

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 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

Kerboussa Safa

Thème :

Synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent par une bactérie lactique (*Leuconostoc mesenteroides*) et leurs applications antimicrobiennes et photocatalytiques

Soutenu publiquement le :26/06/2021

Devant le jury composé de :

M^f Selloum Djamel

MCA (UKM Ouargla)

Président

M_r Achi Fethi

MCA (UKM Ouargla)

Examineur

M^f Henni Abdellah

MCA (UKM Ouargla)

Encadrant

Année Universitaire : 2020/2021

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 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

Kerboussa Safa

Thème :

Synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent par une bactérie lactique (*Leuconostoc mesenteroides*) et leurs applications antimicrobiennes et photocatalytiques

Soutenu publiquement le :26/06/2021

Devant le jury composé de :

M^r Selloum Djamel

MCA (UKM Ouargla)

Président

M^r Achi Fethi

MCA (UKM Ouargla)

Examineur

M^r Henni Abdellah

MCA (UKM Ouargla)

Encadrant

Année Universitaire : 2020/2021

Dédicaces

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie
ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude,
pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle
m'accorde tout l'amour dont elle m'entoure.*

*A mon honorable père, qui ma appris le sens de la persévérance
tout au long de mes études, qui représente pour moi le symbole de la
bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du
dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.*

*A mon frère **YASSER**, A mes sœurs : **HADJER**, **NOUR ELYAKINE**,
BOUTHIENA, **SOUNDOUS** et **NOUR ELIMANE***

A tous les membres de ma famille.

*A mon fiancé **ALHADJ** pour son avoir toujours été là à mes côtés, de
m'avoir soutenu et encouragé tout au long de la réalisation de mon
mémoire.*

*A tous mes collègues de promotion de 2^{ème} Master Génie Chimique et
tous mes amis qui me connaisse de près ou de loin.*

A tous ceux qui me sont chers

Avec toute mon affection et mon amour

Je leur dédie ce modeste travail.

*À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit
possible, À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de
continuer, nous vous disons merci.*

Remerciements

Les travaux de recherche qui font l'objet de ce mémoire ont été réalisés dans le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (C.R.A.P.C) de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, sous la direction du Dr. Henni Abdellah.

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche et qui grâce à lui je suis arrivé à ce stade.

Je tiens à remercier Monsieur Henni Abdellah, de m'avoir encadré, suivie avec intérêt l'avancement de mon travail. Je tiens également à le remercier pour son sérieux, sa droiture, ses qualités humaines ainsi que la confiance qu'il a placée en moi. Il m'a servi de guide tout au long de ce travail. Qu'il veuille bien accepter mes profondes reconnaissances pour l'aide et les conseils qu'il m'a prodigué.

Mes remerciements vont également au responsable de laboratoire (C.R.A.P.C) Monsieur BELKHALFA HAKIM et tous les membres du centre qui m'ont ouvert les portes et qui ont tout mis à ma disposition pour me permettre de travailler dans les meilleures conditions.

Je remercie également Monsieur MOHAMMED BOURICHA et leur étudiants FAYZA, FERYAL, HINDA, AYOBE pour son aide à la partie biologique et toutes leurs explications et leurs conseils, alors merci beaucoup.

Je tiens à remercier les membres du jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail.

J'adresse également des remerciements à tous les Professeurs du département de Génie des Procédés (Université d de Kasdi Merbah de Ouargla-.

Je souhaite remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin ou de prêt pour la réalisation de ce mémoire.

Table des matières

Introduction.....	1
<u>Chapitre I : Étude bibliographique</u>	
I.1 Généralités sur les nanoparticules	3
I.1.1 Définition des nanoparticules	3
I.1.2 Classification des nanoparticules	3
I.2 Propriétés des nanoparticules	4
I.2.1 Propriétés optiques	4
I.2.2 Propriétés structurales	4
I.2.3 Propriétés électromagnétiques	5
I.2.4 Applications des nanoparticules	5
I.2.5 La médecine.....	5
I.2.6 Les matériaux de fabrication	6
I.2.7 L'environnement.....	6
I.2.8 L'électronique	6
I.3 Les nanoparticules d'argent.....	6
I.3.1 Généralités sur les nanoparticules d'argent.....	6
I.3.2 Propriétés physiques et chimiques de l'argent.....	7
I.4 Synthèse des nanoparticules d'argent.....	9
I.4.1 Méthodes physiques	9
I.4.2 Méthodes chimiques.....	9
I.4.3 Méthodes biologiques	12
I.5 Applications des nanoparticules d'argent.....	14
I.5.1 Activité antibactérienne.....	14
I.5.2 Photocatalyse	16
<u>Chapitre II : Dispositifs et techniques expérimentales</u>	
II.1 Objectif.....	17
II.2 Synthèse des nanoparticules d'argent	17

II.2.1 Préparation de milieu de culture (BN)	17
II.2.2 Préparation du surnageant de la souche	18
II.2.3 Réduction des ions d'argent	18
II.3 Optimisation des conditions opératoires	19
II.3.1 Effet de pH	19
II.3.2 Effet de concentration des ions d'argent	20
II.3.3 Effet de temps	20
II.4 Spectroscopie UV-Visible.....	20
II.5 Applications.....	12
II.5.1 Photocatalyse	21
II.5.2 Activité antibactérienne	24
<u>Chapitre III : Résultats et Discussions</u>	
III.1 Biosynthèse des nanoparticules d'argent.....	26
III.2 Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent.....	27
III.2.1 Effet du temps sur AgNPs.....	27
III.2.2 Effet de la concentration sur AgNPs.....	28
III.2.3 Effet de l'agitation et de la lumière sur AgNPs.....	29
III.2.4 Effet du pH sur AgNPs.....	31
III.3 Application des nanoparticules d'argents.....	33
III.3.1 La dégradation du bleu méthylène.....	33
III.3.2 Activité antibactérienne.....	36
Conclusion.....	38
Références.....	39

Introduction générale

Introduction générale

De nos jours, l'apparition de la nanoscience et la nanotechnologie représente l'un des développements les plus prometteurs des sciences de la matière, elles s'intéressent à la conception, le développement, la caractérisation et l'application de matériaux de la taille à l'échelle nanométrique. Ces métaux présentent des nouvelles propriétés physico-chimique plus avantageuses et uniques qui très différentes de celles du même matériau à l'état massif ou à l'état atomique [1].

Les chercheurs scientifiques s'intéressent plus en plus au développement des différents nanomatériaux (nanoparticules, nanotubes, nanofibres,...) en utilisant des différentes méthodes d'élaboration : physique, chimique ou biologique [2].

A l'échelle nanométrique, les métaux présentent des propriétés physicochimiques spectaculaires liées au phénomène de résonance de plasmon, dont découlent de nombreuses applications. Donc, les nanoparticules métalliques sont connues une large considération en raison de leurs demandes dans plusieurs domaines, y compris les sciences biomédicales, l'industrie chimique, l'électronique, biocapteur,... [3]. Les propriétés des nanoparticules dépendent fortement de la taille et la forme des nanoparticules préparées. Donc, il serait très utile de contrôler ces deux paramètres dans le procédé de synthèse selon les applications envisagées [4].

Parmi les nanoparticules (NPs) on trouve l'argent (Ag) qu'est un métal de choix parmi les métaux nobles pour des applications potentielles. Les méthodes biosynthétiques est une approche propre, simple, peu couteuse, respectueuse de l'environnement et rentables pour la production des NPs d'Ag [5]. La méthode biologique est basée principalement sur l'utilisation des extraits de plantes [6] et des bioorganismes [7] sans l'utilisation de produits chimiques souvent toxiques et dangereux. Ceci conduit généralement à la formation de nanoparticules cristallines avec une variété de formes (sphères, tiges, prismes, plaques, aiguilles, feuilles ou dendrites), avec des tailles comprises entre 1 et 100 nm [8].

Tenant compte de ces considérations, nous nous sommes intéressés à la synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent (AgNPs) par une bactérie lactique (*Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*) et leurs applications antimicrobiennes et photocatalytiques. D'une part, la concentration du sel métallique, le pH, l'agitation, la

température et le temps de réaction, ainsi que le taux de mélange du surnageant extracellulaire et sel métallique ont été optimisés dans ce travail de mémoire. D'autre part, les activités photocatalytiques et antibactériennes des AgNPs ont été également étudiées.

Le mémoire décrivant ce travail est entamé par cette introduction générale qui pose la problématique et donne une idée sur l'importance du thème abordé tout en exposant clairement l'objectif visé et se décompose en trois chapitres.

Le premier chapitre a tout d'abord pour but de présenter une étude bibliographique sur l'histoire des nanotechnologies, nanosciences, nanomatériaux et nanoparticule, les principales méthodes de synthèse de nanoparticules métalliques, les propriétés, les caractérisation et applications plus particulièrement la biosynthèse de nanoparticules d'argent.

Le deuxième chapitre est dédié entièrement à la description des protocoles expérimentaux utilisés dans l'élaboration des nanoparticules d'argent. Les différentes techniques de caractérisations physicochimiques sont également décrites.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus au cours de ce travail avec une discussion en fonction de différents paramètres expérimentaux intervenants dans la synthèse et les conclusions marquants.

Enfin, nous concluons par une conclusion générale qui récapitule l'essentiel des résultats obtenus au cours de cette étude.

Chapitre I. Étude bibliographique

I.1 Généralités sur les nanoparticules

I.1.1 Définition des nanoparticules

Les nanoparticules (NPs) sont des particules de matière mesurant entre 1 et 100 nm. Ces nanoparticules se présentent souvent sous la forme de poudres ultra fines auxquelles l'humain et l'environnement peuvent être directement exposés [9]. La plupart des matériaux à l'échelle du micromètre présentent les mêmes propriétés physicochimiques du matériau massif ; par contre à l'échelle du nanomètre ils peuvent posséder des propriétés physicochimiques distinctement différentes du matériau massif. A titre de comparaison avec les structures organiques naturelles, les nanoparticules se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines [10] (Figure I.1).

Leurs usages peuvent être différents en fonction de la nature de la nanoparticule et concernent de nombreux domaines d'application : dispositifs médicaux, cosmétiques, textiles, revêtements et matériaux de construction, etc..[9].

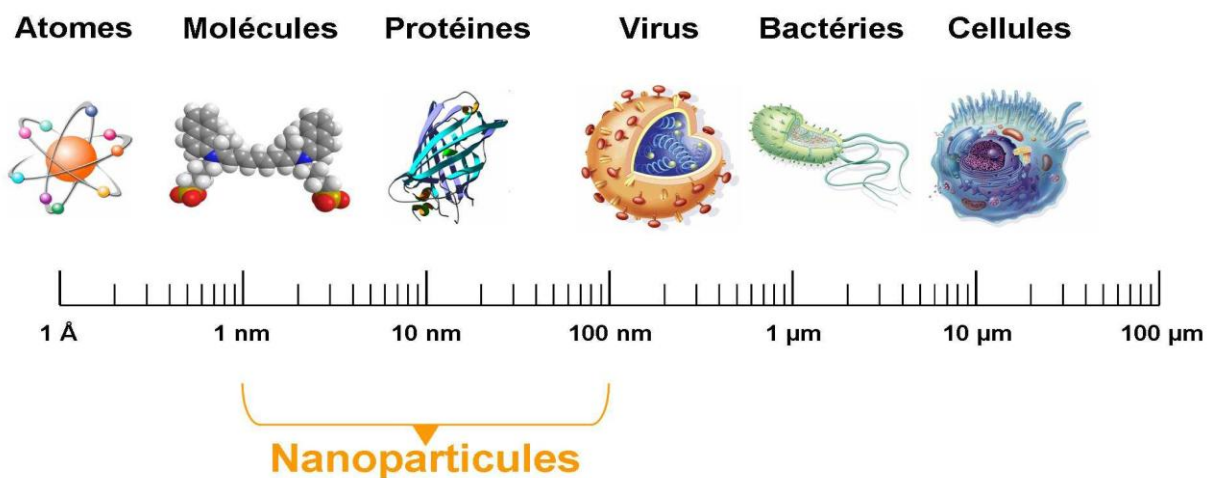


Figure I.1: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques [11].

I.1.2 Classification des nanoparticules

Les nanomatériaux peuvent être à l'échelle nanométrique dans une dimension (films de surface), deux dimensions (fils) ou trois dimensions (particules) (Figure I.2). Ils peuvent exister sous des formes simples, fondues, agrégées ou agglomérées de formes sphériques, tubulaires et irrégulières. Selon R. Singh [12] et al., les matériaux de nanostructures sont

classés zéro dimension (grappes atomiques, filaments et assemblages de grappes), à une dimension (multicouches), deux dimensions (couches superposées à grain ultrafin ou couches enterrées) et à trois dimensions (nanomatériaux).

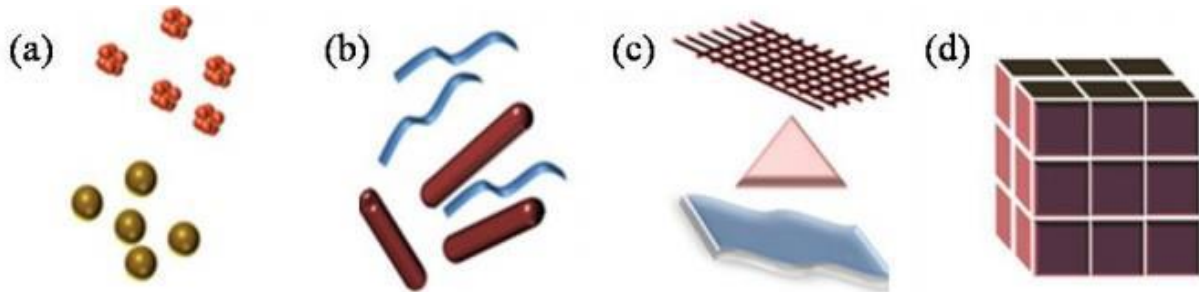


Figure I.2: *Classifications des nanomatériaux (a) 0D sphères et clusters, (b) 1D nanofibres, fils et tiges, (c) 2D filtres, plates, et réseaux, (d) 3D nanomatériaux [13].*

I.2 Propriétés des nanoparticules

I.2.1 Propriétés optiques

Comme la taille des particules est réduite au nanomètre, selon le type de nanoparticules métalliques et la taille des particules, elles absorbent la lumière avec une longueur d'onde spécifique et grâce à la résonance Plasmonique de surface elles transmettent des couleurs différentes. Ceci est expliqué par l'interaction du rayonnement électromagnétique et des électrons dans la bande de conduction autour des nanoparticules [14]. Il est possible d'effectuer des analyses quantitatives et qualitatives de la taille des particules et des distributions et de la concentration des particules ainsi que de l'effet de la forme des particules comme conséquence des changements de spectre optique. Les nanoparticules d'or et d'argent montrent les phénomènes de couleur avec une force de teinte, une saturation des couleurs et une transparence splendide [15].

I.2.2 Propriétés structurelles

La grande surface spécifique des nanoparticules est une propriété importante liée à la réactivité, la solubilité, etc. et est également liée au transfert de masse et de chaleur entre les particules et leur environnement. En outre, la structure cristalline des particules peut changer avec la taille des particules dans la gamme nanométrique dans de nombreux cas. Ceci est attribué à la force de compression exercée sur les particules en raison de la tension

superficielle de la particule elle-même. La taille critique des particules de la structure cristalline et l'effet de la taille diffèrent avec les matériaux [16].

