

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVRSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA



Faculté des sciences appliquées

Département de Génie des procédés

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences et Technologies

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie chimique

Présenté Par :

BOULKOUMANE Kenza & MOUISSI Firdous Madjda

Thème:

**Synthèse des nanoparticules d'argent par
méthode biologique pour des applications
antibactériennes et photocatalytiques**

Soutenu publiquement le : 26/06/2021

Devant le jury composé de :

M^r HENNI Abdellah

MCA (UKM Ouargla)

Président

M^r ACHI Fethi

MCA (UKM Ouargla)

Examinateur

M^r SELLOUM Djamel

MCA (UKM Ouargla)

Encadreur

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Tout au long de ce cycle universitaire après de gros efforts et de persévérance de la part de tous ceux qui nous ont accompagné, aidé, encouragé et encadré, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et remerciements à :

Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

*Nous tenons particulièrement à adresser nos remerciements à Monsieur **SELLOUM Djemal** notre promoteur, pour avoir dirigé ce travail et accepté de nous encadrer, conseiller et de nous orienter dans cette démarche scientifique.*

*Nous remercions également Monsieur **HENNI Abdellah** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers **ACHI Fethi** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.*

*Nous tenons à remercier Monsieur **BOURICHA M'hamed** pour nous aider dans la partie biologique de cette étude.*

*Nos remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe de laboratoire **CRAPC** de l'Université Kasdi Merbah Ouargla. En particulier à son chef Monsieur **BELKHALFA Hakim** de nous avoir accueillis au sein du laboratoire.*

Dédicace

Je dédie ce travail modeste :

À mes chers parents pour tout leur sacrifice, leur amour, leur tendresse, soutien et leurs prières tout au long de ma vie scolaire et universitaire. Vous êtes le pilier solide et incontournable en mon parcours, que Dieu vous donne la santé et la vie

*À ma chère sœur **Boutheina** qui m'a aidé à surmonter les difficultés que j'ai rencontrées au cours de ce travail. Elle m'a énormément soutenu*

*À mon adorable sœur **Nour El-Houda** pour ses encouragements et son soutien indéfectible*

*À mon binôme **Firdous** et mon amie **Amina***

Vous avez tous contribué à m'aider et à m'encourager, vous avez toujours fait et ferez toujours partie de ma vie. A tous, du fond du cœur je dédie ce travail

Kenza



Dédicace

Je dédie ce travail modeste:

À mon très cher père

*À ma très chère mère lumière de ma vie, source d'amour et de qui
grâce à luit je suis arrivé à ce stade*

Soutien éternel

À ma grand-mère deuxième maman

*À mon frère : **Fares***

*À ma sœur : **Louiza***

À mes ami(e)s

*A vous toutes/tous, et plus spécialement **Kenza**, ma copine au travail,*

Amina, Isra et Anfel

Comme signe de notre profonde amitié

Firdous



Liste des tableaux

Tableau I. 1: Quelques avantages et inconvénients des nanoparticules.	13
Tableau I. 2: Quelques recherches sur la synthèse de nanoparticules à l'aide des plantes.	18
Tableau I. 3: Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide de microorganismes.	19
Tableau I. 4: Avantages et inconvénients des différentes techniques de synthèse des nanoparticules.....	24
Tableau I. 5: Applications des nanoparticules d'argent dans des différents secteurs.....	28
Tableau I. 6: Propriétés physiques et chimiques du colorant de bleu de méthylène.	32
Tableau II. 1: Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
Tableau II. 2: Taxonomie de <i>Listeria monocytogenes</i>	60
Tableau II. 3: Taxonomie d' <i>Escherichia coli</i>	61
Tableau II. 4: Taxonomie de <i>Bacillus subtilis</i>	62
Tableau II. 5: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.....	63
Tableau III. 1: Zone d'inhibition des nanoparticules d'argent contre diverses bactéries pathogènes.....	79

Liste des figures

Figure I. 1: Différentes tailles de matière.	8
Figure I. 2: Exemples de matériaux naturels et biologiques contenant des particules nanoscopiques.	11
Figure I. 3: Synthèse des nanomatériaux (NPs) VIA approches top-down et bottom-up.....	14
Figure I. 4: Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules.	15
Figure I. 5: Synthèse de nanoparticules à partir d'extrait végétal	17
Figure I. 6: Voie écologique et bon marché pour la synthèse verte de nanoparticules à l'aide d'extraits de plantes.	18
Figure I. 7: a) Tableau périodique des éléments qui ont été synthétisés par des bactéries ; b) Représentation schématique de la synthèse bactérienne des NPs ; les processus intracellulaire et extracellulaire sont inclus.....	21
Figure I. 8: Schéma général de synthèse de nanoparticules de métaux par des micro-organismes.	24
Figure I. 9: Pépite d'argent.....	26
Figure I. 10: a) Résonance plasmonique de surface (SPR) pour les AgNPs à une longueur d'onde spécifique ; b) Image de microscopie en champ noir des AgNPs.....	27
Figure I. 11: Différents semi-conducteurs avec leur valeur de potentiel redox.....	30
Figure I. 12: Mécanisme global de la photocatalyse par photocatalyseur à semi-conducteur.....	31
Figure I. 13: Structure chimique du bleu de méthylène.....	32
Figure I. 14: Système d'oxydoréduction réversible du bleu de méthylène et du bleu de leucométhylène.....	32
Figure I. 15: Mécanismes de l'activité antibactérienne des nanoparticules.	35
Figure I. 16: Mécanismes de résistance aux antimicrobiens et actions des nanoparticules.....	36
Figure II. 1: Etapes de synthèse de nanoparticules d'argent.	54
Figure II. 2: Etapes de séchage de nanoparticules d'argent.....	55
Figure II. 3: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope électronique.....	58
Figure II. 4: Image de <i>Listeria monocytogenes</i> : (A) Observation de <i>Listeria monocytogenes</i> par microscope optique, (B) Observation de <i>Listeria monocytogenes</i> par microscope électronique.	59
Figure II. 5: <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique.....	60
Figure II. 6: a) Coloration de Gram de <i>Bacillus subtilis</i> ; b) <i>B. subtilis</i> vue sous microscopie électronique.	61
Figure II. 7: Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.	63

Figure III. 1: a) Intensité de couleur des nanoparticules d'argent synthétisées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; b) Spectre UV-visible de nanoparticules d'argent synthétisées.....	68
Figure III. 2: Représentation schématique de la synthèse de nanoparticules d'argent à partir d'ions argent en forme réduite d'atome d'argent par l'activité de l'enzyme nitrate réductase.	69
Figure III. 3: Poudre de nanoparticules d'argent.....	69
Figure III. 4: a) Changement de couleur en fonction de pH ; b) Effet du pH sur la synthèse des nanoparticules d'argent.	70
Figure III. 5: a) Changement de couleur en fonction de concentration de nitrate d'argent ; b) Effet de la concentration en ions nitrate d'argent sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.	71
Figure III. 6: a) Changement de couleur en fonction de temps d'incubation ; b) Effet du temps d'incubation sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.....	72
Figure III. 7: a) Changement de couleur en fonction du rapport de volume ; b) Effet du rapport de volume sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.	73
Figure III. 8: a) Changement de couleur en fonction de l'agitation ; b) Spectre UV-vis des AgNPs en fonction de l'agitation et sans agitation.	74
Figure III. 9: a) Changement de couleur en fonction de lumière et l'obscurité ; b) Spectre UV-vis des nanoparticules d'argent en fonction de lumière et l'obscurité.	75
Figure III. 10: Changement de couleur en fonction d'aération.	76
Figure III. 11: a) Observation visuelle du changement de couleur du bleu de méthylène à l'incolore à différents intervalles de temps ; b) Spectres d'absorption d'une solution aqueuse de bleu de méthylène traitée avec 10 mg de nanoparticules d'argent synthétisées en utilisant <i>P. aeruginosa</i> à différents intervalles de temps.	77
Figure III. 12: Dégradation du bleu de méthylène (%) par des nanoparticules d'argent synthétisées (30 mg).....	78
Figure III. 13: Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent contre diverses souches bactériennes pathogènes.	79

Liste des abréviations

Ag	Argent
Ag ⁺	Ion d'argent
AgNO ₃	Nitrate d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
Au	Or
h	Heure
IR	Infrarouge
mg	Milligramme
mM	Milimolaire
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) + hydrogène (H)
nm	Nanomètre
NPs	Nanoparticules
pH	potentiel d'Hydrogène
PUF	Particules ultrafines
SPR	Résonance plasmonique de surface
tr	Tour
UV	Ultra-violet
Vis	Visible
ZnO	Oxyde de zinc
°C	Degré Celsius
μ	Micro
μl	Microlitre
μm	Micromètre
%	Pourcentage

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	IV
Table des matières	V
Introduction générale.....	1

Chapitre I. Généralités

I.1. Nanomètre	7
I.2. Nanomonde.....	8
I.3. Nanoscience	8
I.4. Nanotechnologie	9
I.5. Nanomatériaux.....	9
I.6. Nanoparticules	10
I.6.1. Sources de nanoparticules	10
I.6.1.1. Sources naturelles	11
I.6.1.2. Sources anthropiques.....	12
I.6.1.2.1. Nanoparticules accidentelles.....	12
I.6.1.2.2. Nanoparticules artificielles	12
I.6.2. Avantages et inconvénients des nanoparticules	13
I.6.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules	14
I.6.3.1. Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules	15
I.6.3.2. Méthodes biologiques (Synthèse verte).....	16
I.6.3.2.1. Plantes	16
I.6.3.2.2. Microorganismes.....	19
a) Bactéries.....	20
b) Champignons	21
c) Levures.....	22
d) Algues	22
e) Actinomycètes	23
I.6.3.2.2.1. Mécanismes de formation des nanoparticules par les microorganismes.....	23

I.7. Nanoparticules d'argent.....	25
I.7.1. Présentation générale de l'argent.....	25
I.7.2. Nanoparticules d'argent.....	26
I.7.2.1. Propriétés des nanoparticules d'argent	26
I.7.2.1.1. Propriétés optiques.....	26
I.7.2.1.2. Structures cristallines	27
I.7.2.1.3. Propriétés thermiques.....	27
I.7.2.1.4. Propriétés catalytiques	27
I.7.2.2. Applications des nanoparticules d'argent.....	28
I.8. Photocatalyse.....	29
I.8.1. Généralités sur la photocatalyse	29
I.8.2. Photocatalyseurs	29
I.8.3. Mécanisme de photocatalyse	30
I.8.4. Structure et propriétés de bleu de méthylène	31
I.9. Activité antibactérienne des nanoparticules	33
I.9.1. Mécanisme.....	34
I.10. Recherche bibliographique sur les nanoparticules d'argent	36
Références bibliographiques	39

Chapitre II. Matériels et Méthodes

II.1. Lieu et durée de l'étude	53
II.2. Matériel biologique	53
II.2.1. Origine de souches utilisées.....	53
II.3. Méthodes	53
II.3.1. Synthèse des nanoparticules d'argent	53
II.3.1.1. Séchage de la solution de nanoparticules d'argent.....	55
II.3.2. Optimisation de divers paramètres opérationnels	56
II.3.2.1. Effet du pH.....	56
II.3.2.2. Effet de concentration	56
II.3.2.3. Effet de temps d'incubation	56
II.3.2.4. Effet du rapport de volume.....	57
II.3.2.5. Effet d'agitation, de lumière et d'aération	57
II.3.3. Dégradation du bleu de méthylène.....	57

II.3.3.1. Principe.....	57
II.3.4. Evaluation de l'activité antibactérienne	58
II.3.4.1. Taxonomie et caractéristiques des souches bactériennes testées	58
II.3.4.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
II.3.4.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	59
II.3.4.1.3. <i>Escherichia coli</i>	60
II.3.4.1.4. <i>Bacillus subtilis</i>	61
II.3.4.2. Milieux de cultures utilisés	62
II.3.4.3. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion	62
Références bibliographiques	64

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Synthèse de nanoparticules d'argent	67
III.2. Optimisation de divers paramètres opérationnels.....	70
III.2.1. Effet du pH.....	70
III.2.2. Effet de concentration.....	71
III.2.3. Effet de temps d'incubation.....	72
III.2.4. Effet du rapport de volume	72
III.2.5. Effet d'agitation, de lumière et d'aération.....	73
a) Effet d'agitation	73
b) Effet de lumière	74
c) Effet d'aération	75
III.3. Dégradation du bleu de méthylène.....	76
III.4. Activité antibactérienne	78
Références bibliographiques	80
Conclusion générale	83

Annexes

Résumé

Introduction générale

Introduction générale

Les nanosciences et les nanotechnologies ont suscité un grand intérêt au cours des dernières années en raison de leur impact potentiel sur de nombreux domaines scientifiques tels que l'énergie, la médecine, les industries pharmaceutiques, l'électronique et les industries spatiales...etc. Cette technologie traite de petites structures et de matériaux de petite taille de dimensions allant de quelques nanomètres à moins de 100 nanomètres [1]. Les nanoparticules (NPs) présentent des propriétés chimiques, physiques, biologiques, diélectriques, électriques, thermique, optique [2], électronique, magnétique, mécanique [3] et photocatalytique [4] uniques qui sont significativement différentes de la matière [5-6-7]. Ces propriétés spéciales et uniques pourraient être liées à leurs petites dimensions, leurs grandes surfaces [8], leur forme, et leur taille (1 à 100 nm) [9].

Ces dernières années, les nanoparticules sont impliquées dans de nombreuses applications dans des domaines tels que les technologies de l'information et de la communication, l'ingénierie électrique, l'ingénierie industrielle, la médecine [10], et la photocatalyse [11]. La synthèse des nanoparticules est la véritable division dans le domaine des nanotechnologies et nanosciences pertinentes [12] et en raison de l'importance de leurs applications dans les progrès de la nanotechnologie, les scientifiques ont synthétisées par plusieurs méthodes [13]. La synthèse des nanoparticules a attiré de plus en plus d'attention ces dernières années parce que les particules dont la taille de l'ordre de quelques nanomètres se comportent différemment que les particules les plus grosses [14].

La synthèse de nanoparticules peut être effectuée par diverses méthodes telles que les approches physiques, chimiques et biologiques. En général, les méthodes physiques et chimiques sont considérées comme les meilleures pour obtenir des nanoparticules de taille uniforme avec une stabilité à long terme. Cependant, ces approches sont coûteuses et libèrent des matières toxiques et dangereuses dans l'environnement. Les produits chimiques toxiques utilisés pour la synthèse des nanoparticules dans les méthodes chimiques rendent les nanoparticules obtenues moins adaptées aux applications médicales, cosmétiques ou alimentaires. Étant donné que plusieurs nanoparticules ont été largement utilisées dans les produits médicaux, le diagnostic des maladies et la cosmétique, il est très important d'améliorer la biocompatibilité des nanoparticules [15]. Par conséquent, une synthèse verte ou synthèse biologique des nanoparticules en utilisant les micro-organismes et les extraits des plantes [16] est souhaitable pour fournir une voie de synthèse économique, écologique [17], facilement disponible et plus propre [18]. La synthèse biogénique a non seulement un impact environnemental réduit, mais peut également produire de

Introduction générale

grandes quantités de nanoparticules qui sont exemptes de contamination et ont une taille et une morphologie bien définies. Les voies de biosynthèse peuvent en fait fournir des nanoparticules d'une taille et d'une morphologie mieux définies que certaines des méthodes physico-chimiques de production. En raison de leur aptitude à la fonctionnalisation biologique, les nanoparticules biologiques trouvent des applications importantes dans le domaine de la médecine [16]. Parmi diverses nanoparticules, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été l'un des objets d'étude les plus populaires au cours des dernières décennies années [19] en raison de leur potentiel [8-13]. Les bactéries sont une bonne alternative pour les études car elles peuvent s'adapter à diverses conditions telles que la température, l'aération et le temps d'incubation. Les bactéries sont également à croissance rapide et peu coûteuses [20]. Parmi ces bactéries se trouvent *Escherichia coli* [21-22], *Staphylococcus aureus* [23], *Klebsiella pneumoniae* [24], *Salmonella typhi* [25], *Lactobacillus plantarum* [26] et *Pseudomonas aeruginosa* [27].

Le bleu de méthylène (BM) est l'un des colorants utilisés dans le papier à colorier, la teinture des cotons, des laines, etc. Il a des effets très nocifs sur les êtres vivants provoquant des difficultés respiratoires, des vomissements, de la diarrhée et des nausées [28]. Pour éviter les problèmes potentiels de pollution par les colorants, les nanoparticules ont été largement étudiées comme photocatalyseurs en les employant pour la décoloration de ces polluants [29]. Parmi ces nanoparticules les nanoparticules d'argent jouent un rôle important dans la photocatalyse [30].

Plusieurs études ont fourni des preuves directes que l'utilisation généralisée des antibiotiques a conduit à l'émergence de souches bactériennes multirésistantes. La plupart des mécanismes de résistance aux antibiotiques sont sans intérêt pour les NPs car le mode d'action des NPs est un contact direct avec la paroi cellulaire bactérienne, sans nécessité de pénétrer dans la cellule; cela laisse espérer que les NPs seraient moins susceptibles de favoriser la résistance des bactéries que les antibiotiques. Par conséquent, l'attention s'est concentrée sur de nouveaux matériaux passionnants à base de NPs ayant une activité antibactérienne [31]. Les nanoparticules d'Ag sont attrayantes car elles ne sont pas toxiques pour le corps humain à faible concentration et elles ont une efficacité antimicrobienne puissante contre divers micro-organismes pathogènes [32].

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

Le chapitre I est consacré aux généralités sur les nanoparticules et plus particulièrement les nanoparticules d'argent, la photocatalyse et l'activité antibactérienne.

Introduction générale

Le chapitre II décrit la méthodologie suivie pour: la biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir de *Pseudomonas aeruginosa*, l'optimisation de différents paramètres opérationnels, la photocatalyse et l'activité antibactérienne.

Le dernier chapitre, le chapitre III présente l'ensemble des résultats expérimentaux de cette étude et leurs discussions.

Références bibliographiques

- [1] Iravani, S., 2014. Bacteria in Nanoparticle Synthesis: Current Status and Future Prospects. *International Scholarly Research Notices*, 2014, pp.1-18.
- [2] Chaudhary, P., Fatima, F. and Kumar, A., 2020. Relevance of nanomaterials in food packaging and its advanced future prospects. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(12), pp.5180-5192.
- [3] Akbari, B., Tavandashti, M.P. and Zandrahimi, M., 2011. Particle size characterization of nanoparticles—a practical approach. *Iranian Journal of Materials Science and Engineering*, 8(2), pp.48-56.
- [4] Huynh, K.H., Pham, X.H., Kim, J., Lee, S.H., Chang, H., Rho, W.Y. and Jun, B.H., 2020. Synthesis, Properties, and Biological Applications of Metallic Alloy Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), p.5174.
- [5] Ju-Nam, Y., & Lead, J. R., 2008. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of The Total Environment*, 400(1-3), pp.396-414.
- [6] Firdhouse, M.J. and Lalitha, P., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications. *Journal of Nanotechnology*, 2015, pp.1-8.
- [7] Nithya, M., & Kalyanasundharam, S., 2018. Effect of chemically synthesis compared to biosynthesized ZnO nanoparticles using aqueous extract of *C .halicacabum* and their antibacterial activity. *OpenNano*. 4, p.100024.
- [8] Rostami Charati, F., Asadi, S., Akbari, R., Razavi, S A., 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using *Taxus baccata* Leaves extract and identify its specifications. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9(10), pp.2798-2803.
- [9] Kareem, M.A., Bello, I.T., Shittu, H.A., Awodele, M.K., Adedokun, O. and Sanusi, Y.K., 2020, March. Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) for optical and photocatalytic applications: a review. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 805 (1), p. 012020. IOP Publishing.
- [10] S. Shanmugam., P. Heera., 2015. Nanoparticle Characterization and Application: An Overview. *International Journal Current Microbiology And Applied sciences*, 4(8), 379-386.
- [11] Beydoun, D., Amal, R., Low, G., & McEvoy, S., 1999. Role of nanoparticles in photocatalysis. *Journal of Nanoparticle Research*, 1(4), pp.439-458.
- [12] Ayesha Arshad., 2017. Bacterial Synthesis and Applications of Nanoparticles. *Nano Science & Nano Technology: an Indian Journal*, 11(2), p.119.

- [13] Partila, A.M. and El-Hadedy, D.E., 2020. Effect of green silver nanoparticles embedded in irradiated sodium alginate/poly acrylamide on removal of dye wastes. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 13(1), pp.586-593.
- [14] Sosa, Y.D., Rabelero, M., Treviño, M.E., Saade, H. and López, R.G., 2010. High-yield synthesis of silver nanoparticles by precipitation in a high-aqueous phase content reverse microemulsion. *Journal of Nanomaterials*, 2010, pp.1-6.
- [15] Augustine, R., & Hasan, A., 2020. Multimodal applications of phytonanoparticles. *Phytonanotechnology*, pp.195-219.
- [16] Bonnia, N.N., Kamaruddin, M.S., Nawawi, M.H., Ratim, S., Azlina, H.N. and Ali, E.S., 2016. Green biosynthesis of silver nanoparticles using 'Polygonum Hydropiper' and study its catalytic degradation of methylene blue. *Procedia Chemistry*, 19, pp.594-602.
- [17] Ali, Z.A., Yahya, R., Sekaran, S.D. and Puteh, R., 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016, pp.1-6.
- [18] Jose, Sr & Thomas, Femy., 2020. Photocatalytic degradation of methylene blue using iron oxide nanoparticles synthesized using *Annona muricata* leaf extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 12, pp.46-51.
- [19] Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H., 2020. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, 15, pp.2555-2562.
- [20] He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., & Gu, N., 2007. Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*. *Materials Letters*, 61(18), pp.3984-3987.
- [21] Baltazar-Encarnación, E., Escárcega-González, C. E., Vasto-Anzaldo, X. G., Cantú-Cárdenas, M. E., & Morones-Ramírez, J. R., 2019. Silver Nanoparticles Synthesized through Green Methods Using *Escherichia coli* Top 10 (Ec-Ts) Growth Culture Medium Exhibit Antimicrobial Properties against Nongrowing Bacterial Strains. *Journal of Nanomaterials*, 2019, pp.1-8.
- [22] El-Shanshoury, A. E.-R. R., ElSilk, S. E., & Ebeid, M. E., 2011. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, and *Streptococcus thermophilus* ESh1 and Their Antimicrobial Activities. *ISRN Nanotechnology*, 2011, pp.1-7.

- [23] Nanda, A., & Saravanan, M., 2009. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(4), pp.452-456.
- [24] Singh, P.K. and Goyal, M., 2020, December. Green Synthesis Using *Klebsiella pneumoniae* as well as its Execution onto Textiles for Microbe Resistance. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 988 (1), p.012071. IOP Publishing.
- [25] Ghorbani, H. R., 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Salmonella typhirium*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3(1), pp.1-4.
- [26] Mohd Yusof, H., Rahman, A., Mohamad, R. and Zaidan, U.H., 2020. Microbial Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by *Lactobacillus Plantarum* TA4 and its Antibacterial and Antioxidant Activity. *Applied Sciences*, 10(19), p.6973.
- [27] Busi, S., Rajkumari, J., Karuganti, S., & Ranjan, B., 2014. Green rapid biogenic synthesis of bioactive silver nanoparticles (AgNPs) using *Pseudomonas aeruginosa*. *IET Nanobiotechnology*, 8(4), pp.267-274.
- [28] Devi, T.A., Ananthi, N. and Amaladhas, T.P., 2016. Photobiological synthesis of noble metal nanoparticles using *Hydrocotyle asiatica* and application as catalyst for the photodegradation of cationic dyes. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6(1), pp.75-92.
- [29] Mullamuri, B., Mosali, V.S.S., Maseed, H., Majety, S.S. and Chandu, B., 2021. Photocatalytic Activity of Heavy Metal Doped CdS Nanoparticles Synthesized by Using *Ocimum sanctum* Leaf Extract. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), pp. 12547-12559.
- [30] Fairuzi, A.A., Bonnia, N.N., Akhir, R.M., Abrani, M.A. and Akil, H.M., 2018. Degradation of methylene blue using silver nanoparticles synthesized from *imperata cylindrica* aqueous extract. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 105(1), p.012018. IOP Publishing.
- [31] Wang, L., Hu, C., & Shao, L., 2017. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 12, pp.1227-1249.
- [32] Rahimi, G., Alizadeh, F. and Khodavandi, A., 2016. Mycosynthesis of silver nanoparticles from *Candida albicans* and its antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(2), pp.371-375.

Chapitre I

Généralités

Chapitre I. Généralités

Dans ce chapitre se trouve la présentation des généralités sur les nanoparticules, leurs sources d'origine, les différentes méthodes de synthèse utilisées pour leurs obtention et leurs avantages et inconvénients, suivie par des informations sur les nanoparticules d'argent, leurs applications dans des différents domaines et leurs utilisations dans la photocatalyse comme des photocatalyseurs et dans l'activité antibactérienne comme des agents antibactériens.

I.1. Nanomètre

Le préfixe «nano» signifie très petit, il vient du mot grec « nanos ». Ce préfixe est également utilisé pour indiquer la taille dans la série kilomètre, millimètre, micromètre et nanomètre [1]. Le terme nano ne désigne pas toujours un objet très petit. Par exemple, en astronomie, une nanostar est une étoile ayant une masse comparable à notre soleil ou même moins [2].

Le nanomètre (de symbole nm) est une unité du système international d'unités (SI), il est considéré comme une unité de longueur à l'échelle nanométrique et il est équivalent à 10^{-9} mètres (m) [3]. L'échelle nanométrique est considérée comme l'échelle de longueur s'étendant approximativement de 1 nm à 100 nm [4-5-6].

Tant que c'est difficile d'imaginer à quel point le nanomètre est petit voici quelques exemples:

- Un seul cheveu humain mesure environ 80 000 nm de large.
- Un globule rouge mesure environ 7 000 nm de large.
- Une molécule d'ADN 2-2,5 nm.
- L'atome d'hydrogène est d'environ 0,1 nm.
- Un virus peut mesurer environ 100 nm [7].

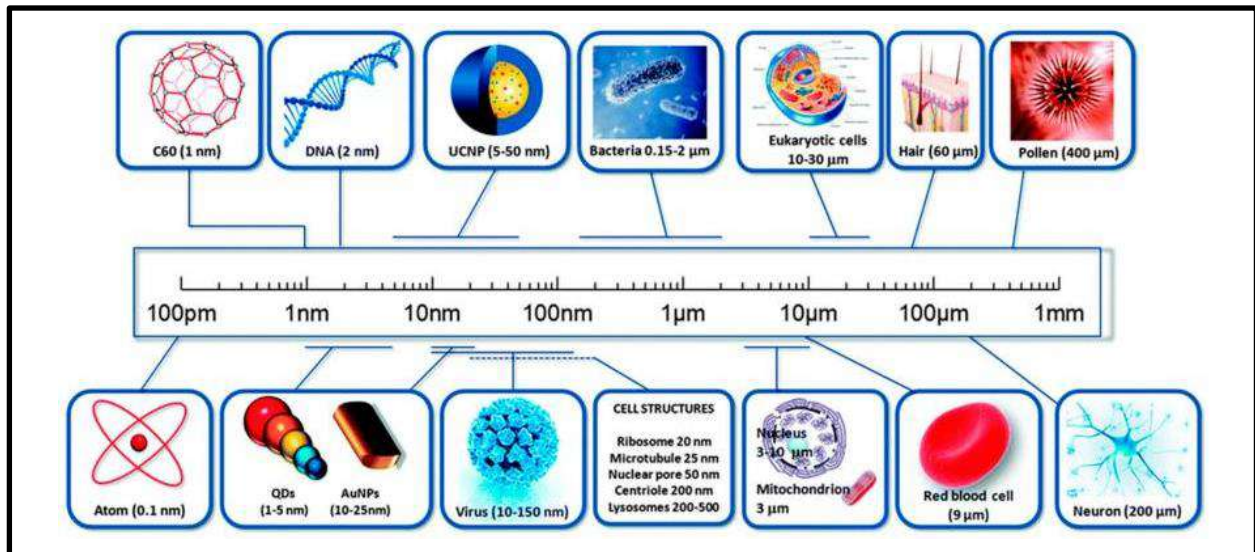


Figure I. 1: Différentes tailles de matière [8].

I.2. Nanomonde

Le monde des nanosciences et des nanotechnologies « le nanomonde », recouvre les objets de taille nanométrique dont certains phénomènes et effets sont inattendus. Ces spécificités leur ouvrent un large éventail d'applications et même si certaines sont déjà autour de nous, leur potentiel de développement est considérable [9].

Le nanomonde fournit aux scientifiques un riche ensemble de matériaux utiles pour sonder les fondamentales natures de la matière. Ces matériaux ont des structures uniques et des propriétés accordables. Cela les rend précieux pour de nombreuses applications du monde réel [10].

I.3. Nanoscience

La nanoscience est l'étude des phénomènes et de la manipulation des matériaux aux échelles atomique, macromoléculaire et moléculaire, où les propriétés diffèrent considérablement de ceux à plus grande échelle [11-12].

