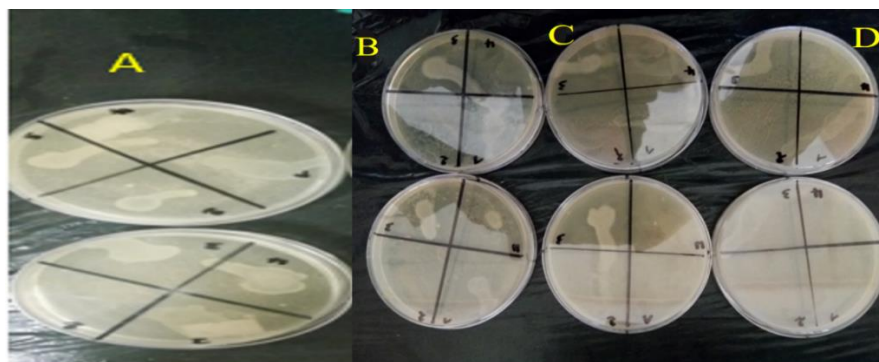


Figure III.5. Effet antibactérien de TiO_2 pur et 0,1% Ag/TiO_2 à différentes concentrations ;
 A) 20 mg de TiO_2 , B) 2,5 mg de 0,1% Ag/TiO_2 C) 5 mg de 0,1% Ag/TiO_2 et D) 10 mg de
 0,1% Ag/TiO_2 sur 1) *S.aureus*, 2) *A.baumannii*, 3) *E.cloacae* et 4) *E.coli*

La **Figure III.5** montre clairement que Le blanc (TiO_2 pur) n'a aucun effet bactéricide sur les quatre souches, où la croissance bactérienne a été bien observée après 24 heures d'incubation. Contrairement à ce qui a été observé dans le cas des nanoparticules d'Ag supportées sur TiO_2 à 0,1% en poids massique. A cette concentration le catalyseur a donné une bonne activité, vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 0,125 mg/mL et de 0,5 mg/mL respectivement. (**Figure III-1**).

En comparant Les résultats obtenus pour le cas des catalyseurs synthétisés avec ceux de la littérature, l'activité antibactérienne de catalyseur 0,1% Ag/TiO_2 est meilleure que celle trouvée par Dong et al.[4]. En effet, ils ont étudié l'activité antibactérienne de 0,5%, 1,5%, 3% et 5% d' Ag/TiO_2 sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ils ont observé que la CMI est de 1mg/mL pour *Escherichia coli* en présence d'une concentration plus importante qui est de 3% Ag/TiO_2 .

En revanche, *Enterobacter cloacae* présente une résistance pour le catalyseur 0,1% Ag/TiO_2 et même avec 1,5% Ag/TiO_2 on n'a pas pu déterminer la CMI pour cette bactérie où sa décroissance a été observée. (**Figure III.5**)



Figure III.6.2. résultat après 24h d'incubation à 1,5% Ag/TiO_2 1) :*S.aureus* 2) : *E.coli* 3) :
E.bacter cloacae 4) : *A.bacter baumannii*

Ces résultats nous ont poussés d'augmenter la concentration en Ag, pour des concentrations plus fortes de 3% à 10%. Les résultats obtenus sont donnés dans **la figure III.7 (A)**

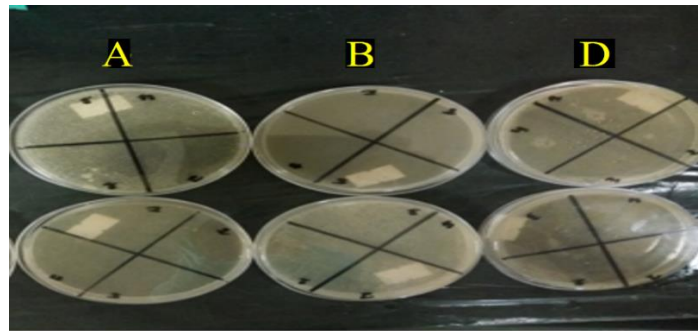


Figure III.7.Résultat du test biologique après 24 h d'incubation A) 3% Ag/TiO₂ B) 5% Ag/TiO₂ D) 10% Ag/TiO₂ sachant que 1) : *E.coli*, 2) *E.cloacae*, 3) :*S.aureus* et 4) : *A.bacter baumannii*

On constate que le catalyseur 3% Ag/TiO₂ a un effet bactéricide vis-à-vis d'*E.bacter cloacae* avec une CMI égale à 1 mg/mL. Cette différence d'activité peut être due à plusieurs facteurs. la nature de la bactérie joue un rôle très important, les bactéries à Gram négatif possèdent une couche mince de peptidoglycane, tandis que les bactéries à Gram positif ont une membrane externe de peptidoglycane plus épaisse [94, 95] par conséquent, l'une est plus résistante que l'autre. Cette activité peut être liée aussi à l'efficacité du catalyseur et aux propriétés structurales et texturale de ce dernier.