I.2.3 Propriétés électromagnétiques

Lorsque les matériaux sont réduits au nanométrique, les forces électromagnétiques deviennent prédominantes dans ces nanoparticules. La masse de l'objet à l'échelle nanométrique est si petite que la gravité devient négligeable et que les forces électromagnétiques dépassent la force gravitationnelle. Les nanoparticules sont des matières premières pour un certain nombre de dispositifs électroniques.

Les propriétés électromagnétiques jouent un grand rôle pour l'amélioration de la performance du produit. En ce qui concerne la propriété magnétique, les fines particules ferromagnétiques ont une seule structure de domaine magnétique car elles deviennent très petites, de l'ordre de moins de 1 μ m environ, et présentent une propriété super-paramagnétique lorsqu'elles sont plus fines. Dans ce cas, bien que les particules individuelles soient ferromagnétiques avec la structure à domaine magnétique unique, les particules se comportent collectivement comme paramagnétiques. Il est magnétisé dans son ensemble dans la même direction que le champ magnétique externe mais l'aimantation disparaît par la fluctuation thermique, lorsque le champ magnétique externe est enlevé. Le temps pour la disparition de l'aimantation dépend de la taille des particules, comme, l'aimantation du matériau répond avec le champ magnétique externe comme paramagnétique lorsque les particules sont suffisamment petites mais il diminue progressivement à mesure que la taille des particules devient plus grande [17].

I.2.4 Applications des nanoparticules

Ouvrant indubitablement des perspectives très prometteuses, les nanotechnologies se sont déjà immiscées dans notre environnement quotidien. Les secteurs d'activité utilisant les nanomatériaux pour des applications commerciales sont les suivants.

I.2.5 La médecine

Nano-diamants avec des molécules de protéines attachées peuvent être utilisés pour augmenter la croissance osseuse autour des implants dentaires et articulaires. Les chercheurs testent l'utilisation de chimiothérapies attachées à des nano-diamants pour traiter les tumeurs cérébrales.

Des chercheurs étudient l'utilisation de chimiothérapies attachées à des nano-diamants pour traiter la leucémie. Une autre nanoparticule auto-collectrice a été produite que les tumeurs objectives, pour aider les spécialistes à analyser la malignité. La nouvelle nanoparticule soutient l'adéquation de l'IRM en examinant particulièrement les récepteurs qui se trouvent dans les cellules malignes [18,19].

I.2.6 Les matériaux de fabrication

Les nanoparticules de silicate sont utilisées pour fournir une barrière aux gaz (par exemple l'oxygène) utilisé pour l'emballage. Cela pourrait ralentir le processus de détérioration ou de dessèchement des aliments ou l'humidité dans un film plastique utilisé pour l'emballage [21].

I.2.7 L'environnement

Les chercheurs utilisent des nanoparticules d'or délimitées dans un oxyde de manganèse poreux à un catalyseur à température ambiante pour décomposer les polluants organiques volatils dans l'air. Les nanoparticules de fer sont utilisées pour nettoyer la pollution au tétrachlorure de carbone dans les eaux souterraines. Les nanoparticules d'oxyde de fer sont également utilisées pour nettoyer l'arsenic des puits d'eau[20].

I.2.8 L'électronique

Les nanoparticules sont utilisées dans plusieurs domaines telle que : mémoires à haute densité et processeurs miniaturisés, cellules solaires, bibliothèques électroniques de poche, ordinateurs et jeux électroniques ultra-rapides, technologies sans fil, écrans plats [22].

I.3 Les nanoparticules d'argent

I.3.1 Généralités sur les nanoparticules d'argent

L'argent (Ag) est le deuxième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique, c'est un métal noble plus réactif que l'or. Ce métal, est exploité pour sa grande résistance mécanique. C'est un métal de transition mou, blanc, brillant possédant diverses propriétés comme la conductivité électrique et thermique élevée et il est utilisé sous plusieurs formes telles que colloïdes comme lotions. Il est intervenu en médecine en tant qu'agent thérapeutique contre les maladies infectieuses et les infections chirurgicales. L'argent a bien beaucoup d'avantage que de facteurs de risque [23].

Depuis 1994, les nanomatériaux à base de nanoparticules d'argent se sont développés de façon exponentielle en couvrant un grand nombre de secteurs industriels : matériaux antibactériens, matériaux antistatiques, matériaux supraconducteurs cryogéniques, matériaux biocapteurs, textiles synthétiques, circuits imprimés, matériaux catalytiques. Ces nanomatériaux présentent en effet de nouvelles propriétés qui diffèrent largement des autres matériaux en raison de la faible taille des charges.

Historiquement, la synthèse de nanoparticules d'argent est réalisée au laboratoire par voie micellaire inverse [24]. C'est l'un des métaux les plus utilisés pour la conception des nanoparticules. Les nanoparticules d'argent pouvant rassembler environ 20 -15 000 atomes d'argent, ont montré les mêmes propriétés physico-chimiques et activités biologiques que l'argent, en plus des propriétés uniques des nanoparticules [23].

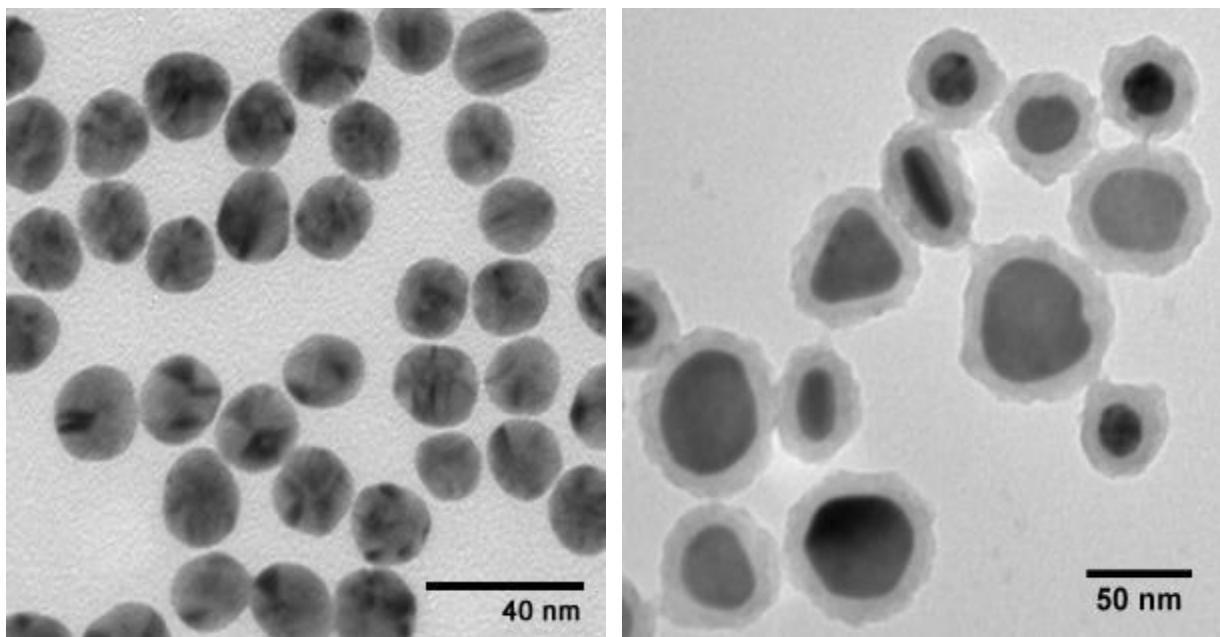


Figure I.3: Photo en microscopie de la taille et forme des deux types de nanoparticules utilisées dans ces travaux, à gauche les nano-sphères d'argent (20nm) et à droite les nano-plaques d'argent (40 nm) [25].

I.3.2 Propriétés physiques et chimiques de l'argent

L'argent (Ag) est le deuxième élément du premier groupe secondaire (I_B) du tableau périodique, c'est un métal noble plus réactif que l'or[25]. Sa résistance mécanique peut être améliorée par addition de cuivre. Il a une excellente conductivité, propriété utilisée en électronique. L'argent métallique se déforme facilement à froid, par martelage ou par

étirement et il se cisèle facilement. Les sels d'argent sont photosensibles et sont utilisés en photographie [24]. Le Tableau I.1 montre les propriétés caractéristiques de l'argent.

Tableau I.1: Propriétés physiques de l'argent[26].

Propriétés	Argent
Configuration électronique	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹
Numéro atomique – poids	47 – 107,87
Structure cristalline	CFC
Densité (g/cm ³)	10,5
Rayon atomique (nm)	0,153
Résistivité électrique (μΩ.cm)	1,59 (20 °C)
Température de fusion (K)	1235,43
Température d'ébullition (K)	2485
Conductivité thermique (W m ⁻¹ K ⁻¹)	429
Conductivité électrique (S m ⁻¹)	63 106
Potentiel standard (V)	0,779
Electronégativité	(Ag ⁺ /Ag) 1,93

L'argent métallique s'obtient par réaction de réduction de l'ion argent selon la réaction suivante $\text{Ag}^+ + e^- \rightarrow \text{Ag}^0$

Cette réaction de base peut s'effectuer à partir de différents sels, dans différents milieux et selon différentes méthodologies. Le choix de l'agent réducteur est également important.

De nombreuses méthodes ont été utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'argent, parmi lesquelles on peut citer la réduction chimique des ions argent en solution aqueuse ou organique, la réduction électrochimique, la réduction sous ultrasons, la réduction photoinduite ou photocatalytique, la réduction sous micro-ondes, la réduction par irradiation γ , la méthode de microémulsion et la réduction biochimique [24].

I.4 Synthèse des nanoparticules d'argent

Récemment, la synthèse des nanoparticules inorganiques avec des compositions, tailles et des formes bien définies est réalisée avec différentes techniques physiques, chimiques et biologiques.

I.4.1 Méthodes physiques

Les méthodes mécaniques, telles que l'homogénéisation et le broyage ont été utilisées pour préparer des nanoparticules d'argent pour application antimicrobienne. Dans les procédés physiques récents, les nanoparticules d'argent sont généralement synthétisées par évaporation-condensation [24].

Les méthodes physiques les plus utilisées pour la formation des nanoparticules d'argent sont :

- L'évaporation/condensation de vapeur.
- La décharge d'arc.
- Le broyage par billes d'énergie.
- La pulvérisation cathodique à magnétron à courant continu.

Les méthodes physiques sont moins coûteuses en temps et n'impliquent pas de composés chimiques dangereux. Cependant, la grande consommation d'énergie et le besoin de beaucoup de temps pour obtenir une stabilité thermique sont les limites de cette méthode. Les techniques par ablation laser sont avantageuses par rapport aux autres car il n'y a pas besoin d'ajouter des réactifs à la solution. C'est donc très utile pour produire des métaux colloïdaux purs et non contaminés[9].

I.4.2 Méthodes chimiques

Les AgNPs peuvent être synthétisées par réduction chimique, technique électrochimique, irradiation assistée par méthode chimique ou encore par pyrolyse, etc.

La réduction chimique est la méthode la plus utilisée pour synthétiser les nanoparticules d'argent, avec en particulier la méthode de Lee-Meisel, qui consiste à produire des nanoparticules d'argent par réduction du nitrate d'argent (AgNO_3) par le tétraborohydure de Sodium (NaBH_4). Les particules présentent une distribution en taille très

fine et voisine de 10nm, idéale pour la catalyse mais inutilisable en optique (50-100 nm). La suspension obtenue est stable dans l'eau ou l'alcool sans nécessiter l'ajout d'un ligand stabilisateur.

Il existe de nombreuses variantes de cette méthode, mettant en œuvre des sels d'argent et des agents réducteurs ainsi que des méthodes physico-chimiques : réduction à haute température, ablation laser de particules d'une cible métallique, condensation d'une phase de vapeur, photoréduction d'Ag⁺, électrolyse d'une solution de sels d'Ag, réduction d'une solution sursaturée de Ag₂O à 70°C par du H₂[27].

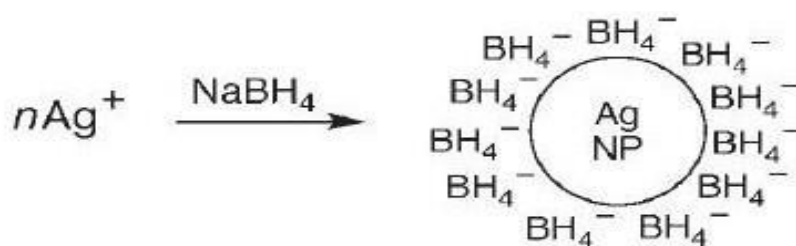


Figure I.4: Illustration de la méthode de Lee-Meisel [28].

En ce qui concerne la méthode de réduction chimique en général, trois composants principaux sont utilisés :

- Agents de réduction organiques et inorganiques (hydrogène, borohydride, citrate, acide ascorbique, composés d'hydrazine, polyols, réactifs de tollens, N,N-diméthylformamide, polymères de polyéthylène glycol). Ces agents conduisent à la réduction des ions argent (Ag⁺) en argent métallique (Ag⁰) suivi d'une agglomération en clusters oligomériques dans des solutions aqueuses ou non aqueuses. Au final, ces clusters forment des nanoparticules d'argent sous forme colloïdale. Le borohydride est beaucoup utilisé pour ces réductions du fait de ses grandes et rapides propriétés réductrices en plus de sa capacité à agir comme un stabilisateur pour empêcher l'agrégation des AgNPs pendant la réaction.

- Stabilisateurs (PVP, PEG, poly (N-isopropylacrylamide), poly (méthyleméthacrylate), poly (acide méthacrylique) et le collagène). Parmi ces agents stabilisateurs, on trouve les alcools, thiols, amines, groupes acides fonctionnels et des surfactants qui protègent les nanoparticules de la sédimentation et les empêchent de perdre leur propriété de surface. Le nitrate d'argent (AgNO₃) est le sel d'argent le plus utilisé pour la

préparation de nanoparticules d'argent car il est le plus stable chimiquement, facilement trouvable et peu cher.

- Métaux précurseurs ou sels d'argent.

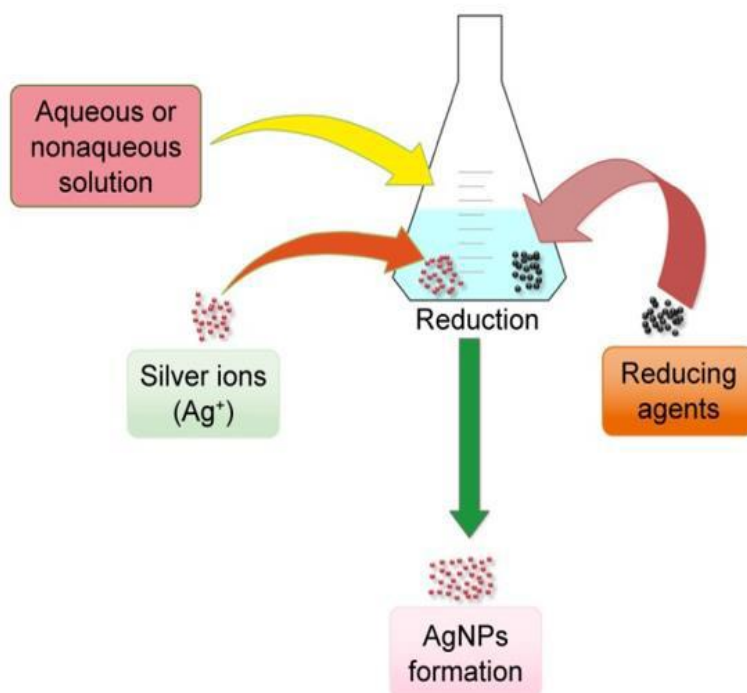


Figure I.5: Schéma de la synthèse biochimique des nanoparticules d'argent [28].