La nanoscience est un domaine scientifique émergent qui s'intéresse à l'étude des matériaux qui ont de très petites dimensions, de l'échelle nanométrique. Le mot lui-même est une combinaison du mot «nano» qui signifie petit, et du mot «science» signifiant connaissance. C'est un domaine interdisciplinaire qui cherche à faire émerger des nanotechnologies matures, en se concentrant sur l'intersection à l'échelle nanométrique de domaines tels que la physique, la biologie, l'ingénierie, la chimie et l'informatique... [10].

I.4. Nanotechnologie

La nanotechnologie a été définie de diverses manières par différents scientifiques. Selon l'Initiative Nationale de Nanotechnologie (National Nanotechnology Initiative = NNI) aux États-Unis: «la nanotechnologie, c'est la recherche et le développement technologique aux niveaux atomique, moléculaire ou macromoléculaire (1 à 100 nm), la capacité à contrôler ou manipuler à l'échelle atomique et la création et l'utilisation de structures, dispositifs et systèmes qui ont de nouvelles propriétés et fonctions en raison de leur petite et moyenne taille [13]. Une autre définition donnée par la société royale et l'académie royale d'ingénierie est «la nanotechnologie est la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, de dispositifs et de systèmes en contrôlant la forme et la taille à l'échelle nanométrique » [12-14-15-16]. Ainsi, l'amélioration des propriétés des matériaux par la maîtrise de leurs structures nanométriques est au cœur de la nanotechnologie [17].

Cette définition suggère la présence de deux conditions pour la nanotechnologie. La première est l'échelle: la nanotechnologie a pour but d'utiliser les structures en contrôlant leur forme et leur taille à l'échelle nanométrique. La deuxième condition est liée à la nouveauté: la nanotechnologie doit traiter de petites choses d'une manière qui tire parti de certaines propriétés en raison de l'échelle nanométrique [8].

La nanotechnologie peut être classée en catégories. Ce sont des procédés de nanofabrication, des nanodispositifs pour de nouvelles fonctionnalités de haute performance, de nanomesure et des nanomatériaux [18].

I.5. Nanomatériaux

Il existe plusieurs définitions du terme nanomatériau, établies par divers organismes et instances:

- L'organisation nationale de normalisation (ISO) fut le premier organisme international à établir en 2008 une définition, dans un document référencé TS 27687 et actualisé depuis [19]. Cette organisation a défini «un nanomatériau» comme « un matériau ayant une dimension externe à l'échelle nanométrique [20] ou ayant une structure interne ou une structure de surface en échelle nanométrique » [21-22-23].
- La commission européenne (CE) a adopté la recommandation en 2011 sur la définition des nanomatériaux. «Nanomatériau», un matériau naturel, accessoire ou manufacturé contenant des particules, à l'état non lié ou en tant qu'agrégat ou en agglomérat et où,

pour 50% ou plus des particules dans la distribution de taille en nombre, une ou plusieurs dimensions externes sont dans la plage de tailles de 1 nm à 100 nm [24-25].

Un nanomatériau remplit au moins l'un des critères suivants :

- Il a des structurations internes ou de surface avec au moins une dimension dans la gamme 1-100 nanomètres.
- Il est composé de particules avec au moins une dimension dans la gamme 1-100 nanomètres, pour au moins 1% d'entre elles.
- Il a une surface spécifique de plus de $60 \text{ m}^2 / \text{cm}^3$, en excluant les matériaux formés de particules de tailles inférieures au nanomètre [26].

Deux grandes familles de nanomatériaux sont ainsi distinguées : les nano-objets et les matériaux nanostructurés [27-28-29].

I.6. Nanoparticules

Le terme de « nanoparticule » est utilisé lorsque la particule a au moins une de ses dimensions inférieure à 100 nm [30-31]. Le rayon typique d'un atome étant de l'ordre de 0,1 nm, une NP peut être constituée de quelques dizaines à plusieurs centaines d'atomes. Par exemple, les NPs les plus célèbres, les fullerènes, sont constituées de seulement 60 ou 70 atomes de carbone. Leur très petite taille donne aux NPs des surfaces spécifiques très importantes [32].

Le terme de NPs fait référence à différentes classes de particules :

- NPs à base de carbone : tels que les fullerènes, les nanofeuillets de graphène, les nanofibres de carbone, le noir de carbone, les nanomousses de carbone.
- Les métaux tels que l'argent, l'or, le cuivre et le fer et les oxydes métalliques tels que les oxydes de fer, de zinc, et de cuivre.
- NPs organiques tels que les polymères organiques.
- NPs d'origine biologique [33].

I.6.1. Sources de nanoparticules

Les NPs peuvent provenir de sources naturelles et anthropiques (NPs artificielles et indésirables ou accidentelles) [34].

I.6.1.1. Sources naturelles

Les NPs sont abondantes dans la nature, car elles sont produites dans de nombreux processus naturels, y compris les réactions photochimiques, les incendies de forêt les éruptions volcaniques et l'érosion simple, et par les plantes et les animaux, comme le perdre de la peau et les cheveux [35], les embruns, les nuages, et la tempête de poussière [36].

Les NPs biologiques naturelles comprennent les bactéries, les champignons [37], les virus (qui sont de tailles diverses mais nanoparticulaires) les protéines (BSA, insuline, etc.), les lipides, les glucides (glucose, fructose, etc.) et d'autres biomolécules inorganiques qui sont de niveau nanoparticulaire [38].

Les NPs naturelles sont généralement monodispersées en raison de la sélection naturelle de la taille, de la diminution de la toxicité, de la richesse en eau et en groupes hydroxyle en raison de l'abondance de l'environnement hydraté, de l'agrégation en formes complexes et de l'absence de ligands spécifiques liés à leurs surfaces [39].

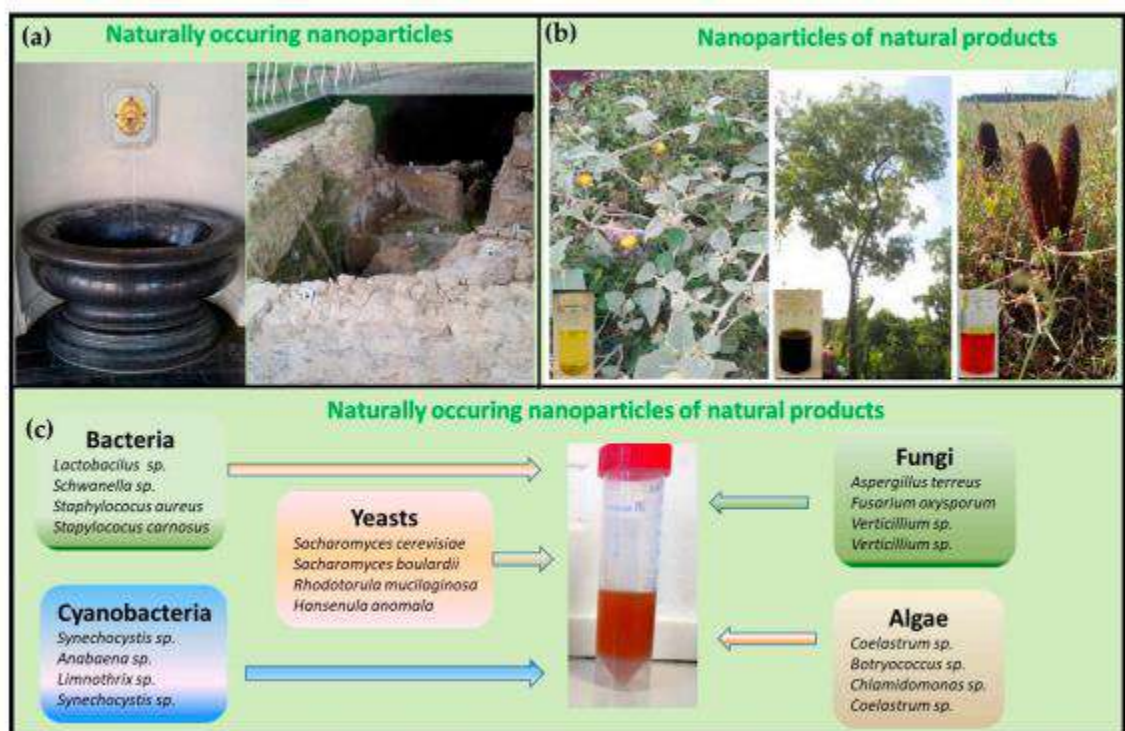


Figure I. 2: Exemples de matériaux naturels et biologiques contenant des particules nanoscopiques [37].

I.6.1.2. Sources anthropiques

I.6.1.2.1. Nanoparticules accidentelles (ou nanoparticules non manufacturées).

Dans cette catégorie nous retrouvons les particules atmosphériques « ultrafines » (PUF) [40]. Ces particules, sont émises notamment par les véhicules diesel, les véhicules à essence et les chauffages urbains.

Mis à part les PUF, d'autres NPs sont produites par l'homme de façon accidentelle, non intentionnelle ou non manufacturées. Dans cette classe, il existe principalement les particules présentes dans la fumée de soudage [41]. Les NPs sont générées également par des activités intérieures courantes, telles que: la cuisine, le tabagisme, le nettoyage et la combustion (par exemple, bougies, cheminées) [42]. Parmi les NPs produites par des activités intérieures se trouvent: les fibres textiles, les particules de peau, les spores, les excréments d'acariens, les produits chimiques, la fumée des bougies, la cuisine et les cigarettes [43].

I.6.1.2.2. Nanoparticules artificielles (ou nanoparticules manufacturées)

Les NPs artificielles, manufacturées ou intentionnelles sont des particules produites artificiellement en raison de leurs propriétés utiles. Ils peuvent être constitués d'un seul élément comme C ou Si, ou d'un mélange d'éléments différents [44].

Les principales caractéristiques des NPs artificielles ont une surface spécifique élevée, une transformation de phase inhabituelle en raison de leur nature artificielle, une stabilisation inhabituelle des défauts, une déformation de surface élevée et une agrégation contrôlée par cristallographie [44]. Cette source de NPs incluent les fullerènes, les nanotubes de carbone, les dendrimères, les points quantiques, le TiO_2 , les NPs d'or et d'argent [45].

Des différences existent entre les PUF et les NPs manufacturées (NPsM), les PUF ont généralement une assez large distribution de taille et une composition chimique complexe tandis que les NPsM ont souvent une distribution étroite et une composition chimique définie. Très schématiquement, il existe des NPsM métalliques (dioxyde de titane et de zinc, par exemple) et des NPsM carbonées. Parmi celles-ci, les nanotubes de carbone qui occupent une place importante [41].

I.6.2. Avantages et inconvénients des nanoparticules

Tableau I. 1: Quelques avantages et inconvénients des nanoparticules.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> • Améliorer la diffusion Rayleigh • Diffusion Raman améliorée en surface. • Forte absorption plasmatique. • Imagerie du système biologique. • Déterminer les informations chimiques sur un substrat métallique à l'échelle nanométrique [46]. • L'augmentation de la surface spécifique entraîne une dissolution plus rapide de l'agent actif dans un environnement aqueux, tel que le corps humain [47]. 	<ul style="list-style-type: none"> • Les NPs peuvent subir une transformation, car elles sont thermodynamiquement instables et se situent dans la région des minima locaux à haute énergie. Cela conduit à une détérioration de la qualité, une mauvaise résistance à la corrosion, et le principal souci est que la conservation de la structure devient difficile. • Lors de la synthèse de NPs, la formation peut être aggravée par l'environnement impur. Comme les NPs sont très réactives, il peut également y avoir de fortes chances d'impureté. • Les NPs ont été signalées comme toxiques, cancérigènes et irritants car elles deviennent transparentes pour le derme cellulaire. • La combustion exothermique peut entraîner une explosion, car les fines particules métalliques agissent comme des explosifs puissants. • Lors de la synthèse de NPs, il faut l'encapsuler, car il est extrêmement difficile de conserver la taille des nanoparticules sous forme de solution [46]. • Les NPs en raison de leur petite taille peuvent causer des problèmes d'inhalation et de nombreuses autres maladies mortelles en inhalant simplement pendant 60 secondes dans l'air contenant des nanoparticules peuvent facilement endommager les poumons. • Les NPs augmentent la pollution [48]. • Il a été démontré que les NPs, qui pénètrent dans le foie, peuvent induire localement un stress oxydatif [49].

I.6.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules

Il existe deux approches différentes utilisées pour synthétiser les NPs, l'approche descendante «top-down», qui est basée sur des méthodes physiques, et l'approche ascendante «bottom-up», qui est basée sur des méthodes chimiques [51-52-53].

L'approche descendante part d'un matériau en vrac qui incorpore des détails nanométriques critiques. Dans cette approche, un biomatériau est conçu en réduisant une entité complexe en ses composants, comme la création de petits cristaux à partir d'un tissu dur minéralisé en vrac par gravure à l'acide. En revanche, l'approche ascendante assemble des matériaux à l'échelle nanoscopique, tels que des molécules et des atomes, pour former des structures plus grandes (Figure I.3) [54].

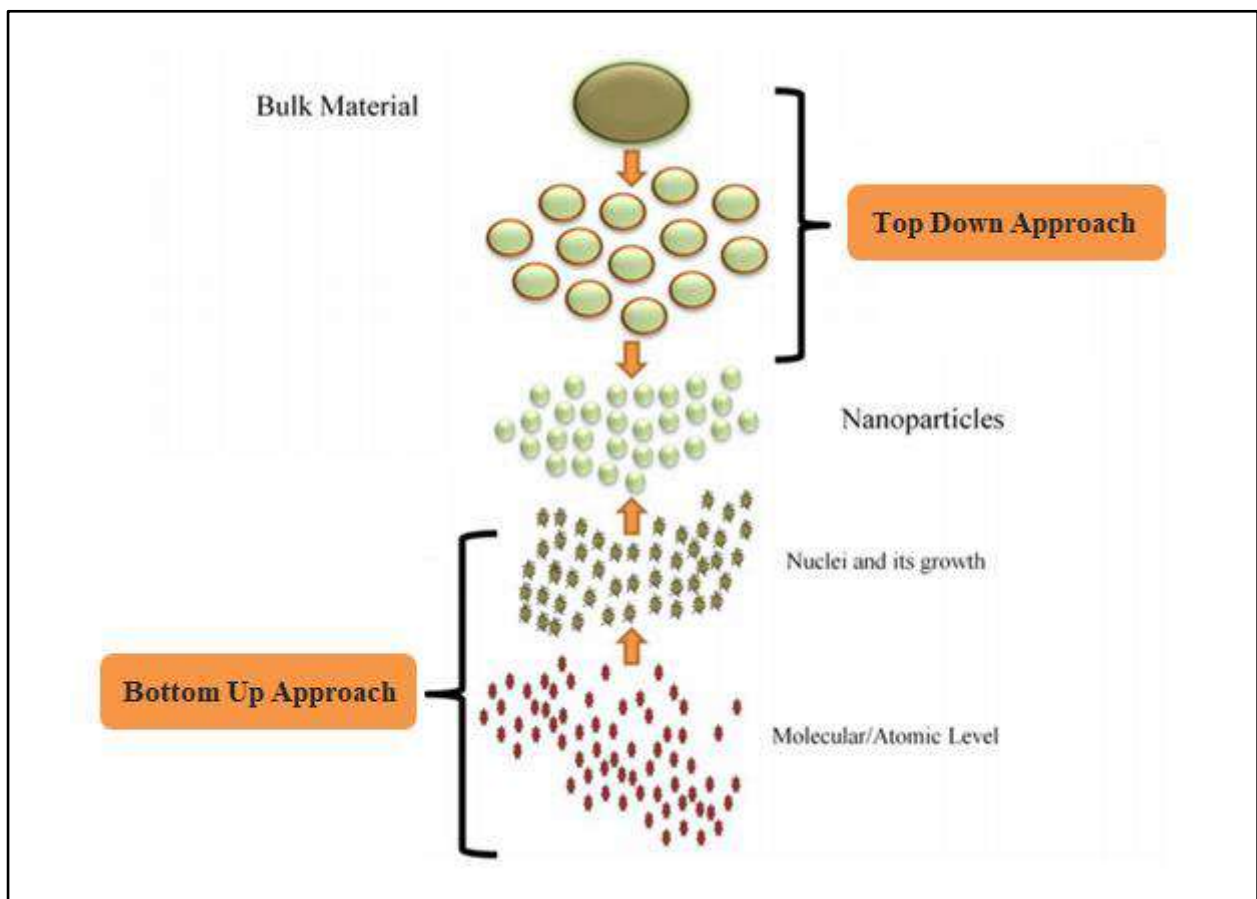


Figure I. 3: Synthèse des nanomatériaux (NPs) VIA approches top-down et bottom-up [52].

La synthèse des nanoparticules fait appel à des méthodes chimiques, physiques et biologiques. Les procédures biologiques sont encore au stade de développement (Figure I.4) [55].

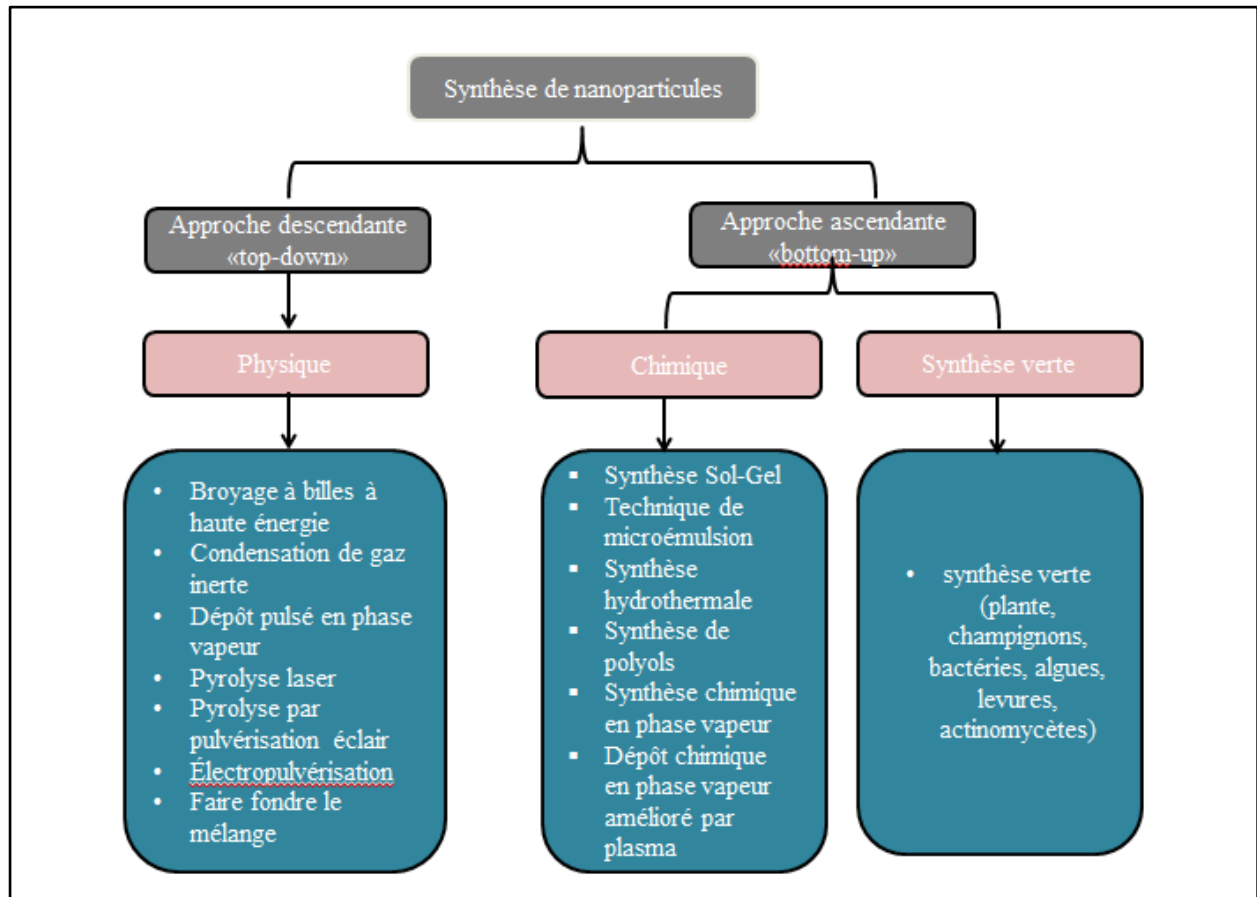


Figure I. 4: Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules [50].

I.6.3.1. Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules

- La réduction chimique, qui est la réduction d'un sel ionique dans un milieu approprié en présence de tensioactif à l'aide d'agents réducteurs. Certains des agents réducteurs couramment utilisés sont le borohydrure de sodium, l'hydrate d'hydrazine, le chlorate d'aura de potassium et le citrate de sodium.
- La synthèse solvothermique, qui est une voie polyvalente à basse température dans laquelle des solvants polaires sous pression et à des températures supérieures à leur point d'ébullition sont utilisés. Dans des conditions solvothermiques, la solubilité des réactifs augmente de manière significative, permettant à la réaction d'avoir lieu à une température plus basse.

- La technique sol-gel, qui est une technique chimique par voie humide utilisée pour la fabrication d'oxydes métalliques à partir d'une solution chimique qui agit comme un précurseur pour un réseau intégré (gel) de particules discrètes ou de polymères. Le sol précurseur peut être soit déposé sur le substrat pour former un film, soit coulé dans un récipient approprié avec la forme souhaitée pour synthétiser des poudres.
- L'ablation au laser, qui consiste à retirer le matériau d'une surface solide par irradiation avec un faisceau laser. Le matériau est chauffé par l'énergie laser absorbée et s'évapore ou se sublime à faible flux laser. À flux plus élevé, le matériau est converti en plasma. La quantité de matière éliminée par une seule impulsion laser et la profondeur sur laquelle l'énergie laser est absorbée dépend des propriétés optiques du matériau et de la longueur d'onde du laser. Des nanotubes de carbone peuvent être produits par cette méthode.
- La condensation de gaz inerte, où différents métaux sont évaporés dans des creusets séparés à l'intérieur d'une chambre à ultra-vide rempli d'hélium ou d'argon gazeux à une pression typique de quelques 100 pascals. À la suite de collisions inter-atomiques avec des atomes de gaz dans la chambre, les atomes métalliques évaporés perdent leur énergie cinétique et se condensent sous la forme de petits cristaux qui s'accumulent sur un doigt froid rempli d'azote liquide. Par exemple, des nanoparticules d'or ont été synthétisées à partir de fils d'or [56].

I.6.3.2. Méthodes biologiques (Synthèse verte)

En raison du taux élevé de produits chimiques toxiques et de l'environnement extrême utilisé dans la production physique et chimique de ces NPs, des méthodes vertes utilisant des plantes, des champignons, des bactéries et des algues ont été adoptées [57].

I.6.3.2.1. Plantes

L'utilisation d'extraits de plantes offre certains avantages par rapport à ses homologues, comme la facilité de se procurer et la sécurité à manipuler. Le processus de synthèse verte des NPs à l'aide d'extraits végétaux implique généralement la réaction entre l'extrait végétal et les précurseurs à base de métaux. Dans cette réaction, l'extrait végétal agit comme un agent réducteur et coiffant qui réduit le précurseur à base de métal qui agit comme un agent oxydant pour former des NPs à base de métal [58-59].

Des extraits de plantes ont été produits à partir de différentes parties, les graines, les feuilles et les fleurs, pour étudier leurs capacités à synthétiser les NPs [60-61]. La capacité d'un

extrait végétal à synthétiser les NPs réside sur la présence des composés phytochimiques dans la plante qui sont responsables de ses capacités de synthèse [62]. Ces composés phytochimiques comprennent les flavonoïdes, les saponines, les terpénoïdes, les glucides, les protéines et les alcaloïdes [63]. Ils sont des agents d'extinction d'oxygène, des agents réducteurs et stabilisants, des agents chélateurs de métaux et des donneurs d'hydrogène. La réduction des ions métalliques par ces substances dans les extraits végétaux conduit à la formation de nanomatériaux respectifs [64].

L'utilisation des plantes dans la synthèse des NPs a attiré plus d'intérêt des travailleurs car elle fournit un processus de biosynthèse en une seule étape de biosynthèse et possède un large spectre de métabolites qui peuvent aider dans le processus de la réduction [65-66]. Les plantes offrent une option supérieure pour la synthèse des NPs, car les protocoles impliquant des sources végétales sont exempts de substances toxiques; en outre, les agents de coiffage naturels sont facilement fournis par les plantes (Figure I.5).

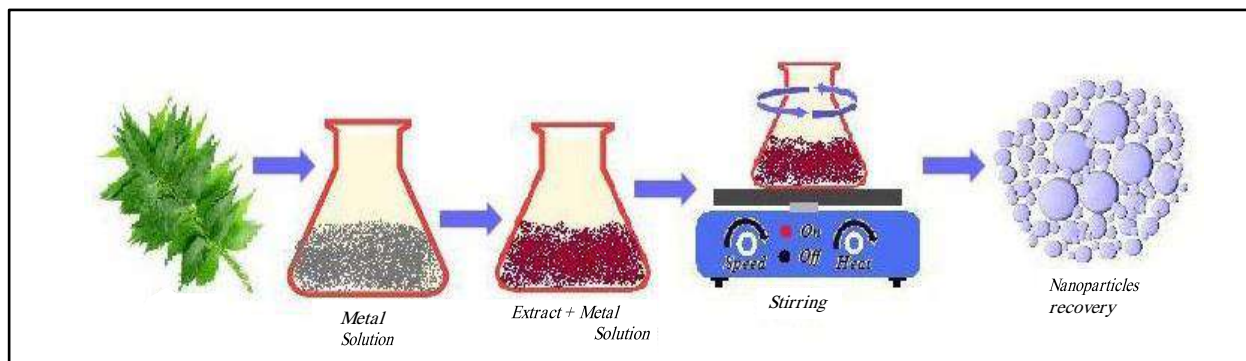


Figure I. 5: Synthèse de nanoparticules à partir d'extrait végétal [67].

Pour la synthèse des NPs, la partie de la plante qui doit être utilisée en synthèse est lavée et bouillie avec de l'eau distillée. Après avoir pressé, filtré et ajouté les solutions respectives des nanoparticules que nous voulons synthétiser, la couleur de la solution commence à changer, dévoilant la formation de NPs et nous pouvons les séparer (Figure I.6) [68].

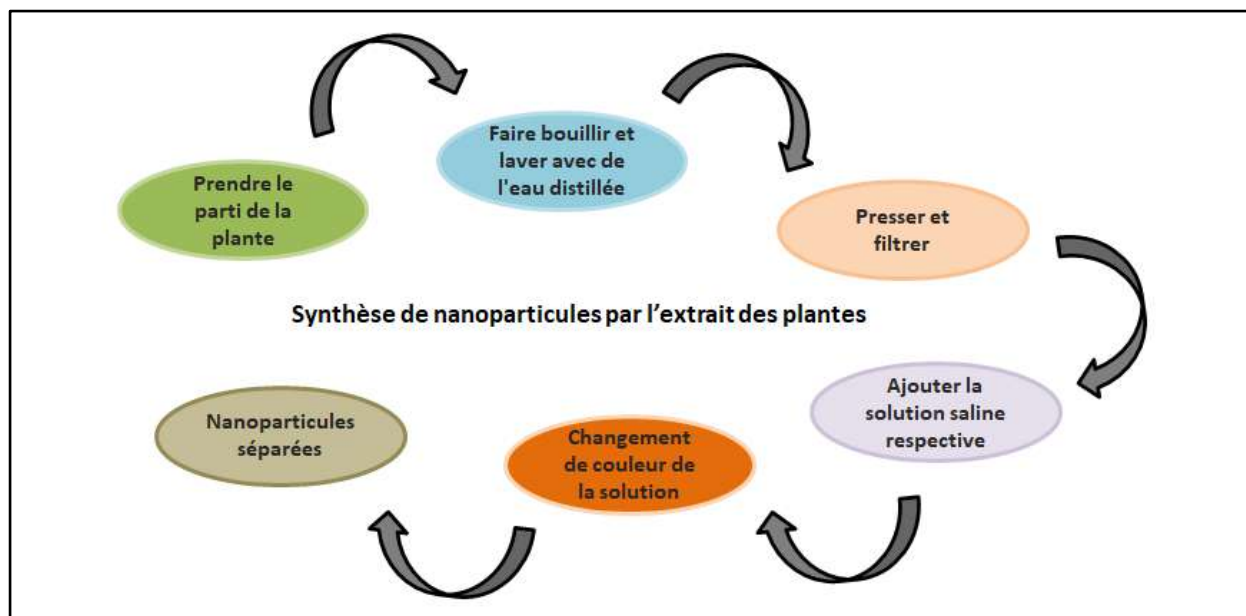


Figure I. 6: Voie écologique et bon marché pour la synthèse verte de nanoparticules à l'aide d'extraits de plantes [68].

Le mécanisme exact et les composants responsables des NPs synthétiques d'origine végétale restent à élucider. Il a été proposé que les protéines, les acides aminés, les acides organiques, les vitamines, ainsi que les métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les polyphénols, les terpénoïdes, les composés hétérocycliques et les polysaccharides, ont des rôles importants dans la réduction des sels métalliques et, en outre, agissent comme agents de coiffage et stabilisants pour les NPs synthétisées. Par exemple, le groupe d'El-Kassas [69] a montré que le groupe fonctionnel hydroxyle des polyphénols et le groupe carbonyle des protéines de l'extrait de *Corallina officinalis* pouvaient aider à former et à stabiliser les NPs d'or [70].