Il a été trouvé par analyse de DRX que à petite teneurs en Ag les nanoparticules sont bien dispersées sur le support avec une petite taille des cristallites et sous forme métallique, ce résultat était confirmé par l'analyse de la mesure des aires spécifique, où le catalyseur 0,1% Ag/TiO₂ a une surface spécifique plus importante que le TiO₂ pur et le TiO₂ dopé à l'argent à fortes teneurs. Une augmentation de la concentration en métal s'accompagne à une agglomération des nanoparticule sur la surface des catalyseurs ce qui conduit à une diminution la surface spécifique et par conséquence une diminution l'activité de catalyseur [92]. Outre, les nanopaticules d'argent dans les catalyseurs à forte teneurs se trouvent dans un état oxydé Ag²⁺. il est bien connu que l'activité antibactérienne des nanoparticules d'Ag est due à leurs abondances sous forme métallique [33, 53].

Le mécanisme d'activité antibactérienne n'est pas trop précis [33], il a été prouvé que l'efficacité antibactérienne des catalyseurs à base d'Ag dépend principalement du taux de libération des nanoparticules d'argent, leurs tailles et leurs états d'oxydation.

Le mode d'action bactéricide a été proposé comme étant dû à la sorption de nanoparticules d'Ag résultantes sur la paroi cellulaire bactérienne chargée négativement, causant la désactivation des enzymes cellulaires. La rupture de la perméabilité de la membrane, l'inhibition de la chaîne respiratoire ainsi que les protéines de la membrane cellulaire causent la lyse et la mort éventuelle des cellules bactériennes [35, 53]. Il a été aussi prouvé que la formation des espèces réactifs de l'oxygène (ROS) peuvent endommager les bactéries de façon irréversible (exp : ADN, mitochondrie...)[4].

Les résultats des tests montrant une CMI sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III.3. Concentration minimale inhibitrice de X% Ag/TiO₂ vis-à-vis des quatre souches (mg/mL).

Nature des bactéries	Catalyseur Bactéries	0,1%Ag/TiO ₂	3% Ag/TiO ₂
		(mg/mL)	(mg/mL)
Bactéries gram positif à	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,5	<0,1
	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	>0,1	1
Bactéries gram négatif à	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	0,125	<0,1
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0,125	<0,1

III .C.Activité antioxydante

- **Test de réduction du radical DPPH°**

Les catalyseurs à base d'argent supporté sur le TiO₂ ont été testés également dans l'activité antioxydante d'une molécule modèle qui est le DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Ce dernier est un radical libre plus au moins stable d'une couleur violette [78]. La stabilité de cette molécule est due à la délocalisation des électrons au sein de cette dernière. La réduction de DPPH° par un agent antioxydant, dégrade sa couleur violette pour donner une molécule stable qui est DPPH-H (2,2-diphényl-1-1-picrylhydrazine) d'une couleur jaune. Ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH°.

Le rapport DPPH°/catalyseur antioxydant doit répondre à la stœchiométrie du composé (c-à-dire le nombre des radicaux réduits par espèce antioxydantes qui est dans notre cas le catalyseur). Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH° (Voir **chapitre II**), pour une concentration en antioxydant donnée. Le calcul de la concentration inhibitrice de la réduction de 50% du DPPH° (IC₅₀ ou EC₅₀) pour chaque catalyseur, permet de déterminer leur activité antioxydante. Plus l'IC₅₀ est petite, meilleure est l'activité antioxydante [82, 96]. L'activité antioxydante sera évaluée par rapport à une référence trouvée dans la littérature, qui est un antioxydant fort, comme mentionné sur le **tableau III.4**. Aucune activité antioxydante pour le blanc qui est

le TiO₂ pur et les petites teneurs en Argent n'a été observée. Cela fait que les résultats ne figurent pas dans le **tableau III.4**

