

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA-BEJAIA

FACULTE DE TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES



Mémoire de fin d'Etudes

Présenté par

BENYESSAD Zahra & MOUICI Louiza

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

en Génie des Procédés

Option Génie Chimique

THEME

**Synthèse chimique et caractérisation des nanoparticules
Cu, Ag et Ag-Cu en présence de l'extrait de la plante de
romarin : Application antibactérienne et à
l'électrooxydation de l'hydrazine.**

Soutenu le 28 /06/2015.

Devant le jury composé de :

Mr MAKHLOUFI	Professeur	UAM, Bejaia	Président
M ^{me} D.OUKIL	Maitre de conférences (A)	UAM, Bejaia	Examinatrice
M ^{lle} R.AITOUT	Maitre de conférences (A)	UAM, Bejaia	Encadreur
M ^{lle} D. AIT ABDESSELAM	Doctorante	UAM, Bejaia	Co-Encadreur

Promotion 2014-2015

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier avant tout notre ALLAH, le très miséricordieux, qui grâce à lui nous sommes arrivés à ce stade

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'électrochimie, corrosion et valorisation énergétique, faculté de technologie en collaboration avec la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. Mira de Bejaia.

On remercie vivement notre encadreur M^{lle} R.AITOUT Maitre de conférences à la Faculté de Technologie, pour son encadrement, sa disponibilité, les discussions constructives et pour ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier notre Co-Encadreur M^{lle} D. AIT ABDESSELAM Doctorante à l'université A. Mira de Bejaia pour nous avoir permis d'approfondir nos connaissances avec son encouragement, ces conseils.

On tient également à remercier M^{me} OUKIL, à la Faculté SNV, de nous avoir accueillie dans son laboratoire et aidés pour mener à bien la partie Microbiologie.

Nos remerciements vont également à Mr MAKHLOUFI Professeur à la Faculté de Technologie, pour l'honneur qu'il nous fait en présidant ce jury

Nous sommes très honorés de la participation de M^{me} D.OUKIL Maitre de conférences à la Faculté de Technologie, à notre jury de mémoire et on l'en remercie vivement d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On tient aussi à exprimé nos sincères remerciements aux techniciens de laboratoires du département génie des procédés pour leur disponibilité.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail et qui nous ont témoigné leur soutien.

DÉDICACE

A nos parents si chers et précieux, qui ont toujours été là pour nous avec leur soutien, sacrifices et leur amour et qui nous ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

A nos très chers frères et sœurs,

Et toute la famille

A nos amis(es)

A tous ceux qui nous sont chers

Louiza et Zahra

LISTES DE FIGURES

Chapitre I

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

Figure I.2 : Structure de la micelle inverse

Figure I.3 : Synthèse de nanoparticules métalliques par la voie électrochimique

Figure I.4 : Plante de romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Figure I.5 : Montage d'hydrodistillation (entraînement à la vapeur)

Figure I.6: Schéma de l'appareillage d'extraction au Soxhlet

Figure I.7 : Barrière d'activation d'une réaction chimique. L'énergie d'activation est E_a sans catalyseur, E_a (cat) en présence d'un catalyseur et ΔH l'enthalpie totale échangée lors de la réaction.

Figure I.8 : Structure chimique de la molécule de l'hydrazine

Figure I.9 : Diagramme potentiel-pH du couple N_2 /hydrazine à 25°C à partir de la réaction 9 pour une concentration des espèces en phase aqueuse de 1 mol.L⁻¹.

Chapitre II

Figure II.1 : Les étapes de la préparation de l'électrode à pâte de carbone modifiée par les nanoparticules métalliques

Figure II.2 : Préparation de la plante de romarin et son broyage

Figure II.3 : Schéma du montage de chauffage à reflux.

Figure II.4 : Filtration sous vide

Figure II.5 : Schéma de la cellule électrochimique

Figure II.6 : Dispositif expérimental de type AUTOLAB

Figure II.7 : Schéma Dispositif expérimental pour des mesures du potentiel libre

Figure II.8 : Diffraction des Rayons X (DRX)

Figure II.9 : Spectrophotomètre Ultraviolet-Visible (UV-Visible)

Chapitre III

Figure III.1 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml de CuSO_4 (0,1M) et 20ml de l'extrait de romarin.

Figure III.2 : Les spectres d'absorption UV-visible de l'extrait aqueux de la plante de romarin

Figure III.3 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml d' AgNO_3 (0,1 M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin.