Tableau I. 2: Quelques recherches sur la synthèse de nanoparticules à l'aide des plantes.

Plantes	Parties de plantes	Produits	Taille (nm)	Références
<i>Prunus yedoensis</i>	Feuilles	Ag	20 - 70	[71]
<i>Potentilla fulgens</i>	Racines	Ag	10 - 15	[72]
<i>Platycodon grandiflorum</i>	Feuilles	Au	15	[73]
<i>Pimpinella tirupatiensis</i>	Feuilles	Pd	15,4	[74]
<i>Cassia auriculata</i>	Feuilles	CuO	23	[75]
<i>Terminalia arjuna</i>	Feuilles	Au	15 - 30	[76]
<i>Camellia sinensis</i>	Feuilles	Fe	116	[77]
<i>Plectranthus Amboinicus</i>	Feuilles	Cu	16 - 25	[78]

I.6.3.2.2. Microorganismes

Les bactéries procaryotes, les actinomycètes, les champignons, les algues et les levures sont largement utilisés comme bio-réacteurs pour la synthèse des NPs. D'énormes efforts scientifiques ont été déployés pour développer cette stratégie de production d'une variété de NPs (Ag, Au, Pd, TiO₂, CdS, etc.) [79].

La synthèse des NPs avec des bactéries et des champignons a gagné plus d'intérêt que la synthèse avec des actinomycètes et des levures car la technologie bien mûre est disponible en synthèse par des bactéries et des champignons que par des actinomycètes et des levures [80]. Quelques recherches récentes sur la synthèse des NPs à l'aide de microbes sont résumées dans le tableau (I.3).

Tableau I. 3: Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide de microorganismes.

Microorganisme	Produit	Taille (nm)	Référence
Bactéries			
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Ag	26,84 - 44,42	[81]
<i>E. coli</i>	Ag	20 - 50	[82]
<i>Shewanella algae</i>	Pt	Environ 5	[83]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Se	2 - 15	[84]
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ag	160 - 180	[85]
<i>Bacillus subtilis</i>	ZnO	16 - 20	[86]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ag	30 à 75	[87]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Au	30	[88]
<i>Pseudomonas sp</i>	Ag	10 - 30	[89]
Champignons			
<i>Penicillium duclauxii</i>	Ag	13	[90]
<i>Helminthosporium solani</i>	Au	2 - 70	[91]
<i>P. rugulosum</i>	Au	20-80	[92]
<i>Candida albicans</i>	Au	5	[93]
<i>Aspergillus tubingensis</i>	P	28,2	[94]
<i>Alternaria alternate</i>	Au	12	[95]
<i>Phoma glomerata</i>	Ag	60 - 80	[96]
Levures			
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Au	15	[97]
Actinomycètes			
	Ag	10 - 20	[98]
<i>Streptomyces sp.</i>	Au	10	[99]

Algues			
<i>Caulerpa racemosa</i>	Ag	5 - 25	[100]
<i>Spirulina platensis</i>	Au	20 - 30	[101]
<i>Padina sp</i>	Ag	25 - 60	[102]
<i>Sargassum latifolium</i>	Se	22,31 - 95,16	[103]

a) Bactéries

Parmi les méthodes biologiques, les bactéries sont un outil particulièrement important pour fabriquer les NPs en raison de leur variété et de leur grande adaptabilité aux conditions extrêmes [104]. À ce jour, de nombreuses études sur la biosynthèse des NPs par les bactéries, y compris les substances et composés élémentaires (comme le montre la figure I.7), ont été rapportées dans la littérature [105].

En outre, de nombreuses études ont montré que non seulement les bactéries vivantes, mais également les entités mortes de certaines bactéries peuvent également être utilisées pour la biosynthèse des NPs. Cependant, les mécanismes de ces processus sont différents. En général, le processus métabolique peut être responsable de la bioréduction des NPs dans les bactéries vivantes. Cependant, pour les entités mortes, les ions métalliques et métalloïdes sont liés aux cellules bactériennes qui fournissent des sites de nucléation pour les NPs [104].

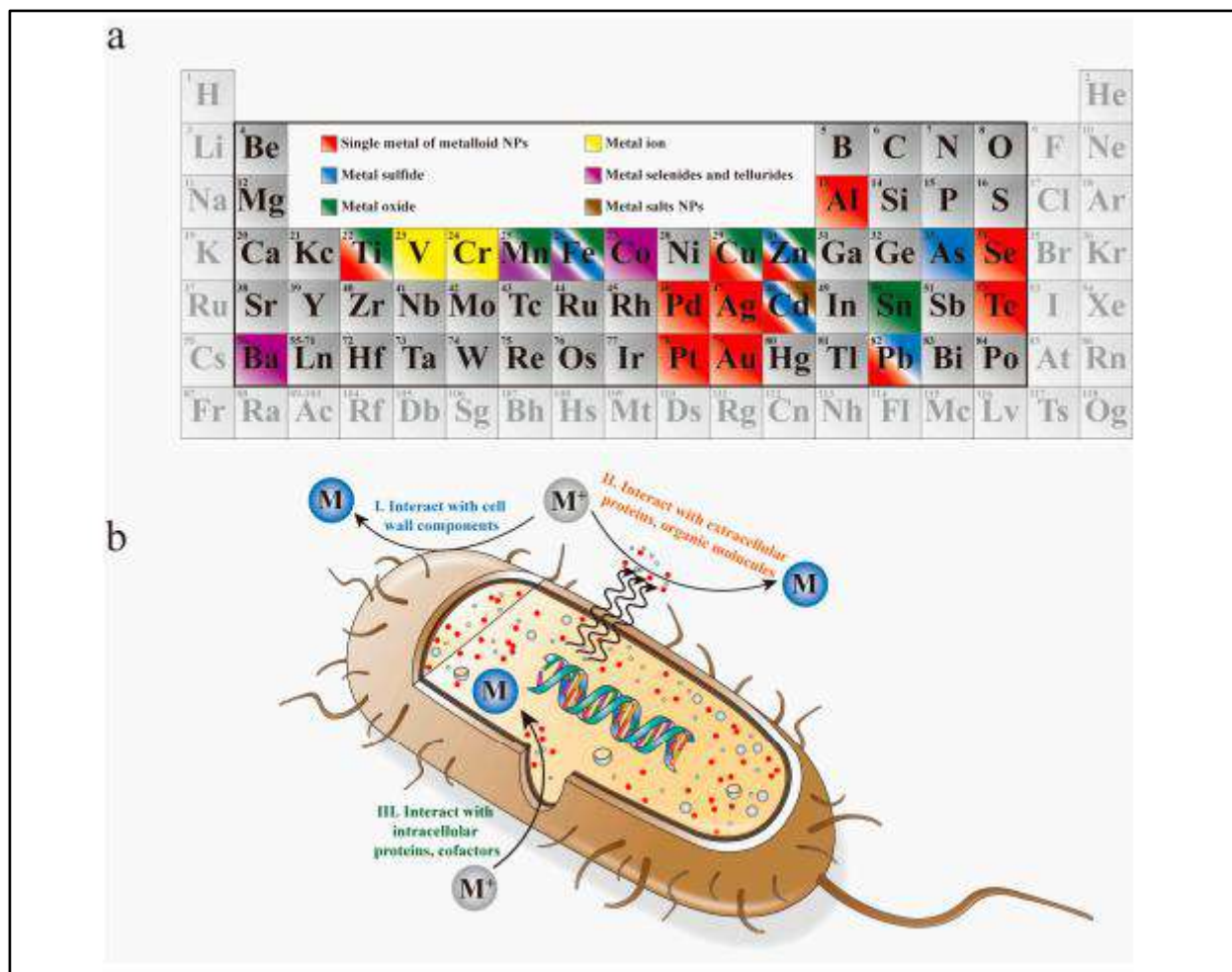


Figure I. 7: **a)** Tableau périodique des éléments qui ont été synthésés par des bactéries ; **b)** Représentation schématique de la synthèse bactérienne des NPs ; les processus intracellulaire et extracellulaire sont inclus [104].

b) Champignons

L'exploration de l'implication des champignons dans la nanotechnologie est considérée comme importante. À cet égard, les champignons ont attirés plus d'attention concernant la recherche sur la production biologique de NPs métalliques en raison de leur tolérance et de leur capacité de bioaccumulation des métaux [106].

La facilité de mise à l'échelle des champignons est un privilège distinct de les utiliser dans la synthèse de NPs (par exemple, en utilisant une technique de fermentation sur substrat solide mince). Étant donné que les champignons sont des sécréteurs très efficaces d'enzymes extracellulaires, il est donc possible de réaliser une vaste production d'enzymes [107].

Parmi les champignons, *Fusarium spp* joue un rôle important dans la synthèse des NPs et

peut être considérée comme une nano-usine pour la fabrication de NPs. Parmi ceux-ci, *F. oxysporum* a démontré un potentiel élevé pour la synthèse des AgNPs. On suppose que l'enzyme nitrate réductase NADH-dépendante sécrétée par *F. oxysporum* est responsable de la réduction des ions argent aqueux en AgNPs [108].

c) Levures

En raison de la production de masse de NPs, de la facilité de contrôle des levures en laboratoire, de la synthèse de nombreuses enzymes et de la croissance rapide avec l'utilisation de nutriments simples, les souches de levure possèdent plus d'avantages par rapport aux bactéries. Certaines études ont été menées pour étudier la synthèse de NPs métalliques utilisant la levure. Cependant, dans ce but, en utilisant les systèmes eucaryotes, à savoir *Candida glabrata* et *S. pombe*, l'une des principales méthodes d'utilisation du matériel biologique a été atteinte [109].

L'applicabilité possible des NPs formées par la levure a été démontrée par quelques recherches. Pour la fabrication d'une diode cadmium, des NPs de sulfure synthétisées de façon intracellulaire par *S. pombe* ont été appliquées, qui avaient un fonctionnement à basse tension et une valeur de courant direct élevée. On suppose que ces propriétés peuvent former la structure artificielle d'une diode parfaite [110].

Il a été démontré que les levures extrémophiles, isolées du drainage minier acide au Portugal, sont capables de se développer en présence d'ions Ag et Au et peuvent être exploitées pour produire des particules nanocristallines d'argent et d'or [111].

Pour la première fois, l'utilisation potentielle d'une souche de levure nouvellement isolée (*P. kudriavzevii*) pour synthétiser des ZnO-NPs à l'aide d'une méthode verte est démontrée dans l'étude de Moghaddam *et al.* [112].

d) Algues

Les algues sont un groupe diversifié d'organismes photoautotrophes, eucaryotes, aquatiques, unicellulaires / multicellulaires et ont été classées en fonction de la pigmentation qu'elles libèrent, qui comprend les algues brunes (phaéophytes), les algues rouges (rhodophytes) et les algues vertes (chlorophytes). Les algues sont couramment utilisées pour la biosynthèse de divers NPs d'oxydes métalliques et métalliques, car elles poussent rapidement, sont faciles à manipuler et leur croissance de la biomasse, en moyenne, est dix fois plus rapide que les plantes supérieures. Différentes souches d'algues ont été étudiées pour la synthèse verte de différents

types de NPs à ce jour [113].

e) Actinomycètes

Les actinomycètes représentent un groupe attrayant de bactéries filamenteuses à gram positif avec des activités naturelles variées et sont également désignées comme «champignons des rayons». Ils partagent des caractéristiques importantes à la fois des procaryotes (bactéries) et des eucaryotes (champignons). Les actinomycètes ont une capacité inégalée à produire divers métabolites secondaires comme les anti-toxines ou les antibiotiques. La synthèse biologique des NPs métalliques a été rapportée avec succès par les actinobactéries et sur cette base, les actinomycètes ont été considérés comme des bionanofactories pour la synthèse des NPs [114].

I.6.3.2.2.1. Mécanismes de formation des nanoparticules par les microorganismes

Des mécanismes spécifiques de formation de NPs dans différents organismes, à la fois unicellulaire et multicellulaire, ont été établis. Cependant, la synthèse des NPs suit un schéma généralisé dans lequel les ions métalliques sont capturés par les cellules microbiennes ou regroupés à la taille des NPs en présence d'une enzyme. La biosynthèse des NPs est réalisée en cultivant des micro-organismes dans des milieux nutritifs spécifiques contenant les ions correspondants. Selon le site de localisation, la synthèse de NPs par des microorganismes (notamment bactéries, champignons, actinomycètes, levures et même virus) est classée en intracellulaire et extracellulaire. Les ions métalliques pénètrent dans la cellule bactérienne par des canaux ioniques, par transport actif, endocytose ou pénétration à travers la membrane lipidique. Le processus de synthèse intracellulaire implique le processus de piégeage, de bioréduction et de coiffage de diverses NPs. La synthèse extracellulaire comprend la sécrétion d'enzymes, la bioréduction et le coiffage des particules. La plupart des rapports publiés ont fait valoir que la synthèse extracellulaire de NPs est préférable car les processus à faible débit et de purification sont plus faciles par rapport aux méthodes intracellulaires. Une enzyme couramment utilisée est le nitrate réductase, qui peut être responsable de la synthèse de NPs, telles que les NPs d'argent et d'or. Dans le processus de bioréduction (Figure I.8), les enzymes individuelles jouent un rôle important dans le transport des électrons des donneurs vers l'ion métallique positif [115].

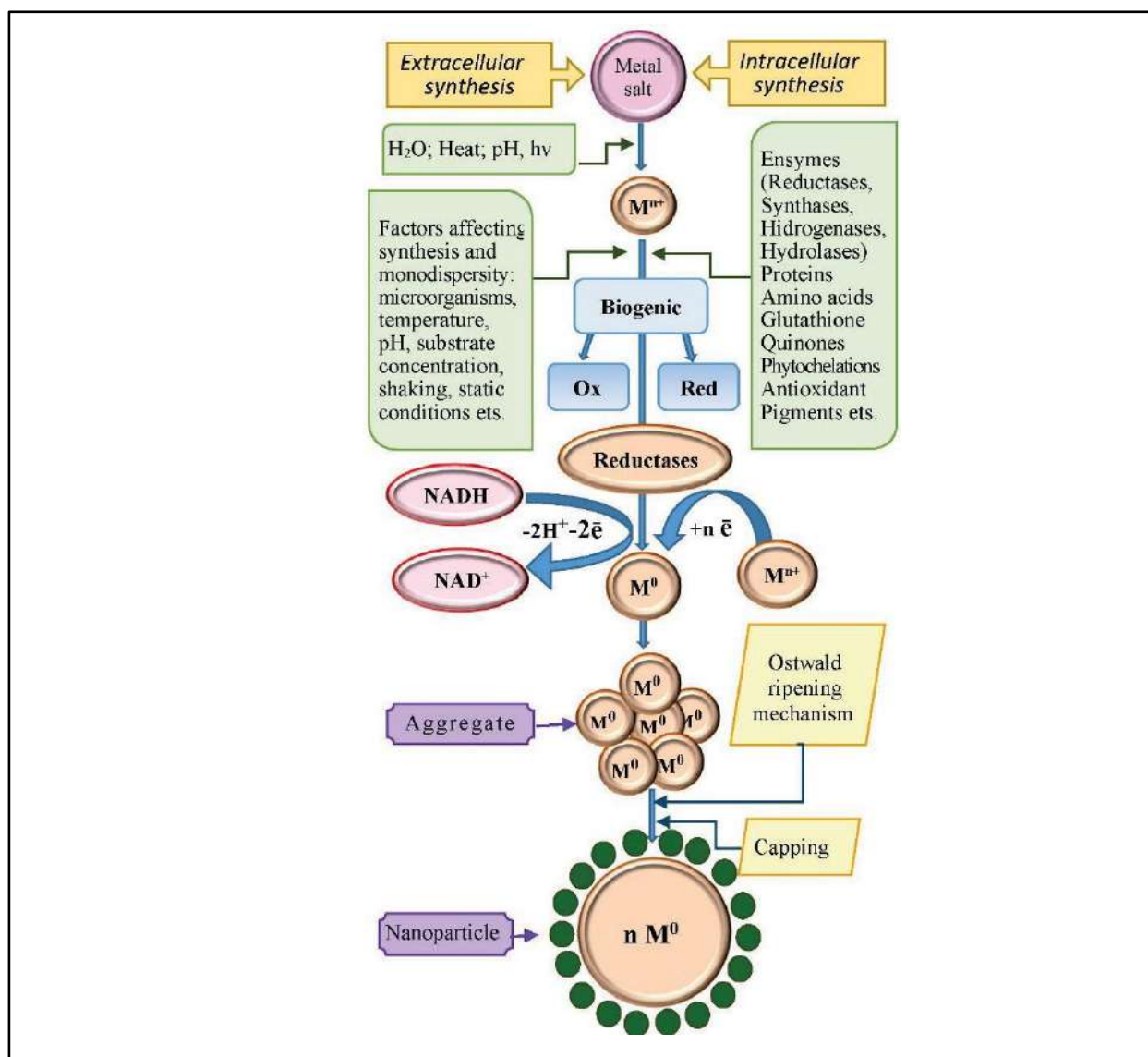


Figure I. 8: Schéma général de synthèse de nanoparticules de métaux par des micro-organismes [115].

Tableau I. 4: Avantages et inconvénients des différentes techniques de synthèse des nanoparticules [55].

Technique	Avantages	Inconvénients	Produits chimiques / micro-organismes utilisés
Physique	La production en une seule étape, précurseurs et potentiel de production à grande échelle avec des rendements élevés. [116].	Jointure ferme, déconcertée dans les données et la note d'efficacité étant des NPs Fournit l'expansion cristalline, synthèse des particules	

Chimique	Monodispersité élevée (5–15%).	Coûteux d'esprit faible en figure et sortie par conséquent réclamation de produits chimiques mortels Remarque environnemental facile à traiter résolution de NP Gérer le développement des cristaux, synthèse des particules faible rendement.	Agents réducteurs, tels que le méthoxy polyéthylène glycol, le borohydrure de sodium, le bitartrate de potassium, l'hydrazine Des agents stabilisants tels que la polyvinylpyrrolidone, le dodécyl benzyl sulfate de sodium.
biologique	Faible monodispersité (~ 40–50%), respectueux de l'environnement.	Il est difficile de déterminer les composants réactifs des plantes car les extraits de plantes contiennent de nombreux composés organiques. Pas économique car la culture des bactéries est fastidieuse. le processus de réduction est également lent, allant d'une heure à plusieurs jours [117].	Levures, bactéries, champignons, algues, plantes, virus et actinomycètes.

I.7. Nanoparticules d'argent

I.7.1. Présentation générale de l'argent

L'argent est un élément chimique avec le symbole Ag [118] de couleur gris blanc [119]. C'est un métal malléable, ductile et précieux qui a été connu depuis des temps anciens (ses premiers débuts vers 5000 avant notre ère) et est situé dans le groupe 11 (Ib) et la période 5 du tableau périodique. L'argent est largement distribué dans la nature. Mais son abondance dans la croûte terrestre est très faible (0.05 ppm) par rapport aux autres métaux. L'argent a le numéro atomique 47 et le poids atomique de 107.880, et sa configuration électronique à l'état fondamental est [Kr] 4d105s1. La plupart du temps, l'argent peut exister dans un mélange d'isotopes, ^{107}Ag et ^{109}Ag . L'Ag est visiblement diamagnétique et sa susceptibilité magnétique est presque indépendante de la température de la température ambiante à juste en dessous du point de fusion [120].



Figure I. 9: Pépîte d'argent [121].

I.7.2. Nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent ou nano-argent sont des molécules ayant une taille de 20-40 nm, composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions argent. Elles sont, devant les nanotubes de carbone et les NPs de titane, les NPs les plus vendues et relâchées dans l'environnement. Les AgNPs sont très prisés par l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, de part notamment leur propriété biocide. Néanmoins, l'utilisation de ces NPs reste controversée de par leur risque sur la santé et l'environnement [122].

I.7.2.1. Propriétés des nanoparticules d'argent

Les AgNPs ont des propriétés physico-chimiques distinctives, notamment une conductivité électrique et thermique élevée, une diffusion Raman améliorée en surface, une stabilité chimique, une activité catalytique et un comportement optique non linéaire [123].

I.7.2.1.1. Propriétés optiques

Étant donné que les AgNPs sont extrêmement efficaces pour absorber et diffuser la lumière et contrairement à de nombreux colorants et pigments, ont une couleur qui dépend de la taille et de la forme de la particule. La forte interaction du nano-argent avec la lumière se produit parce que les électrons de conduction sur la surface du métal subissent une oscillation collective lorsqu'ils sont excités par la lumière à des longueurs d'onde spécifiques connues sous le nom de résonance plasmonique de surface (Figure I. 10 : a, b) et se traduit par des propriétés de diffusion et d'absorption inhabituellement fortes [124].

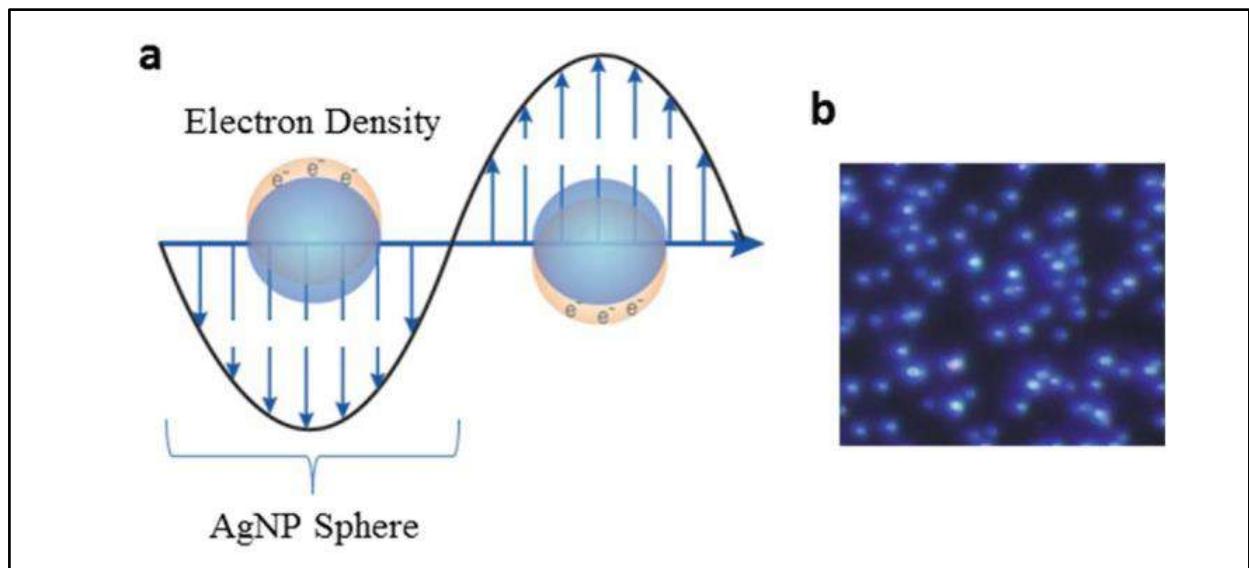


Figure I. 10: a) Résonance plasmonique de surface (SPR) pour les AgNPs à une longueur d'onde spécifique ; b) Image de microscopie en champ noir des AgNPs [124].

I.7.2.1.2. Structures cristallines

La structure cristalline des AgNPs peut être dérivée des diagrammes de diffraction des rayons X. Plusieurs études ont rapporté que les AgNPs ont la structure cubique, montrant des pics à 38.06° , 44.22° , 64.48° et 77.32° correspondant à l'angle de diffusion 2θ des plans (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), et (3 1 1), respectivement. De plus, le diagramme de diffraction des AgNPs se produit à 38.5° , 44° et 64.5° (2θ). Ces modèles peuvent être indexés sur les plans (111), (200), et (220) de l'argent cubique face centrée (fcc) [125].

I.7.2.1.3. Propriétés thermiques

Une propriété remarquable des NPs métalliques est leur faible température de fusion due à l'effet de taille thermodynamique [125].

I.7.2.1.4. Propriétés catalytiques

Les AgNPs ont été utilisées comme agents catalytiques efficaces pour la réduction de divers colorants tels que le bleu de méthylène, le jaune-12, le 4-nitrophénol, le rose Bengale, l'éosine et le méthyl-orange [125].

I.7.2.2. Applications des nanoparticules d'argent

Ces dernières années, il y a eu diverses estimations de la production mondiale d'AgNPs. Il est prévu que l'industrie mondiale des nanotechnologies continuera de croître de manière significative, plus précisément, la production d'AgNPs. Plusieurs études ont montré que les AgNPs ont une plus grande valeur marketing que les autres NPs et que leur présence dans les produits de consommation est plus largement annoncée [126].

Le tableau suivant montre les applications des AgNPs dans des divers domaines :

Tableau I. 5: Applications des nanoparticules d'argent dans des différents secteurs [127].

Domaine	Application des AgNPs
Applications biomédicales	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réalisation antibactérienne ▪ Réalisation antifongique ▪ Réalisation antivirale ▪ Réalisation anti-inflammatoire ▪ Activité anti-angiogénique ▪ Exploit anticancéreux
Applications textiles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Textile bloquant les rayons UV ▪ Textiles et dispositifs médicaux
Industries alimentaires	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nanotechnologie et emballage alimentaire ▪ Transformation alimentaire
Traitement environnemental	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Désinfection de l'air ▪ Désinfection de l'eau <ul style="list-style-type: none"> ✓ Désinfection de l'eau potable ✓ Désinfection des eaux souterraines et des eaux usées biologiques
Applications pharmacologiques	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Activité antimicrobienne ▪ Activité larvicide ▪ Propriété de cicatrisation des plaies
Applications optiques	Utilisation dans : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Les cellules solaires ▪ L'imagerie médicale ▪ Les limiteurs optiques ▪ Les dispositifs plasmoniques [128]
Applications conductrices	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les écrans LCD ▪ LED haute intensité ▪ Ecrans tactiles [128]
Catalyse	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Catalyseur de pile à combustible ▪ Catalyseur d'additif pour carburant ▪ Production d'hydrogène [126]

I.8. Photocatalyse

I.8.1. Généralités sur la photocatalyse

Photocatalyse est un mot d'origine grec, qui se compose de deux parties: la préfixe «photo» signifie (Phos: lumière) et la «catalyse» traite (katalyo: briser, décomposer) [129]. La photocatalyse est une réaction qui utilise la lumière pour activer une substance qui modifie la vitesse d'une réaction chimique sans être elle-même impliquée [130]. Les exigences de photocatalyse sont résumées comme suites:

- La réaction thermochimique doit être une réaction endothermique.
- Le processus de photocatalyse doit être cyclique et sans réactions secondaires pour éviter la dégradation des réactifs photochimiques.
- La réaction photochimique doit être utilisée dans une large gamme de lumière, c'est-à-dire UV, visible et une partie d'IR, par conséquent, le spectre solaire est approprié économiquement.
- La contre-réaction doit être très lente pour faciliter le stockage des produits, tandis que, pour récupérer le contenu énergétique, la réaction doit être rapide.
- Les produits de la réaction photochimique doivent être faciles à conserver et à transporter [129].

La photocatalyse peut être comparée à la photosynthèse naturelle qui se produit chez les plantes. La chlorophylle des plantes est le photocatalyseur naturel typique. La différence entre le photocatalyseur de chlorophylle et le photocatalyseur à semi-conducteur artificiel; la chlorophylle capte la lumière du soleil pour transformer l'eau et le dioxyde de carbone (CO_2) en oxygène (O_2) et glucose, mais au contraire, le photocatalyseur à semi-conducteur crée un puissant agent d'oxydation et des trous électroniques pour décomposer la matière organique en CO_2 et en eau (H_2O) en présence de photocatalyseur, de lumière et d'eau [130].

I.8.2. Photocatalyseurs

Un photocatalyseur idéal doit être stable, peu coûteux, non toxique et, bien sûr, hautement photoactif. Un autre critère principal de dégradation des composés organiques est que le potentiel redox du couple $\text{H}_2\text{O} / \cdot\text{OH}$ ($\text{OH}^- \rightarrow \cdot\text{OH} + e^-$; $E_0 = -2.8\text{V}$) se situe dans la bande interdite du semi-conducteur. Plusieurs semi-conducteurs ont des énergies de bande interdite suffisantes pour catalyser une large gamme de réactions chimiques. Celles-ci incluent TiO_2 , WO_3 , SrTiO_3 , $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, ZnO , ZnS [131].

Les photocatalyseurs à nanoparticules métalliques ont suscité un intérêt récent en raison de leur forte absorption de la lumière visible et ultraviolette. Il existe maintenant de nombreux exemples de réactions réussies catalysées par des nanoparticules supportées de métaux purs et d'alliages métalliques entraînés par la lumière à des températures ambiantes ou modérées. Ces exemples démontrent que ces matériaux constituent un nouveau groupe de photocatalyseurs efficaces pour convertir l'énergie solaire en énergie chimique [132].