Tableau III.4. Test de réduction du radical DPPH° par les catalyseurs à base d'argent

Echantillon (mg/mL)	Pourcentage de réduction de DPPH°(%)	IC ₅₀ (mg/mL)
3%Ag/TiO₂		
5,32	76,44	2,49
2,66	63,05	
1,33	33,29	
0,88	32,75	
0,66	27	
5%Ag/TiO₂		
5,32	54,92	4,45
2,66	38,53	
1,33	28,92	
0,88	14,54	
0,66	10,82	
10%Ag/TiO₂		
5,32	51,07	5,32
2,66	26,8	
1,33	14,97	
0,88	11,8	
0,66	10,49	
Concentration d'acide ascorbique (mg/mL)		
0,04	39,4	0,048
0,05	51,03	
0,06	86,57	
0,08	97,84	
0,2	98,36	

Discussion des résultats obtenus

L'activité des catalyseurs à base d'argent à différentes concentrations a été évaluée par l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante. Deux différents constats ont été observés.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne ; la CMI est observée même pour les petites teneurs en argent, ce qui laisse conclure que les nanoparticules d'argent sont très actives. Un test sous la lumière visible était prévu pour accélérer l'activité antibactérienne, la bonne activité antibactérienne notamment à faible concentration en argent (0,1%Ag/TiO₂) nous a épargné cette manipulation.

Contrairement à ce qui a été obtenu pour le test de l'effet antioxydant où les catalyseurs à base d'argent étaient peu actifs par rapport à la référence (l'acide ascorbique), un changement quasiment nul de la couleur de DPPH° était observé, et confirmé par spectroscopie UV-Vis. D'après le **tableau III.4** on constate qu'avec l'augmentation de la concentration en argent l'activité antioxydante est plus au moins prononcée, pour cette raison peu de travaux ont été menés sur l'activité antioxydante dans la catalyse hétérogène.

A temps actuel il n'y a pas un mécanisme réactionnel qui interprète cette inactivation des catalyseurs.

La bonne activité antibactérienne des catalyseurs à base d'argent peut être liée à différents facteurs ;

- ✓ La bonne dispersion des nanoparticules d'argent sur la surface de TiO₂, surtout à faible concentration en Ag, ce qui a été confirmé par DRX dont aucun pic pour les catalyseurs dopés à l'Ag à petites teneurs n'a été détecté,
- ✓ La DRX a révélé la présence des nanoparticules métalliques pour les catalyseurs dopés à l'Ag à petites teneurs en Ag, et la présence de l'argent à l'état oxydé (Ag²⁺) pour le cas des fortes teneurs en Ag,
- ✓ L'homogénéité de la taille des cristallites pour l'ensemble des catalyseurs préparés.
- ✓ La grande surface spécifique pour le catalyseur 0,1% Ag/TiO₂, et la bonne distribution de la taille des pores.
- ✓ La nature de support, les matériaux Ag/TiO₂ sont plus actifs que les matériaux Ag/CuO sous les mêmes conditions. Le support a un rôle très important dans l'activité antibactérienne. Une étude plus approfondie est envisagée pour étudier l'effet de support.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail de stage est divisé en trois grands volets :

Le premier volet concerne la préparation des catalyseurs nanostructurés à base d'argent supporté sur TiO₂ et CuO mésoporeux, par deux méthodes différentes (la méthode soft Template et la méthode hard Template respectivement), en vue d'une potentielle utilisation comme additifs aux matériaux qui constituent les emballages alimentaires et biomédicales à caractère antibactérien. L'évolution structurale et texturale des matériaux élaborés a été étudiée par plusieurs méthodes d'analyses physico-chimiques telles que (DRX, UV-Vis en RD, FTIR et l'adsorption d'azote). Les résultats obtenus ont montré que :

- ❖ La structure de TiO₂ obtenue est l'anatase, elle a été maintenue quelles que soient les conditions opératoires. Ce qui confère à ce matériau une bonne stabilité et résistance thermique.
- ❖ La bonne dispersion des nanoparticules d'Ag est due à la grande surface spécifique de TiO₂ mésoporeux. Ce constat est observé pour les faibles teneurs en Ag, où la bonne dispersion, l'homogénéité et la petite taille des cristallites sont confirmées par l'analyse de DRX. Contrairement à ce qui a été observé dans le cas des catalyseurs à forte teneurs en dopant dans lesquels on suggère une agglomération due à la grande quantité du dopant.