Similairement à la méthode de réduction, les nanoparticules d'argent peuvent être synthétisées par une méthode électrochimique. Avec cette approche, des nanoparticules d'argent de petite taille de forme sphérique peuvent être produites. De plus, en utilisant des cristaux de zéolite, la formation de nano sphéroïdes d'argent (1-18 nm) peut être obtenue par réduction électrochimique. L'irradiation est aussi une méthode pour former des nanoparticules d'argent. On utilise ici une irradiation au laser d'un surfactant et d'une solution aqueuse de sel d'argent. Ainsi, Sudeep et Kamat ont pu prouver qu'il était possible de produire des AgNPs dans une solution d'éthanol/toluène [29].

Des recherches sont cependant encore nécessaires pour déterminer la toxicité *in vitro* et *in vivo* des méthodes chimiques utilisées pour fabriquer des nanoparticules d'argent.

I.4.3 Méthodes biologiques

Les techniques biologiques de création de nanoparticules d'argent ont de grands avantages par rapports aux méthodes chimiques et physiques. Les AgNPs produits par méthode biologiques sont «eco-friendly » car aucun réducteur toxique ou d'agent stabilisateurs ne sont utilisés pour la synthèse de ces nanoparticules. Dans cette technique, les agents de réduction ou de stabilisation peuvent être substituées par des biomolécules essentielles comme les protéines, les carbohydrates qui sont produites par des microbes, incluant les bactéries, les champignons, les plantes, les algues, etc.

Les bactéries montraient une capacité remarquable à survivre dans un environnement extrêmement riche en nanoparticules d'argent, ce qui peut être l'explication de l'accumulation de ces nanoparticules d'argent. Les AgNPs ont été synthétisées en utilisant à la fois des bactéries gram-positives et gram-négatives incluant la bactérie résistante aux AgNPs, pour former ces nanoparticules d'argent. Il faut savoir que certaines bactéries ont la capacité de produire des nanoparticules intracellulaires tandis que d'autres produisent des AgNPs extracellulaire. Cependant, certaines bactéries comme Lactobacilles ont la capacité de former des nanoparticules intracellulaire ou extracellulaire [30].

Les champignons ont un potentiel de synthèse de NPs métalliques en raison de la capacité de bioaccumulation des métaux et de leur tolérance, de leur capacité de liaison élevée et de leur absorption intracellulaire qui sont faciles à manipuler dans une installation de recherche par rapport aux bactéries, aussi ils sécrètent d'énormes enzymes catalysant la réduction de la solution d'AgNO₃ ce qui tend à augmenter considérablement la rentabilité de cette approche synthétique [31].

La production de nanoparticules d'argent par les plantes est l'une des plus rentable et à grande valeur ajoutée. Le rendement et la taille des nanoparticules varie en fonction de l'espèce de la plante. les plantes sont considérées comme une très bonne option pour la synthèse rapide des nanoparticules d'argent en raison de leur large spectre de métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les acides aminés, les protéines et les enzymes, qui pourraient améliorer la synthèse des nanoparticules en jouant un rôle d'agent stabilisant ou réducteur[29].

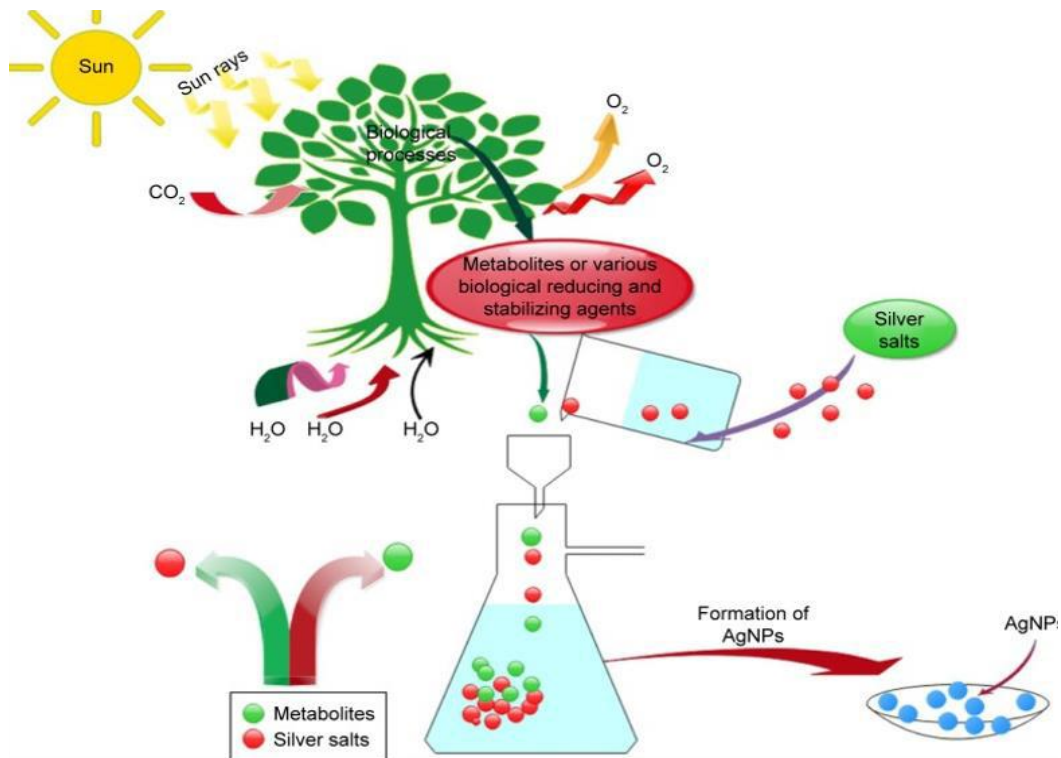


Figure I.6: Synthèse biologique des nanoparticules d'argent [28].

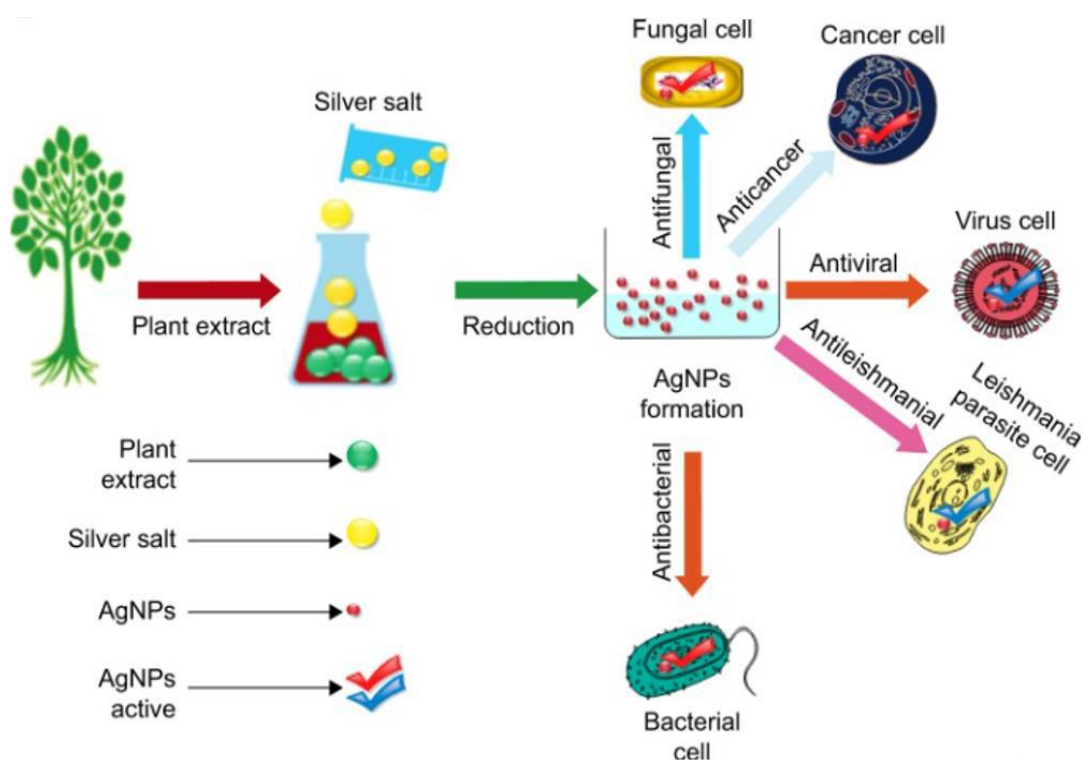


Figure I.7: Les effets antibactériens et antimicrobiens des nanoparticules d'argent obtenues par synthèse biologique [28].

I.5 Applications des nanoparticules d'argent

I.5.1 Activité antibactérienne

L'activité biocide des AgNPs dépend de plusieurs caractéristiques morphologiques et physicochimiques (par exemple, taille, forme et surface) les AgNPs de plus petite taille sont plus susceptibles de traverser la membrane cellulaire et d'entrer dans la cellule, la concentration d'AgNPs qui empêche la croissance bactérienne est différente pour chaque type de bactérie.

De plus, les bactéries cibles varient considérablement dans leur génétique et par conséquent dans la structure de leur paroi cellulaire, leurs voies métaboliques essentielles et dans de nombreux composants qui, une fois perturbés, pourraient être entrainer une mortalité des micro-organismes. En outre, l'état physiologique de la bactérie, c'est-à-dire la forme planctonique, le biofilm, le taux de croissance, peut grandement contribuer à la sensibilité des bactéries au NPs [32,33]. Dans certains cas, le rapport entre les bactéries et les NPs est essentiel à la toxicité de ces dernières. En outre, de nombreux facteurs environnementaux jouent un rôle et ont une incidence sur la létalité des NPs sur les bactéries, notamment le pH et la température. Les propriétés physicochimiques des particules, notamment leur taille, leur forme, et leur mélange dans divers rapports avec d'autres nanoparticules et solvant utilisés, affectent grandement leur activité antibactérienne [34].

Le mécanisme létal des nanoparticules métalliques est toujours en discussion, mais trois mécanismes principaux sont supposés, à savoir ; premièrement, la formation d'espèces oxydantes réactives (ROS), deuxièmement, le processus de libération des ions, et, enfin, l'interaction des NP avec la membrane cellulaire. Les NP métalliques comparés à leurs sels ont un potentiel accru de lutte contre les infections bactériennes [35,36]. La taille des NPs influence principalement le mécanisme antibactérien [37,38].

La première étape du mécanisme antibactérien est constituée par les ions métalliques de la gamme nanométrique qui parviennent à la cellule via une protéine transmembranaire. Après fixation aux cellules bactériennes, on constate la production de changements structurels dans la membrane cellulaire et un blocage des canaux de transport, le processus entier dépend de la taille. Les petites NPs sont plus efficaces, tandis que les NPs plus grandes ont une surface absolue supérieure permettant une meilleure propriété d'adhérence des forces

de Van der Waals. Ensuite, les NPs peuvent être internalisées, produire une ionisation à l'intérieur de la cellule et endommager les structures intracellulaires, entraînant la mort cellulaire [39].

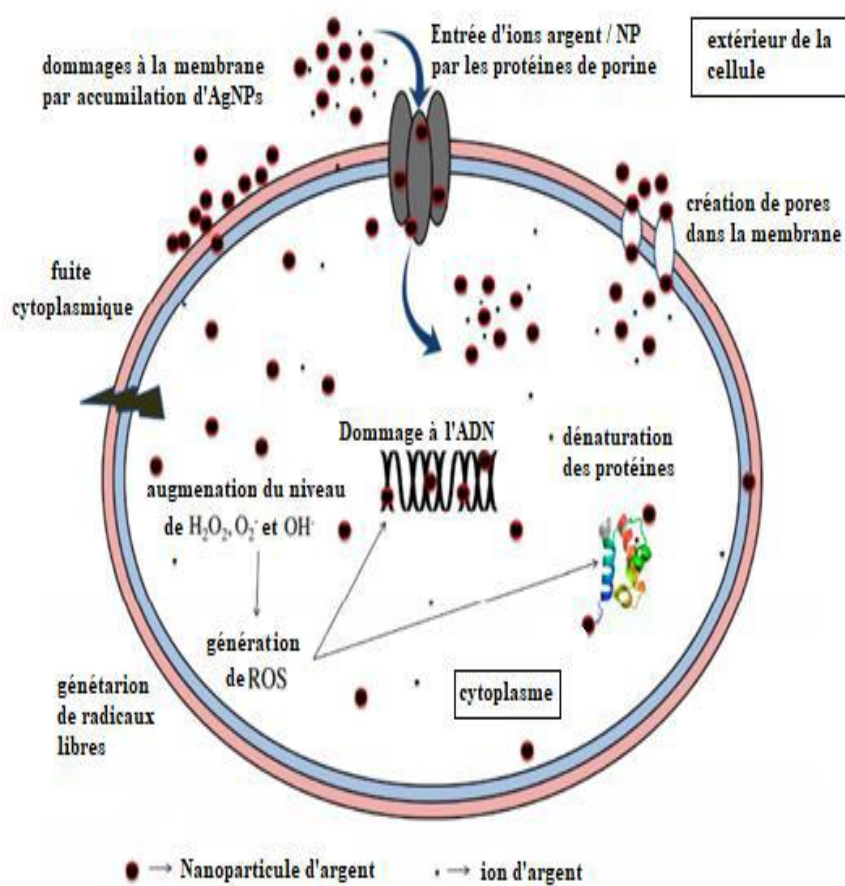


Figure I.8: Mécanismes bactéricides des AgNPs due à leur contact direct avec la cellule bactérienne et de la libération d'ions argent [47].

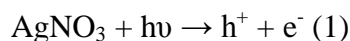
La production d'espèces oxydantes réactives (ROS) par les NPs métalliques joue un rôle important dans leur efficacité antibactérienne. Les ROS sont constitués d'oxydants à vie courte, tels que les radicaux superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les radicaux hydroxyles (OH^\cdot) et l'oxygène singulet (O_2^\cdot) [40,41]. En raison de la haute réactivité de ces espèces, les ROS peuvent endommager le peptidoglycane et les membranes cellulaires, l'ADN, l'ARNm, les ribosomes et les protéines [42]. Les ROS peuvent également inhiber la transcription, la traduction, l'activité enzymatique et la chaîne de transport d'électrons. Certains NPs d'oxydes métalliques reposent sur la génération de ROS en tant que mécanisme principal de toxicité [43,44].

Les atomes de métaux ont tendance à se lier au groupe thiol des enzymes et à désactiver ensuite la fonction des enzymes. Il est également suggéré que des ions métalliques se fixent entre les paires de bases pyrimidine et purine, perturbant ainsi la liaison de l'hydrogène entre deux brins antiparallèles et détruisant la molécule d'ADN. Bien que cela doive être approfondi, il est constaté que les ions métalliques ont tendance à se fixer à l'ADN, une fois qu'ils pénètrent dans la cellule [45,46].