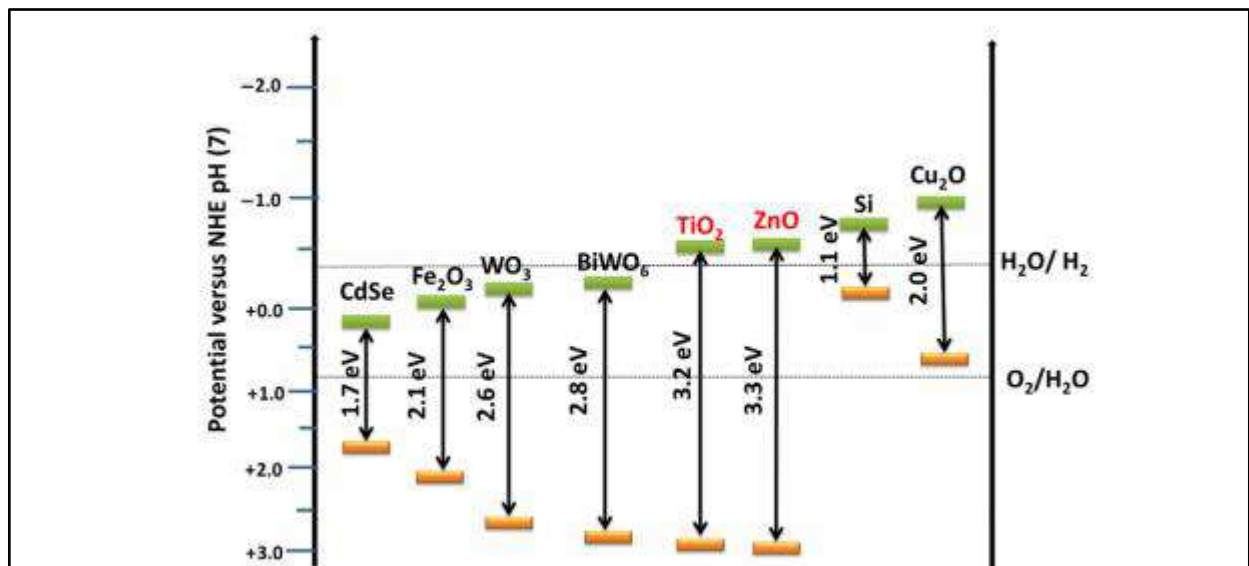


Figure I. 11: Différents semi-conducteurs avec leur valeur de potentiel redox [133].

I.8.3. Mécanisme de photocatalyse

Un matériau semi-conducteur est caractérisé par deux bandes d'énergie séparées par l'énergie de la bande interdite, par exemple (Figure I.12). Un semi-conducteur à zéro absolu est un isolant, car la bande de valence (niveau d'énergie inférieur) est complètement occupée et la bande de conduction (niveau d'énergie supérieur) totalement vide. Pour devenir conducteur, des porteurs de charge doivent être créés, généralement par photoexcitation via l'irradiation de la lumière. Lorsqu'une surface semi-conductrice est irradiée par la lumière ($h\nu \geq E_g$), un pair d'électron / trou (e^- / h^+) est générée en favorisant l'électron de la bande de valence (VB) à la bande de conduction (CB). Le caractère oxydant des trous (h^+) dans la bande de valence montre que des radicaux OH étaient générés par l'oxydation des molécules H_2O ou des ions OH^- adsorbés à la surface du semi-conducteur, celle capable d'oxyder directement les molécules organiques. La photoexcitation du photocatalyseur semi-conducteur, le mécanisme global peut être vu sur la figure (I.12) [130].

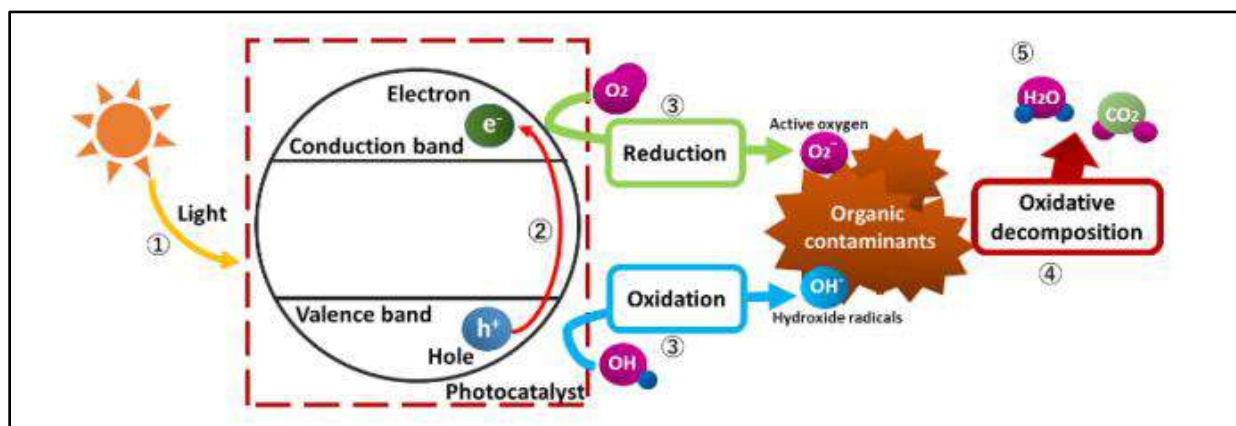


Figure I. 12: Mécanisme global de la photocatalyse par photocatalyseur à semi-conducteur [130].

Cependant pour les nanoparticules métalliques par exemple, les NPs d'or et d'argent les mécanismes sont distincts de ceux des photocatalyseurs semi-conducteurs. L'énergie absorbée par les électrons de conduction métallique et les champs électriques intenses à proximité immédiate, créés par l'effet de résonance plasmonique de surface localisée (RPSL), contribuent de manière cruciale à l'activation des molécules sur les nanoparticules métalliques, ce qui facilite la transformation chimique [132].

I.8.4. Structure et propriétés de bleu de méthylène

Le bleu de méthylène (chlorure de méthylthionine) est un composé chimique aromatique hétérocyclique de formule moléculaire ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$) (Figure I.13) avec le nom chimique [3, 7-bis (diméthylamino) -phenazathionium chlorure Tetramethylthionine chloride]. Le bleu de méthylène (BM) est un colorant thiazine cationique, bleu foncé à l'état oxydé alors qu'il est incolore sous sa forme réduite (bleu de leucométhylène). Le BM et le bleu de leucométhylène existent en tant que couple redox en équilibre et forment ensemble une oxydation réversible [134].

Le BM apparaît comme un solide inodore à température ambiante. C'est une poudre verte foncée et donne une solution bleue lorsqu'elle est dissoute dans l'eau. Il a une forte caractéristique d'adsorption sur un solide avec une longueur d'onde d'absorption maximale de 668 nm [135].

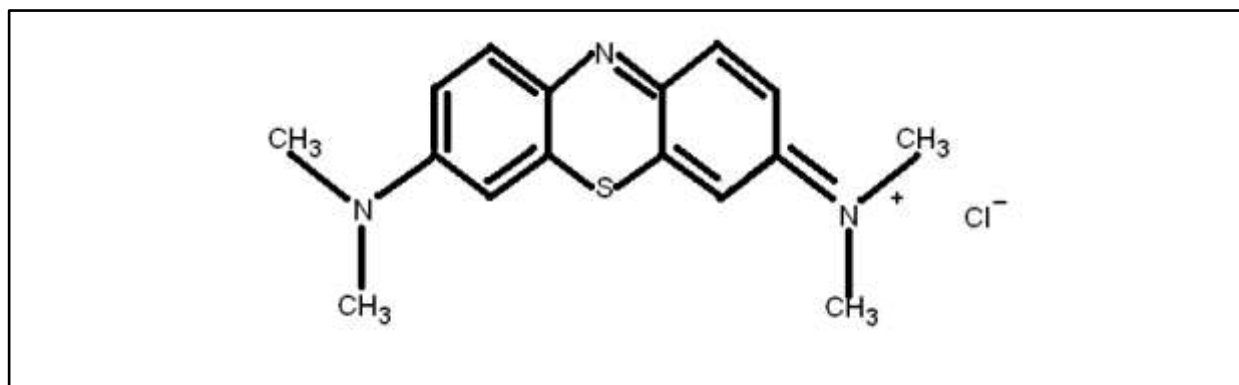


Figure I. 13: Structure chimique du bleu de méthylène [134].

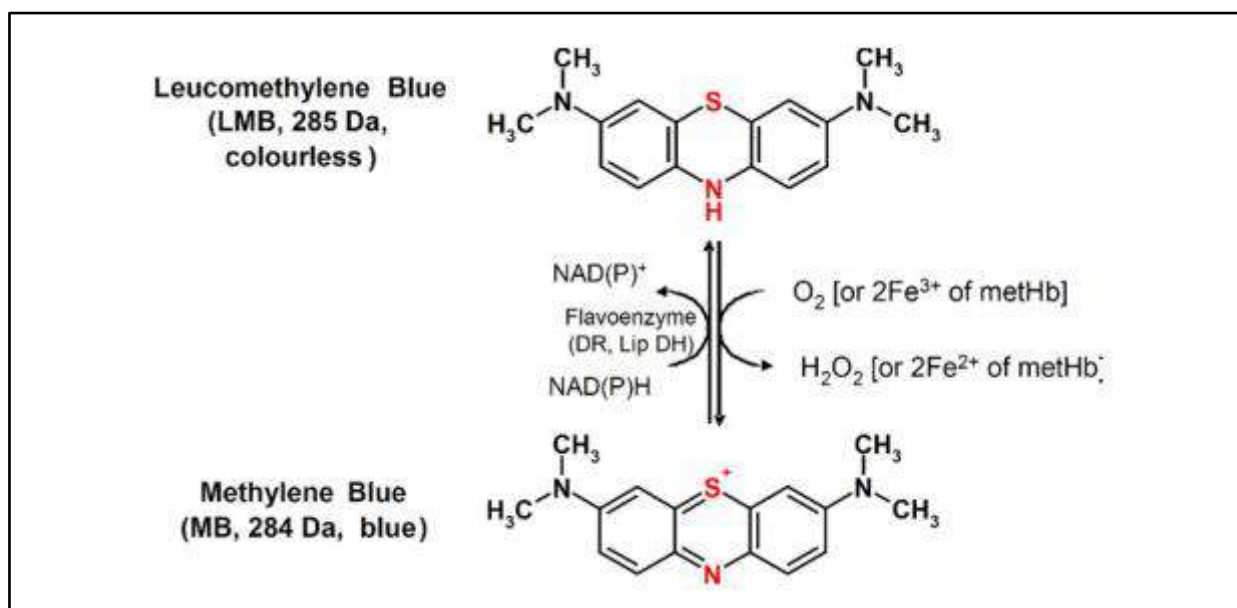


Figure I. 14: Système d'oxydoréduction réversible du bleu de méthylène et du bleu de leucométhylène [136].

Tableau I. 6: Propriétés physiques et chimiques du colorant de bleu de méthylène [137].

Propriétés physico-chimiques	Valeurs
Température de fusion	180 °C
Température d'ébullition	Aucune donnée (se décompose)
solubilité dans l'eau	35.5 g/L
pH	3 (10 g/L H ₂ O)
Masse moléculaire	319.09 g/mol
Couleur	Bleu-vert foncé sous forme oxydée, incolore sous forme réduite (Bleu de leucométhylène)
Formule chimique	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ ClS

I.9. Activité antibactérienne des nanoparticules

Plusieurs caractéristiques des NPs en font des alternatives aux antibiotiques traditionnels. Premièrement, le grand rapport surface / volume des NPs augmente la surface de contact avec les organismes cibles. Les NPs peuvent agir comme des molécules à l'échelle nanométrique interagissant avec les cellules bactériennes, régulant la pénétration de la membrane cellulaire et interférant avec les voies moléculaires. Deuxièmement, les NPs peuvent renforcer les effets inhibiteurs des antibiotiques. Enfin, les combinaisons d'antibiotiques et de NPs fournissent des mécanismes antimicrobiens complexes pour surmonter la résistance aux antibiotiques [138].

Les NPs en particulier ont démontré des propriétés antibactériennes à large spectre contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif [139]. De nombreuses études ont montré que les bactéries Gram-positives sont plus résistantes aux mécanismes d'action des NPs. On émet l'hypothèse que les parois cellulaires différentes sont la raison pour laquelle ce phénomène existe. Dans le cas des bactéries à Gram négatif, comme l'*Escherichia coli*, les cellules bactériennes sont recouvertes d'une couche de lipopolysaccharides (1 à 3 µm d'épaisseur) et de peptidoglycanes (~ 8 nm d'épaisseur). Cet agencement peut faciliter l'entrée des ions libérés des NPs dans la cellule. D'autre part, les bactéries Gram-positives telles que *Staphylococcus aureus* possèdent une couche de peptidoglycane beaucoup plus épaisse que les bactéries Gram-négatives, s'étendant sur plus de 80 nm avec des acides teichoïques et teichuroniques attachés de manière covalente. La destruction de la paroi cellulaire résultant de l'interaction physique entre les NPs et la paroi cellulaire est plus préjudiciable aux bactéries Gram-négatives car elles n'ont pas l'épaisse couche de peptidoglycane trouvée dans les bactéries Gram-positives qui pourrait éventuellement agir comme une couche protectrice. Une autre raison potentielle de la sensibilité Gram-négative aux NPs est que les bactéries Gram-négatives sont recouvertes de molécules de lipopolysaccharides, qui portent une charge négative. Ces molécules chargées négativement ont une affinité plus élevée pour les ions positifs que la plupart des NPs libèrent, conduisant à une accumulation et à une absorption accrue d'ions, qui provoquent alors des dommages intracellulaires. D'autres facteurs peuvent inclure le processus de formulation, l'environnement, le mécanisme de défense bactérienne et les caractéristiques physiques des NPs [140].

Il a été bien documenté dans la littérature que les NPs de plus petite taille présentaient des activités antimicrobiennes plus élevées en raison d'une plus grande superficie [141]. Certaines études ont montré que les NPs plus grosses sont plus efficaces, ce qui indique que la taille seule n'est pas le facteur le plus important de leur toxicité [142].

Parmi les nombreux NPs prometteurs, les NPs d'Ag semblent être des agents antibactériens potentiels en raison de leurs grands rapports surface-volume et de leurs cristaux [143] ce qui permet un meilleur contact avec les micro-organismes [144]. Soni et Salopek-Sondia [145], ont démontrés l'activité antimicrobienne des Ag NPs contre *Escherichia coli*, dans laquelle des cellules d'*E. Coli* traitées avec des Ag NPs ont montré l'accumulation de NPs d'Ag dans la paroi cellulaire et la formation de «fosses» dans la paroi cellulaire bactérienne, conduisant éventuellement à la mort cellulaire.

Les NPs d'Ag pourraient fréquemment libérer les ions argent (Ag^+), ce qui pourrait être considéré comme l'un des mécanismes à l'origine de l'activité bactéricide des NPs d'Ag. Les Ag^+ chargés positivement jouent un rôle vital pour présenter les activités antibactériennes ou de toxicité de l'argent et pour maintenir ses activités antibactériennes ou de toxicité, l'Ag doit essentiellement être dans son état ionisé. Les ions Ag^+ forment des complexes avec les acides nucléiques et que par rapport aux groupes phosphate, ils interagissent spécifiquement avec les nucléosides des acides nucléiques.

En raison des attractions électrostatiques et de l'affinité envers les protéines de soufre, les ions Ag^+ adhèrent au cytoplasme et à la paroi cellulaire, et améliorent considérablement la perméabilité, conduisant à des perturbations des enveloppes bactériennes. Dès que les ions Ag^+ libres sont absorbés par les cellules, les enzymes respiratoires sont désactivées, entraînant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'interruption de la libération d'adénosine triphosphate (ATP) [146].

I.9.1. Mécanisme

Diverses théories et explications ont été proposées pour différentes nanoparticules pour leur activité microbicide (Figure I.16) et ont été étudiées sur la base des changements morphologiques et structurels des cellules bactériennes.

- ✓ Il a été démontré que les NPs ont la capacité de s'ancrer à la paroi cellulaire bactérienne et de la pénétrer par la suite, provoquant ainsi des changements structurels dans la perméabilité de la membrane cellulaire conduisant à la mort cellulaire [147-148].
- ✓ Les NPs peuvent cibler la membrane bactérienne, conduisant à une dissipation de la force motrice du proton qui à son tour provoque le blocage de la phosphorylation oxydative [149].

- ✓ Un autre mécanisme impliqué dans l'activité microbicide est la génération de radicaux libres par les NPs qui ont la capacité d'endommager la membrane cellulaire et de la rendre poreuse, ce qui peut finalement conduire à la mort cellulaire.
- ✓ Les NPs métalliques ont l'affinité d'interagir avec les biomatériaux contenant du soufre et du phosphore présents dans la cellule bactérienne, par exemple les bases d'ADN. Les NPs métalliques peuvent agir sur ces bases molles et détruire l'ADN qui conduirait à la mort cellulaire.
- ✓ Les NPs sont connues pour moduler la transduction du signal bactérien.
- ✓ Les NPs déphosphorylent les substrats peptidiques sur les résidus tyrosine, ce qui conduit à l'inhibition de la transduction du signal et à l'inhibition de la croissance bactérienne.
- ✓ Il est également montré qu'il pourrait y avoir une libération d'ions argent à partir des nanoparticules d'Ag et que ces ions peuvent interagir avec les groupes thiol de nombreuses enzymes vitales et les inactiver, provoquant une perturbation des fonctions cellulaires.
- ✓ Les NPs exercent également leurs activités antibactériennes soit en réduisant le potentiel membranaire et en inhibant les activités ATPase pour diminuer le niveau d'ATP et l'autre en inhibant la sous-unité du ribosome de se lier à l'ARNt [150].

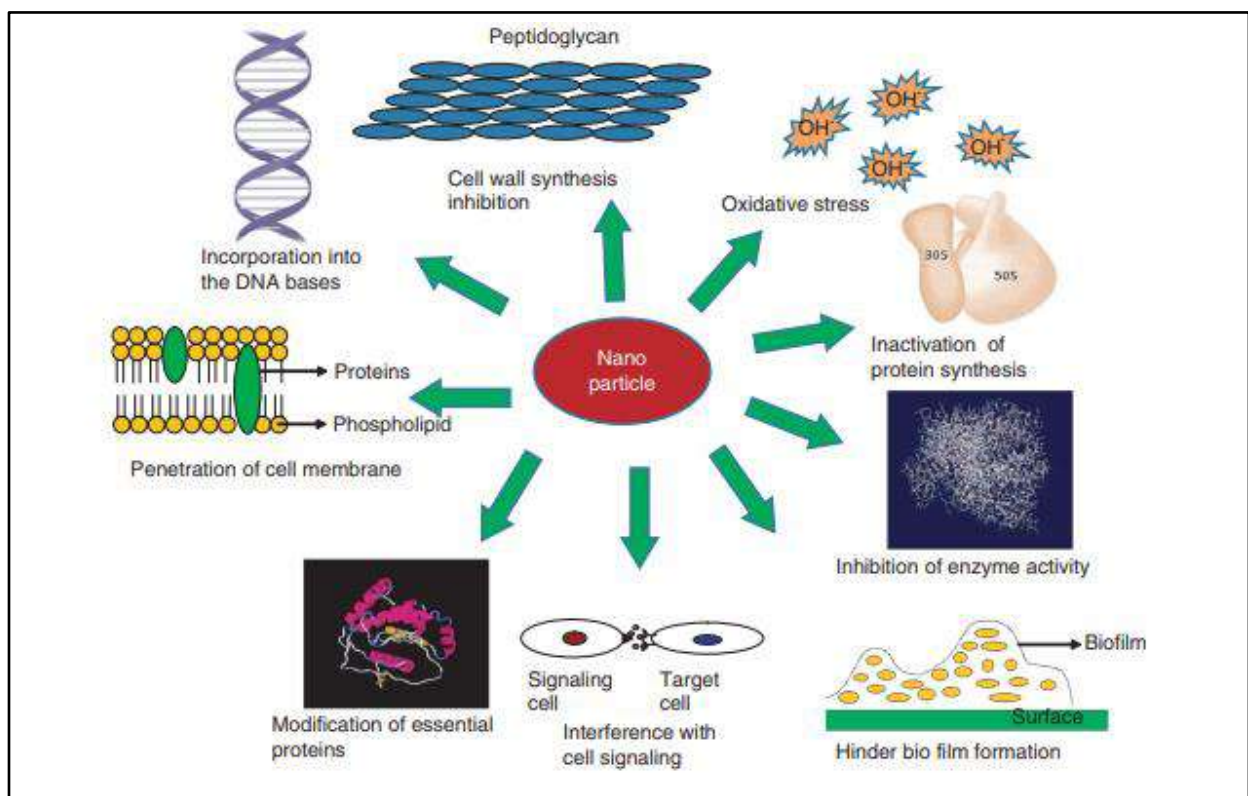


Figure I. 15: Mécanismes de l'activité antibactérienne des nanoparticules [150].

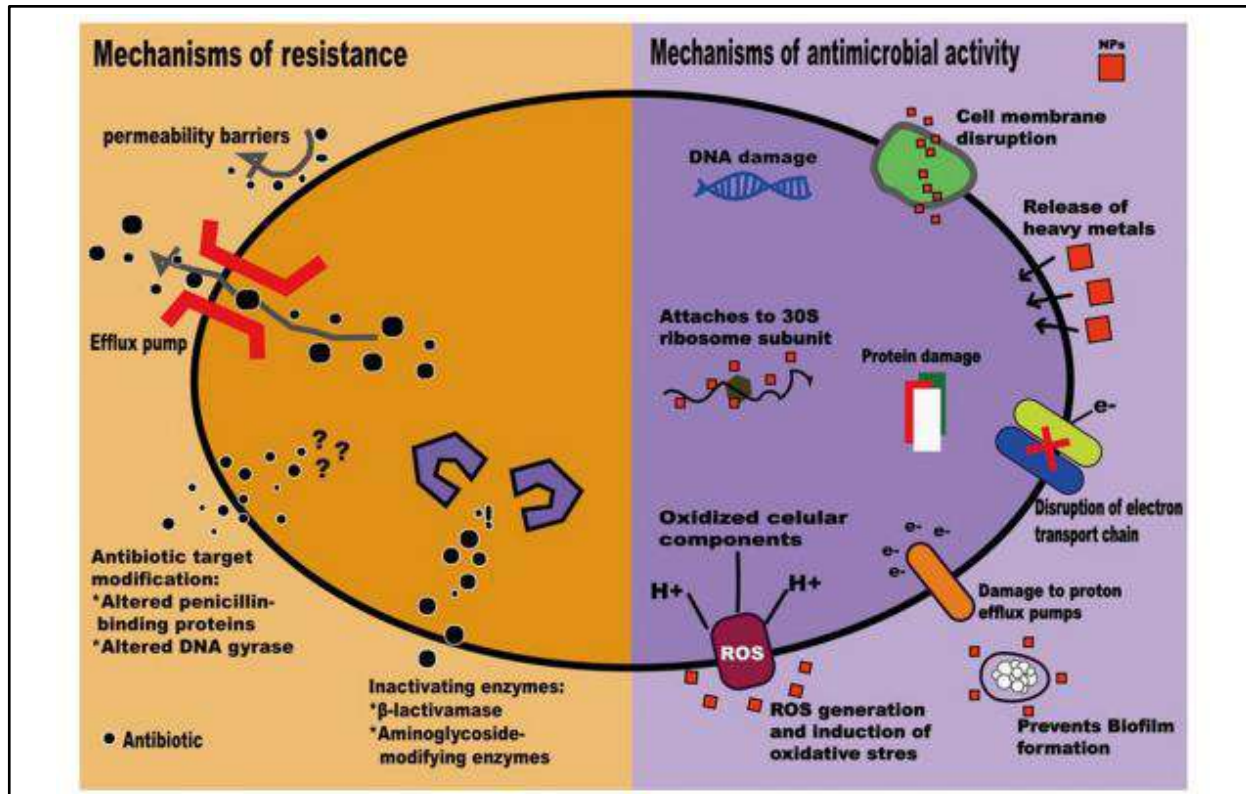


Figure I. 16: Mécanismes de résistance aux antimicrobiens et actions des nanoparticules [138].

I.10. Recherche bibliographique sur les nanoparticules d'argent

En 2021, Ahamad *et al.* [151] ont fait une étude sur la synthèse des AgNPs par *Anabaena variabilis*. Les conditions optimales pour la préparation de l'extrait étaient le chauffage du mélange d'extraction à 100 °C pendant 5 min, tandis que pour la synthèse d'AgNPs, les conditions optimales étaient de (extrait cellulaire: AgNO₃ (1 mM)), pH 7.4 et températures de réaction de 30°C. Les AgNPs synthétisées ont été caractérisées initialement par spectrophotomètre UV-Vis et le pic d'absorbance maximum a été obtenu à 440 nm. La technique DRX a confirmé leur nature cristalline. Le MEB avec EDX a montré 66% d'argent élémentaire en poids, ce qui signifiait la pureté des AgNPs. L'étude de la diffusion de lumière dynamique (Dynamic light scattering = DLS) a montré les natures presque monodispersées des AgNPs. L'observation sur la microscopie électronique à transmission (MET) a confirmé la synthèse de NPs sphériques de 11 à 15 nm. L'analyse FTIR des AgNPs synthétisés a montré les fractions fonctionnelles responsables de leur bioactives. Les biomolécules d'AgNPs ont été confirmées par LCMS/MS. Les AgNPs synthétisées par *Anabaena variabilis* ont montré une bonne activité antibactérienne et antifongique. En association avec des agents antibiotiques standards (streptomycine) et antifongiques (amphotéricine B, fluconazole), les AgNPs ont montrées un effet synergique significatif. Le mélange de propriétés antibactériennes et antifongiques, couplé à

leur synthèse intrinsèque «verte» et facile, a rendu ces nanoparticules biogènes attractives en nanomédecine.

En 2021, [152], des AgNPs sont biosynthétisées et caractérisées à l'aide de la bactérie *Paenarthrobacter nicotinovorans* MAHUQ-43, leur activité antimicrobienne a été étudiée contre les bactéries Gram-positives *Bacillus cereus* et Gram-négatives *Pseudomonas aeruginosa*. L'analyse spectrale UV-Vis a montré une bande d'absorption à 466 nm qui assuraient la synthèse des AgNPs. L'analyse FE-TEM a confirmé la forme sphérique de nanoparticules dont la taille varie de 13 à 27 nm. L'analyse EDX et XRD a assuré la nature cristalline des AgNPs biosynthétisées. Les AgNPs synthétisées à médiation bactérienne ont inhibé la croissance des pathogènes *B. cereus* et *P. aeruginosa* et ont développé une zone claire d'inhibition (ZOI). Cette étude a montré une synthèse écologique, facile et rapide des AgNPs à l'aide de *P. nicotinovorans* MAHUQ-43.

Une autre étude [153] a montré une bonne activité catalytique des AgNPs sur la réduction du bleu de méthylène. Au cours de ces travaux, le miel a été choisi pour la préparation de nanoparticules d'argent. Par microscopie électronique à transmission (MET), la taille et la forme des nanoparticules d'argent ont révélé que les particules sont sphériques et monodispersées sans agglomération majeure, la taille des particules allant de 5 à 25 nm, en outre, les plus grands niveaux de densité de particules sont de 5 à 10 nm. Le spectrophotomètre UV-Vis et la HPLC ont été utilisés pour étudier et analyser les performances de dégradation des nanoparticules d'argent sur le bleu de méthylène. Les résultats montrent que 92% du bleu de méthylène a été dégradé après 72 h. De plus, plusieurs nouveaux pics sont apparus après le traitement des échantillons par HPLC.

Des AgNPs ont été synthétisées [154] en utilisant une nouvelle bactérie de *Pseudomonas*. Après incubation des cultures de *Pseudomonas* avec 1 mM d'AgNO₃ à 22 °C, ils ont obtenu des AgNPs en 24 h. La microscopie électronique à balayage électronique (MEB) et la microscopie électronique à transmission (MET) ont révélé des AgNPs sphériques polydispersées dans la gamme de tailles de 20 à 70 nm. La taille moyenne était d'environ 50 nm. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a révélé la présence d'une grande quantité de protéines et d'autres métabolites secondaires. La diffraction des rayons X (XRD) a révélé un spectre de diffraction cubique à faces centrées de nature cristalline. Une étude comparative entre les AgNPs synthétisées avec la méthode chimique et biologique (*Pseudomonas*) a révélé une activité antibactérienne plus élevée de ce dernier contre les microorganismes pathogènes, notamment l'*Escherichia coli*, les *Staphylococcus aureus* et les *Candida albicans*. Cette étude

rapporte une synthèse efficace, stable et rapide des nanoparticules d'Ag par la méthode biologique en utilisant la bactérie *Pseudomonas*.