Le deuxième volet est relatif à la mise en œuvre des catalyseurs synthétisés dans l'activité antibactérienne vis-à-vis de deux souches à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 8739, et *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606) et deux autres à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterobacter cloacae* ATCC 13047). Les résultats des tests antibactériens ont montré que :

- ❖ Le TiO₂ et le CuO purs n'ont aucun effet bactéricide sur les quatre souches étudiées.
- ❖ Les catalyseurs X%Ag/TiO₂ et X%Ag/CuO ont un effet bactéricide positif contre les quatre bactéries, ils sont actifs même à faibles teneurs en argent.
- ❖ L'activité antibactérienne de X%Ag/TiO₂ est meilleure que celle de X%Ag/CuO, une étude approfondie sera envisagée pour étudier l'effet de support sur l'activité antibactérienne.
- ❖ L'effet bactéricide des catalyseurs dopés à l'argent à faibles teneurs peut être dû à la présence des nanoparticules d'Ag métalliques. A l'inverse des catalyseurs dopés à l'argent à fortes teneurs où l'argent se trouve dans un état oxydé.
- ❖ L'activité antibactérienne dépend de la taille des nanoparticules d'Ag ; plus la taille est petite, meilleur est l'effet bactéricide.
- ❖ L'activité antibactérienne des catalyseurs dépend notamment de la structure de la bactérie. Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que celles à Gram positif. Ce qui a été en accord avec nos résultats.
- ❖ Les performances des catalyseurs dépendent de la teneur en argent ce qui permet d'établir une relation dose/repense

Une étude des effets bactéricides des catalyseurs à base d'Ag sous la lumière était envisagée, la bonne activité de ces derniers sous des conditions ordinaires nous a épargné sa réalisation.

Conclusion générale

Le troisième volet concerne la mise en œuvre de l'activité antioxydante de TiO_2 pur et TiO_2 dopé à l'Ag à différentes teneurs. Les résultats ont montré que les catalyseurs sont peu actifs par rapport à l'activité antioxydante de l'acide ascorbique.

Il ressort de cette étude que le catalyseur 0,1% Ag/ TiO_2 synthétisé est un catalyseur robuste et un candidat potentiel pour lutter contre les bactéries.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES