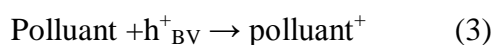
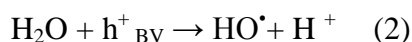
I.5.2 Photocatalyse

La photocatalyse est utilisée en général pour la purification de l'air et le traitement de l'eau. Elle est aussi utilisée dans la décoloration d'effluents aqueux colorés (industries textiles), l'élimination des odeurs et le revêtement autonettoyant de surfaces (verre, métaux, bétons). Elle est aussi appliquée dans le domaine médical pour lutter contre les cellules infectées. La photocatalyse repose sur un processus électronique qui se produit à la surface d'un catalyseur (une substance qui augmente la vitesse d'une réaction chimique)[48].

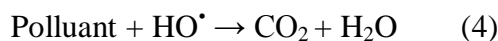
Le principe de la photocatalyse est basé sur la génération de photoélectrons (e^-) dans la bande de conduction et de trous (h^+) dans la bande de valence du semi-conducteur après exposition à la lumière de longueur d'onde supérieure ou égale à l'énergie de la bande interdite. Elle repose sur un processus électronique qui se produit à la surface d'un catalyseur, Les charges e^-/h^+ migrent à la surface du semi-conducteur où elles servent de site redox pour la destruction de polluants adsorbés. Les principales réactions qui ont lieu sont les suivantes : Lorsque le photocatalyseur est soumis à un rayonnement de photons d'énergie au moins égale à celle de la bande interdite, un électron peut passer de la bande de valence à une orbitale vacante de la bande de conduction[48].



Les trous réagissent avec l'eau et les polluants organiques adsorbés à la surface de semi-conducteur, suivant les réactions :



Les radicaux hydroxyles formés participent également à la dégradation des polluants :



Chapitre II. Dispositifs et techniques expérimentales

Ce chapitre est consacré à la description des différents matériaux et produits biologique expérimentales utilisés, détaillent les méthodes et techniques expérimentales employés tout au long de ce travail. La partie expérimentale se compose de trois ensembles, le premier représente l'utilisation du procédé biologique à base des bactérie lactiques comme méthode de synthèse verte Dans un premier lieu, nous avons élaboré une méthode de synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent des bactéries lactiques. La deuxième partie de notre travail est consacrée à l'application des AgNPs dans la dégradation des polluants organiques.

II.1 Objectif

L'objectif essentiel de notre travail a consisté à biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) stables en conditions physiologiques et applications des NPs en photocatalyse (Dégradation des polluant organique) et leurs activités antibactériennes.

II.2 Synthèse des nanoparticules d'argent

II.2.1 Préparation de milieu de culture (BN)

Le Bouillon Nutritif a la même formulation que l'agar nutritif, seul l'agar a été omis (qui provoque la solidification du milieu dans la température ambiante). Il est constitué d'un mélange de Tryptone et d'extrait de viande qui contribue à la croissance des microorganismes. Le chlorure de sodium est destiné au maintien de la pression osmotique. Pour préparer le milieu BN, nous dessous 08 g du bouillon nutritif (BN) dans 100 ml d'eau distillée sous agitation jusqu'à l'ébullition et la dissolution. Le milieu BN est stérilisé par la suite 1 h/120°C à l'autoclave. A la fin, le milieu est placé au frais à 5°C pendant 24h.

Tableau II.1: Composition de BN pour 1 litre de milieu.

Composition	Masse
Peptones	10,0 g
Hydrolysate de caséine	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g

II.2.2 Préparation du surnageant de la souche

Pour la synthèse des nanoparticules d'argent, la souche bactérienne lactique *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* a été ensemencée la souche bactérie lactique par repiquage de surface dans bouillon nutritif (BN) stérile préparé incubé la solution 24 h à 30°C. La croissance bactérienne dans le bouillon nutritif est mise en évidence par l'obtention d'une turbidité résultant de la multiplication microbienne. Pour la récupération du surnageant le milieu obtenu a subi une centrifugation à 4000 tr/min à 5°C pendant à 20 minutes pour séparer le surnageant du culot.

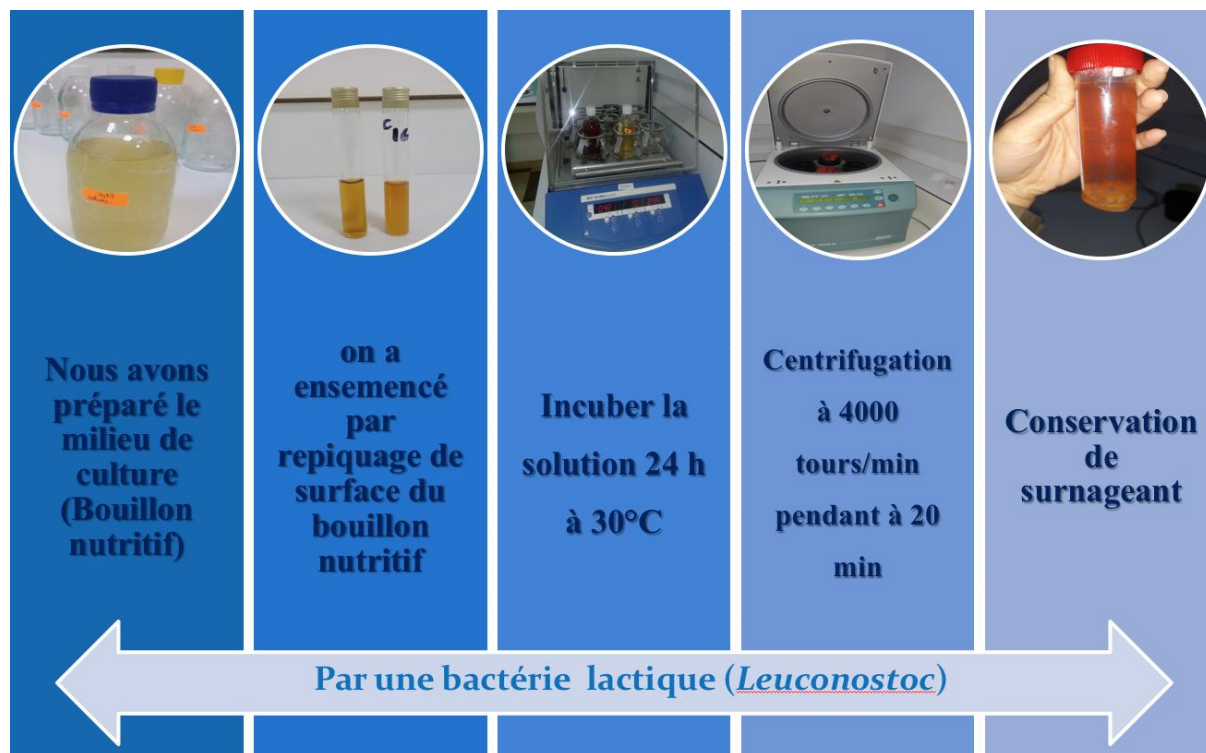


Figure II.1: Étapes de préparation du surnageant de la souche

II.2.3 Réduction des ions d'argent

Le surnageant récupéré est utilisé pour la réduction des Ag^+ . Pour cela on prépare une solution d' AgNO_3 à une concentration de 2 mM dissous dans l'eau distillée. Cette solution est mélangée avec le surnageant avec un rapport v/v 50/50. Le mélange obtenu est incubé sous

agitation(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. Afin de récupérer les AgNPs le mélange est centrifugé à 9000 tr/min pendant 6 min. Par la suite, les AgNPs sont été lavé plusieurs fois avec l'eau distillée jusqu'à ce que la solution devienne claire. A chaque fois, nous vidons la couche supérieure et nous gardons les particules d'argent déposées sur le fond. Après centrifugation, l'échantillon a été placé dans l'étuve pour séchage.

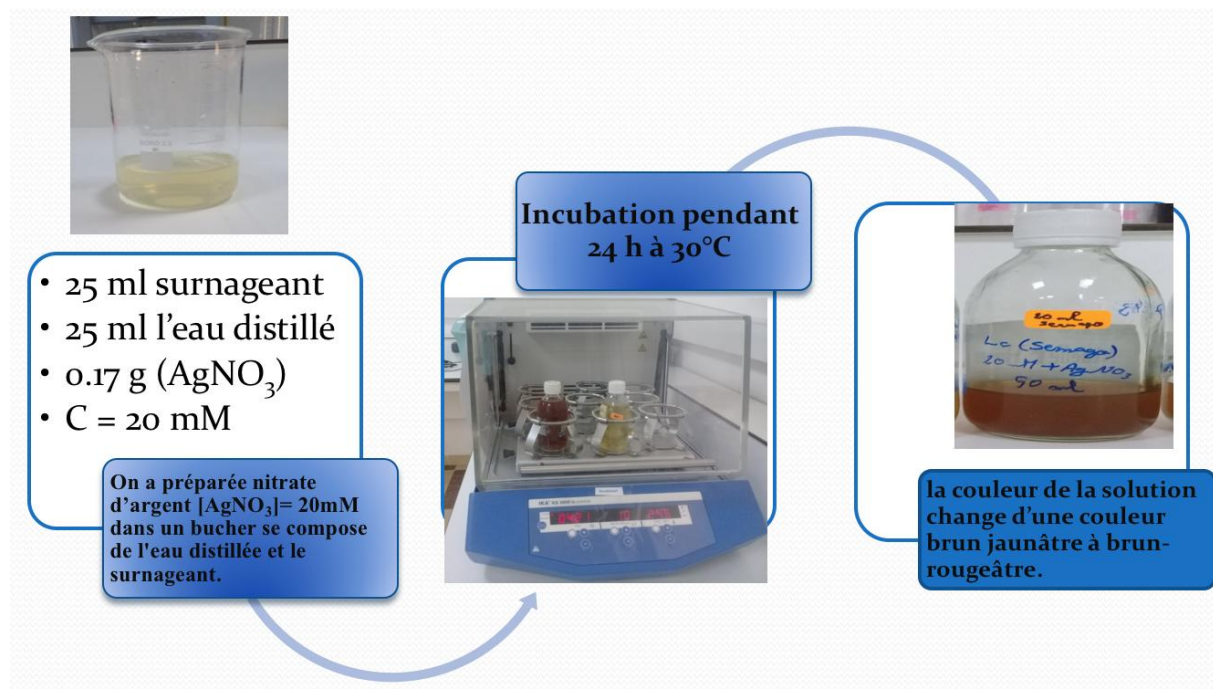


Figure II.2: Réduction des ions d'argent.

II.3 Optimisation des conditions opératoires

Dans cette étude, l'évaluation de plusieurs facteurs expérimentaux importants, y compris le pH, la concentration de solution d' Ag^+ , le temps, l'agitation et la lumière ont été étudié. Toutes les paramètres ont été contrôlées par un spectrophotomètre UV-visible.

II.3.1 Effet de pH

Le pH du milieu constitue le paramètre le plus important lors de la synthèse. Ceci car la réduction extracellulaire des ions d'argent dépend du pH du milieu. Ainsi, nous avons essayé de déterminer le pH optimal pour améliorer l'efficacité de ce procédé. Nous avons fait varier le pH de 2 à 10.

Les mesures du pH ont été effectuées avec un pH-mètre (HANNA pH 301) muni d'une électrode de verre combinée (HANNA Hi 1131B). L'étalonnage de l'appareil est réalisé avec des solutions tampons standards (pH= 4, 7 et 10).

II.3.2 Effet de concentration des ions d'argent

L'étude de l'effet de la concentration des AgNO_3 l'efficacité de ce procédé a été effectuée en faisant varier les concentrations de Ag^+ de 0,5 à 10 mM.

II.3.3 Effet de temps

Afin d'optimisation le mieux le temps réactionnel, trois différentes durées de temps à savoir 24h, 48h et 72h ont été utilisé pour la synthèse des AgNPs.

II.4 Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible est une technique très utilisée pour les substances organiques et minérales, elle repose sur la transition d'électrons de valence qui passent de l'état fondamental à l'état excité grâce à une onde électromagnétique. Il a été utilisé pour vérifier les AgNPs biosynthétisés. Outre l'analyse, identifier et caractériser de ces derniers. Il utilise une longueur d'onde comprise entre 200 et 800 nm et il est capable d'identifier des nanoparticules dont taille varie de 2 à 100 nm [50].



Figure II.3: Schéma de l'appareil spectrophotomètre ultraviolet (SP-UV 2300 II)

Le principe de la spectroscopie UV-Visible repose sur la transition d'un électron d'un état fondamental vers un état excité par excitation grâce à une interaction avec une onde électromagnétique. Le passage d'un état électronique à un autre état électronique d'énergie plus élevée nécessite l'absorption d'énergie sous forme de photons. Ce qui entraîne évidemment la diminution de l'intensité du rayonnement transmis par le milieu, diminution qui dépend du nombre de molécules traversées par le rayonnement. Ceci se traduit par une loi, dite de Beer-Lambert. Le principe du spectromètre UV/Visible consiste en une source munie de deux lampes qui permettent un continuum d'émission sur toute la gamme de longueur d'onde UV-Visible : Lampe au deutérium qui émet des longueurs d'ondes λ de 180 à 400 nm (UV). Lampe au tungstène qui émet des longueurs d'ondes λ de 400 à 800 nm (Visible). Un monochromateur (prisme, ou réseau ou les deux à la fois) permet de n'envoyer à travers la cuve qu'un faisceau monochromatique, il sert à sélectionner les longueurs d'ondes et donc de faire un balayage de la gamme en déplaçant ce monochromateur. Le faisceau de photons à la longueur d'onde λ sélectionnée traverse un miroir qui synchronise le mouvement du monochromateur, puis le faisceau traverse l'échantillon ou la référence, puis un amplificateur permet de comparer l'intensité en sortie par rapport à l'intensité d'émission.

II.5 Applications

II.5.1 Photocatalyse

La photocatalyse est un cas particulier de la catalyse hétérogène. Lorsque ce phénomène prend place, les substances chimiques au contact d'un semi-conducteur sont modifiées sous l'action d'une irradiation lumineuse. La photocatalyse consiste en l'accélération d'une réaction chimique grâce à l'absorption de photons par un semi-conducteur. Comme toutes réactions de catalyse hétérogène, les réactions photocatalytiques peuvent être décomposées en cinq étapes :

- Transfert des molécules de la phase liquide vers la surface à travers la couche limite.
- Adsorption en surface de photocatalyseur.
- Réaction de la molécule adsorbée.
- Désorption des produits de réaction.
- Transfert de produit de la couche limite vers la solution.

Globalement une réaction photocatalytiques peut être décrite comme réaction d'oxydoréduction catalysée par un matériau semi-conducteur excité, à la surface duquel sont adsorbés les réactifs.

Le polluant choisi pour cette procédée est le bleu de méthylène ($C_{16}H_{18}ClNS$) ou chlorure de méthylthioninium dont la formule est donnée sur la figure II.2

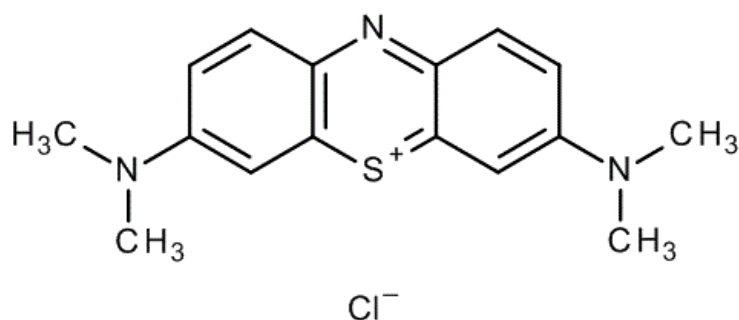


Figure II.4: Formule chimique du bleu de méthylène (BM).