Dans ce chapitre, quelques généralités et quelques définitions sont présentées sur le domaine des nanoparticules en général à savoir leurs sources, méthodes de leurs synthèses, les avantages et les inconvénients de ces particules, et sur les nanoparticules d'argent en particulier, en touchant particulièrement l'application de ces nanoparticules dans la dégradation du colorant de bleu de méthylène et dans l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

- [1] de Jong, W.H., Roszek, B. and Geertsma, R.E., 2005. Nanotechnology in medical applications: possible risks for human health. RIVM report 265001002.
- [2] Trotta, F., & Mele, A., 2019. Nanomaterials: Classification and Properties. Nanosponges, pp.1-26.
- [3] Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A. and Danquah, M.K., 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), pp.1050-1074.
- [4] Boverhof, D. R., Bramante, C. M., Butala, J. H., Clancy, S. F., Lafronconi, M., West, J., & Gordon, S. C., 2015. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(1), pp.137-150.
- [5] ISO, 2017. International Organization for Standardization. Nanotechnologies-vocabulary-part 1: Core Terms. ISO/TS 18401:2017.
- [6] PUBLICLY AVAILABLE SPECIFICATION, 2007. Terminology for nanomaterials, British Standards Institution, 36.
- [7] Ersöz, M., Işıtan, A. and Balaban, M., 2018. Nanotechnology 1: fundamentals of nanotechnology, p: 49.
- [8] Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. and Rizzolio, F., 2020. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), p.112.
- [9] M. Alain Obadia, 2008. Les Nanotechnologies N°21 NOR : C.E.S. X08000121V, p: 9.
- [10] Yousaf, A.S. and Ali, S., 2008. Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us?. *Journal of Faculty of Engineering & Technology*, 5, pp.11-20.
- [11] Whatmore, R.W., 2006. Nanotechnology—what is it? Should we be worried?. *Occupational Medicine*, 56(5), pp.295-299.
- [12] Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties, The Royal Society and Royal Academy of Engineering, London, UK, 2004, p: 5.
- [13] Roco, M.C., 2001. From vision to the implementation of the US National Nanotechnology Initiative. *Journal of Nanoparticle Research*, 3(1), pp.5-11.
- [14] Stylios, G.K., Giannoudis, P.V. and Wan, T., 2005. Applications of nanotechnologies in medical practice. *Injury*, 36(4), pp.S6-S13.

- [15] Park, H., Cannizzaro, C., Vunjak-Novakovic, G., Langer, R., Vacanti, C.A. and Farokhzad, O.C., 2007. Nanofabrication and microfabrication of functional materials for tissue engineering. *Tissue engineering*, 13(8), pp.1867-1877.
- [16] Ochekepe, N.A., Olorunfemi, P.O. and Ngwuluka, N.C., 2009. Nanotechnology and drug delivery part 1: background and applications. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 8(3), pp.265-274.
- [17] Nazeruddin, G.M., Prasad, S.R., Shaikh, Y.I. and Prasad, N.R., 2015. A Brief Review: Science at Nanoscale. *International Journal of Nanomaterials and Nanostructures*, 1(1), pp.16-32.
- [18] Yamamoto, K., Nanomaterials. Review ⑧ Hitachi Chemical Technical, Report No.55.
- [19] Ricaud, M., 2019. Nanomatériaux : définition, identification et caractérisation des matériaux et des expositions professionnelles associées, Hygiène et sécurité du travail, INRS, n°256.
- [20] Whitesides, G.M., 2005. Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*, 1(2), pp.172-179.
- [21] Boverhof, D. R., Bramante, C. M., Butala, J. H., Clancy, S. F., Lafranconi, M., West, J., & Gordon, S. C., 2015. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(1), pp.137-150.
- [22] ISO, 2015. International Organization for Standardization. Nanotechnologies-vocabulary-part 1: Core Terms. ISO/TS 80004-1:2015.
- [23] Del Castillo, A.M.P., 2013. Nanomaterials and workplace health & safety: What are the issues for workers?. European Trade Union Institute.
- [24] Rauscher, H., Mech, A., Gibson, N., Gilliland, D., Held, A., Kestens, V., Koeber, R., Linsinger, T. and Stefaniak, E., 2019. Identification of nanomaterials through measurements. *Publications Office of the European Union: Luxembourg*.
- [25] EC. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the Definition of Nanomaterial (2011/696/EU). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:EN:PDF>
- [26] Gaffet, E., 2011. Nanomatériaux : Une revue des définitions, des applications et des effets sur la santé. Comment implémenter un développement sûr. *Comptes Rendus Physique*, 12(7), pp.648-658.
- [27] Krug, H. F., & Wick, P., 2011. Nanotoxicology: An Interdisciplinary Challenge. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(6), pp.1260-1278.

- [28] Bernard, D., 2021. Chapitre 9 : Production et utilisation des nanoobjets : évaluation et gestion des risques. *Chimie et expertise*. Les Ulis: EDP Sciences, pp. 133-154. <https://doi.org/10.1051/978-2-7598-1996-6-012>
- [29] Gubala, V., Johnston, L. J., Liu, Z., Krug, H., Moore, C. J., Ober, C. K., Schwenk, M., Vert, M., 2018. Engineered nanomaterials and human health: Part 1. Preparation, functionalization and characterization (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 90(8), pp.1283-1324.
- [30] Christian, P., Von der Kammer, F., Baalousha, M., & Hofmann, T., 2008. Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17(5), pp.326-343.
- [31] Khan, I., Saeed, K., & Khan, I., 2017. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. 12(7), pp.908-931.
- [32] Zeyons, O., 2008. Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat : Physicochimie. France : l'université Paris VI - Pierre et Marie Curie, p: 21.
- [33] Ostiguy, C., Roberge, B. and Woods, C., 2010. Les nanoparticules de synthèse: connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST (2e édition). Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.
- [34] Remédios, C., Rosário, F., & Bastos, V., 2012. Environmental Nanoparticles Interactions with Plants: Morphological, Physiological, and Genotoxic Aspects. *Journal of Botany*, 2012, 1-8.
- [35] Buzea, C., Pacheco, I.I. and Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), pp.MR17-MR71.
- [36] Naseer, B., Srivastava, G., Qadri, O. S., Faridi, S. A., Islam, R., & Younis, K., 2018. Importance and Health Hazards of Nanoparticles Used in the Food Industry. *Nanotechnology Reviews*, 7(6), pp. 623-641.
- [37] Griffin, S., Masood, M.I., Nasim, M.J., Sarfraz, M., Ebokaiwe, A.P., Schäfer, K.H., Keck, C.M. and Jacob, C., 2018. Natural nanoparticles: A particular matter inspired by nature. *Antioxidants*, 7(1), p.3.
- [38] Dutta, R., & Brahmachary, R.L., 2009. Natural nanoparticles: an overview. *Research gate*.
- [39] Waychunas, G. A., 2009. Natural nanoparticle structure, properties and reactivity from X-ray studies. *Powder Diffraction*, 24(02), pp.89-93.

- [40] Peters, A., Wichmann, H. E., Tuch, T., Heinrich, J., & Heyder, J., 1997. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 155(4), pp.1376-1383.
- [41] Lanone, S. and Boczkowski, J., 2010. Les sources de nanoparticules. *Revue française d'allergologie*, 50(3), pp.211-213.
- [42] Kumar, N. and Kumbhat, S., 2016. *Essentials in nanoscience and nanotechnology* (Vol. 486). Hoboken: Wiley.
- [43] Morales, R., 2018. Nanomaterials – Do the benefits outweigh their risks.
- [44] Bakshi, S., He, Z. L., & Harris, W. G., 2014. Natural Nanoparticles: Implications for Environment and Human Health. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(8), pp.861-904.
- [45] Sadik, O. A., 2013. Anthropogenic nanoparticles in the environment. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15(1), pp.19-20.
- [46] Kumar, H., Venkatesh, N., Bhowmik, H. and Kuila, A., 2018. Metallic nanoparticle: a review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 4(2), pp.3765-3775.
- [47] Pal, S.L., Jana, U., Manna, P.K., Mohanta, G.P. and Manavalan, R., 2011. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of applied pharmaceutical science*, 1(6), pp.228-234.
- [48] Parveen, K., Banse, V. and Ledwani, L., 2016, April. Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. In *AIP conference proceedings*. AIP Publishing LLC. 1724(1), p.020048.
- [49] Hoet, P.H., Brüske-Hohlfeld, I. and Salata, O.V., 2004. Nanoparticles—known and unknown health risks. *Journal of nanobiotechnology*, 2(1), pp.1-15.
- [50] Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X.J., Ying, A.N.J., Verma, N.K., Beuerman, R.W., Lakshminarayanan, R. and Ramakrishna, S., 2015. Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *Rsc Advances*, 5(127), pp.105003-105037.
- [51] Gulati, S., Sachdeva, M., & Bhasin, K. K., 2018. Various synthetic routes for the preparation of nanoparticles. In *AIP Conference Proceedings*, 1953(1), p.030215.
- [52] Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D., 2019. Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications. *Journal of Microbiological Methods*, 163, p.105656.
- [53] Silva, G. A., 2006. Neuroscience nanotechnology: progress, opportunities and challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), pp.65-74.

- [54] Liu, Y., Mai, S., Li, N., Yiu, C. K. Y., Mao, J., Pashley, D. H., & Tay, F. R., 2011. Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 7(4), pp.1742-1751.
- [55] Ayesha Arshad., 2017. Bacterial Synthesis and Applications of Nanoparticles. *Nano Science & Nano Technology: an Indian Journal*, 11(2), p.119.
- [56] Manoj Singh, S. Manikandan and A.K. Kumaraguru., 2011. Nanoparticles: A New Technology with Wide Applications. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 1, p.1-11.
- [57] Agarwal, H., Kumar, S.V. and Rajeshkumar, S., 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), pp.406-413.
- [58] Saxena, A., Tripathi, R. M., Zafar, F., & Singh, P., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of Ficus benghalensis leaf extract and characterization of their antibacterial activity. *Materials Letters*, 67(1), pp.91-94.
- [59] Suresh, D., Nethravathi, P. C., Udayabhanu, Rajanaika, H., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C., 2015. Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 31, pp.446-454.
- [60] Diallo, A., Ngom, B. D., Park, E., & Maaza, M., 2015. Green synthesis of ZnO nanoparticles by *Aspalathus linearis*: Structural & optical properties. *Journal of Alloys and Compounds*, 646, pp.425-430.
- [61] Sharma, D., Sabela, M. I., Kanchi, S., Bisetty, K., Skelton, A. A., & Honarparvar, B., 2018. Green synthesis, characterization and electrochemical sensing of silymarin by ZnO nanoparticles: Experimental and DFT studies. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808, pp.160-172.
- [62] Iravani, S., 2011. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), pp.2638-2650.
- [63] Gnanasangeetha, D. and SaralaThambavani, D., 2013. One pot synthesis of zinc oxide nanoparticles via chemical and green method. *Res. J. Mater. Sci*, 2320, p.6055.
- [64] Waris, A., Din, M., Ali, A., Afridi, S., Baset, A., Khan, A.U. and Ali, M., 2021. Green fabrication of Co and Co₃O₄ nanoparticles and their biomedical applications: A review. *Open Life Sciences*, 16(1), pp.14-30.
- [65] Thunugunta, T., Reddy, A. C., & Reddy D.C., L., 2015. Green synthesis of nanoparticles: current prospectus. *Nanotechnology Reviews*, 4(4).

- [66] Aromal, S. A., Vidhu, V. K., & Philip, D., 2012. Green synthesis of well-dispersed gold nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 85(1), pp.99-104.
- [67] Ingale, A.G. and Chaudhari, A.N., 2013. Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an eco-friendly approach. *J Nanomed Nanotechol*, 4(165), pp.1-7.
- [68] Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., & Meena, R. K., 2020. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 19, pp.355-374.
- [69] El-Kassas, H.Y. and El-Sheekh, M.M., 2014. Cytotoxic activity of biosynthesized gold nanoparticles with an extract of the red seaweed *Corallina officinalis* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 15(10), pp.4311-4317.
- [70] Singh, P., Kim, Y.J., Zhang, D. and Yang, D.C., 2016. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), pp.588-599.
- [71] Sathishkumar, G., Gobinath, C., Karpagam, K., Hemamalini, V., Premkumar, K. and Sivaramakrishnan, S., 2012. Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using *Morinda citrifolia* L. and its inhibitory activity against human pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, pp.235-240.
- [72] Mittal, A.K., Tripathy, D., Choudhary, A., Aili, P.K., Chatterjee, A., Singh, I.P. and Banerjee, U.C., 2015. Bio-synthesis of silver nanoparticles using *Potentilla fulgens* Wall. ex Hook. and its therapeutic evaluation as anticancer and antimicrobial agent. *Materials Science and Engineering: C*, 53, pp.120-127.
- [73] Anbu, P., Gopinath, S. C., & Jayanthi, S., 2020. Synthesis of gold nanoparticles using *Platycodon grandiflorum* extract and its antipathogenic activity under optimal conditions. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 10, pp.1-9.
- [74] Narasaiah, P., Kumar Mandal, B., & Sarada, N. C., 2017. Green synthesis of Pd NPs from *Pimpinella tirupatiensis* plant extract and their application in photocatalytic activity dye degradation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, p.022013.
- [75] Shi, L.-B., Tang, P.-F., Zhang, W., Zhao, Y.-P., Zhang, L.-C., & Zhang, H., 2017. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Cassia auriculata* leaf extract and in vitro evaluation of their biocompatibility with rheumatoid arthritis macrophages (RAW 264.7). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(1), p.185.
- [76] Dudhane, A.A., Waghmode, S.R., Dama, L.B., Mhaindarkar, V.P., Sonawane, A. and Katariya, S., 2019. Synthesis and Characterization of Gold Nanoparticles using Plant Extract

- of Terminalia arjuna with Antibacterial Activity. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(2), pp.75-82.
- [77] KSV, G., 2017. Green Synthesis of Iron Nanoparticles Using Green Tea leaves Extract. *Journal of Nanomedicine & Biotherapeutic Discovery*, 07(01), p.151.
- [78] Parthasarathy, S., Jayacumar, S., Chakraborty, S., Soundararajan, P., Joshi, D., Gangwar, K., Bhattacharjee, A. and Venkatesh, M.P.D., 2020. Fabrication and characterization of copper nanoparticles by green synthesis approach using *Plectranthus amboinicus* leaves extract.
- [79] Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X.J., Ying, A.N.J., Verma, N.K., Beuerman, R.W., Lakshminarayanan, R. and Ramakrishna, S., 2015. Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *Rsc Advances*, 5(127), pp.105003-105037.
- [80] Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R.D. and Surampalli, R.Y., 2011. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82(4), pp.489-494.
- [81] Saleh, M.N. and Alwan, S.K., 2020, November. Bio-synthesis of silver nanoparticles from bacteria *Klebsiella pneumonia*: Their characterization and antibacterial studies. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1664(1), p.012115.
- [82] Kushwaha, A., Singh, V.K., Bhartariya, J., Singh, P. and Yasmeen, K., 2015. Isolation and identification of *E. coli* bacteria for the synthesis of silver nanoparticles: characterization of the particles and study of antibacterial activity. *Eur J Exp Biol*, 5(1), pp.65-70.
- [83] Lengke, M.F., Fleet, M.E. and Southam, G., 2007. Synthesis of palladium nanoparticles by reaction of filamentous cyanobacterial biomass with a palladium (II) chloride complex. *Langmuir*, 23(17), pp.8982-8987.
- [84] Alam, H., Khatoon, N., Khan, M. A., Husain, S. A., Saravanan, M., & Sardar, M., 2019. Synthesis of Selenium Nanoparticles Using Probiotic Bacteria *Lactobacillus acidophilus* and Their Enhanced Antimicrobial Activity Against Resistant Bacteria. *Journal of Cluster Science*. 31(5), pp.1003-1011.
- [85] Nanda, A., & Saravanan, M., 2009. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(4), pp.452-456.
- [86] Sabir, S., Zahoor, M.A., Waseem, M., Siddique, M.H., Shafique, M., Imran, M., Hayat, S., Malik, I.R. and Muzammil, S., 2020. Biosynthesis of ZnO Nanoparticles Using *Bacillus*

- Subtilis: Characterization and Nutritive Significance for Promoting Plant Growth in *Zea mays* L. *Dose-Response*, 18(3), p.1559325820958911.
- [87] Yang, J., Wang, Q., Wang, C., Yang, R., Ahmed, M., Kumaran, S., Veluf, P., Li, B., 2020. *Pseudomonas aeruginosa* synthesized silver nanoparticles inhibit cell proliferation and induce ROS mediated apoptosis in thyroid cancer cell line (TPC1). *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), pp.800-809.
- [88] Abd El-Aziz, M., Badr, Y., & Mahmoud, M. A., 2007. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Pseudomonas Aeruginosa*. *AIP Conference Proceedings*.
- [89] Yadav, A., Theivasanthi, T., Paul, P.K. and Upadhyay, K.C., 2015. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles from plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas* sp. *arXiv preprint arXiv:1511.03130*.
- [90] Almaary, K. S., Sayed, S. R. M., Abd-Elkader, O. H., Dawoud, T. M., El Orabi, N. F., & Elgorban, A. M., 2019. Complete green synthesis of Silver-Nanoparticles applying seed-borne *Penicillium duclauxii*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 27(5), pp.1333-1339.
- [91] Kumar, S.A., Peter, Y.A. and Nadeau, J.L., 2008. Facile biosynthesis, separation and conjugation of gold nanoparticles to doxorubicin. *Nanotechnology*, 19(49), p.495101.
- [92] Mishra, A., Tripathy, S.K. and Yun, S.I., 2012. Fungus mediated synthesis of gold nanoparticles and their conjugation with genomic DNA isolated from *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Process Biochemistry*, 47(5), pp.701-711.
- [93] Ahmad, T., Wani, I.A., Manzoor, N., Ahmed, J. and Asiri, A.M., 2013. Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 107, pp.227-234.
- [94] Tarafdar, J.C., Raliya, R. and Rathore, I., 2012. Microbial synthesis of phosphorous nanoparticle from tri-calcium phosphate using *Aspergillus tubingensis* TFR-5. *Journal of Bionanoscience*, 6(2), pp.84-89.
- [95] Sarkar, J., Ray, S., Chattopadhyay, D., Laskar, A. and Acharya, K., 2012. Mycogenesis of gold nanoparticles using a phytopathogen *Alternaria alternata*. *Bioprocess and biosystems engineering*, 35(4), pp.637-643.
- [96] Birla, S.S., Tiwari, V.V., Gade, A.K., Ingle, A.P., Yadav, A.P. and Rai, M.K., 2009. Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 48(2), pp.173-179.

- [97] Agnihotri, M., Joshi, S., Kumar, A.R., Zinjarde, S. and Kulkarni, S., 2009. Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Materials Letters*, 63(15), pp.1231-1234.
- [98] Abdeen, S. & Geo, S. & Sukanya, S. & P.K, Praseetha., 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles from Actinomycetes for therapeutic applications. *Int J Nano Dimens*, 5, pp.155-162.
- [99] Składanowski, M., Wypij, M., Laskowski, D., Golińska, P., Dahm, H., & Rai, M., 2016. Silver and gold nanoparticles synthesized from *Streptomyces* sp. isolated from acid forest soil with special reference to its antibacterial activity against pathogens. *Journal of Cluster Science*, 28(1), pp.59-79.
- [100] Kathiraven, T., Sundaramanickam, A., Shanmugam, N., & Balasubramanian, T., 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using marine algae *Caulerpa racemosa* and their antibacterial activity against some human pathogens. *Applied Nanoscience*, 5(4), pp.499-504.
- [101] Kalabegishvili, T., Kirkesali, E. and Rcheulishvili, A., 2012. Synthesis of gold nanoparticles by blue-green algae *Spirulina platensis* (No. JINR-E--14-2012-31). Frank Lab. of Neutron Physics.
- [102] Bhuyar, P., Rahim, M.H.A., Sundararaju, S., Ramaraj, R., Maniam, G.P. and Govindan, N., 2020. Synthesis of silver nanoparticles using marine macroalgae *Padina* sp. and its antibacterial activity towards pathogenic bacteria. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), pp.1-15.
- [103] El-Khateeb, A.Y., Hamed, E., Ibrahim, F.Y. and Hamed, S.E., 2019. Eco-Friendly Synthesis of Selenium and Zinc Nanoparticles with Biocompatible *Sargassum latifolium* Algae Extract in Preservation of Edible Oils. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 10(5), pp.141-146.
- [104] Fang, X., Wang, Y., Wang, Z., Jiang, Z. and Dong, M., 2019. Microorganism assisted synthesized nanoparticles for catalytic applications. *Energies*, 12(1), p.190.
- [105] Reverberi, A., Vocciante, M., Lunghi, E., Pietrelli, L. and Fabiano, B., 2017. New trends in the synthesis of nanoparticles by green methods. *Chemical Engineering Transactions*, 61, pp.667-672.
- [106] Sastry, Murali & Ahmad, Absar & Khan, M & Kumar, Rajiv., 2003. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current Science*, 85, pp.162-170.
- [107] Castro-Longoria, E., Moreno-Velasquez, S.D., Vilchis-Nestor, A.R., Arenas-Berumen, E. and Avalos-Borja, M., 2012. Production of platinum nanoparticles and nanoaggregates using *Neurospora crassa*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 22(7), pp.1000-1004.

- [108] Rai, M., Bonde, S., Golinska, P., Trzcińska-Wencel, J., Gade, A., Abd-Elsalam, K., Shende, S., Gaikwad, S. and Ingle, A., 2021. Fusarium as a novel fungus for the synthesis of nanoparticles: mechanism and applications. *Journal of Fungi*, 7(2), p.139.
- [109] Boroumand Moghaddam, A., Namvar, F., Moniri, M., Azizi, S. and Mohamad, R., 2015. Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: a review of their preparation, properties, and medical applications. *Molecules*, 20(9), pp.16540-16565.
- [110] Kowshik, M., Deshmukh, N., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K. and Paknikar, K.M., 2002. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnology and bioengineering*, 78(5), pp.583-588.
- [111] Mourato, A., Gadanho, M., Lino, A. R., & Tenreiro, R., 2011. Biosynthesis of Crystalline Silver and Gold Nanoparticles by Extremophilic Yeasts. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2011, pp.1-8.
- [112] Moghaddam, A. B., Moniri, M., Azizi, S., Rahim, R. A., Ariff, A. B., Saad, W. Z., Namvar, F., Navader, M., Mohamad, R., 2017. Biosynthesis of ZnO Nanoparticles by a New *Pichia kudriavzevii* Yeast Strain and Evaluation of Their Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Molecules*, 22(6), p.872.
- [113] Chaudhary, R., Nawaz, K., Khan, A.K., Hano, C., Abbasi, B.H. and Anjum, S., 2020. An Overview of the Algae-Mediated Biosynthesis of Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *Biomolecules*, 10(11), p.1498.
- [114] Kumari, S., Tehri, N., Gahlaut, A., & Hooda, V., 2020. Actinomycetes mediated synthesis, characterization, and applications of metallic nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, pp.1-10.
- [115] Tsekhmistrenko, S., Bityutskii, V., Tsekhmistrenko, O., Horalskyi, L., Tymoshok, N. and Spivak, M., 2020. Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), pp.9-17.
- [116] Ceylan, A., Rumaiz, A. K., & Ismat Shah, S., 2007. Inert gas condensation of evaporated Ni and laser ablated CoO. *Journal of Applied Physics*, 101(9), p.094302.
- [117] Lee, K.X., Shameli, K., Yew, Y.P., Teow, S.Y., Jahangirian, H., Rafiee-Moghaddam, R. and Webster, T.J., 2020. Recent developments in the facile bio-synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) and their biomedical applications. *International journal of nanomedicine*, 15, p.275.

- [118] National Center for Biotechnology Information., 2021. PubChem Element Summary for AtomicNumber 47, Silver. Retrieved April 17, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/element/Silver>.
- [119] M. Chauvel Romain, 2018. « Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique », Université Claude Bernard - Lyon 1, thèse de doctorat, p: 31.
- [120] Sivaguru, P., & Bi, X., 2018. Introduction to Silver Chemistry. *Silver Catalysis in Organic Synthesis*, pp.132.
- [121] Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Silver". Encyclopedia Britannica, 13 May. 2020, <https://www.britannica.com/science/silver>. Accessed 17 April 2021.
- [122] Hemmerlin, M., 2014. Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle: *Synechococcus elongatus* PCC 7942 (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [123] Tran, Q.H. and Le, A.T., 2013. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), p.033001.
- [124] Yusuf, M., 2019. Silver Nanoparticles: Synthesis and Applications. *Handbook of Ecomaterials*, pp.2343-2356.
- [125] Syafiuddin, A., Salim, M.R., Beng Hong Kueh, A., Hadibarata, T. and Nur, H., 2017. A review of silver nanoparticles: research trends, global consumption, synthesis, properties, and future challenges. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 64(7), pp.732-756.
- [126] Calderón-Jiménez, B., Johnson, M.E., Montoro Bustos, A.R., Murphy, K.E., Winchester, M.R. and Vega Baudrit, J.R., 2017. Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in chemistry*, 5, p.6.
- [127] Verma, P. and Maheshwari, S.K., 2019. Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors. *International Journal of Nano Dimension*, 10(1), pp.18-36.
- [128] Nurani, S.J., Saha, C.K., Khan, M.A.R. and Sunny, S.M.H., 2015. Silver nanoparticles synthesis, properties, applications and future perspectives: A short review. *Journal of Electrical and Electronics Engineering*, 10(6), pp.117-126.
- [129] Al Rihaymee, Luma Majeed Ahmed., 2013. "Enhanced Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide Nanoparticles by Metal Deposition." PhD diss., College of Science Chemistry Department Enhanced Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide Nanoparticles by Metal Deposition A Thesis Submitted to the Council of the College of Science, University of Babylon.

- [130] Zulkifili, A.N.B., 2018. Alkali Metal Bismuthate and Bismuth Vanadate Microstructure for Visible Light Driven Photocatalytic Activity (Doctoral dissertation, Shibaura Institute of Technology).
- [131] Beydoun, D., Amal, R., Low, G. and McEvoy, S., 1999. Role of nanoparticles in photocatalysis. *Journal of Nanoparticle Research*, 1(4), pp.439-458.
- [132] Peiris, S., McMurtrie, J., & Zhu, H.-Y., 2016. Metal nanoparticle photocatalysts: emerging processes for green organic synthesis. *Catalysis Science & Technology*, 6(2), pp.320-338.
- [133] Rajbongshi, B. M., 2020. Photocatalyst: mechanism, challenges, and strategy for organic contaminant degradation. *Handbook of Smart Photocatalytic Materials*, pp.127-149.
- [134] Miclescu, A. and Wiklund, L., 2010. Methylene blue, an old drug with new indications. *J Rom Anest Terap Int*, 17(1), pp.35-41.
- [135] Ghazali, S.N.B., 2013. Adsorption Of Methylene Blue Onto Xanthogenated-Modified Chitosan Microbeads, p: 13.
- [136] Schirmer, R. H., Adler, H., Pickhardt, M., & Mandelkow, E., 2011. “Lest we forget you — methylene blue ...” *Neurobiology of Aging*, 32(12), pp.2325.e7-2325.e16.
- [137] Amarah, J.O.M., 2015. Removal of Methylene Blue from Industrial Wastewater in Palestine Using Polysiloxane Surface Modified with Bipyrazolic Tripodal Receptor (Doctoral dissertation), p: 9.
- [138] Lee, N.-Y., Ko, W.-C., & Hsueh, P.-R., 2019. Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Frontiers in Pharmacology*, 10. p.1153.
- [139] Wang, L., Hu, C., & Shao, L., 2017. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 12, pp.1227-1249.
- [140] Slavin, Y.N., Asnis, J., Häfeli, U.O. and Bach, H., 2017. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), pp.1-20.
- [141] Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B. and Rokhum, S.L., 2021. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. *RSC Advances*, 11(5), pp.2804-2837.
- [142] El Badawy, A. M., Silva, R. G., Morris, B., Scheckel, K. G., Suidan, M. T., & Tolaymat, T. M., 2011. Surface Charge-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles. *Environmental Science & Technology*, 45(1), pp.283-287.

- [143] Zhang, X.F., Liu, Z.G., Shen, W. and Gurunathan, S., 2016. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), p.1534.
- [144] Rai, M., Yadav, A., & Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), pp.76-83.
- [145] Sondi, I., & Salopek-Sondi, B., 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), pp.177-182.
- [146] Anees Ahmad, S., Sachi Das, S., Khatoon, A., Tahir Ansari, M., Afzal, M., Saquib Hasnain, M., & Kumar Nayak, A., 2020. Bactericidal Activity of Silver Nanoparticles: A Mechanistic Review. *Materials Science for Energy Technologies*.
- [147] Prabhu, S., & Poulouse, E. K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), pp.1-10.
- [148] Velmurugan, P., Park, J.H., Lee, S.M., Jang, J.S., Lee, K.J., Han, S.S., Lee, S.H., Cho, M. and Oh, B.T., 2015. Synthesis and characterization of nanosilver with antibacterial properties using Pinus densiflora young cone extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 147, pp.63-68.
- [149] Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.K.H., Chiu, J.F., Che, C.-M., 2006. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. *Journal of Proteome Research*, 5(4), pp.916-924.
- [150] Singh, D., Rathod, V., Ninganagouda, S., Hiremath, J., Singh, A. K., & Mathew, J., 2014. Optimization and Characterization of Silver Nanoparticle by Endophytic Fungi *Penicillium* sp. Isolated from *Curcuma longa* (Turmeric) and Application Studies against MDRE. *coli* and *S. aureus*. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2014, pp.1-8.
- [151] Ahamad, I., Aziz, N., Zaki, A. and Fatma, T., 2021. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Anabaena variabilis* as a potential antimicrobial agent. *Journal of Applied Phycology*, 33(2), pp.829-841.
- [152] Rónavári, A.; Igaz, N.; Adamecz, D.I.; Szerencsés, B.; Molnar, C.; Kónya, Z.; Pfeiffer, I.; Kiricsi, M., 2021. Green Silver and Gold Nanoparticles: Biological Synthesis Approaches and Potentials for Biomedical Applications. *Molecules*, 26(4), pp.26-844.
- [153] Al-Zaban, M.I., Mahmoud, M.A. and AlHarbi, M.A., 2021. Catalytic degradation of methylene blue using silver nanoparticles synthesized by honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), pp.2007-2013.