- [1] A.-M. Mohammad, T. Chowdhury, B. Biswas and N. Absar, *Food Safety and Preservation*, Elsevier, 2018, p. 307.
- [2] A. Díez-Pascual, *Antibacterial activity of nanomaterials*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2018.
- [3] A. Shumayal, R. Saha and M. Kannan, *Emerging Trends of Nanotechnology in Environment and Sustainability*, Springer, 2018, p. 117.
- [4] P. Dong, F. Yang, X. Cheng, Z. Huang, X. Nie, Y. Xiao and X. Zhang, *Materials Science and Engineering: C*, 96 (2019) 197.
- [5] G.B. Braun, T. Friman, H.-B. Pang, A. Pallaoro, T.H. De Mendoza, A.-M.A. Willmore, V.R. Kotamraju, A.P. Mann, Z.-G. She and K.N. Sugahara, *Nature materials*, 13 (2014) 904.
- [6] A.M. Goodman, Y. Cao, C. Urban, O. Neumann, C. Ayala-Orozco, M.W. Knight, A. Joshi, P. Nordlander and N.J. Halas, *ACS nano*, 8 (2014) 3222.
- [7] R. Basmaci and R. Cohen, *Perfectionnement En Pédiatrie*, 1 (2018) 62.
- [8] M.S. Jo-anne, L.H. Harrison, M.M. Brooks, K.A. Shutt, M.I. Saul and C.A. Muto, *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 31 (2010) 1139.
- [9] A. Ward, A. Hannah, S. Kendrick, N. Tucker, G. MacGregor and P. Connolly, *Biosensors and Bioelectronics*, 110 (2018) 65.
- [10] Y. Hu, Y. Feng, X. Zhang and Z. Zong, *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67 (2017) 1709.
- [11] S.G. Joshi and G.M. Litake, *World Journal of Clinical Infectious Diseases*, 3 (2013) 25.
- [12] W.A. Kaboré, A. Konaté, E. Bako, T.S. Bagré, S. Boisramé, F. Chandad, A.S. Traoré, N. Barro and L. Sangaré, *Médecine Buccale Chirurgie Buccale*, 22 (2016) 105.
- [13] T. García-González, H.K. Sáenz-Hidalgo, H.V. Silva-Rojas, C. Morales-Nieto, T. Vancheva, R. Koebnik and G.D. Ávila-Quezada, *The plant pathology journal*, 34 (2018) 1.
- [14] J. Liu, Z. Xu, Z. Guo, Z. Zhao, Y. Zhao and X. Wang, *Carbohydrate polymers*, 195 (2018) 444.
- [15] M. Gasser, J. Schrenzel and A. Kronenberg, *Forum Médical Suisse* 2018.
- [16] R. Mao, C. Huang, X. Zhao, M. Ma and J. Qu, *Applied Catalysis B: Environmental*, 241 (2019) 120.
- [17] M. Endo, M. Janczarek, Z. Wei, K. Wang, A. Markowska-Szczupak, B. Ohtani and E. Kowalska, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 19 (2019) 442.
- [18] A. Glaser, *A common antibacterial agent exposed. Pesticides and You*, 24 (2004) 12.
- [19] S. Burt, *International journal of food microbiology*, 94 (2004) 223.
- [20] Y. Gao and R. Cranston, *Textile Research Journal*, 78 (2008) 60.
- [21] F. Devlieghere, L. Vermeiren, M. Jacobs and J. Debevere, *Packaging Technology and Science*, 13 (2000) 117.
- [22] A.M. Allahverdiyev, E.S. Abamor, M. Bagirova and M. Rafailovich, *Future microbiology*, 6 (2011) 933.
- [23] J.P. Ruparelia, A.K. Chatterjee, S.P. Duttgupta and S. Mukherji, *Acta biomaterialia*, 4 (2008) 707.
- [24] M.I. Nabila and K. Kannabiran, *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 15 (2018) 56.
- [25] L. Umaralikhan and M.J.M. Jaffar, *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42 (2018) 477.
- [26] K. Karthik, S. Dhanuskodi, C. Gobinath, S. Prabukumar and S. Sivaramakrishnan, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190 (2019) 8.
- [27] A. Pugazhendhi, R. Prabhu, K. Muruganatham, R. Shanmuganathan and S. Natarajan, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190 (2019) 86.
- [28] A. Roy, S.S. Gauri, M. Bhattacharya and J. Bhattacharya, *Journal of biomedical nanotechnology*, 9 (2013) 1570.
- [29] K. Murugan, D. Dinesh, K. Kavithaa, M. Paulpandi, T. Ponraj, M.S. Alsalthi, S. Devanesan, J. Subramaniam, R. Rajaganesh and H. Wei, *Parasitology research*, 115 (2016) 1085.
- [30] L. Zhang, H. Bai, L. Liu and D.D. Sun, *Chemical Engineering Journal*, 334 (2018) 1309.