C'est une dérive de phénothiazine, et est un colorant cationique, il existe comme une poudre vert foncé, il existe sous plusieurs formes hydratées : monohydraté, dihydraté, trihydraté et pentahydraté, le plus courant c'est le trihydraté. Il est couramment utilisé comme modèle de contaminant organique en raison de sa structure moléculaire stable. Dans la réaction de réduction, le BM se transforme en leuco méthylène incolore, due à la perte du double libre de l'azote et introduction d'un atome d'hydrogène.

Il est également largement utilisé comme molécule modèle de polluant car même si c'est une molécule peu dangereuse du point de vue environnemental, il présente une réactivité assez similaire aux polluants aromatiques du fait de sa structure. De plus, sa cinétique de dégradation est facile à suivre par spectroscopie UV-visible du fait de sa coloration bleue intense, ce qui nous permet de suivre la dégradation selon la décoloration de la solution.

La solution mère du BM de concentration 0.01 mM a été préparée. Les solutions standards pour le test photocatalytique, ont été obtenues par des dilutions successives jusqu' à la concentration désirée. Afin vérifier la loi de Beer-Lambert une courbe d'étalonnage a été enregistrée. Les résultats sont illustrés sur la figure III.3. Cette courbe est linéaire sur l'intervalle de concentration choisis, donc la loi de Beer-Lambert est vérifiée dans ce domaine de concentrations.

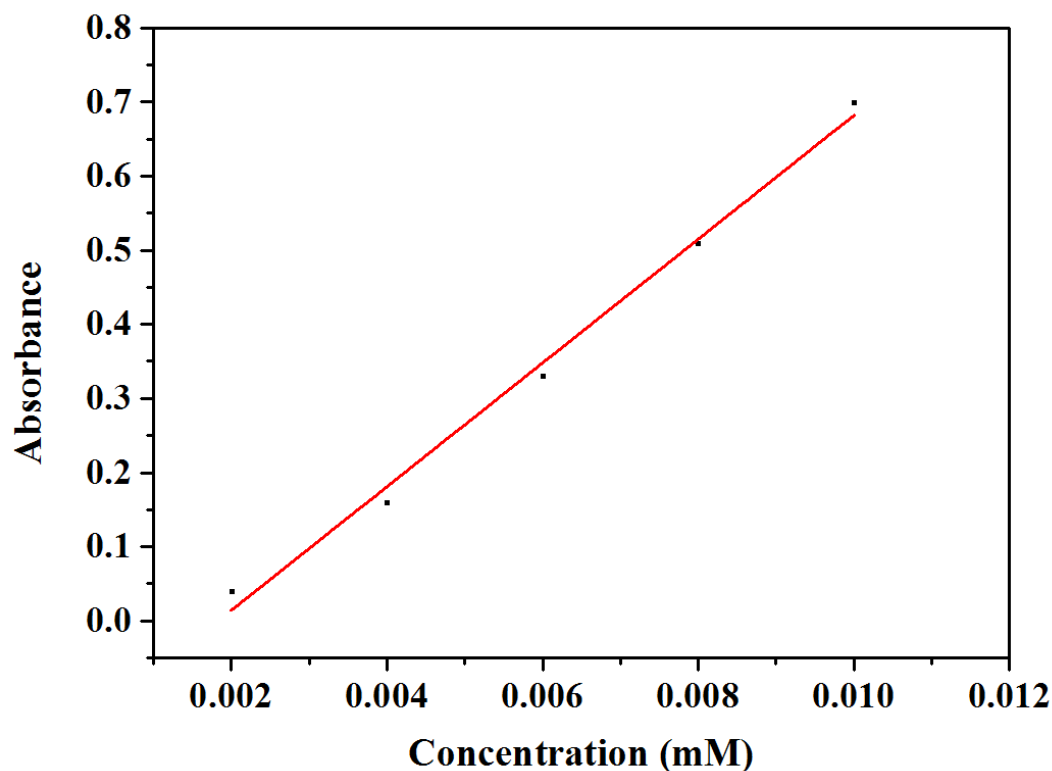


Figure II.5: Courbe d'étalonnage du BM.

Dans notre travail, les activités photocatalytiques ont été mesurées à température ambiante en utilisant une solution aqueuse de bleu de méthylène en tant que polluant organique. Les AgNPs été plongés dans la solution de bleu de méthylène. Les concentrations de réactif ont été déterminées par la Spectroscopie UV-Visible. Le pourcentage de dégradation du colorant a été estimé par la formule suivante :

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

C_0 est la concentration initiale de la solution de colorant et C est la concentration de la solution du colorant après dégradation photocatalytique.

II.5.2 Activité antibactérienne

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de notre produit est effectuée par la technique de diffusion sur disque. Dans cette technique le milieu utilisé est celui de Gélose Nutritive, qui une fois coulé dans des boîtes de Pétri (d'une épaisseur d'environ 4 mm), estensemencé avec des souches bactériennes. Des disques en papier wattman sont placés au centre de la boîte à pétri. A l'aide d'un tampon de coton-tige stérile qui a été trempé dans la suspension bactérienne préparée, la culture de bactérie est ré pondue sur la surface du milieu Gélose Nutritive. Un disque stérile de 3 mm a été soigneusement placé au centre de la plaque de gélose sans perturber le milieu environnant. Le disque a été rempli avec 15 μ l des AgNPs en suspension dans l'eau distillée. Ces échantillons sont préparés en diluant les nanoparticules synthétisées dans l'eau distillée. Par la suite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. L'identification de l'activité antibactérienne est effectuée via une lecture directe en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque après 24 heures d'incubation. Toutes les manipulations sont faites dans une zone stérilisée au voisinage du bec Bunsen. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérienne en milieu solide (Mueller-Hinton) dans des boîtes de pétrie, après un certain temps de contact entre le produit et les microorganismes cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. L'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticules d'argent a été faite sur des souches bactériennes :

- *Bacillus subtilis* ATCC 14531 : est une bactérie du sol, à Gram positif, mobile par des flagelles peritriches, aérobic, mais dans le cas de la présence de glucose et de nitrate, une croissance anaérobic peut se produire.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 : st une bactérie Gram-négative hétérotrophe, mobile, en forme de bâtonnet, d'environ 1 à 5 μ m de long et de 0.5 à 1.0 μ m de large. C'est un aérobic facultatif qui se développe via la respiration aérobic et la respiration anaérobic.

- *Escherichia coli* ATCC 25922 : une bactérie à Gram négative en forme de bâtonnet. Elle se trouve disposée seule ou en paires.
- *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 : un bâtonnet Gram-positif, facultativement anaérobie, non spore formant, catalase positive, cette bactérie est psychrotrophique et se développe sur une plage de température de 0 ° à 45 ° C, avec un optimum autour de 37 ° C.

Chapitre III. Résultats et Discussions

III.1 Biosynthèse des nanoparticules d'argent

Pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs), 25 ml de surnageant de la bactérie *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* a été ajouté à 25 ml de solution aqueuse d'AgNO₃, dont le volume final du mélange est de 50 mL. Après incubation de ce mélange pendant 24 h à 37°C la couleur change jaune clair vers brun-rougeâtre indiquant la formation de nanoparticules d'argent dans la solution comme le montre la figure III.1. La formation de nanoparticules d'argent peut être contrôlée à la fois par un changement visible de couleur et quantitativement par mesure des spectres UV-Vis.

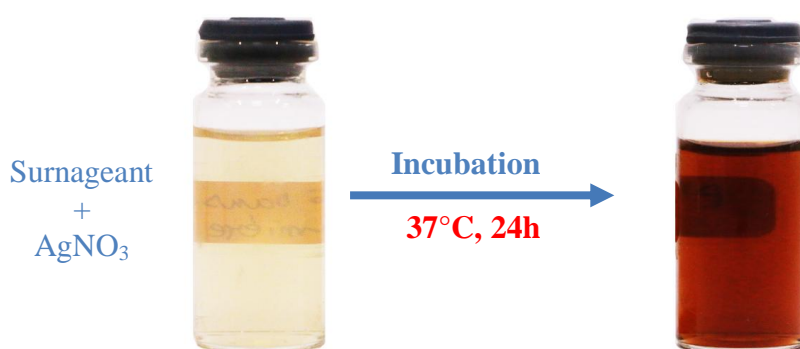


Figure III.1: Synthèse des nanoparticules d'argent(AgNPs).

Le changement de couleur est expliqué par la réduction des ions Ag⁺ en particules d'argent (Ag⁰) lors de l'exposition à la bactérie lactique. Le surnageant de la bactérie *Leuconostoc mesenteroides* agit comme agent réducteur pour la synthèse des AgNPs dû à la présence de quantités importantes d'enzymes spécifiques. Cette synthèse extracellulaire présente des avantages plus pratiques par rapport à la synthèse intracellulaire (en raison du nombre d'étapes de purification moins nombreux). La plupart des rapports publiés [53, 54] ont soutenu que la synthèse extracellulaire de nanoparticules est préférable car le processus est à faible débit et de purification plus faciles par rapport aux méthodes intracellulaires. Une enzyme couramment utilisée est la nitrate réductase, qui peut être responsable de la synthèse de nanoparticules, telles que les nanoparticules d'argent et d'or[55].

Sans oublier que divers facteurs, y compris la concentration de surnageant et d'Ag⁺, Le pH, la température et le temps d'exposition pourraient affecter la biosynthèse des AgNPs.

Après la synthèse extracellulaire des nanoparticules d'argent (AgNPs) par la bactérie lactique (*Leuconostoc mesenteroides*) selon la méthode décrite au chapitre II, des analyses UV-visible ont été effectués (figure III.2).

La vibration de Résonance Plasmonique de Surface (RPS) observée dans la plage de 400 à 500 nm et un pic maximal d'absorbance est enregistré autour 465 nm. La RPS est l'interaction du rayonnement électromagnétique et des électrons dans la bande de conduction[56].

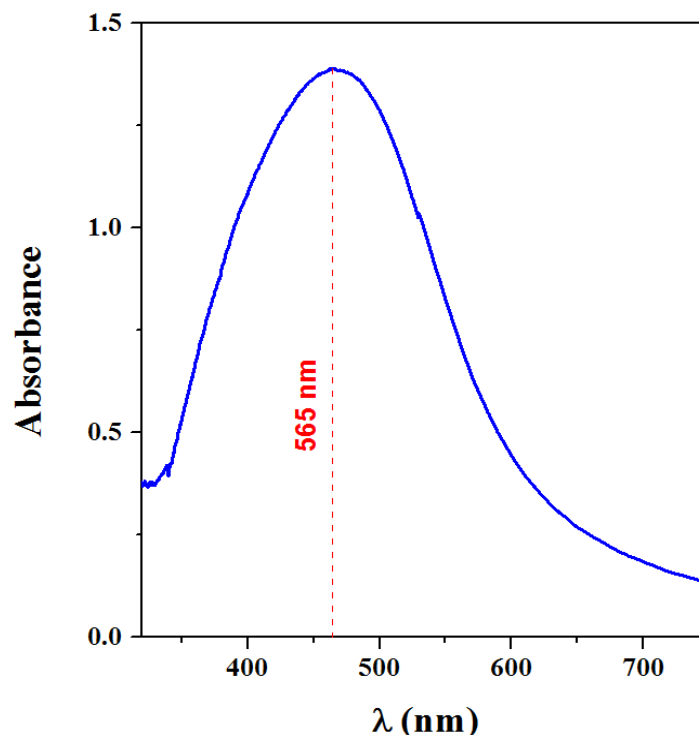


Figure III.2: Spectre UV-visible de l'absorbance des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisés par bactérie lactique (*Leuconostoc*) traitées à 37 °C pendant 24h.

III.2 Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent

III.2.1 Effet du temps sur AgNPs

Nous nous sommes, dans un premier temps, intéressés à l'effet du temps de la réaction sur la formation d'AgNPs, la réaction de synthèse est suivie par UV-vis en fonction de temps.

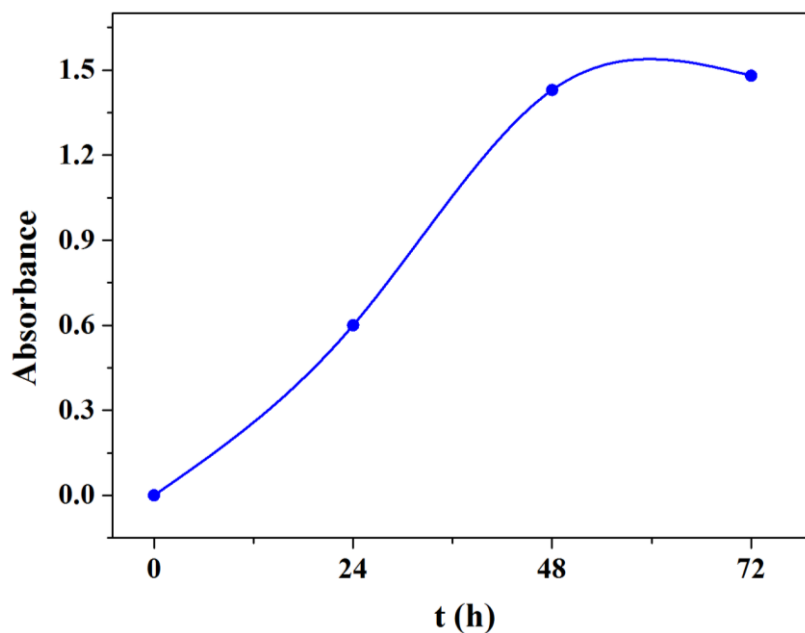


Figure III.3: Évolution de l'absorption à 465 nm des AgNPs avec le temps.

La figure III.3 représente l'évolution de l'absorption à $\lambda=465$ nm des AgNPs avec le temps. Les Spectres UV-vis obtenus montrent que le temps joue un rôle important dans la formation des NPs. En effet plus le temps augmente et plus l'absorbance est importante. On a observé que la couleur reste presque inchangée après 48 heures de réaction. Cela indique que le sel d'argent présent dans la réaction a été complètement consommé.

III.2.2 Effet de la concentration sur AgNPs

Afin d'étudier l'effet de la variation de la concentration d' AgNO_3 à la formation des AgNPs, différentes concentrations ont été ajoutées au surnageant : 0,5, 1, 2 et 10 mM.



Figure III.4: Effet de la concentration de AgNO_3 sur la formation des AgNPs.