Figure III.4 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml d' AgNO_3 (0,1 M) + 10ml de CuSO_4 (0,1M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin.

Figure III.5 : Variation temporelle (a)du potentiel redox et (b) du pH du mélange réactionnel de 10ml de CuSO_4 (0,1M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

Figure III.6 : Variation temporelle (a)du potentiel redox et (b) du pH du mélange réactionnel de 10ml d' AgNO_3 (0,1 M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

Figure III.7 : Variation temporelle (a)du potentiel redox et (b) du pH, en fonction du rapport molaire (Ag/Cu), du mélange réactionnel de 10ml de AgNO_3 (0,1M) + 10ml CuSO_4 et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

Figure III.8 : Variation temporelle (a)du potentiel redox et (b) du pH, en fonction du volume de l'extrait vert, du mélange réactionnel de 10ml de AgNO_3 (0,1M) + 10ml CuSO_4 et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

Figure III.9 : Diagramme DRX des différentes poudres

Figure III.10 : Diagramme DRX des différentes poudres de l'alliage Ag-Cu obtenu à différents rapports molaires $\text{Ag}^+/\text{Cu}^{2+}$.

Figure III.11 : Diagramme DRX des différentes poudres de l'alliage Ag-Cu obtenu à différents volumes de l'extrait de la plante de romarin.

Figure III.12 : Courbes thermogravimétriques obtenues sur des poudres de Cu, Ag, Cu-Ag et l'extrait de la plante de romarin

Figure III.13 : Images MEB et leurs spectres EDX Correspondants de l'Ag, le Cu et l'alliage Ag-Cu et le spectre EDX de l'extrait de la plante de romarin.

Figure III.14 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7), en absence(a) et en présence de 2 mM d'hydrazine ((b) et (c)), sur les électrodes CG-Cu15%, CG et CG-Cu15% respectivement, $v_b=10\text{mV/s}$.

Figure III.15 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7) sur différentes électrodes de CG-Cu contenant différents teneurs en catalyseur (5, 10, 15, 20,25, 30,40, 50 et 60%) à une vitesse de balayage fixée.

Figure III.16: Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7) sur l'électrode CG-Cu15% obtenus à différentes vitesses de balayage.

Figure III.17 : Variation du courant des pics en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage (déduite de la figure III.16).

Figure III.18 : Variation du potentiel des pics en fonction du logarithme de la vitesse de balayage (déduite de la figure III.16).

Figure III.19 : (A) Chronoampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7), à différentes concentrations 0,1. 0,2. 0,3. 2.3 et 4mM) sur l'électrode CG/Cu. (B) courbe de Cottrell, pour différentes concentrations en hydrazine.

Figure III 20: (A) Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine (tampon phosphate 0,1 M et pH=7), à différentes concentrations en hydrazine sur l'électrode CG-Cu15%. (B) Variation de la densité de courant des pics en fonction de la concentration de l'hydrazine. $V_b = 10 \text{ mV/s}$.

Figure III.21 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7), en absence(a) et en présence de 2 mM d'hydrazine ((b) et (c)), sur les électrodes CG-Ag60%, CG et CG-Ag60% respectivement, $v_b=10\text{mV/s}$.

Figure III.22 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7) sur différentes électrodes de CG-Ag contenant différentes teneurs en catalyseur (5, 10, 15, 20,25, 30,40, 50 et 60%) à une vitesse de balayage fixée.

Figure III.23: Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0,1 M et pH=7) sur l'électrode CG-Ag60% obtenus à différentes vitesses de balayage.

Figure III 24 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine (tampon phosphate 0,1 M et pH=7), à différentes concentration en hydrazine sur l'électrode CG-Ag60%. $V_b = 10 \text{ mV/s}$.

Figure III.25 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0.1 M et pH=7), (a) en absence et (b), (c), (d) et (e) en présence de 2 mM d'hydrazine, sur les électrodes CG, CG-Ag-Cu (10%), CG-Cu10% et CG-Ag10% respectivement. $v_b=2\text{mV/s}$.

Figure III.26 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0.1 M et pH=7), sur les électrodes de CG-Ag-Cu (10%) à différents rapports molaires Ag/Cu.

Figure III.27 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ([Hydrazine] = 2mM, tampon phosphate 0.1 M et pH=7), sur les électrodes de CG-Ag-Cu (10%) à différentes vitesses de balayage.