-
- [31] A. Raja, S. Ashokkumar, R.P. Marthandam, J. Jayachandiran, C.P. Khatiwada, K. Kaviyarasu, R.G. Raman and M. Swaminathan, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 181 (2018) 53.
- [32] A. Akbar, M.B. Sadiq, I. Ali, N. Muhammad, Z. Rehman, M.N. Khan, J. Muhammad, S.A. Khan, F.U. Rehman and A.K. Anal, *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 17 (2019) 36.
- [33] S.M. Dizaj, F. Lotfipour, M. Barzegar-Jalali, M.H. Zarrintan and K. Adibkia, *Materials Science and Engineering: C*, 44 (2014) 278.
- [34] T. Ali, A. Ahmed, U. Alam, I. Uddin, P. Tripathi and M. Muneer, *Materials Chemistry and Physics*, 212 (2018) 325.
- [35] H.M. Yadav, J.-S. Kim and S.H. Pawar, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 33 (2016) 1989.
- [36] T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima and H. Wake, *FEMS Microbiology letters*, 29 (1985) 211.
- [37] P.-C. Maness, S. Smolinski, D.M. Blake, Z. Huang, E.J. Wolfrum and W.A. Jacoby, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (1999) 4094.
- [38] U. Joost, K. Juganson, M. Visnapuu, M. Mortimer, A. Kahru, E. Nõmmiste, U. Joost, V. Kisand and A. Ivask, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 142 (2015) 178.
- [39] M. Senevirathna, P. Pitigala and K. Tennakone, *Solar energy materials and solar cells*, 90 (2006) 2918.
- [40] Q. Zhao, M. Wang, H. Yang, D. Shi and Y. Wang, *Ceramics International*, 44 (2018) 5145.
- [41] X. Cai, G.-J. Dai, S.-Z. Tan, Y. Ouyang, Y.-S. Ouyang and Q.-S. Shi, *Materials Letters*, 67 (2012) 199.
- [42] U. Jeyapaul, M.J. Kala, A.J. Bosco, P. Piruthiviraj and M. Easuraja, *Oriental Journal of Chemistry*, 34 (2018) 783.
- [43] V. Vilas, D. Philip and J. Mathew, *Journal of Molecular Liquids*, 221 (2016) 179.
- [44] M.N. Chen, C.F. Chan, S.L. Huang and Y.S. Lin, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (2019).
- [45] R.G. Chaudhary, J.A. Tanna, N.V. Gandhare, A.R. Rai and H.D. Juneja, *Adv. Mater. Lett.*, 6 (2015) 990.
- [46] R.M. Slawson, M.I. Van Dyke, H. Lee and J.T. Trevors, *Plasmid*, 27 (1992) 72.
- [47] A. Esteban-Cubillo, C. Pecharromán, E. Aguilar, J. Santarén and J.S. Moya, *Journal of Materials Science*, 41 (2006) 5208.
- [48] Q. Lv, B. Zhang, X. Xing, Y. Zhao, R. Cai, W. Wang and Q. Gu, *Journal of hazardous materials*, 347 (2018) 141.
- [49] A.J. Kora and R. Sashidhar, *Arabian Journal of Chemistry*, 11 (2018) 313.
- [50] S. Tang and J. Zheng, *Advanced healthcare materials*, 7 (2018) 1701503.
- [51] M. Rai, A. Yadav and A. Gade, *Biotechnology advances*, 27 (2009) 76.
- [52] S.-Y. Ryu, J.W. Chung and S.-Y. Kwak, *Composites Science and Technology*, 117 (2015) 9.
- [53] A. Besinis, S.D. Hadi, H. Le, C. Tredwin and R. Handy, *Nanotoxicology*, 11 (2017) 327.
- [54] C. Liu, L. Geng, Y. Yu, Y. Zhang, B. Zhao, S. Zhang and Q. Zhao, *Materials Letters*, 218 (2018) 334.
- [55] M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A.A. Ashkarran, D.J. de Aberasturi, I.R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak and M. Mahmoudi, *Trends in biotechnology*, 30 (2012) 499.
- [56] V. Dhand, L. Soumya, S. Bharadwaj, S. Chakra, D. Bhatt and B. Sreedhar, *Materials Science and Engineering: C*, 58 (2016) 36.
- [57] P. Sanguiñedo, R.M. Fratila, M.B. Estevez, J.M. de la Fuente, V. Grazú and S. Alborés, *Nano Biomedicine and Engineering*, 10 (2018) 165.
- [58] W.R. Rolim, M.T. Pelegrino, B. de Araújo Lima, L.S. Ferraz, F.N. Costa, J.S. Bernardes, T. Rodrigues, M. Brocchi and A.B. Seabra, *Applied Surface Science*, 463 (2019) 66.
- [59] J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramírez and M.J. Yacaman, *Nanotechnology*, 16 (2005) 2346.
- [60] Q.L. Feng, J. Wu, G. Chen, F. Cui, T. Kim and J. Kim, *Journal of biomedical materials research*, 52 (2000) 662.
- [61] R.S. André, C.A. Zamperini, E.G. Mima, V.M. Longo, A.R. Albuquerque, J.R. Sambrano, A.L. Machado, C.E. Vergani, A.C. Hernandez and J.A. Varela, *Chemical Physics*, 459 (2015) 87.