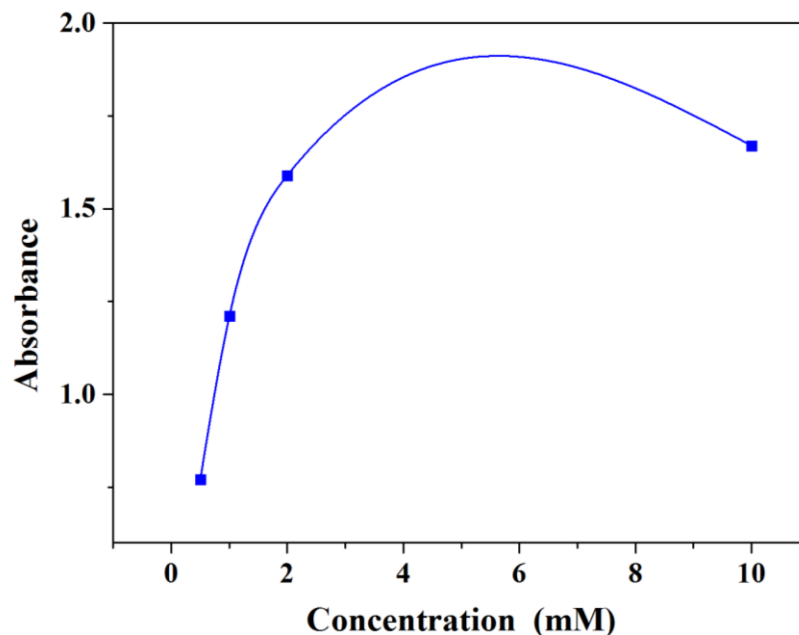


Figure III.5: Influence de la concentration sur la formation des AgNPs à 37°C pendant 48h.

La figure III.4 et la figure III.5 représente l'effet de la concentration sur la formation des AgNPs. Par conséquent, nous observons sur la figure III.4 que plus la concentration d'AgNO₃ est élevée, plus la couleur brun-rougeâtre est plus prononcée.

L'absorbance des AgNPs avec les diverses concentrations d'Ag⁺ montrent une augmentation de l'intensité de la bande d'absorbance en fonction de la concentration en AgNO₃. Il a été observé qu'une augmentation de la concentration d'AgNO₃ entraînait une augmentation progressive de l'absorption maximale entre 400 et 500 nm pour toutes les concentrations cela est dû à la propriété des nanoparticules d'Argent en raison de leur surface de glissement Gamme d'absorption de résonance[25].

La figure III.5 montre qu'une biosynthèse maximale de nanoparticules d'argent est obtenue pour une concentration de 10 mM d'AgNO₃ qui a été confirmée par un changement de couleur plus intense et un pic d'absorbance plus élevé par rapport aux autres concentrations.

III.2.3 Effet de l'agitation et de la lumière sur AgNPs

La figure III.6 est une image qui montre l'effet d'agitation de la réaction sur la formation d'AgNPs, la réaction de synthèse est suivie par des analyses UV-visibles.



Figure III.6: *Changement de couleur en fonction de l'agitation et sans agitation.*

On observe que le pic d'absorption des AgNPs élaborés sans agitation est presque similaire à celui avec agitation (figure III.7).

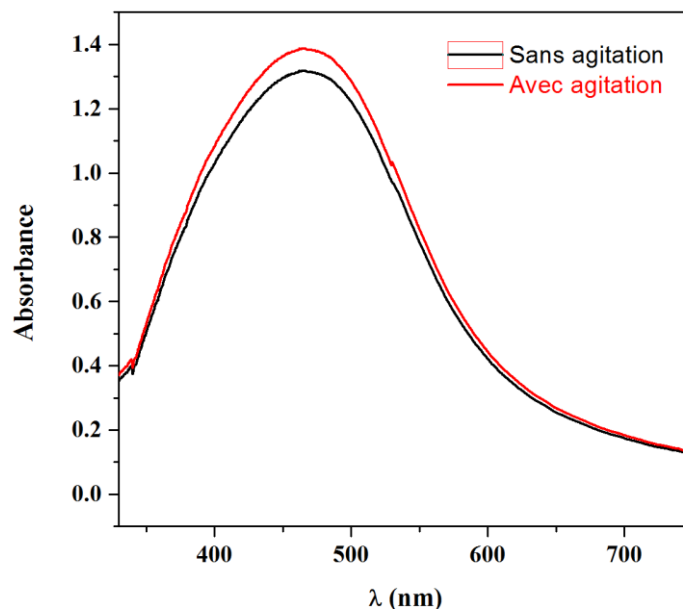


Figure III.7: *Influence d'agitation sur la formation des AgNPs à 30°C pendant 48h.*

La figure III.7 montre des spectres d'absorption UV-Vis de nanoparticules d'argent préparées avec et sans agitation. Les spectres d'absorption montrent que l'agitation n'a pas d'effet significatif sur la cinétique de la réaction de formation de AgNPs.

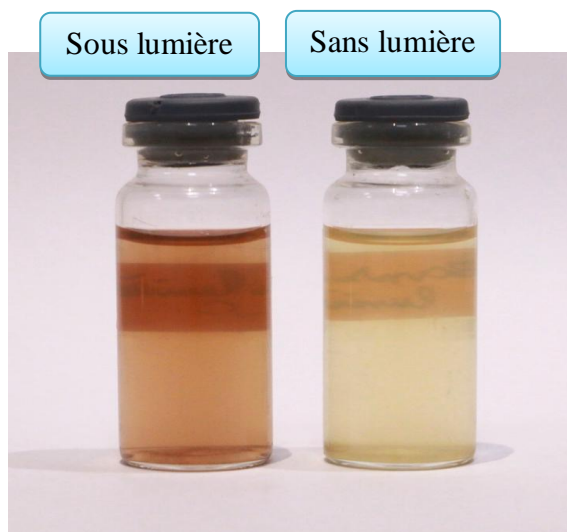


Figure III.8: *Changement de couleur en fonction de sous lumière et sans lumière.*

La figure III.9 décrit les changements d'absorbance avec l'irradiation lumineuse. On a bien observé le manque de pic d'absorbance lorsque la réaction de la biosynthèse est effectuée dans le noir. Ceci est aussi confirmé par le non changement de couleur après 48h d'incubation (figure III.8).

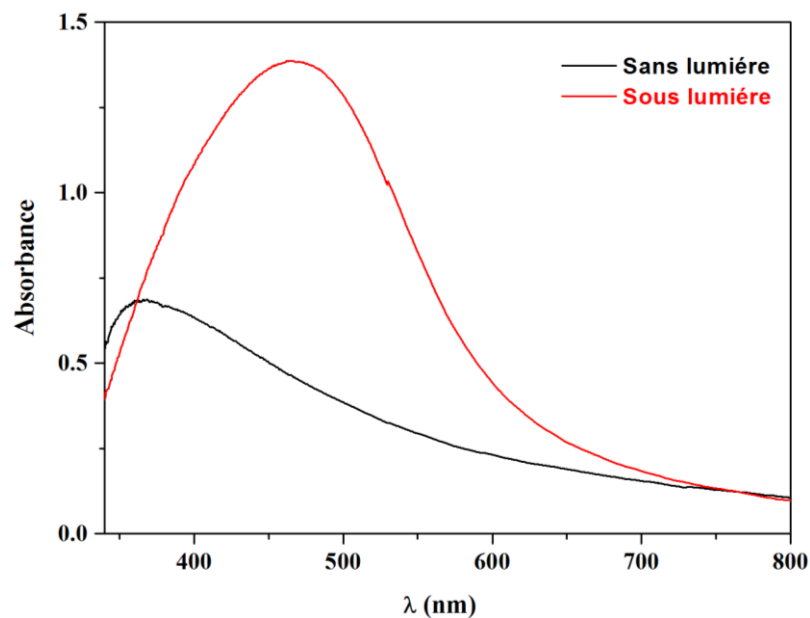


Figure III.9: *Influence de lumière sur la formation des AgNPs à 37°C pendant 48h.*

III.2.4 Effet du pH sur AgNPs

Dans cette partie nous nous sommes à l'influence du pH sur la réaction de réduction. Pour étudier l'effet du pH sur la synthèse (formation) d'AgNPs, une gamme de pH entre 2 et 10 a été réalisée par addition du NaOH ou HCl au mélange réactionnel. D'après la figure III.10 un

changement de couleur est observé pour les solutions réactionnelles basiques (pH= 6, 8 et 10). En revanche, pas de changement de couleur pour les milieux acides (pH= 2 et 4).

La figure III.11 montre que le pH a un effet remarquable sur l'absorbance et le changement de couleur. Le maximum d'absorbance mesuré à 465 nm augmente avec le pH pour atteindre une valeur maximale égale 1,45. Ceci indique que le pH basique favorise la formation des AgNPs.

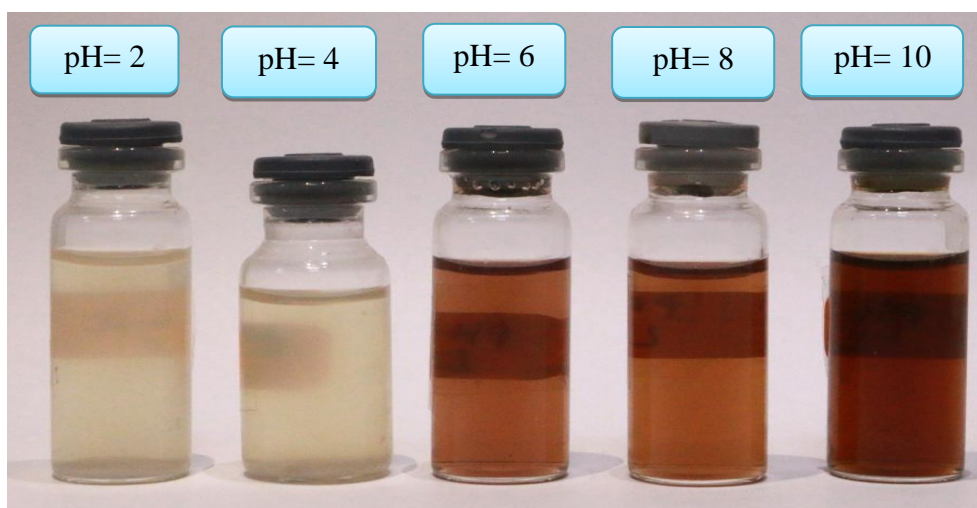


Figure III.10: *Changement de couleur en fonction du pH.*

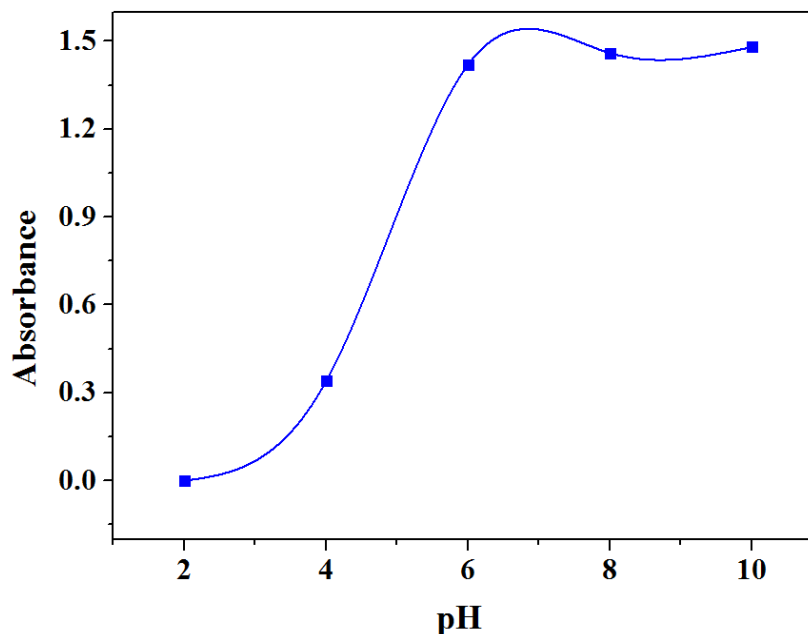


Figure III.11: *Influence du PH sur l'absorbance maximale à 465 nm des AgNPs après 48h d'incubation.*

Le changement de pH affecte la forme et la taille des particules, car le pH a la capacité de modifier la charge des biomolécules, ce qui peut affecter leur capsulage. La figure montre l'évolution de la bande maximale en fonction du pH de la solution. On remarque que l'intensité

d'absorption augmente avec diminuer du pH. Ceci indique que le pH basique favorise la formation des AgNPs.

III.3 Application des nanoparticules d'argents

III.3.1 La dégradation du bleu méthylène

Les AgNPs sont utilisées dans plusieurs domaines. Dans un premier temps, nous avons choisi dans notre travail d'utiliser les AgNPs synthétisés dans l'application en Photocatalyse pour dégrader le bleu méthylène (BM). Le protocole expérimental de ce travail consiste à évaluer la dégradation de BM sous illumination ambiante.

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'abords étudié les propriétés optiques du BM avant l'exposition à la lumière.

A partir de la figure III.12, 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.

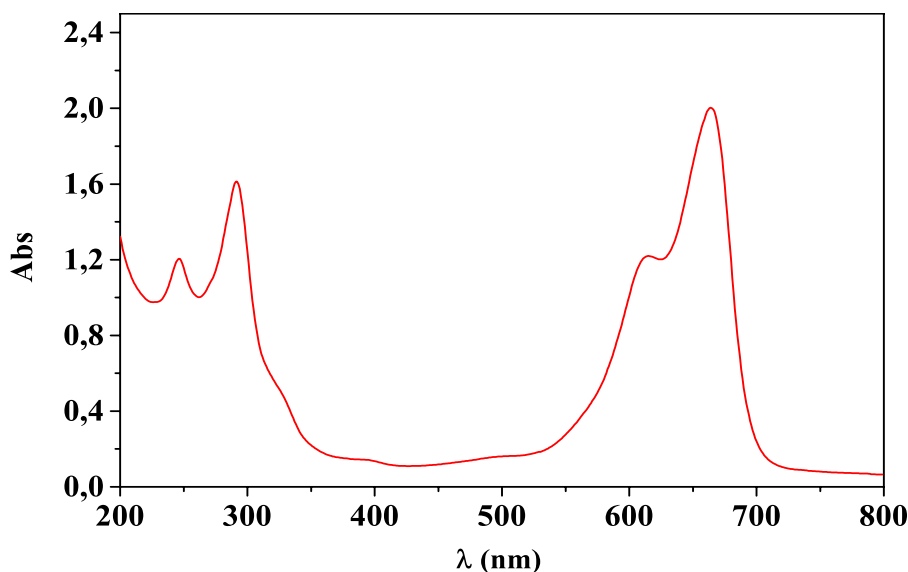


Figure III.12: Spectres d'absorption du Bleu de Méthylène (BM) avant la photodégradation (0,002 mM).

Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'intervalle entre 450 et 750 nm et nous avons choisi la valeur maximale 664 nm comme valeur de référence pour la durée de l'étude. L'ajout de 30 mg d'une solution d'AgNPs à 15 ml de solution de Bleu de Méthylène (0.01 mM) provoque la dégradation de ce dernier après 5 minutes de réaction (figure III.13). Les Spectres d'absorption de bleu de méthylène photodégradée sous lumière en fonction du temps en présence des AgNPs sont présentées dans la figure III.14. À $t=0$ h l'absorption de bleu de méthylène est 1,2. En fonction du temps, nous avons observé une diminution très rapide de l'absorbance et après 5 minutes l'absorbance était presque inexistante.