- [154] John, M.S., Nagoth, J.A., Ramasamy, K.P., Mancini, A., Giuli, G., Natalello, A., Ballarini, P., Miceli, C. and Pucciarelli, S., 2020. Synthesis of bioactive silver nanoparticles by a *Pseudomonas* strain associated with the antarctic psychrophilic protozoon *Euplotes focardii*. *Marine drugs*, 18(1), p.38.

Chapitre II

Matériels et méthodes

Chapitre II. Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, nous allons décrire la méthodologie utilisée pour la synthèse des nanoparticules d'argent et présenter les différents paramètres opérationnels pour optimiser la synthèse. Nous allons ainsi présenter la méthode de photocatalyse et l'activité antibactérienne.

II.1. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau de l'université Kasdi Merbah Ouargla (nouveau pôle universitaire), précisément dans le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimiques (CRAPC), est une institution à caractère particulier principalement destiné à la recherche de nouvelles méthodes d'analyses physiques et chimiques ainsi qu'à l'élaboration de nouveaux protocoles chimiques de synthèse et d'application, le centre est également invité à se spécialiser dans les analyses les plus complexes qui nécessitent les derniers équipements technologiques. Cette étude a été effectuée durant la période du 21 Mars au 27 mai 2021. Ce travail a pour objectif de biosynthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs) pour des applications dans la photocatalyse et l'activité antibactérienne.

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Origine de souches utilisées

Quatre souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) fournies par le laboratoire de bactériologie médical de laboratoire interne de l'hôpital "Mohamed Boudhief" Ouargla, ont été utilisées dans cette étude : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 à la fois pour la synthèse des AgNPs et l'activité antibactérienne et *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Bacillus subtilis* ATCC 14531 pour l'activité antibactérienne seulement.

II.3. Méthodes

II.3.1. Synthèse des nanoparticules d'argent

La réalisation de ce test a été faite par le protocole décrite par Peiris *et al.* [1].

La souche étudiée « *Pseudomonas aeruginosa* » a été inoculée dans un flacon de 250 ml contenant 100 ml de bouillon nutritif (BN) stérile. Le milieu inoculé a été incubé à 37 °C dans un incubateur à 120 tr/min pendant 24 heures. Après 24 heures, la culture a été centrifugée pour

séparer le surnageant et le culot. La centrifugation a été effectuée à 3500 tr/min à température de 5°C pendant 20 minutes. Le surnageant obtenu après la centrifugation a été utilisé pour la synthèse des AgNPs [2].

Le surnageant a été mélangé avec une solution d'AgNO₃ à une concentration de 2 mM puis incubé à 100 tr/min à 37 °C pendant 48 h. La synthèse a été contrôlée par le changement de couleur du milieu de culture du jaune au brun par inspection visuelle du flacon de culture (Figure II.1) [3].

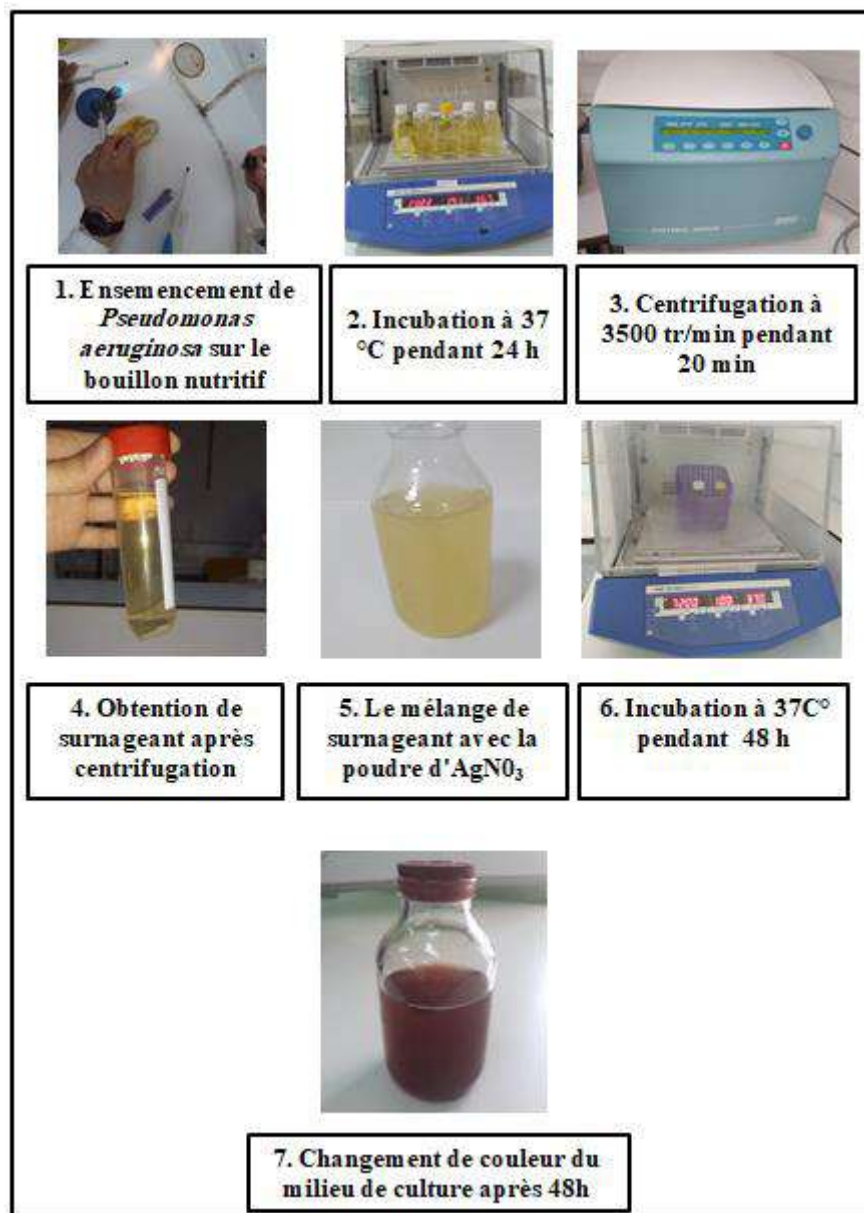


Figure II. 1: Etapes de synthèse de nanoparticules d'argent.

II.3.1.1. Séchage de la solution de nanoparticules d'argent

La solution d'AgNPs obtenue après 48 h est placée dans la centrifugeuse à 9000 tr/min pendant 10 minutes. Le culot obtenu a été soigneusement nettoyé avec de l'eau distillée, et ce mélange a été placé dans l'ultrason pendant une minute, ensuite la solution a été placée dans une centrifugeuse à 9000 tr/min pendant 10 minutes, ce procédé a été répété 3 fois. Après centrifugation, une petite quantité d'éthanol a été mélangé avec des pastilles, ce mélange a été placé dans l'ultrason puis séché à l'étuve. Les AgNPs purifiées ont été séchées et obtenues sous forme de poudre (Figure II.2).

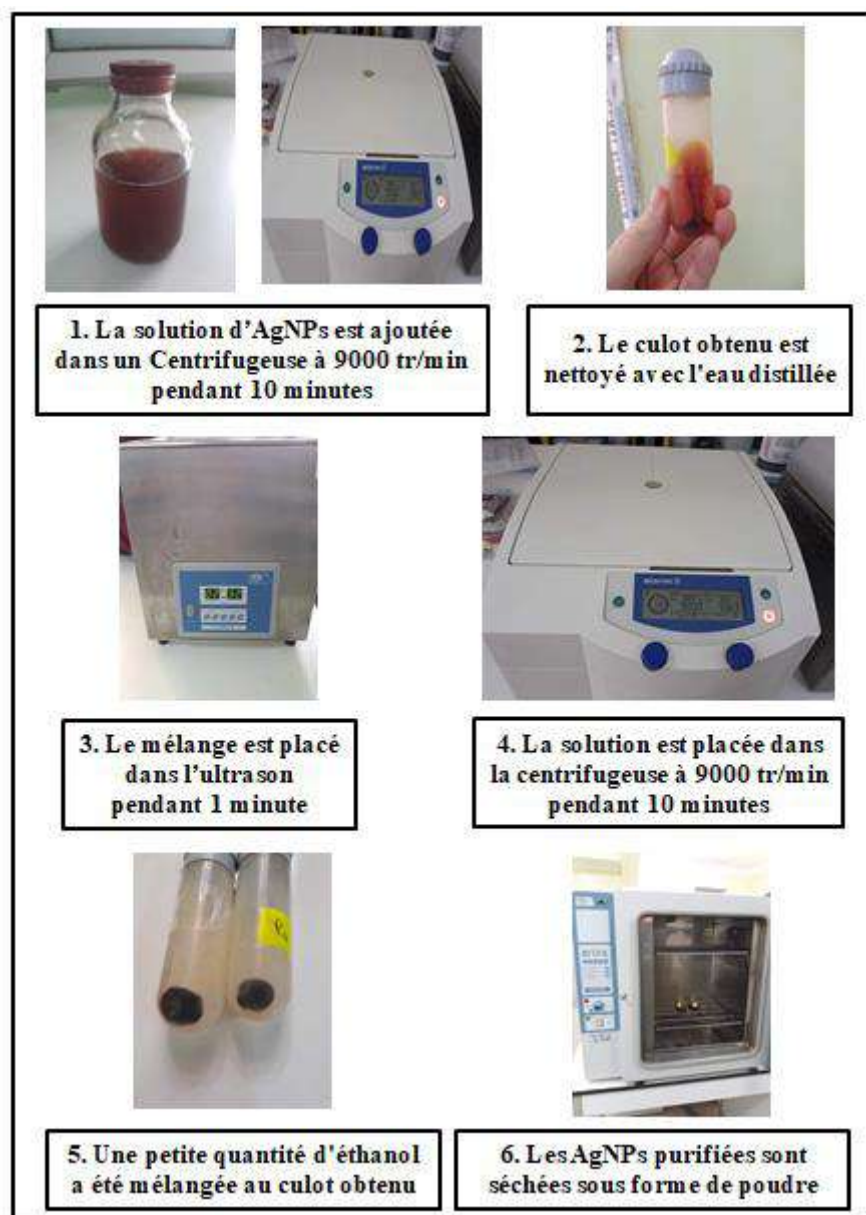


Figure II. 2: Etapes de séchage de nanoparticules d'argent.

II.3.2. Optimisation de divers paramètres opérationnels

La réaction de biosynthèse des AgNPs est très sensible et dépend de certains paramètres opérationnels importants [4]. Ce sont des facteurs qui influencent la synthèse des NPs quelle que soit la technique utilisée [5]. Dans cette étude, l'évaluation de plusieurs facteurs expérimentaux importants, y compris le pH, la concentration de solution d'AgNO₃, le temps d'incubation, le rapport de volume, l'agitation, la lumière, et l'aération à une température fixe de 37 °C.

Avant de commencer l'étude de l'optimisation de divers paramètres opérationnels, un mélange de surnageant et de solution AgNO₃ (2 mM) (80:20 V/V) a été utilisé dans tous les cas.

II.3.2.1. Effet du pH

Cet effet est réalisé par le protocole décrit par Khan *et al.* [6]. 8 ml de surnageant est incubé avec 2 ml d'AgNO₃ pendant 48 h à cinq pH différents soit 2, 4, 6, 8, 10. Des solutions d'acide chlorhydrique (HCl) et d'hydroxyde de sodium (NaOH) ont été utilisées pour ajuster le pH. La synthèse des AgNPs a été confirmée par analyse spectrométrique UV-Visible.

II.3.2.2. Effet de concentration

Cet effet est réalisé suivant le protocole de Khandel *et al.* [7]. Pour étudier l'effet de la concentration de la solution d'AgNO₃ sur la synthèse des AgNPs, diverses concentrations d'AgNO₃ (0.5, 1, 2 et 10 mM) ont été utilisées en gardant les deux autres paramètres fixes. Au cours de la synthèse, 2 ml de chaque concentration et 8 ml de surnageant ont été prélevés et incubés pendant 48 h. La synthèse des NPs d'Ag a été confirmée par une analyse spectrométrique UV-Visible.

II.3.2.3. Effet de temps d'incubation

Cet effet est réalisé suivant le protocole d'Arya *et al.* [4]. Tout d'abord, pour l'optimisation du temps d'incubation, les réactions ont été effectuées pour trois différentes durées de temps, 24h, 48h et 72h, en maintenant le volume de d'AgNO₃ de 2ml et le volume de surnageant de 8 ml pour former la solution mère. Après cela, toutes les réactions ont été contrôlées par un spectrophotomètre UV-visible.

II.3.2.4. Effet du rapport de volume

Cet effet est réalisé suivant le protocole d'Alzahrani *et al.* [8]. Différents rapports de surnageant et de solution d'AgNO₃ ont été étudiés, 100, 80:20, 60:40, 40:60 et 20:80 (surnageant : solution d'AgNO₃) pendant 48h afin de trouver la production maximale d'AgNPs. La synthèse des NPs d'Ag a été confirmée par une analyse spectrométrique UV-Visible.

II.3.2.5. Effet d'agitation, de lumière et d'aération

8 ml de surnageant sont ajoutés à 2 ml AgNO₃, la réaction a été réalisée dans des différentes conditions (agitation et sans agitation ou aération et sans aération ou lumière et obscurité) pendant 48h. En utilisant un spectrophotomètre UV-visible, l'absorption a été enregistrée à des longueurs d'onde de 200 à 800 nm.

II.3.3. Dégradation du bleu de méthylène

La dégradation du bleu de méthylène par les AgNPs s a été effectuée selon le protocole de Kumar *et al.* [9].

II.3.3.1. Principe

8 mg de colorant bleu de méthylène a été ajouté à 100 ml d'eau distillée (0,01 mM). Environ 30 mg de nanoparticules d'argent ont été ajoutés à 10 ml de solution de colorant bleu de méthylène. Le contrôle a également été maintenu sans ajouter les nanoparticules d'argent. Avant l'exposition aux rayonnements, la solution a été bien mélangée pendant quelques minutes dans un agitateur. Ensuite, il a été appliqué et examiné à des intervalles spécifiques (1,3 et 5 min), les suspensions ont été ensuite centrifugées pendant quelques secondes et utilisés pour évaluer la photolyse du colorant. Le spectre d'absorption du surnageant a ensuite été mesuré avec un spectrophotomètre UV-Visible à différentes longueurs d'onde. La concentration de colorant pendant l'hydrolyse a été calculée par la valeur d'absorbance à environ 660 nm [9].

Le pourcentage de dégradation du colorant a été estimé par la formule suivante:

$$\% \text{ Décoloration} = 100 \times (C_0 - C) / C$$

- Où C_0 est la concentration initiale de la solution de colorant et C est la concentration de la solution du colorant après dégradation photocatalytique [10].

II.3.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

II.3.4.1. Taxonomie et caractéristiques des souches bactériennes testées

II.3.4.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* du grec *pseudo* (« imitation ») et du latin *aeruginosus* (« couvert de rouille ») autre- fois appelée « bacille pyocyanique », du grec *puon* (« pus ») et *kuanos* (« bleu foncé »), a été décrite en 1872 par Schroeter, puis en 1882 par un pharmacien militaire français, A. Gessard. [11].

P. aeruginosa est une bactérie Gram-négative hétérotrophe, mobile, en forme de bâtonnet, d'environ 1 à 5 μm de long et de 0.5 à 1.0 μm de large. C'est un aérobie facultatif qui se développe via la respiration aérobie et la respiration anaérobie [12].

C'est un micro-organisme très polyvalent capable de tolérer des conditions de faible teneur en oxygène. Il peut survivre avec de faibles niveaux de nutriments et croître à des températures allant de 4 à 42 °C [13]. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie commune, un pathogène opportuniste capable d'infecter les humains avec des défenses naturelles compromises et de provoquer une maladie pulmonaire grave [14].

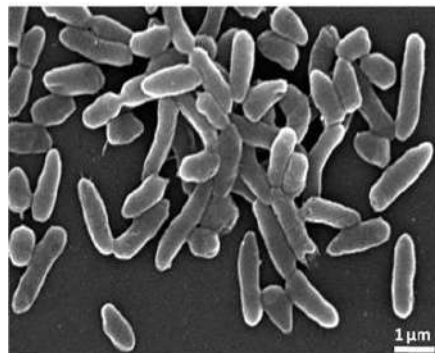


Figure II. 3: *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope électronique [15].

Tableau II. 1: Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* [16].

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

II.3.4.1.2. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est un bâtonnet Gram-positif, facultativement anaérobie, non spore formant, catalase positive [17], cette bactérie est psychrotrophique et se développe sur une plage de température de 0 ° à 45 ° C, avec un optimum autour de 37 ° C. *L. monocytogenes* peut croître à des pH compris entre 4,4 et 9,4 et à des activités de l'eau $\geq 0,92$ avec du chlorure de sodium (NaCl) comme soluté. *L. monocytogenes* est largement répandu dans l'environnement et a été isolé à partir de diverses sources, notamment le sol, la végétation, l'ensilage, les matières fécales, les eaux usées et l'eau [18]. Elle provoque la listériose et est l'un des agents pathogènes zoonotiques d'origine alimentaire les plus dangereux [19].

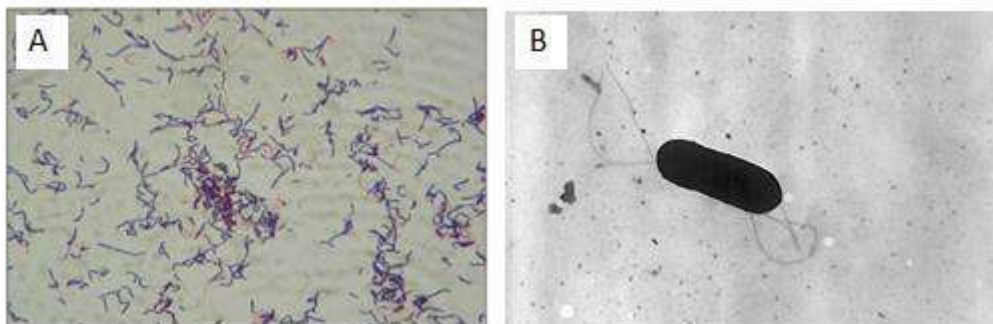


Figure II. 4: Image de *Listeria monocytogenes*: (A) Observation de *Listeria monocytogenes* par microscope optique [20], (B) Observation de *Listeria monocytogenes* par microscope électronique [21].

Tableau II. 2: Taxonomie de *Listeria monocytogenes* [22-23].

Règne	Eubactéries
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Listeriaceae
Genre	<i>Listeria</i>
Espèce	<i>Listeria monocytogenes</i>

II.3.4.1.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie gram-négative en forme de bâtonnet. Elle mesure 1-3 x 0,4-0,7 μm et 0,6 à 0,7 μm de volume, et se trouve disposée seule ou en paires. Certaines souches sont mobiles à cause des flagelles péritriches. Elles sont des anaérobies facultatifs et non sporulants. Sa croissance se produit sur une large plage de températures de 15 à 45 °C [24]. Cette bactérie habite principalement dans le tractus intestinal inférieur des animaux à sang chaud, y compris les humains, et est souvent rejetée dans l'environnement par les excréments ou les effluents d'eaux usées [25]. La plupart des souches sont inoffensives, mais certaines acquièrent des entérotoxines ou des facteurs d'invasion de bactériophages ou d'ADN plasmidique et deviennent pathogènes [26].

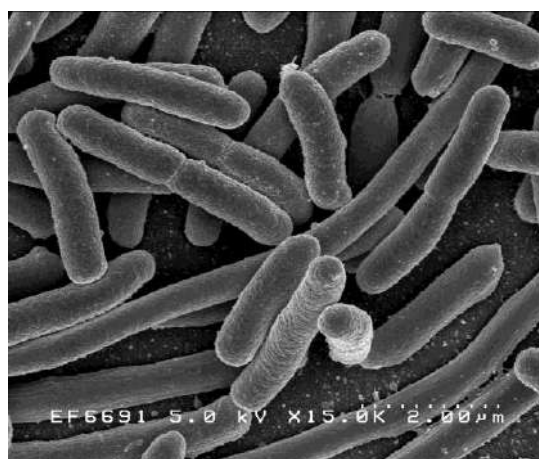
**Figure II. 5:** *Escherichia coli* sous microscope électronique [24].

Tableau II. 3: Taxonomie d'*Escherichia coli* [27].

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

II.3.4.1.4. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie du sol, à Gram positif, mobile par des flagelles peritriches, aérobie, mais dans le cas de la présence de glucose et de nitrate, une croissance anaérobie peut se produire. Cette bactérie est capable de produire une endospore ayant une haute résistance aux conditions défavorables. *Bacillus subtilis* est connue par sa production abondante de protéines [28]. Les cellules sont en forme de bâtonnet mesurent généralement de 2 à 6 μm de long et un peu moins de 1 μm de diamètre. La température de croissance optimale est d'environ 30 à 35 $^{\circ}\text{C}$, ce qui donne un temps de doublement d'à peine 20 min [29].

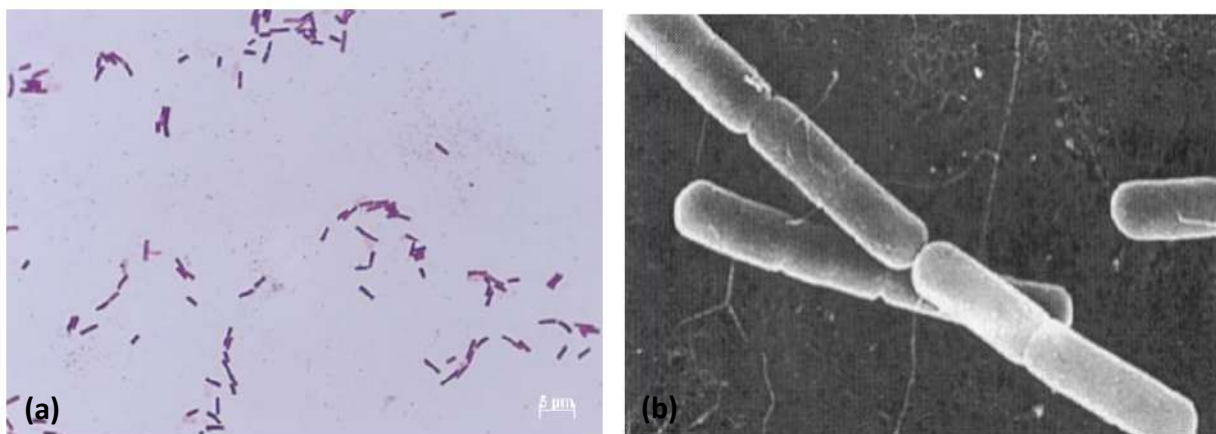


Figure II. 6: a) Coloration de Gram de *Bacillus subtilis* ; b) *B. subtilis* vue sous microscopie électronique [30].

Tableau II. 4: Taxonomie de *Bacillus subtilis* [29-31].

Domaine	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>Bacillus subtilis</i>

II.3.4.2. Milieux de cultures utilisés

Un seul milieu de culture a été utilisé pour tester l'action d'AgNPs synthétisées contre les souches décrites, il s'agit de milieu "MRS".

II.3.4.3. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion

L'activité antibactérienne des AgNPs synthétisées est effectuée par la méthode de bien-diffusion citée par Oza *et al.* [2]. Les AgNPs synthétisées à partir de *Pseudomonas aeruginosa* ont été testées pour l'activité antibactérienne par la méthode de bien-diffusion contre des organismes pathogènes testés, les cultures pures des bactéries ont été repiquées sur la gélose de MRS à 37 °C sur un incubateur à 100 tr/min. L'étape finale de la réalisation de l'activité antibactérienne par la méthode de bien diffusion est la déposition à la surface de la gélose à l'aide d'une pince, des disques stériles de 6 mm de diamètre (du papier Wathman N° 04) imbibés d'environ 20 µl à l'aide d'une micropipette de l'échantillon de solution d'AgNPs. Après incubation à 37 °C pendant 18 heures, les différents niveaux de zone d'inhibition ont été mesurés [2].

Pour quantifier l'activité antibactérienne, le diamètre de l'inhibition a été mesuré avec une règle et exprimé en millimètre (Tableau II.5) [32].



Figure II. 7: Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.

Tableau II. 5: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition [33].

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	diamètre < 8mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	diamètre > 20 mm

Ce chapitre a présenté les différentes méthodes suivies pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir de *Pseudomonas aeruginosa*, les méthodes de l'optimisation des paramètres opérationnels pour la biosynthèse maximale et ainsi que la méthode de photocatalyse et l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

- [1] Peiris, M.K., Gunasekara, C.P., Jayaweera, P.M., Arachchi, N.D. and Fernando, N., 2017. Biosynthesized silver nanoparticles: are they effective antimicrobials?. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 112(8), pp.537-543.
- [2] Oza, G., Pandey, S., Shah, R. and Sharon, M., 2012. Extracellular fabrication of silver nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa* and its antimicrobial assay. *Pelagia Res Lib Adv Appl Sci Res*, 3(3), pp.1778-1783.
- [3] Abd, F.G., Mohsen, L.Y., Al-shalah, L.A.M. and Alkaim, A.F., 2018. Silver nanoparticles that synthesis by using *pseudomonas aeruginosa* synergistically act with antibiotic. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 21, pp.S62-S65.
- [4] Arya, G., Kumari, R. M., Gupta, N., Kumar, A., Chandra, R., & Nimesh, S., 2017. Green synthesis of silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* bark extract: reaction optimization, antimicrobial and catalytic activities. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(5), pp.985-993.
- [5] Dada, A.O., Inyinbor, A.A., Idu, E.I., Bello, O.M., Oluyori, A.P., Adelani-Akande, T.A., Okunola, A.A. and Dada, O., 2018. Effect of operational parameters, characterization and antibacterial studies of green synthesis of silver nanoparticles using *Tithonia diversifolia*. *PeerJ*, 6, p.e5865.
- [6] Khan, N.T., Jameel, N. and Rehman, S.U.A., 2016. Optimizing physioculture conditions for the synthesis of silver nanoparticles from *Aspergillus niger*. *J Nanomed Nanotechnol*, 7(5), pp.7-10.
- [7] Khandel, P., Shahi, S. K., Soni, D. K., Yadaw, R. K., & Kanwar, L., 2018. *Alpinia calcarata*: potential source for the fabrication of bioactive silver nanoparticles. *Nano Convergence*, 5(1), pp.1-17.
- [8] Alzahrani, E. and Welham, K., 2014. Optimization preparation of the biosynthesis of silver nanoparticles using watermelon and study of itsantibacterial activity. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), p.392.
- [9] Kumar, M.S., Supraja, N. and David, E., 2019. Photocatalytic degradation of methylene blue using silver nanoparticles synthesized from *Gymnema sylvestre* and antimicrobial assay. *Nov Res Sci*, 2, pp.1-7.
- [10] Vanaja, M., Paulkumar, K., Baburaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., Sivakavinesan, M. and Annadurai, G., 2014. Degradation of methylene blue using

- biologically synthesized silver nanoparticles. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2014, pp.1-8.
- [11] Mérens, A., Jault, P., Bargues, L., & Cavallo, J.-D., 2013. Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *EMC - Maladies Infectieuses*, 10(1), pp.1-18.
- [12] Diggle, S.P. and Whiteley, M., 2020. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1), p.30.
- [13] Ochoa, S.A., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L.B., López-Martínez, B., Jiménez-Tapia, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernández-Castro, R. and Xicohtencatl-Cortes, J., 2013. Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation. *Boletín medico del hospital infantil de Mexico*, 70(2), pp.136-150.
- [14] Alhazmi, A., 2015. *Pseudomonas aeruginosa* – Pathogenesis and Pathogenic Mechanisms. *International Journal of Biology*, 7(2). p.44.
- [15] Galdino, A. C. M., Branquinha, M. H., Santos, A. L. S., & Viganor, L., 2017. *Pseudomonas aeruginosa* and Its Arsenal of Proteases: Weapons to Battle the Host. *Pathophysiological Aspects of Proteases*, pp.381-397.
- [16] Elmeskini, K., 2011. Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation). Université Mohammed v, faculté de médecine et de pharmacie –Rabat, p: 3.
- [17] Mazaheri, T., Cervantes-Huamán, B.R., Bermúdez-Capdevila, M., Ripolles-Avila, C. and Rodríguez-Jerez, J.J., 2021. *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Food Industry: Is the Current Hygiene Program Sufficient to Combat the Persistence of the Pathogen?. *Microorganisms*, 9(1), p.181.
- [18] World Health Organization, 2004. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. *Food & Agriculture Organisation*, p: 1, 2.
- [19] Skowron, K., Wałęcka-Zacharksa, E., Grudlewska, K., Wiktorczyk, N., Kaczmarek, A., Gryń, G., Kwiecińska-Piróg, J., Juszczuk, K., Paluszak, Z., Kosek-Paszkowska, K. and Gospodarek-Komkowska, E., 2019. Characteristics of *Listeria monocytogenes* strains isolated from milk and humans and the possibility of milk-borne strains transmission. *Polish journal of microbiology*, 68(3), pp.353-369.
- [20] Lani, Mohd & Hassan, Zaiton., 2016. *Listeria monocytogenes*: General Overview and Its Significance to Food Safety, p: 6.
- [21] Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Listeriosis". *Encyclopedia Britannica*, 3 May. 2021, <https://www.britannica.com/science/listeriosis>. Accessed 26 May 2021.