-
- [62] A.Y. Booshehri, R. Wang and R. Xu, *Chemical Engineering Journal*, 262 (2015) 999.
- [63] G. Borkow, R.C. Zatcoff and J. Gabbay, *Medical hypotheses*, 73 (2009) 883.
- [64] G. Ren, D. Hu, E.W. Cheng, M.A. Vargas-Reus, P. Reip and R.P. Allaker, *International journal of antimicrobial agents*, 33 (2009) 587.
- [65] A.K. Chatterjee, R.K. Sarkar, A.P. Chattopadhyay, P. Aich, R. Chakraborty and T. Basu, *Nanotechnology*, 23 (2012) 085103.
- [66] A. Lazary, I. Weinberg, J.-J. Vatine, A. Jefidoff, R. Bardenstein, G. Borkow and N. Ohana, *International Journal of Infectious Diseases*, 24 (2014) 23.
- [67] J. Bahadur, S. Agrawal, V. Panwar, A. Parveen and K. Pal, *Macromolecular Research*, 24 (2016) 488.
- [68] N. Ghasemi, F. Jamali-Sheini and R. Zekavati, *Materials Letters*, 196 (2017) 78.
- [69] I. M Fearon, G. Phillips, T. Carr, M. Taylor, D. Breheny and S. P Faux, *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 8 (2011) 360.
- [70] G.E. Arteel, *Gastroenterology*, 124 (2003) 778.
- [71] S.A. Comhair and S.C. Erzurum, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283 (2002) L246.
- [72] H. Chaker, L. Chérif-Aouali, S. Khaoulani, A. Bengueddach and S. Fourmentin, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 318 (2016) 142.
- [73] J.S. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, J.-H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, S.H. Kim, Y.K. Park, Y.H. Park and C.-Y. Hwang, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3 (2007) 95.
- [74] W. Yue and W. Zhou, *Chemistry of Materials*, 19 (2007) 2359.
- [75] R. Ouahes, *Clay Minerals*, 25 (1990) 245.
- [76] H. CHAKER, *Synthèse et Modification post-synthétique de TiO₂ mésoporeux: Application à la dégradation de polluants organiques*, 2016.
- [77] S. Eustis and M.A. El-Sayed, *Chemical society reviews*, 35 (2006) 209.
- [78] M.S. Blois, *nature*, 181 (1958) 1199.
- [79] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier and C. Berset, *LWT-Food science and Technology*, 28 (1995) 25.
- [80] N. Nenadis and M. Tsimidou, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (2002) 1191.
- [81] P. Molyneux, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26 (2004) 211.
- [82] C. Sánchez-Moreno, *Food science and technology international*, 8 (2002) 121.
- [83] L.L. Mensor, F.S. Menezes, G.G. Leitão, A.S. Reis, T.C.d. Santos, C.S. Coube and S.G. Leitão, *Phytotherapy research*, 15 (2001) 127.
- [84] A.C. Gluhoi, N. Bogdanchikova and B.E. Nieuwenhuys, *Journal of Catalysis*, 232 (2005) 96.
- [85] M.B. Mohamed, V. Volkov, S. Link and M.A. El-Sayed, *Chemical Physics Letters*, 317 (2000) 517.
- [86] A.S. Reddy, C.-Y. Chen, C.-C. Chen, S.-H. Chien, C.-J. Lin, K.-H. Lin, C.-L. Chen and S.-C. Chang, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 318 (2010) 60.
- [87] W. Choi, A. Termin and M.R. Hoffmann, *The Journal of Physical Chemistry*, 98 (1994) 13669.
- [88] M. Ahmed, E.E. El-Katori and Z.H. Gharni, *Journal of Alloys and Compounds*, 553 (2013) 19.
- [89] A. Zukal, C. Arean, M. Delgado, P. Nachtigall, A. Pulido, J. Mayerová and J. Čejka, *Microporous and Mesoporous Materials*, 146 (2011) 97.
- [90] X.S. Li, G.E. Fryxell, C. Wang and M.H. Engelhard, *Microporous and Mesoporous Materials*, 111 (2008) 639.
- [91] S.I. Mogal, V.G. Gandhi, M. Mishra, S. Tripathi, T. Shripathi, P.A. Joshi and D.O. Shah, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53 (2014) 5749.
- [92] Z. Qu, F. Yu, X. Zhang, Y. Wang and J. Gao, *Chemical Engineering Journal*, 229 (2013) 522.
- [93] R. Xu, X. Wang, D. Wang, K. Zhou and Y. Li, *Journal of Catalysis*, 237 (2006) 426.
- [94] T. NVKV Prasad, V. Subba Rao Kambala and R. Naidu, *Current Nanoscience*, 7 (2011) 531.
- [95] M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A.A. Ashkarran, D.J. de Aberasturi, I.R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak and M. Mahmoudi, *Trends in biotechnology*, 31 (2013) 61.
- [96] A. Rebaya, S.I. Belghith, B. Baghdikian, V.M. Leddet, F. Mabrouki, E. Olivier, J. Cherif and M.T. Ayadi, *Journal of applied pharmaceutical science*, 5 (2014)