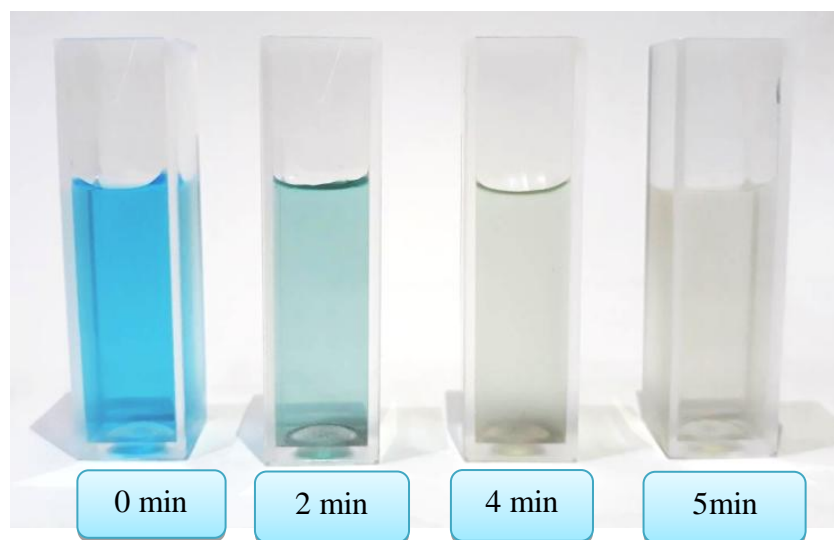


Figure III.13: Décoloration du bleu de méthylène en fonction du temps d'irradiation en présence des AgNPs.

Les résultats obtenus figures III.15 montrent que l'efficacité des AgNPs du bleu de méthylène augmente de 0 à 89% après 5 minutes d'exposition. En effet, l'augmentation graduelle du temps permet la production d'une quantité plus élevée des électrons nécessaires à l'oxydation du colorant. Le mécanisme de la photodégradation de BM est illustré dans la figure III.16.

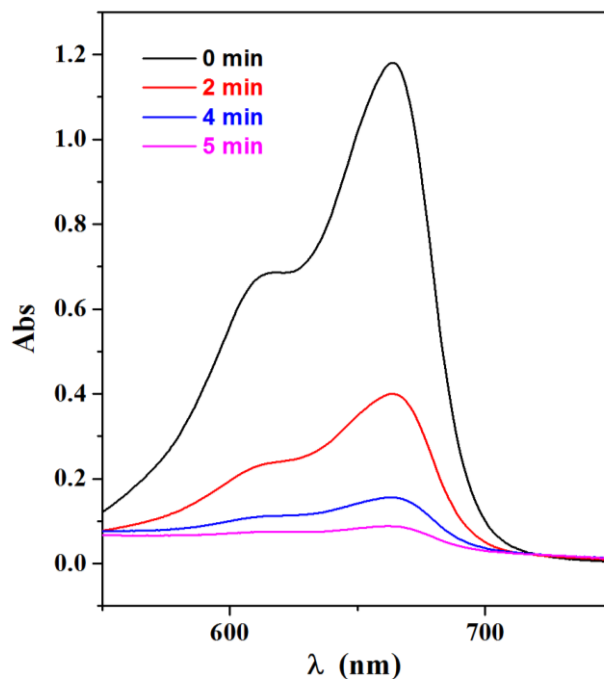


Figure III.14: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde du bleu de méthylène en présence des AgNPs.

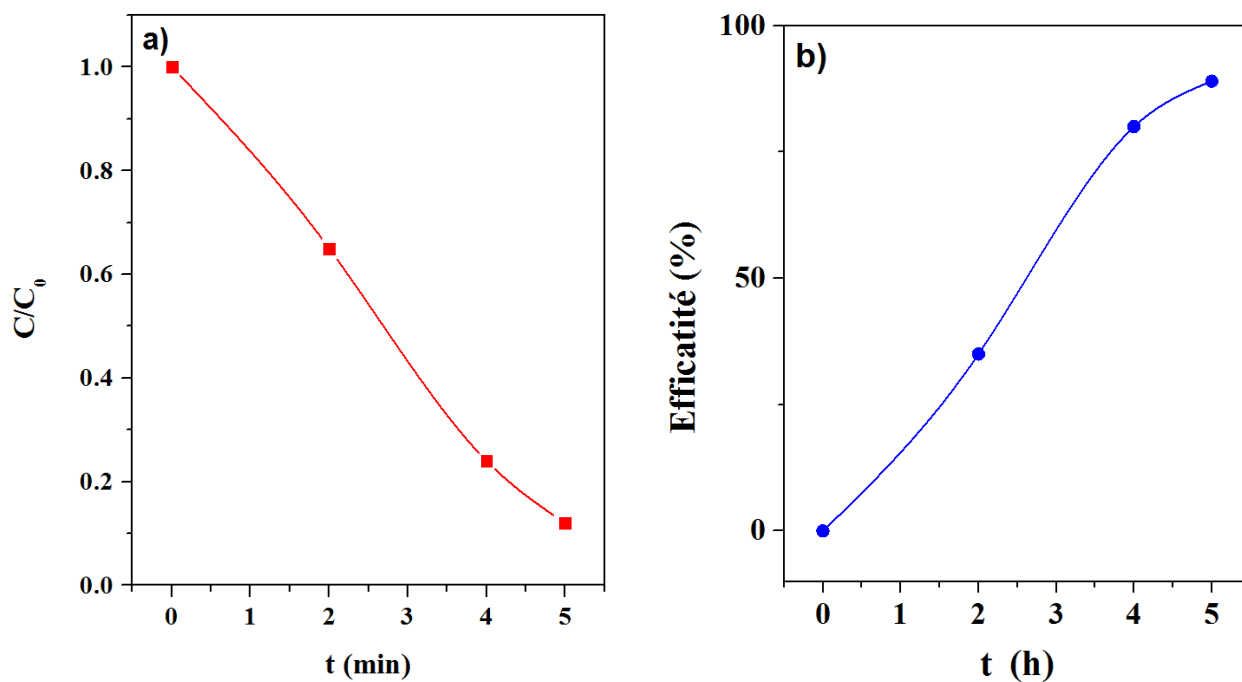


Figure III.15: La vitesse (a) et l'efficacité des AgNPs(b) sur la dégradation de BM sous une lumière ambiante.

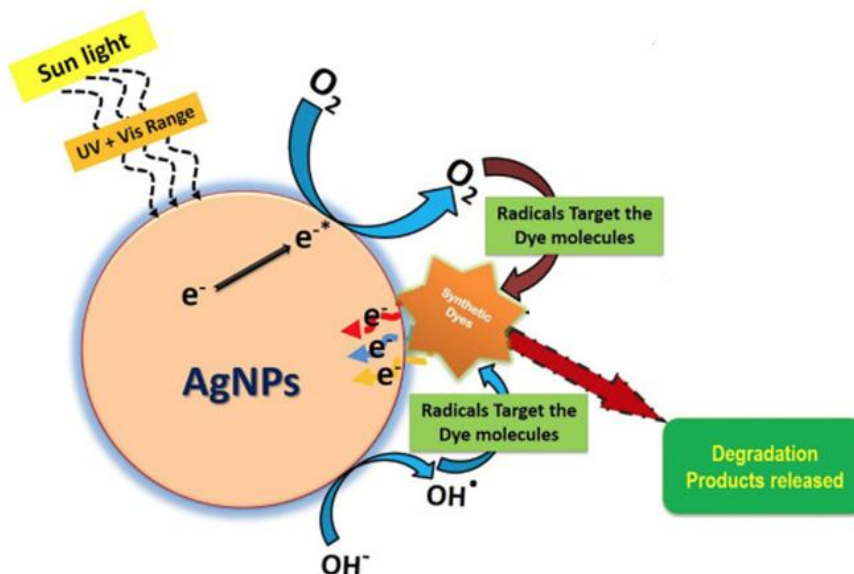


Figure III.16: principe de la photodégradation[57].

III.3.2 Activité antibactérienne

Nous allons exposer dans cette les résultats obtenus sur l'analyse de l'activité antibactérienne en couches minces des AgNPs biosynthèses. Les tests ont été effectués vis-à-vis de quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur disque : *Bacillus subtilis* ATCC 14531, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Listeria monocytogenes* ATCC 13932.

L'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent sont estimées par le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques (Méthode de diffusion sur gélose), exprimée en mm. La figure III.7 représente les résultats obtenus après 24 h d'incubation à 37°C.

Les zones d'inhibition (ZI) sont de 12,1 mm pour *E. coli*, 15,5 mm pour *P. aeruginosa*, 19,1 mm pour *B. subtilis* et 41,6 mm pour *L. monocytogenes*. Les résultats obtenus montrent que l'effet antibactérien des d'AgNPs biosynthétisés sur les bactéries avec un Gram positif est plus important que celui avec Gram négatif. L'activité antibactérienne des AgNPs dépend fortement de leurs tailles. Les particules de plus petite taille présentent une grande surface, ce qui entraîne une activité antibactérienne plus élevée[58].

Jusqu'à présent, le mécanisme exact de l'activité antibactérienne des AgNPs n'est pas encore connu. Cependant, certains auteurs soutiennent que les ions Ag^+ libérés par la surface des nanoparticules d'Ag sont responsables de leur activité antibactérienne pour les systèmes

solides[59]. Des études ont montré que les AgNPs pouvaient se combiner avec les membranes bactériennes et fermer les pores de la paroi cellulaire bactérienne en raison de leur charge électrostatique opposée qui conduit à la distraction des cellules bactériennes [60].

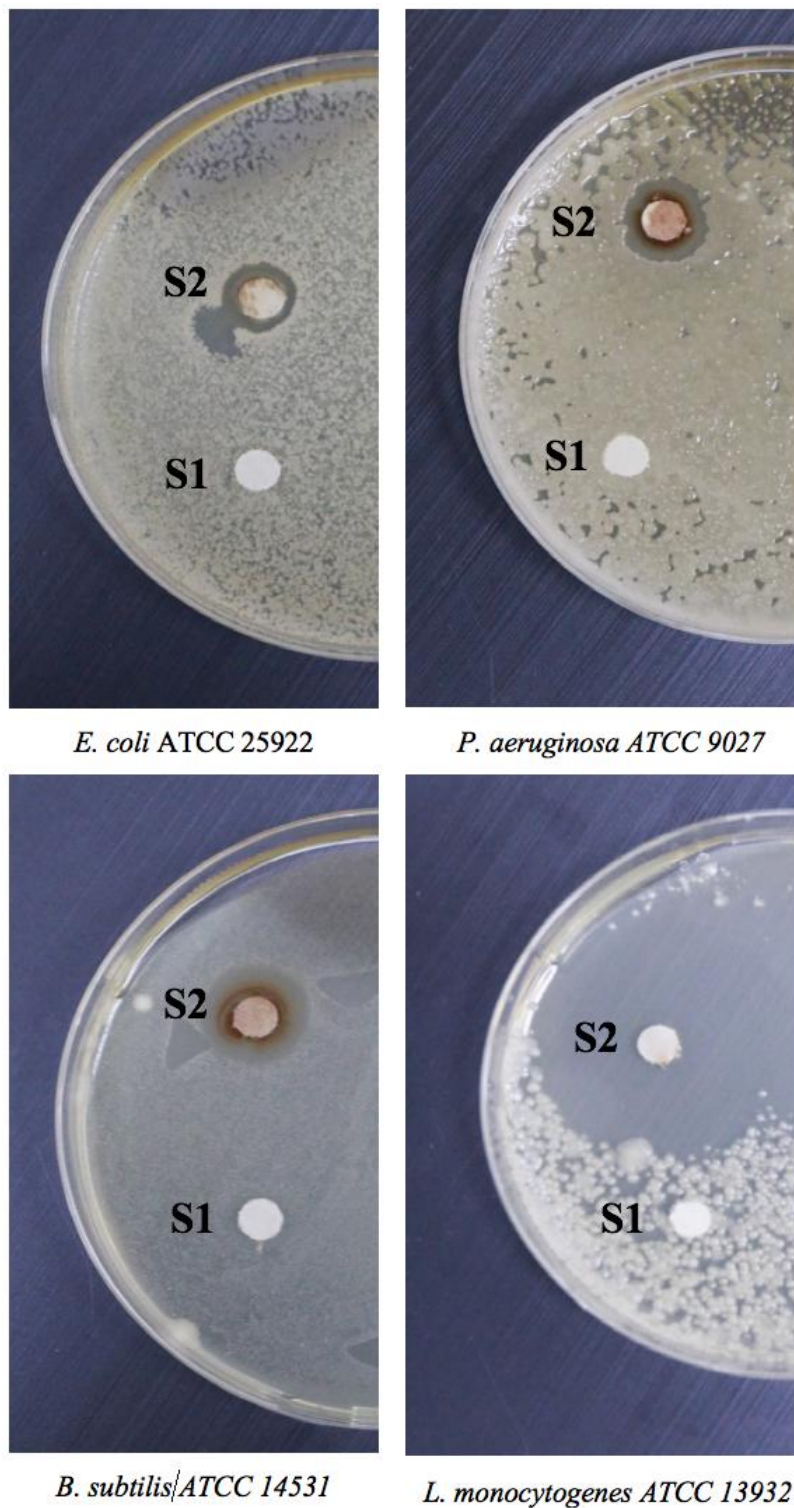


Figure III.17: Activité antibactérienne des AgNPs vis-à-vis les bactéries. S1 : Témoins (l'eau distillée) et S2 : l'eau distillé +AgNPs.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail est de proposer des voies de biosynthèse des nanoparticules métalliques d'argent (AgNPs) en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques. A cet effet, nous avons choisi une bactérie lactique (*Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*) afin de mettre en œuvre la fabrication de nanoparticules d'argent. Ainsi, dans ce travail nous avons synthétisé avec succès des AgNPs en utilisant le surnageant de culture d'une souche *Leuconostoc mesenteroides* (synthèse extracellulaire).

La cinétique de formation des nanoparticules d'argent a été surveillée par spectrophotométrie UV-visible. Un pic d'absorbance est enregistré autour 465 nm pour AgNPs biosynthétisées due à la vibration de Résonance Plasmonique de Surface (RPS).

L'étude des paramètres influençant sur la formation des nanoparticules nous a permis de conclure que la formation des AgNPs dépend fortement de la concentration des Ag^+ , la lumière, le pH et le temps. D'après les résultats obtenus, la concentration (10mM) et le pH basique (pH=10) favorisent la réduction des Ag^+ en Ag^0 . Par contre, la présence de la lumière durant la synthèse est nécessaire pour la formation des AgNPs.

La capacité photocatalytique des AgNPs a été démontrée par la dégradation d'un colorant (bleu de méthylène) sous une lumière ambiante. Une efficacité de dégradation de 95% a été obtenue après irradiation pendant 5 minutes en présence d'AgNPs. En effet, l'augmentation graduelle du temps permet la production d'une quantité plus élevée des électrons nécessaires à l'oxydation du colorant.

Par la suite, les nanoparticules synthétisées ont montré un effet bactéricide très efficace vis-à-vis quatre souches bactériennes : deux souches à Gram négatif (*E. coli*, et *P. aeruginosa*) et deux autres à Gram positif (*B. subtilis* et *L. monocytogenes*). Les nanoparticules d'argent synthétisées avec bactérie lactique ont donné des zones d'inhibition avec des diamètres respectivement de 12,1 mm, 15,5 mm, 19,1 mm et 41,6 mm pour *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *L. monocytogenes*.