- [22] Goudar, Vedavati & Prasad, Nagalambika., 2020. A Critical Review on *Listeria monocytogenes*. 13, pp.95-103.
- [23] Gonçalves, A.C.M., 2019. Identification and characterization of new *Listeria monocytogenes* virulence factors (Doctoral dissertation), p: 22.
- [24] Sagar Aryal, 2020. Microbe Note. *Escherichia coli* (E. coli)- An Overview. 03 Juin 2021, <https://microbenotes.com/escherichia-coli-e-coli/>
- [25] Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S., 2017. Environmental *Escherichia coli* : ecology and public health implications-a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), pp.570-581.
- [26] Makvana, S., & Krilov, L. R., 2015. *Escherichia coli* Infections. *Pediatrics in Review*, 36(4), pp.167-171.
- [27] Faner, R., Sibila, O., Agustí, A., Bernasconi, E., Chalmers, J.D., Huffnagle, G.B., Manichanh, C., Molyneaux, P.L., Paredes, R., Brocal, V.P. and Ponomarenko, J., 2017. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *European Respiratory Journal*, 49(4).
- [28] Jemni, Monia & Maaroufi, Abderrazak & Mejri, Slah., 2010. Caractérisation et optimisation des conditions de croissance d'un biopesticide bactérien. *Revue des régions Arides*. 3, pp.1367-1370.
- [29] Errington, J. and van der Aart, L.T., 2020. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. *Microbiology*, 166(5), p.425.
- [30] Bouhairi, S. 2017. *Bacillus subtilis*: caractères et applications, [Thèse]. Rabat : Université Mohammed V, Faculté de médecine et de pharmacie, p : 11 et 12.
- [31] Kovács, Á. T., 2019. *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*.
- [32] Oinaala, D., Lehesvaara, M., Lyhs, U. and Tikkanen-Kaukanen, C., 2015. Antimicrobial activity of organic honeys against food pathogenic bacterium *Clostridium perfringens*. *Organic Agriculture*, 5(2), pp.153-159.
- [33] Mouas, Y., Benrebiha, F.Z., Chaouia, C., 2017. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), pp. 363-370.

Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III. Résultats et discussion

Dans ce chapitre, la biosynthèse des nanoparticules d'argent par la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, l'optimisation de différents paramètres opérationnels, la photocatalyse et l'activité antibactérienne seront discutés. Le choix d'une bactérie pour la synthèse est en fonction de son adaptation à diverses conditions telles que la température, l'aération et le temps d'incubation, également à sa croissance rapide et pour essayer à remplacer les méthodes chimique et physique qui sont toxique et dangereux pour la santé et l'environnement.

III.1. Synthèse de nanoparticules d'argent

La synthèse des AgNPs a été confirmée par le changement de couleur caractéristique, jaune au brun (Figure III. 1a). Le milieu réactionnel est passé de couleur jaune pâle à la grise pâle, lors de l'ajout d'AgNO₃. Un autre changement de couleur a été observé, du gris pâle au brun foncé après environ 24 heures de stockage à 37 °C.

En fait, la couleur brune des AgNPs résulte de la vibration concomitante d'électrons libres de l'argent métallique qui sont en résonance avec l'onde lumineuse. Cela explique l'origine de l'absorption par résonance plasmonique de surface (SPR) souvent observée avec des NPs métalliques [1].

La confirmation de la synthèse des particules des AgNPs en solution a été contrôlée par l'analyse spectrale UV-vis pour laquelle des aliquotes du mélange réactionnel (après achèvement de la réaction) ont été prélevées et utilisées pour les mesures de spectroscopie UV-vis. Dans le spectre d'absorption UV-vis, un pic large et fort, situé à environ 440 nm, a été observé pour les nanoparticules synthétisées à l'aide du surnageant de culture (Figure III. 1b). Ce pic indiquait une résonance plasmonique de surface (SPR), qui a déjà été bien documentée pour diverses nanoparticules métalliques avec des tailles allant de 2 nm à 100 nm [2].

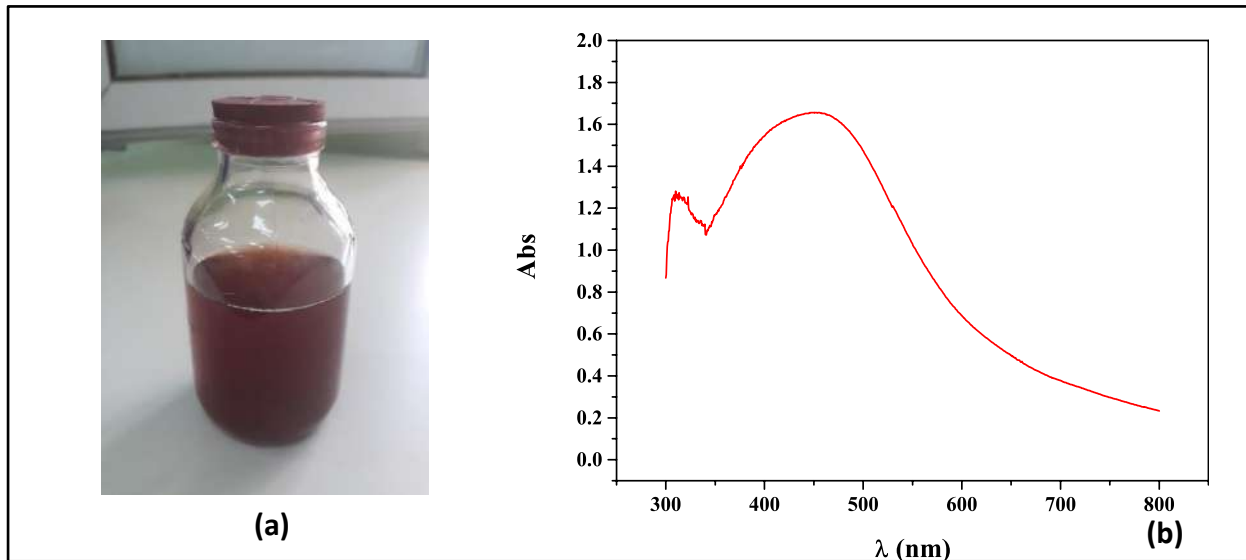


Figure III. 1: a) Intensité de couleur des nanoparticules d'argent synthétisées par *Pseudomonas aeruginosa* ; b) Spectre UV-visible de nanoparticules d'argent synthétisées.

Le principe de la préparation des AgNPs à l'aide de microorganismes est un processus de bioréduction, les ions argent sont réduits par les enzymes réductases extracellulaires produites par les micro-organismes en métal argenté dans une plage nanométrique. Le mécanisme largement accepté pour la synthèse des AgNPs est la présence d'une enzyme qui est le nitrate réductase et c'est une enzyme du cycle de l'azote responsable de la conversion du nitrate en nitrite. La réduction médiée par la présence de l'enzyme dans l'organisme s'est avérée être responsable de la synthèse d'AgNPs. L'utilisation d'une enzyme spécifique α -NADPH nitrate réductase dépendante dans la synthèse in vitro de NPs est importante. Pendant la catalyse, le nitrate est converti en nitrite et un électron sera transporté vers les ions d'argent entrants. La figure (III.2) montre que le nitrate réductase présente dans les bactéries peut aider à la synthèse de NPs d'Ag. Bien que la synthèse d'AgNPs soit considérée comme une capacité de l'organisme, elle est principalement considérée comme un mécanisme de défense par les organismes contre les ions d'argent très réactifs entrants. Les ions argent sont très réactifs et sont connus pour se lier à divers composants vitaux des cellules induisant la mort cellulaire [3].

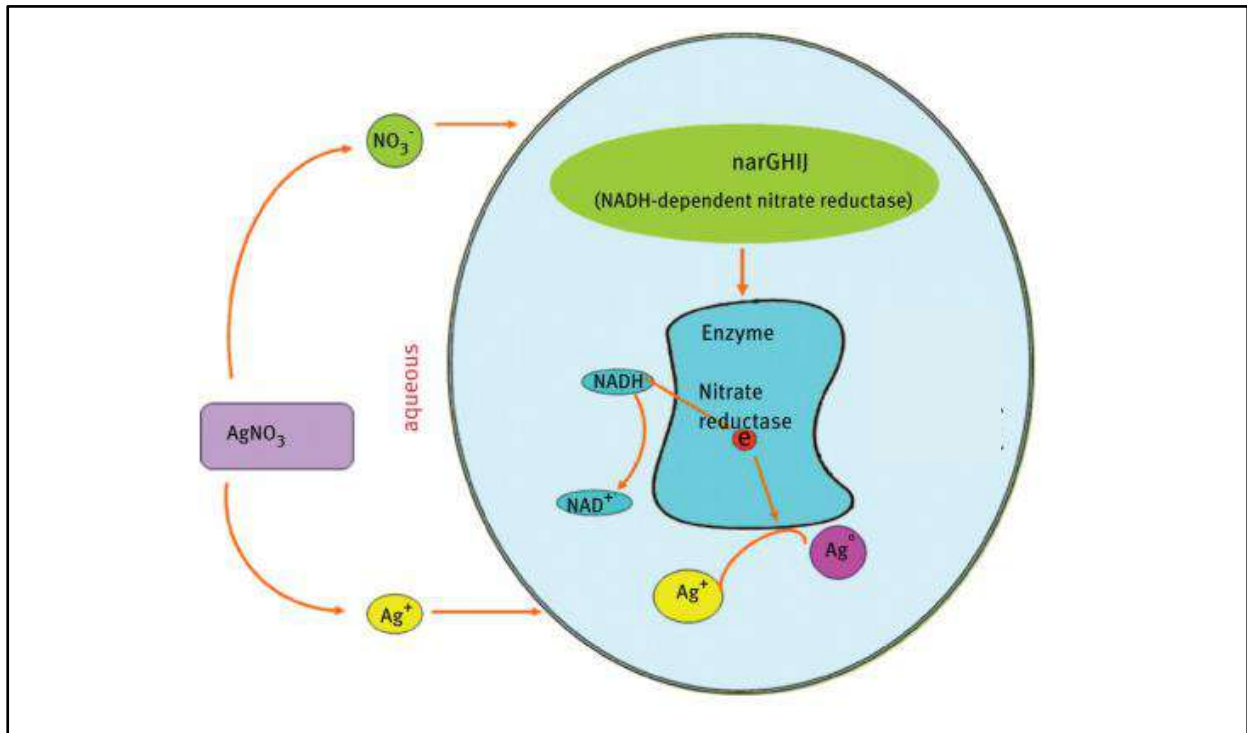


Figure III. 2: Représentation schématique de la synthèse de nanoparticules d'argent à partir d'ions argent en forme réduite d'atome d'argent par l'activité de l'enzyme nitrate réductase [4].

III.1.2. Séchage de la solution de nanoparticules d'argent

La poudre d'AgNPs obtenue après le séchage de solution d'AgNPs dans l'étuve est présentée dans la figure (III.3):

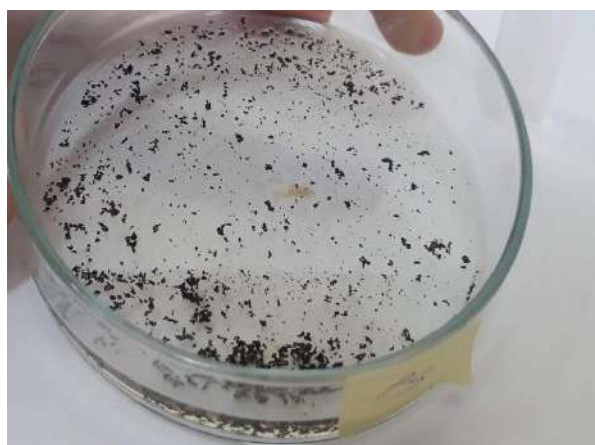


Figure III. 3: Poudre de nanoparticules d'argent.

III.2. Optimisation de divers paramètres opérationnels

L'optimisation de l'environnement externe est importante afin de contrôler les paramètres de réaction pour atteindre des conditions optimales où un rendement maximum de produit qui pourrait être obtenu [5].

III.2.1. Effet du pH

Le pH est considéré comme un paramètre important dans la synthèse des AgNPs [6].

La figure (III. 4a) montre que lorsque le pH augmente, le rendement de production d'AgNPs augmente et ce, c'est indiqué par le développement d'une coloration brune foncée. La coloration de milieu réactionnel reste jaune pâle à pH acide (pH = 2 et 4), tandis que à pH presque neutre (pH = 6) cette coloration commence à transformer, pour qu'être plus remarquable à pH 8 et 10.

Les résultats de l'inspection visuelle sont confirmés par leur absorbance à 440 nm à des pH de 2, 4, 6, 8 et 10 (figure III. 4b), qui montrent également que l'absorbance augmente avec l'augmentation de pH.

L'absence de formation des AgNPs dans la gamme acide et l'augmentation progressive de la production des AgNPs avec l'augmentation du pH suggère que l'enzyme nitrate réductase était active en milieu alcalin [7] et qu'il existe des conditions optimales liées au pH pour augmenter la production d'AgNPs [8].

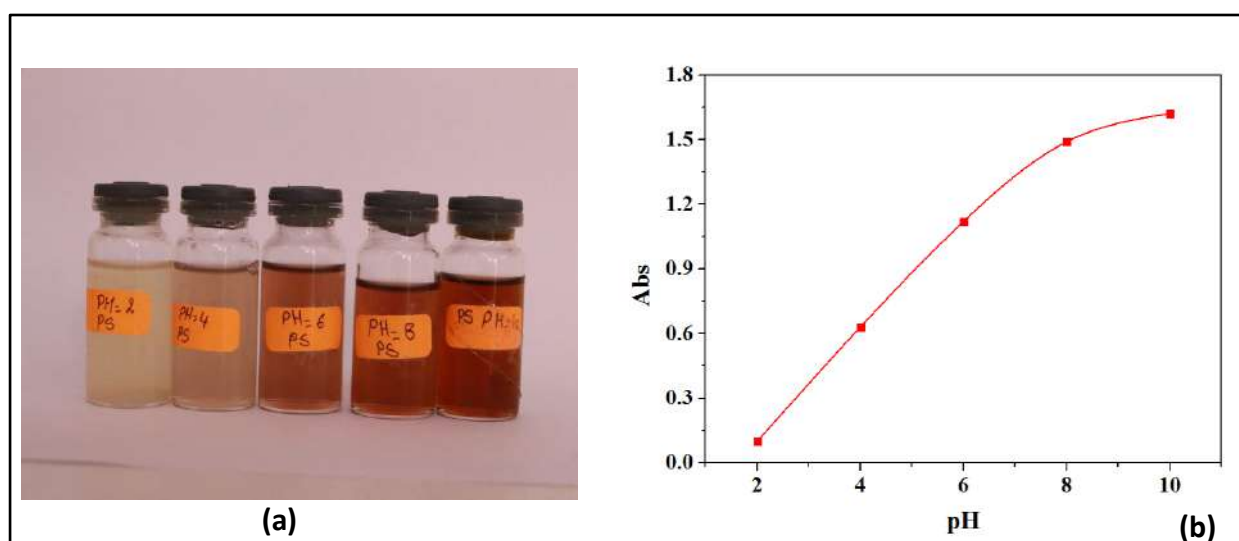


Figure III. 4: a) Changement de couleur en fonction de pH ; b) Effet du pH sur la synthèse des nanoparticules d'argent.

III.2.2. Effet de concentration

L'influence de la concentration d'AgNO₃ sur la production d'AgNPs a été évaluée en faisant varier la concentration d'AgNO₃ (Figure III.5a). Nous avons observé que lors de la synthèse des AgNPs à différentes concentrations, la couleur des échantillons passait progressivement du jaune au brun foncé (Figure III.5a). Tous les échantillons étaient transparents et sont devenus plus foncés avec l'augmentation des concentrations d'argent.

L'effet de diverses concentrations de substrat dans le mélange réactionnel a été montré également dans la figure (III. 5b) obtenue par spectrophotomètre. Il est clair qu'elles ont eu une influence évidente sur la biosynthèse des AgNPs. Cette figure montre que la densité optique augmente avec l'augmentation de concentration d'AgNPs. Une concentration de 10 mM d'AgNO₃ s'est avérée être la concentration optimale pour le processus de biosynthèse. Alors que les autres concentrations (0.5, 1, 2 mM) permettent la synthèse de AgNPs mais avec des quantités faibles. À ces concentrations plus faibles d'AgNO₃, la disponibilité du substrat pour l'enzyme était insuffisante, ce qui a montré une diminution de la production d'AgNPs [9]. Nous avons choisi la concentration de 2 mM en raison de leur moindre toxicité par rapport aux autres concentrations.

L'étude de Lee *et al.* [10] a montrée également que la biosynthèse maximale des AgNPs était pour une concentration de 10 mM, alors que celle de Dada *et al.* [11] était pour 1 mM.

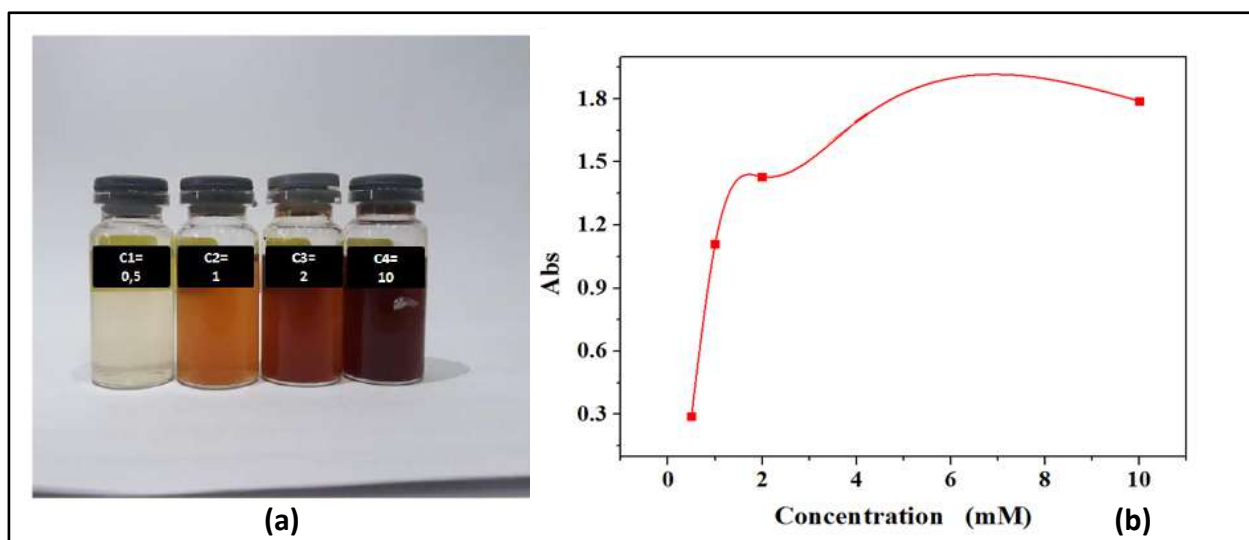


Figure III. 5: a) Changement de couleur en fonction de concentration de nitrate d'argent ; b) Effet de la concentration en ions nitrate d'argent sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.

III.2.3. Effet de temps d'incubation

Au fur et à mesure que la durée d'incubation augmente, la couleur des solutions devient plus foncée et donc plus les AgNPs se forment. Le temps optimal requis pour l'achèvement de la réaction de notre étude était de 72 h (Figure III. 6a).

La figure (III. 6b) montre l'effet de différentes périodes d'incubation (temps) sur la biosynthèse des AgNPs en fonction de l'absorption. Plus la période d'incubation augmente, plus la valeur d'absorbance augmente également jusqu'à 72 h.

En raison de l'instabilité des AgNPs, une durée optimale est requise, car l'agglomération des nanoparticules d'argent après la durée optimale se traduit par des tailles de particules plus grandes [12].

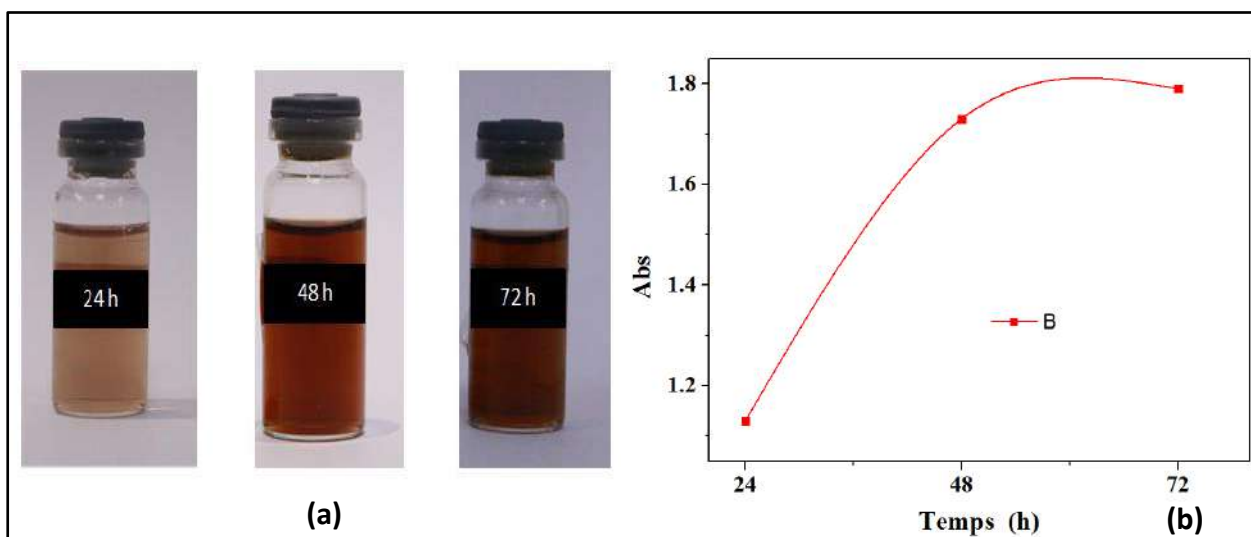


Figure III. 6: a) Changement de couleur en fonction de temps d'incubation ; b) Effet du temps d'incubation sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.

III.2.4. Effet du rapport de volume

La figure (III.7a) montre que lorsque le volume de surnageant augmente, le développement d'une coloration brune indiquant la production d'AgNPs augmente pour les volumes de 80:20, 60:40, 40:60 et 20:80 (surnageant : solution d'AgNO₃) alors que pour le volume contenant 100% de surnageant cette coloration diminue.

La figure (III.7b) obtenue par le spectrophotomètre, montre que l'absorbance augmente avec l'augmentation de volume jusqu'à le volume 80:20 après ce volume, l'absorption

commence à diminuer. La meilleure absorption a été donnée par le volume 80:20 alors que la faible absorption a été le volume de 100% surnageant.

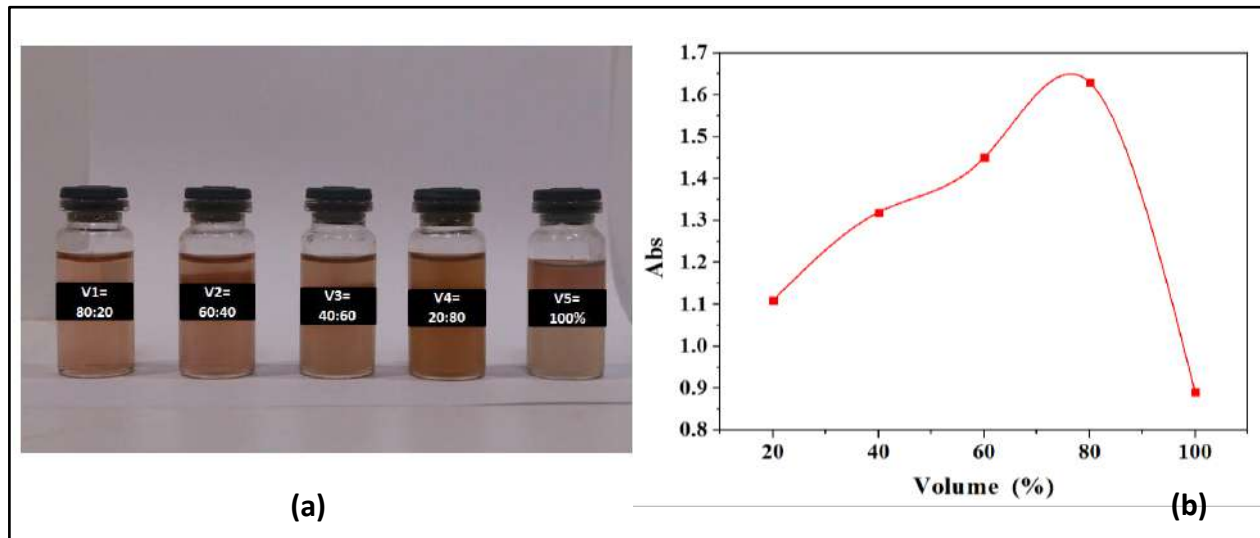


Figure III. 7: a) Changement de couleur en fonction du rapport de volume ; b) Effet du rapport de volume sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent.

III.2.5. Effet d'agitation, de lumière et d'aération

a) Effet d'agitation

L'influence de l'agitation sur la production d'AgNPs a été évaluée en faisant soumettre le mélange à l'agitation et à sans agitation. Lors de la synthèse, la couleur des deux échantillons passait progressivement du jaune au brun foncé (Figure III.8a).

Les spectres d'absorption avec et sans agitation sont présentés dans la figure (III.8b). La bande d'absorption de plasmon de surface caractéristique a été observée à environ 440 nm pour les deux échantillons. Les deux spectres sont presque identiques, sachant que le pic d'échantillon avec agitation est légèrement plus grand que l'autre, donc l'agitation ne montre pas d'effet significatif sur la production des AgNPs et peut donc être négligée.

L'étude de Kareem *et al.* [13] a révélé le rôle important de l'agitation lors de la synthèse verte des NPs.

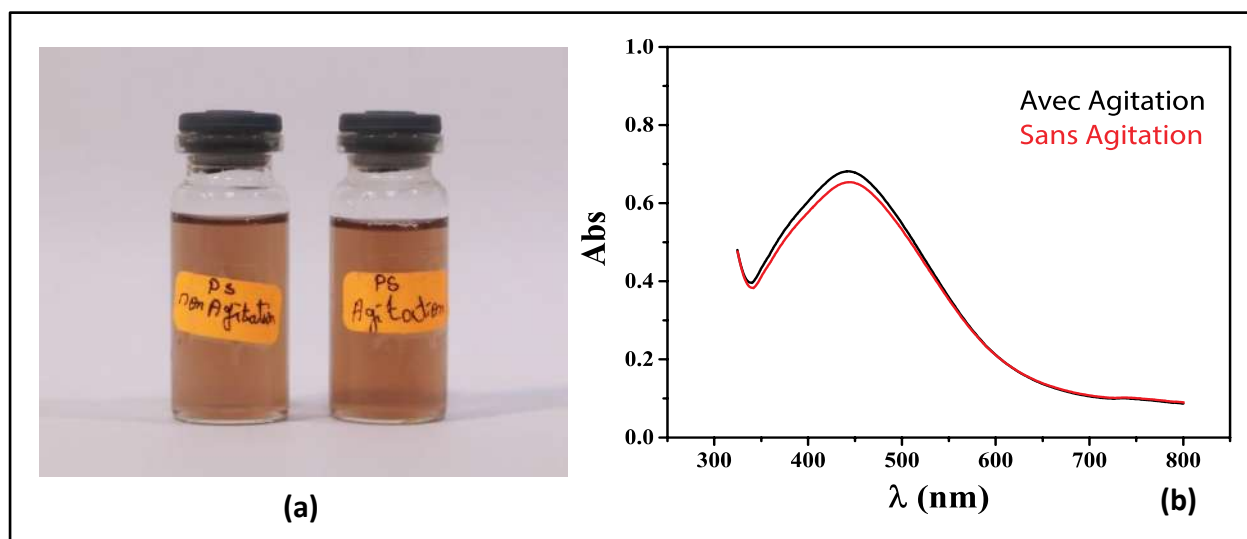


Figure III. 8: a) Changement de couleur en fonction de l'agitation ; b) Spectre UV-vis des AgNPs en fonction de l'agitation et sans agitation.

b) Effet de lumière

L'influence de la lumière sur la production d'AgNPs a été évaluée en faisant étudier le mélange sous et sans lumière (Figure III.9a). En observant la couleur des solutions, on peut dire que le changement de couleur du jaune au brun foncé, indiquant la formation d'AgNPs, ne s'est produit que dans l'échantillon exposé à la lumière du soleil. Cela confirme le rôle de la lumière du soleil dans l'induction de la formation de nanoparticules d'argent [14], alors que dans l'échantillon sans lumière, la couleur n'était pas changée (Figure III.9a).

Pour confirmer les conclusions de l'inspection visuelle, des spectres UV-visible ont été pris. La figure (III.9b) montre les spectres UV-Vis des échantillons étudiés. Nous pouvons clairement voir que le pic n'est présent que dans l'échantillon exposé à la lumière directe du soleil, ce qui corrobore à nouveau la conclusion de l'inspection visuelle des échantillons en figure (III.9b). Dans l'échantillon exposé à la lumière, une augmentation de l'absorbance du pic et la forme asymétrique du pic indique un nombre croissant d'AgNPs individuels ainsi que la formation d'agrégats AgNPs [15] et à partir du pic large dans le spectre UV-Vis, on a supposé que les particules sont polydispersées [14].

Les AgNPs sont extrêmement efficaces pour absorber et diffuser la lumière. La forte interaction des AgNPs avec la lumière se produit parce que les électrons de conduction sur la surface du métal subissent une oscillation collective lorsqu'ils sont excités par la lumière à des

longueurs d'onde spécifiques. Connue sous le nom de résonance plasmonique de surface (SPR), cette oscillation se traduit par des propriétés de diffusion et d'absorption exceptionnellement fortes [16].

L'étude de groupe de Kumar [14] a trouvée également les mêmes résultats que notre étude alors que celle de groupe de Büyük [17] montre que la lumière ne montre pas d'effet significatif sur la production de nanoparticules de chitosane (CS NPs) et peut donc être négligée.

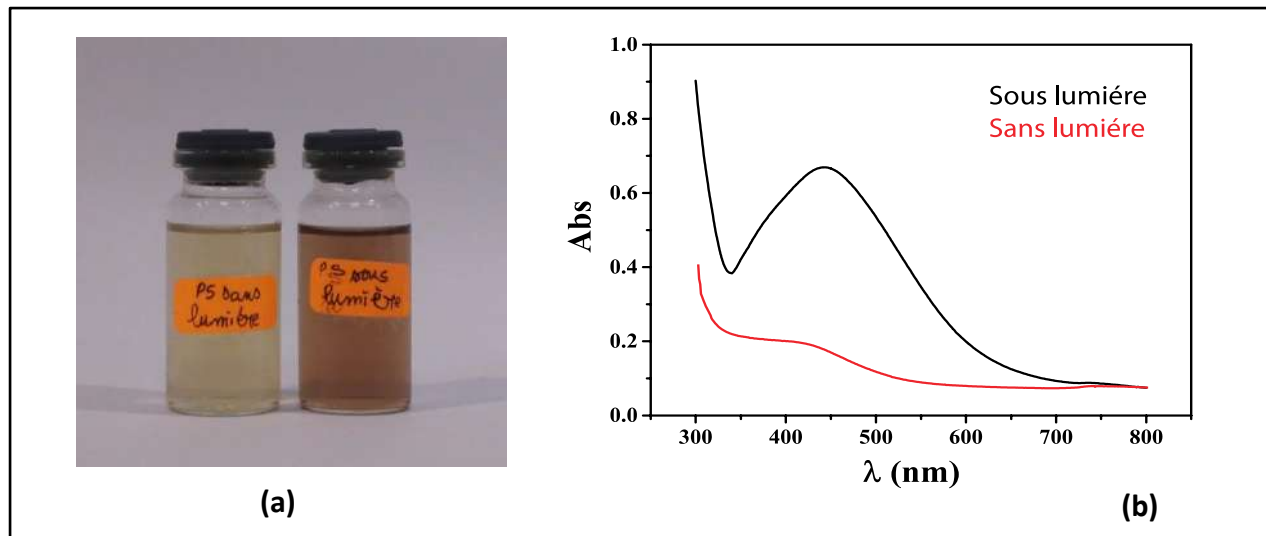


Figure III. 9: a) Changement de couleur en fonction de lumière et l'obscurité ; b) Spectre UV-vis des nanoparticules d'argent en fonction de lumière et l'obscurité.

c) Effet d'aération

L'influence d'aération sur la production des AgNPs a été évaluée (Figure III.10). Lors de la synthèse, la couleur des deux échantillons passait progressivement du jaune au brun foncé mais la coloration est plus remarquée dans le cas de l'aération.

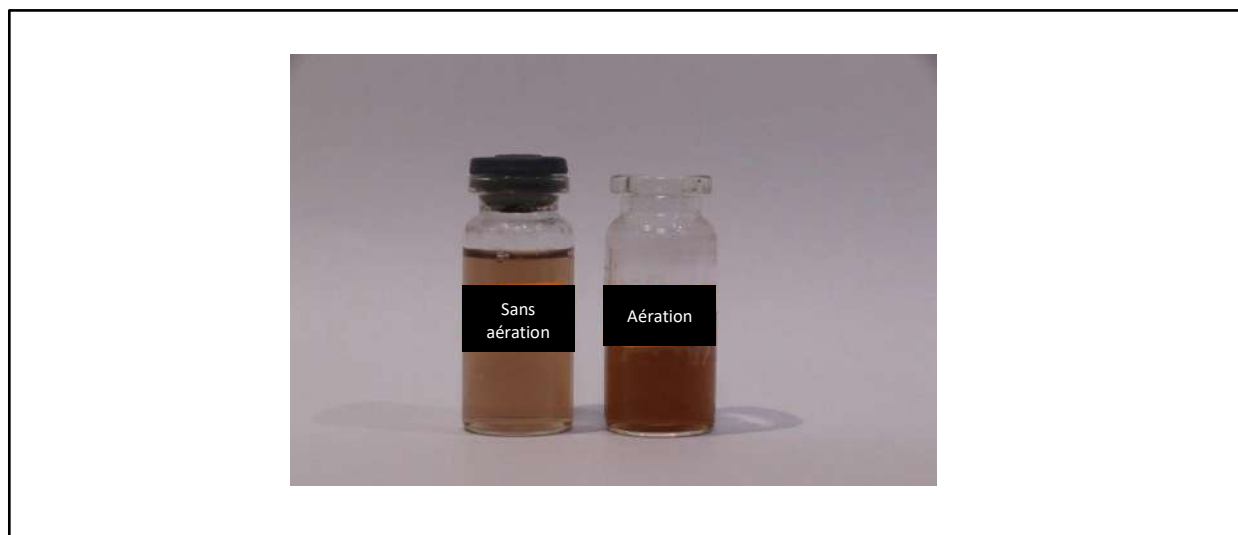


Figure III. 10: Changement de couleur en fonction d'aération.

III.3. Dégradation du bleu de méthylène

La dégradation photocatalytique du colorant de bleu de méthylène en utilisant des d'AgNPs synthétisées a été initialement identifiée par une observation visuelle. Initialement, après 1 min d'incubation avec des AgNPs, la couleur du colorant est passée du bleu foncé au bleu clair (Figure III.11a). Par conséquent, le bleu clair s'est transformé en vert clair après 3 min. Enfin, le processus de dégradation a été achevé après 5 min et a été identifié par le changement de couleur du mélange réactionnel en incolore.

Pour étudier la photodégradation du bleu de méthylène, nous avons comparé les courbes de l'UV-Vis de bleu de méthylène avant et après la photodégradation. Dans cette partie, nous avons d'abord étudié les propriétés optiques du BM avant l'exposition à la lumière.

A partir de la figure (III.11b), on remarque l'existence de quatre bandes d'intensité variable et localisés, respectivement à 246 nm, 292 nm, 612 nm et 664 nm, ces deux derniers sont probablement dues aux transitions $n-\pi^*$ de l'azote et du soufre de la structure du bleu de méthylène. A noter aussi, que le bon choix de la dilution et la bonne précision laisse montrer des faibles épaulements entre 350 et 550 nm, dues probablement à la résonance du système conjugué.

Le spectre d'absorption (Figure III.11b) a montré que les bandes d'absorption de bleu de méthylène diminuent pour différents intervalles de temps. Initialement, les bandes d'absorption de bleu de méthylène commencent à partir de 660 nm puis diminuaient progressivement avec

l'augmentation du temps d'exposition et cela indique bien la réaction de dégradation photocatalytique du bleu de méthylène. L'achèvement de la dégradation photocatalytique des colorants est connu grâce à la diminution progressive de la valeur d'absorbance du colorant approchant la ligne de base. Le pourcentage d'efficacité de dégradation des nanoparticules d'argent a été calculé à 92,7 % à 5 min (Figure III.12). Le pourcentage de dégradation a augmenté en augmentant le temps d'exposition du complexe de nanoparticules d'argent/colorant. Le pic d'absorption du colorant bleu de méthylène a diminué et finalement il a disparu en augmentant le temps de réaction, ce qui indique que le colorant avait été dégradé (Figure III.11b).

Rasheed *et al.* [18] ont constaté que la synthèse des nanoparticules réduit les avantages des composés organiques qui sont hautement pollués dans l'environnement, y compris les colorants azoïques toxiques, utilisés dans les méthodes chimiques et physiques. La méthode biologique a été choisie comme méthode d'élimination des colorants principalement parce que c'est une méthode très facile et non toxique comme mentionné par Robinson *et al.* [19].

Les nanoparticules d'argent sont considérées comme une option très efficace pour le traitement photocatalytique car ils peuvent accueillir à la fois les régions UV et visible du spectre électromagnétique pour un fonctionnement réel [20].

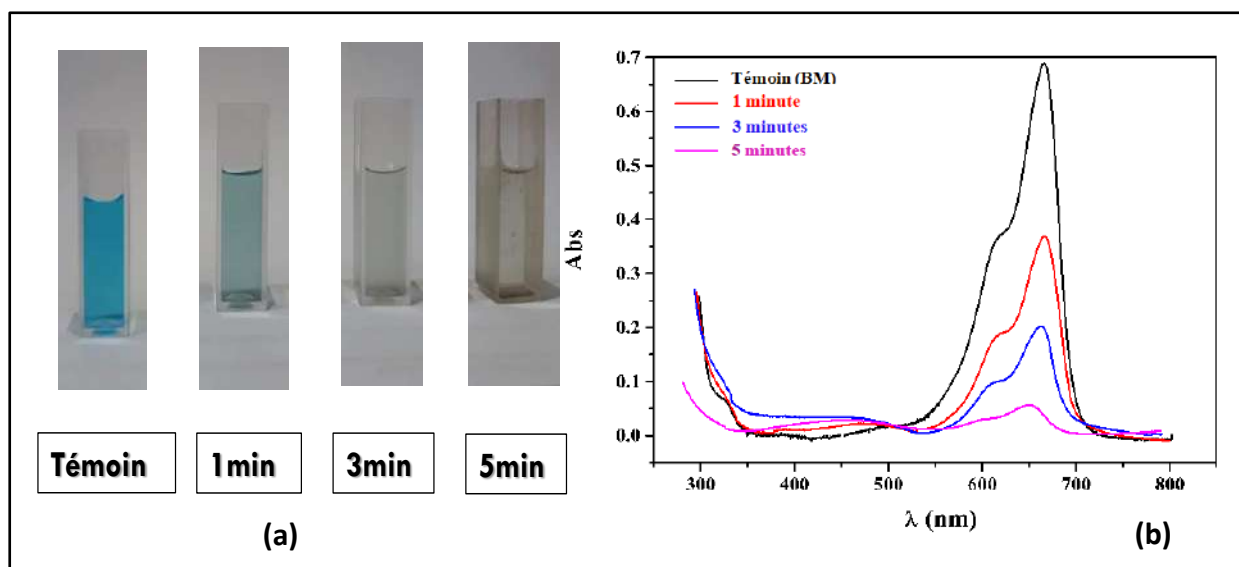


Figure III. 11: a) Observation visuelle du changement de couleur du bleu de méthylène à l'incolore à différents intervalles de temps ; b) Spectres d'absorption d'une solution aqueuse de bleu de méthylène traitée avec 10 mg de nanoparticules d'argent synthétisées en utilisant *P. aeruginosa* à différents intervalles de temps.

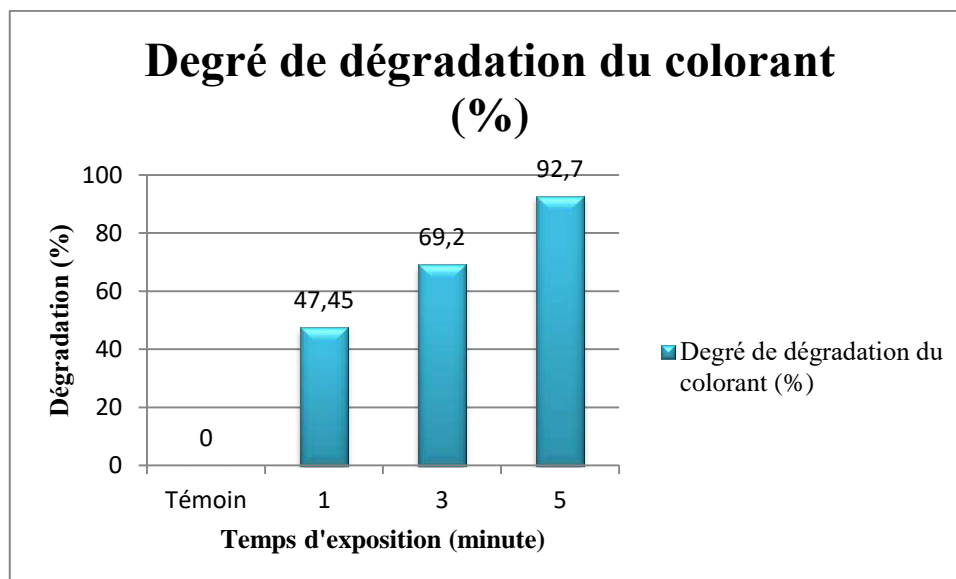


Figure III. 12: Dégradation du bleu de méthylène (%) par des nanoparticules d'argent synthétisées (30 mg).

III.4. Activité antibactérienne

Les AgNPs ont montrées un certain degré d'activité antibactérienne comme on peut le voir dans les boites de pétri utilisées dans le test de diffusion (Figure III.13). La taille moyenne de la zone d'inhibition mesurée pour toutes les souches est présentée dans le tableau (III.1), *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* étaient les souches les plus sensibles respectivement alors que la *Pseudomonas aeruginosa* était la souche la moins sensible.

L'efficacité des AgNPs a montré une meilleure activité pour contrôler les bactéries Gram-positives contre les bactéries Gram-négatives. Par contre des autres études comme l'étude de Kora *et al.* [21], montrent le contraire et cela était probablement lié aux différentes structures de la paroi cellulaire et aux différents mécanismes antibactériens de l'Ag contre différentes cellules. Par exemple, les bactéries Gram-négatives possèdent une fine couche de peptidoglycane, tandis que les bactéries Gram-positives possèdent une épaisse couche de peptidoglycane, qui est plus résistante à la diffusion d'Ag⁺ [22].

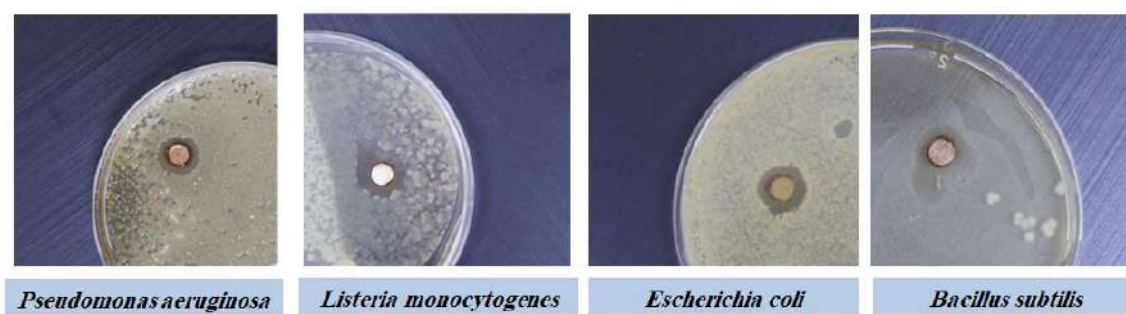


Figure III. 13: Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent contre diverses souches bactériennes pathogènes.

Tableau III. 1: Zone d'inhibition des nanoparticules d'argent contre diverses bactéries pathogènes.

La souche	La zone d'inhibition	La sensibilité
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 mm	Sensible (+)
<i>Listeria monocytogenes</i>	14 mm	Sensible (+)
<i>Escherichia coli</i>	12 mm	Sensible (+)
<i>Bacillus subtilis</i>	13 mm	Sensible (+)

Le travail réalisé dans ce chapitre a permis de synthétiser les nanoparticules d'argent à partir de *Pseudomonas aeruginosa*, de connaître les paramètres opérationnels pour la synthèse optimale, d'utiliser les nanoparticules d'argent pour la dégradation de bleu de méthylène et l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

- [1] Kambale, E.K., Nkanga, C.I., Mutonkole, B.P.I., Bapolisi, A.M., Tassa, D.O., Liesse, J.M.I., Krause, R.W. and Memvanga, P.B., 2020. Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species (*Brillantaisia patula*, *Crossopteryx febrifuga* and *Senna siamea*). *Heliyon*, 6(8), p.e04493.
- [2] Paul, D. and Sinha, S.N., 2014. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 and its antibacterial activity. *Jordan J Biol Sci*, 7(4), pp.245-250.
- [3] K.C. Mounika and Katta. M., 2017. Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Characterization. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(08).
- [4] Mukherji, S., Bharti, S., Shukla, G., & Mukherji, S., 2018. Synthesis and characterization of size- and shape-controlled silver nanoparticles. *Physical Sciences Reviews*, 0(0).
- [5] Khan, N.T. and Jameel, J., 2016. Optimization of reaction parameters for silver nanoparticles synthesis from *Fusarium oxysporum* and determination of silver nanoparticles concentration. *J Material Sci Eng*, 5(283), pp.2169-0022.
- [6] Christopher, J. G., Saswati, B., & Ezilrani, P., 2015. Optimization of Parameters for Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Aegle marmelos*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(5), pp.702-710.
- [7] Rose, G., Soni, R., Rishi, P. and Soni, S., 2019. Optimization of the biological synthesis of silver nanoparticles using *Penicillium oxalicum* GRS-1 and their antimicrobial effects against common food-borne pathogens. *Green Processing and Synthesis*, 8(1), pp.144-156.
- [8] Quintero-Quiroz, C., Acevedo, N., Zapata-Giraldo, J., Botero, L.E., Quintero, J., Zárate-Triviño, D., Saldarriaga, J. and Pérez, V.Z., 2019. Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. *Biomaterials research*, 23(1), pp.1-15.
- [9] Rose, G. K., Soni, R., Rishi, P., & Soni, S. K., 2018. Optimization of the biological synthesis of silver nanoparticles using *Penicillium oxalicum* GRS-1 and their antimicrobial effects against common food-borne pathogens. *Green Processing and Synthesis*, 8, 144-156.
- [10] Lee, K.X., Shameli, K., Mohamad, S.E., Yew, Y.P., Mohamed Isa, E.D., Yap, H.Y., Lim, W.L. and Teow, S.Y., 2019. Bio-mediated synthesis and characterisation of silver nanocarrier, and its potent anticancer action. *Nanomaterials*, 9(10), p.1423.
- [11] Dada, A.O., Adekola, F.A., Dada, F.E., Adelani-Akande, A.T., Bello, M.O., Okonkwo, C.R., Inyinbor, A.A., Oluyori, A.P., Olayanju, A., Ajanaku, K.O. and Adetunji, C.O., 2019.

- Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing. *Heliyon*, 5(10), p.e02517.
- [12] Veerasamy, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C., Jeyakumar, N., & Dhanaraj, S. A., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), pp.113-120.
- [13] Kareem, S.O., Adeleye, T.M. and Ojo, R.O., 2020, March. Effects of pH, temperature and agitation on the biosynthesis of iron nanoparticles produced by *Trichoderma* species. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing, 805(1), pp.012036.
- [14] Kumar, A., Madhu, G., John, E., Kuttinarayanan, S. and Nair, S., 2020. Optical and antimicrobial properties of silver nanoparticles synthesized via green route using honey. *Green Processing and Synthesis*, 9 (1), pp. 268-274. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0029>
- [15] Badireddy, A. R., Farner Budariz, J., Marinakos, S. M., Chellam, S., & Wiesner, M. R., 2014. Formation of Silver Nanoparticles in Visible Light-Illuminated Waters: Mechanism and Possible Impacts on the Persistence of AgNPs and Bacterial Lysis. *Environmental Engineering Science*, 31(7), pp.338-349.
- [16] Oldenburg, S.J., 2014. Silver nanoparticles: properties and applications. *Sigma-Aldrich Co., nd*.
- [17] Büyük, N.İ., Arayıcı, P.P., Derman, S., Mustafaeva, Z. and Yücel, S., 2020. An Optimization Study for Chitosan Nanoparticles: Synthesis and Characterization. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 16(2), pp.119-127.
- [18] Rasheed, T., Bilal, M., Li, C., Nabeel, F., Khalid, M., & Iqbal, H. M. N., 2018. Catalytic potential of bio-synthesized silver nanoparticles using *Convolvulus arvensis* extract for the degradation of environmental pollutants. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 181, pp.44-52.
- [19] Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P., 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, 77(3), pp.247-255.
- [20] Rani, P., Kumar, V., Singh, P.P., Matharu, A.S., Zhang, W., Kim, K.H., Singh, J. and Rawat, M., 2020. Highly stable AgNPs prepared via a novel green approach for catalytic and photocatalytic removal of biological and non-biological pollutants. *Environment International*, 143, p.105924.

- [21] Kora, A.J. and Sashidhar, R.B., 2015. Antibacterial activity of biogenic silver nanoparticles synthesized with gum ghatti and gum olibanum: a comparative study. *The Journal of antibiotics*, 68(2), pp.88-97.
- [22] Saravia, S.G.G.D., Rastelli, S.E., Angulo-Pineda, C., Palza, H. and Viera, M.R., 2020. Anti-adhesion and antibacterial activity of silver nanoparticles and graphene oxide-silver nanoparticle composites. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 25(2).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

L'objectif de ce travail vise à biosynthétiser des nanoparticules d'argent à partir de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* et à optimiser les paramètres opérationnels, puis les utiliser pour évaluer la dégradation de bleu de méthylène et l'activité antibactérienne.

Dans ce travail, nous avons synthétisé avec succès des nanoparticules d'argent par une méthode biologique simple en utilisant le surnageant de culture d'une souche de référence de *Pseudomonas aeruginosa* et sans aucun agent réducteur nocif. La présente étude indique la synthèse extracellulaire des nanoparticules d'argent très stables.

Dans ce travail, nous avons réussi aussi à faire l'optimisation des paramètres opérationnels pour la synthèse des nanoparticules d'argent. Il a été montré que la synthèse de ces nanoparticules dépend de divers paramètres expérimentaux. On peut conclure que le pH de 10, la concentration de 10 mM, le temps d'incubation de 72 h, le rapport volumique de 80:20 (surnageant : solution d'AgNO₃), la présence de la lumière, l'aération et l'agitation et l'absence de l'agitation favorisent un rendement optimal des nanoparticules d'argent.

L'activité photocatalytique des nanoparticules d'argent synthétisées a été examinée par dégradation du bleu de méthylène. Les nanoparticules d'argent synthétisées dégradaient efficacement le colorant de près de 92,7% à 5 minute de temps d'exposition. Dans la présente étude, il s'avère que l'utilisation d'agent réducteur naturel, renouvelable et écologique pour la synthèse des nanoparticules d'argent présente une excellente activité photocatalytique contre les molécules de colorant. Ces nanoparticules peuvent être utilisées dans les systèmes de purification de l'eau et le traitement des effluents du colorant.

Les nanoparticules d'argent biosynthétisées à l'aide de la souche *Pseudomonas aeruginosa* ont montré une excellente activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives. L'activité antibactérienne a été bien démontrée par une zone d'inhibition considérable de 10, 14, 12 et 13 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* respectivement. Ce résultat pourrait être intéressant dans les domaines pharmacologique et médical.

Perspectives

- ✚ Faire varier d'autres paramètres comme : le temps d'agitation, le régime de mélange et la température de réaction, pour l'optimisation de la synthèse de AgNPs.
- ✚ Faire la dégradation d'autres colorants comme le méthyle orange (MO).
- ✚ Tester l'activité antimicrobienne sur d'autres microorganismes comme les virus et les champignons.
- ✚ Faire la synthèse d'AgNPs à partir d'autres souches microbiennes.
- ✚ Tester d'autres activités biologiques comme l'activité antioxydante,

Annexes

Annexe 01 : Matériels

- Becher en verre
- Erlenmeyer en verre
- Micropipette
- Pipette
- Bec benzène
- Spatule
- Flacon en verre
- Tube en verre
- Boîte de pétri
- Cylindre gradué
- Balance
- Agitateur

Annexe 02 : Produits chimiques

- Nitrate d'argent (AgNO_3)
- Poudre de bleu de méthylène
- Acide chlorhydrique (HCl)
- Eau distillée
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Ethanol

Annexe 03 : Appareils

- Centrifugeuse (ROTINA 380 R) (Sigma 2-16P)
- Autoclave vertical à vapeur (AE-75 DRY)
- Ultrasons (H.D)
- pH-mètre (starter 5000)
- Etuve (Mettler)
- Spectrophotomètre (UV 2300 II)
- Vortex multitubes (Benchmark™ XL BV1010)
- Agitateur-incubateur de paillasse KS 3000

Annexe 04 : Milieux de culture (Composition en g / l d'eau distillée)

➤ **BN Bouillon nutritif**

- BN..... 08 g
- Glucose..... 10 g

➤ **MRS (GELOSE) (De Man, Rogosa, Sharpe)**

- Polypeptone.....10 g
- Extrait de viande8 g
- Extrait de levure4 g
- Glucose.....20 g
- Tween 80.....1,08 g
- Phosphate dipotassique2 g
- Acétate de sodium.....5 g
- Citrate d'ammonium.....2 g
- Sulfate de magnésium.....0,20 g
- Sulfate de manganèse.....0,05 g
- Agar.....10 g

Résumé

Résumé

La biosynthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs) a été réalisée avec succès en utilisant le surnageant de la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Sept paramètres opérationnels impératifs (pH, concentration, temps d'incubation, rapport volumique, lumière, agitation, aération) essentiels à la synthèse des nanoparticules d'argent ont été étudiés. L'étude a montré que le pH de 10, la concentration de 10 mM, le temps d'incubation de 72 h, le rapport volumique 80:20 (surnageant : solution d'AgNO₃), la présence de la lumière, l'aération et soit l'agitation ou l'absence de l'agitation étaient importants pour optimiser la synthèse des nanoparticules d'argent. Cette étude a montré la bonne activité photocatalytique des nanoparticules d'argent sur la dégradation du colorant bleu de méthylène à près de 92,7% à 5 minutes de temps d'exposition. Les propriétés antibactériennes des nanoparticules d'argent ont été confirmées à la fois par les bactéries gram positive et négative, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibition de 10, 14, 12, et 13 mm respectivement.

Mots clés : Biosynthèse, Nanoparticules d'argent, *Pseudomonas aeruginosa*, Photocatalyse, Bleu de méthylène, Activité antibactérienne.

ملخص

تم تنفيذ التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) بنجاح باستخدام طاف سلالة *Pseudomonas aeruginosa*. تمت دراسة سبع متغيرات تشغيلية (الرقم الهيدروجيني (pH)، التركيز، وقت التلامس، نسبة الحجم، الضوء، التحريك، التهوية) الأساسية لتخليق جسيمات الفضة النانوية. أوضحت الدراسة أن الرقم الهيدروجيني 10، وتركيز 10 mM، وزمن الحضانة 72 ساعة، ونسبة الحجم 80:20 (طاف: محلول AgNO₃)، ووجود الضوء، والتهوية، والتحريك أو عدم وجود التحريك تعتبر مهمة لتخليق أقصى للجسيمات النانوية الفضية. أظهرت هذه الدراسة النشاط التحفيزي الضوئي الجيد لجسيمات الفضة النانوية في تحلل صبغة الميثيلين الأزرق إلى ما يقرب من 92.7% في 5 دقائق من وقت التعرض. تم تأكيد الخصائص المضادة للبكتيريا لجسيمات الفضة النانوية بواسطة كل من البكتيريا الموجبة والسالبة، *Pseudomonas aeruginosa*، *Listeria monocytogenes*، *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* بأقطار تثبيط 10، 14، 12، 13 ملم على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التخليق الحيوي، الجسيمات النانوية الفضية، *Pseudomonas aeruginosa*، التحفيز الضوئي، الميثيلين الأزرق، النشاط المضاد للبكتيريا.

Abstract

The biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) has been successfully carried out using the supernatant of the *Pseudomonas aeruginosa* strain. Seven imperative operational parameters (pH, concentration, incubation time, volume ratio, light, agitation, and aeration) essential to the synthesis of silver nanoparticles were studied. The study showed that the pH 10, the concentration of 10 mM, the incubation time of 72 h the volume ratio 80:20 (supernatant: AgNO₃ solution), the presence of light, the aeration and either the agitation or absence of agitation was important for the maximum synthesis of the silver nanoparticles. This study showed the good photocatalytic activity of silver nanoparticles on the degradation of methylene blue dye to nearly 92.7% at 5 minutes of exposure time. The antibacterial properties of silver nanoparticles were confirmed by both gram positive and negative bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* with zones of inhibition of 10, 14, 12, and 13 mm respectively.

Keywords: Biosynthesis, Silver nanoparticles, *Pseudomonas aeruginosa*, Photocatalysis, Methylene blue, Antibacterial activity.