Références

- [1] Ramsden Jeremy J. Nanotechnology Perceptions : what is nanotechnology? ,1ère éd, America, 1, 3–17, 2011.
- [2] Amandine Andrieux - Ledier. Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métalloorganiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques. Chimie théorique et/ou physique[Thèse de doctorat]. Français: Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012.
- [3] Kumar K.M, Sinha M, Mandal B.K, Ghosh A.R, Kumar K.S, Reddy P.S. Green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia chebula extract at room temperature and their antimicrobial studies. Journal Elsevier . 2012;91: 228-233.
- [4] Ider M. Elaboration et caractérisation des nanomatériaux à base de métaux nobles[Thèse de doctorat]. Français : Université du Maine, Français; 2017.
- [5] Zargar M , Abdul Hamid A, Abu Bakar F, Shamsudin M. N, Shameli K, Jahanshiri F , Farahani F. Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using Vitex negundo L. Molecules Journal of Malaysia . 2011;16(8) : 6667-76.
- [6] Sanghi R, Verma P. Biomimetic synthesis and characterisation of protein cappe dsil ver nanoparticles. Bioresour Technol Journal. 2009;100:501–4.
- [7] Noruzi M, Zare D, Khoshnevisan K, Davoodi D.Rapid green synthesis of gold nanoparticles using rosa hybrida petal extract at room. Spectrochim Journal .2011; 79:1461–5.
- [8] Chauvel Romain M . Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique [Thèse de doctorat].France: Université Claude Bernard – Lyon 1 , Faculté Pharmacie; 2018.
- [9] Francolon N. Elaboration et caractérisation de nanoparticules luminescentes par up conversion pour l'imagerie médicale.[Thèse de doctorat]. France: Université Blaise Pascal - Clermont Ferrand, Faculté sciences des matériaux ;2015.
- [10] Tedjani M, Tedjani M.L, Touati B.O. Synthèse de nanoparticules de ZnO par l'extrait des feuilles de Phoenix Dactylifera.L.[Mémoire de Master].Eloued: Université Eloued , Faculté De La Technologie ; 2018.
- [11] Guozhong C. Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications. Imperial College Press , 2004.
- [12] Singh R, Singh R. K . Review on Nano Materials of Carbon . IOSR Journal of Applied Physics (IOSR-JAP) e-ISSN.2017; 9: 2278-4861.
- [13] Guerricha M, Selmane S . la synthèse verte des nanoparticules métallique de cuivre CuO par l'extrait Moringa [Mémoire de Master].Eloued : Université El Oued, Faculté génie des procédés ; 2018.
- [14] Mulvaney P. Spectroscopie plasmonique de surface des particules metalliques nanometriques. Langmuir Journal of Américain.1996;12(3):788-800.

- [15] Xiaoda XU, CORTIE M.B. Shape change and color gamut in gold nanorods, dumbbells and dog-bones. *Advanced Functional Materials of Germany*.2006; 16(16):2170-2176.
- [16] Matsui I. Nanoparticules por les applications de dispositifs electroniques. A Brief Review. 2005; 38(18):535-546.
- [17] Swed A, Cordonnier T, Fleury F, Boury F. Encapsulation de proteines dans les nanoparticules de piga par une nouvelle methode de separation de phase en utilisant des solvants non-toxiques. *Journal Nanotechnologie nanomed*. 2014; 5: 241.
- [18] Higashisaka K , Kunieda A , Iwahara Y , Tanaka K, Nagano K. La neutrophilie due aux nanoparticules de silice induit la liberation d'ADN double brin. *Journal Nanotechnol nanomed*. 2014;5: 236.
- [19] S. K. V. Applications biomédicales et bioanalytiques basees sur les nanoparticules magnetiques. *Journal Nanomed Nanotechnol*.2013;4:130.
- [20] Abdeen S, Praseetha PK. Diagnostics et traitement des cancers metastatiques avec des nanoparticules magnetiques. *Journal Nanomedine Biotherapeutic Discov*. 2013; 3:115.
- [21] Messadia R. Elaboration et caractérisation des nanoparticules de ZnO par Co précipitation. Application à la photo dégradation de méthyle orange [Mémoire de Master].Annaba: Université Badji Mokhtar - Annaba , Faculté des sciences de l'ingeniora; 2018 .
- [22] Chebbi A, Cherief F. Biosynthèse de nanoparticules a base d'extrait de plantes et la caractérisation de leurs activités biologiques. [Mémoire de Master]. Béjaia: Université A. Mira–Béjaia ,Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie;2018.
- [23]Metiaz Hadj M, Boudiba A. Synthèse , Caractérisation des Nanoparticules d'argent a base d'extrait des Feuilles de Plantes et évaluation de leur activité antioxydante et antimicrobienne . [Mémoire de Master].Ghardaïa :Université de Ghardaïa , Faculté des Sciences et Technologies; 2020 .
- [24] Hemmerlin M. Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle :*Synechococcus elongatus* PCC 7942. [Mémoire de Master].France: Université de Lorraine ;2014.
- [25] Benmehiemda Y, Bensafi N. Synthèse verte des nanopaticules d'argent application a la dégradation du bleu de méthylène. [Mémoire de Master]. Ain-Temouchent: Université Belhadj Bouchaib D'Ain-Temouchent ,Institut des Sciences; 2018.
- [26] Djeghboub W. Nanoparticules d'or et d'argent déposées sur oxide de cerium synthétisées sous irradiation. [Mémoire de Magister].Constantine: Université Mentouri Constantine, Faculté Sciences Exactes ;2010.
- [27] Evanoff DD, Chumanov G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *a European journal of chemical physics and physical chemistry*.2005; 6(7):1221-1231.
- [28] Ullah Khan S, Saleh TA, Wahab A, Khan MHU, Khan D, Ullah Khan W, et al. Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. *Internathional Journal Nanomedicine*.2018; 13:733-762.

- [29] Adegboyega NF, Sharma VK, Siskova K, Zbořil R, Sohn M, Schultz BJ, et al. Interactions of Aqueous Ag⁺ with Fulvic Acids: Mechanisms of Silver Nanoparticle Formation and Investigation of Stability. *Environ Science Technol.* 2013; 47(2):757-764.
- [30] Saravanakumar K, Chelliah R, Shanmugam S, Varukattu NB, Oh D-H, Kathiresan K, et al. Green synthesis and characterization of biologically active nanosilver from seed extract of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Journal Photochemistry Photobiology B: Biology.* 2018;185:126-135.
- [31] Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist C-G. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proceedings of the National Academy Sciences.* 1999; 96(24): 13611-13614.
- [32] Huh A. J, Kwon Y. J. Nanoantibiotics: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release.* 2011;156(2):128-145.
- [33] Nath D, Banerjee P. Green nanotechnology—a new hope for medical biology. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2013;36(3):997-1014.
- [34] Gattoo M. A, Naseem S, Arfat M. Y, Dar A. M, Qasim K, Zubair S. Physicochemical properties of nanomaterials: implication in associated toxic manifestations. *BioMed Research International.* 2014.
- [35] Zhao L, Ashraf MA. Influence of silver-hydroxyapatite nanocomposite coating on biofilm formation of joint prosthesis and its mechanism. *The West Indian Medical Journal.* 2016; 64(3):506.
- [36] Leung YH, Ng AM, Xu X, et al. Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards *Escherichia coli*. *Small.* 2014; 10(6): 1171-1183.
- [37] Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Memic A. Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and -negative bacterial strains. *International Journal of nanomedicine.* 2012;7:3527.
- [38] Zakharova OV, Godymchuk AY, Gusev AA, Gulchenko SI, Vasyukova IA, Kuznetsov DV. Considerable variation of antibacterial activity of Cu nanoparticles suspensions depending on the storage time, dispersive medium, and particle sizes. *Biomed Research International.* 2015.
- [39] Huang Y-W, Wu C-H, Aronstam R.S. Toxicity of transition metal oxide nanoparticles: Recent insights from in vitro studies. *Materials.* 2010; 3(10):4842-4859.
- [40] Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006; 141(2):312-22.
- [41] Paravicini T.M, Touyz R.M. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care.* 2008; 31(2):170-180.
- [42] Wu H, Yin J.-J, Wamer W.G, Zeng M, Lo Y.M. Reactive oxygen species-related activities of nano-iron metal and nano-iron oxides. *Journal of Food and Drug Analysis.* 2014;22(1):86-94.

- [43] Hajipour M. J, Fromm K. M, Ashkarran A. A, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. 2012;30(10):499-511.
- [44] Huang Z, et al. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria *Langmuir*. 2008; 24(8): 4140-4144.
- [45] Kumar A, Pandey AK, Singh SS, Shanker R, Dhawan A. Engineered ZnO and TiO₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 51(10):1872-1881.
- [46] Holt KB, Bard AJ. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag⁺ *Biochemistry*. 2005; 44(39): 13214-13223.
- [47] Boumaraf R, Kemouguette S , Sellaoui KH. Biosynthèse des nanoparticules d'argent et applications. [Mémoire de Master]. Guelma: Université 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers; 2020.
- [48] Lazoul L. Synthèse et caractérisation des nanoparticules hybrides à base de ZnO (Application en Photocatalyse). [Mémoire de Master]. Tizi-Ouzou: Université Mouloud Mammer de Tizi-Ouzou , Faculté des Sciences; 2017.
- [49] Benyahia E. H. Caractérisation structurale et optique de couches minces formées par des agrégats des nanocristaux de ZnO. [Mémoire de Magister]. Constantine :Université Mentouri Constantine, Faculté des sciences exactes ; 2012.
- [50] Berrached S, Bellouati S. Elaboration et application des nanoparticules d'argent.[Mémoire de Magister]. Ain-Temouchent: Université Belhadj Bouchaïb D'Ain-Temouchent, Institut des Sciences ; 2020.
- [51] Ferjani. H. Synthèse , études structurales et caractérisations physico- chimiques de nouveaux matériaux hybrides organiques-inorganiques basés sur les chlorobismuthates(III). [Thèse de doctorat]. Islamic Saudi Arabia : université Imam Muhammad bin Saud Islamic Saudi Arabia; 2014.
- [52] Chlique Ch. Préparation et caractérisation de poudres et céramiques (oxy) sulfures pour applications en optique active et passive.[Thèse de doctorat].France:Université de Rennes1 Européenne de Bretagne;2011.
- [53] Singh, O. V. (Ed.). *Bio-nanoparticles: Biosynthesis and sustainable bio- technological implications*, 1^{ère} éd . John Wiley & Sons, 2015.
- [54] Banerjee K, Rai V. R. A review on mycosynthesis, mechanism, and characterization of silver and gold nanoparticles. *BioNanoScience*. 2018;8(1) :17–31.
- [55] Tsekhmistrenko S. I, Bityutskyy V. S, Tsekhmistrenko O. S, Horalskyi, L. P, Tymoshok N. O, Spivak M. Y. Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*. 2020;28(1):9-17.
- [56] Mahboub S, Zerrouki D , Henni A. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Juniperus communis* leaf extract: Catalytic activity in real-outdoor

conditions and electrochemical properties. *Applied Organometallic Chemistry*.2020;34(12) : e5956.

[57] Marimuthu S, Antonisamy A. J, Malayandi S, Rajendran K , Tsai P. C, Pugazhendhi A, Ponnusamy V. K. Silver nanoparticles in dye effluent treatment: A review on synthesis, treatment methods, mechanisms, photocatalytic degradation, toxic effects and mitigation of toxicity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*.2020;205:111823.

[58] Wu D, Fan W, Kische A, Gutmann J. L, & Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of endodontics*. 2014 ;40(2) : 285-290.

[59] Sharma V. K, Yngard R. A, Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*.2009 ;145(1-2):83-96.

[60] Espenti C. S, Rao K. K, Rao K. M. Bio-synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* leaf extract and evaluation of its antimicrobial potential. *Materials letters* 2016;174:129-133.

Résumé

En raison des propriétés physiques, biologiques et chimiques des nanoparticules (NPs), cette dernière décennie est marquée par une augmentation de leur production et de leur utilisation dans l'industrie et la recherche. L'objectif essentiel de notre travail a consisté à biosynthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs), stables en conditions physiologiques pour des applications en photocatalyse et antibactérienne. La stratégie adoptée est fondée sur l'utilisation du procédé biologique à base des bactéries lactiques (*Leuconostoc*) comme méthode de synthèse verte. Dans un premier lieu, nous avons élaboré une méthode de synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent des bactéries lactiques. Cette méthode biologique a de grand avantage en raison de leur synthèse non toxique. Les nanoparticules ont été surveillé par changement de couleur et caractérisées en utilisant la spectroscopie UV-Visible qui a révélé un pic d'absorption à λ_{\max} 430 nm. Nous avons aussi pu montrer qu'il est possible application des nanoparticules d'argent (AgNPs) dans la dégradation des polluants organiques (photocatalyse) et on a démontré leurs activités antibactériennes.

Mots clés : nanoparticules d'argent (AgNPs), bactérie lactique (*Leuconostoc*), Photocatalyse, activités antibactériennes.

Abstract

Due to the physical, biological and chemical properties of nanoparticles (NPs), the last decade has seen an increase in their production and use in industry and research. The main objective of our work was to synthesize silver nanoparticles (AgNPs), stable under physiological conditions for photocatalysis and antibacterial applications. The adopted strategy is based on the use of the biological process based on lactic acid bacteria (*Leuconostoc*) as a method of green synthesis. First, we developed a method of extracellular synthesis of silver nanoparticles from lactic acid bacteria. This biological method has great advantage due to their non-toxic synthesis. The nanoparticles were monitored by color change and characterized using UV-Visible spectroscopy which revealed an absorption peak at λ_{\max} = 430 nm. We also have could show that it is possible to apply silver nanoparticles (AgNPs) in the degradation of organic pollutants (photocatalysis) and their antibacterial activities.

Keywords: silver nanoparticles (AgNPs), lactic acid bacteria (*Leuconostoc*), Photocatalysis, antibacterial activities.

ملخص

نظراً للخصائص الفيزيائية والبيولوجية والكيميائية للجسيمات النانوية (NPs)، فقد شهد العقد الماضي زيادة في إنتاجها واستخدامها في الصناعة والبحث. كان الهدف الرئيسي لعملنا هو تصنيع جزيئات الفضة النانوية (AgNPs)، بحيث تكون مستقرة في ظل الظروف الفسيولوجية لتطبيقات التحفيز الضوئي والمضادة للبكتيريا. تعتمد الاستراتيجية المعتمدة على استخدام العملية البيولوجية القائمة على بكتيريا حمض اللاكتيك (*Leuconostoc*) كطريقة للتوليف الأخضر. أولاً، قمنا بتطوير طريقة للتخليق خارج الخلية لجسيمات الفضة النانوية من بكتيريا حمض اللاكتيك. تتميز هذه الطريقة البيولوجية بميزة كبيرة بسبب تركيبها غير السام. تمت مراقبة الجسيمات النانوية عن طريق تغيير اللون وتميزت باستخدام التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية المرئي الذي أظهر ذروة امتصاص عند λ 430 نانومتر كحد أقصى. وقد أظهرنا أيضاً أنه من الممكن تطبيقه جزيئات الفضة النانوية (AgNPs) في تحلل الملوثات العضوية (التحفيز الضوئي) وأنشطتها المضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: جزيئات الفضة النانوية (AgNPs)، بكتيريا حمض اللاكتيك (*Leuconostoc*)، التحفيز الضوئي، الأنشطة المضادة للبكتيريا.