Figure III.28 : Image MEB d'Escherichia coli

Figure III.29 : Image MEB de Staphylococcus aureus

Figure III.30 : *Activité antibactérienne de l'extrait de romarin(A), Nps Ag(B), NpsCu(C) et Nps Ag-Cu (D) vis-à-vis des bactéries E. coli(a) et S.aureus (b).*

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : Valeur du potentiel redox standard E^0 (N_2/N_2H_4) pour différentes températures

Chapitre II

Tableau II.1 : Pourcentage du catalyseur et du carbone graphite utilisé pour la préparation des électrodes CG/catalyseur (Ag, Cu, (Ag-Cu))

Chapitre III

Tableau III.1 : la taille moyenne des cristallites d'Ag, Cu et Ag-Cu calculée par la formule de Scherrer

Tableau III.2: Evaluation du coefficient de diffusion D à partir des courbes de Cottrell

Tableau III.3: Diamètre de la zone d'inhibition des différentes solutions par la méthode de diffusion sur disque.

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction Générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I : synthèse bibliographique

I.1- Généralités sur les nanomatériaux	5
I.1.1-Historique.....	5
I.1.2- Les nanoparticules métalliques.....	6
I.1.2.1- Définition.....	7
I.1.2.2- Propriétés physiques des nanomatériaux.....	7
* Propriétés catalytiques.....	7
* Propriétés antimicrobiennes.....	8
* Propriétés magnétiques.....	9
* Propriétés optiques.....	10
* Propriétés vibrationnelles.....	11
I.2- Méthodes de synthèse des nanomatériaux.....	11
I.2.1- Procédés par voie physique.....	11
○ Laser pulsé.....	11
○ Implantation ionique.....	12
○ Pyrolyse laser.....	12
I.2.2- Procédés par voie chimique.....	12
○ Transfert de phase liquide-liquide.....	13
○ Voie micellaire inverse.....	14
○ Méthode Sol – gel.....	15
○ Synthèse radiolytique.....	16
○ Réduction de sels métalliques.....	16
○ Décomposition de précurseurs organométallique.....	17
I.2.3-Réduction électrochimique.....	17
I.2.4- Synthèse biologique.....	18

I.3- Romarin.....	19
I.3.1- Introduction.....	19
I.3.2- Classification et origine de la plante.....	19
I.3.3-Domaine d'utilisation de la plante.....	20
I.3.3.1- Industrie agro-alimentaire.....	20
❖ Alimentation.....	20
❖ Alimentations diététiques, tisanes, herbales.....	20
I.3.3.2-Industrie cosmétique et parfumerie.....	20
I.3.3.3-Thérapie.....	20
I.3.4-Propriétés de romarin.....	21
I.4- Méthodes d'extraction.....	21
I.4.1- Définition et rôle écologique.....	21
I.4.2- Méthodes et équipement d'extraction.....	21
I.4.2.1. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	21
I.4.2.2- Infusion.....	22
I.4.2.3- Décoction.....	23
I.4.2.4- Macération.....	23
I.4.2.5- Extraction à reflux.....	23
I.4.2.6- Extraction au soxhlet.....	23
I.5- Electrocatalyse et oxydation de l'hydrazine.....	24
I.5.1- Electrocatalyse	25
I.5.2- Oxydation de L'hydrazine.....	26
I.5.2.1-Définition.....	26
I.5.2.2-Domaine d'application.....	26
I.5.2.3-Toxicité et Risque.....	26
I. 5.2.4- Mécanisme d'oxydation de l'hydrazine.....	27
I.6 – Références bibliographiques.....	29

Chapitre II : condition expérimentale et méthodes d'étude

II.1-Conditions expérimentales.....	34
II.1.1- Synthèse des nanoparticules Cu, Ag et Cu-Ag.....	34
II.1.2- Elaboration de l'électrode à pâte de carbone graphite modifiée par les nanoparticules métalliques (CG-Cu, CG-Ag, CG-Cu-Ag).....	36
II.1.3- Préparation de l'extrait de la plante de romarin.....	37
II.1.4- Electrodes.....	38
a) Electrode de travail (ET).....	38
b) Electrode de référence (ER).....	39
c) Contre électrode (CE).....	39
II.1.5-Cellule électrochimique.....	39
II.1.6-Milieu de détection.....	40
II.1.7- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....	40
a- Préparation de la suspension bactérienne.....	41
b- Technique de diffusion sur disque.....	41
c- Ensemencement des souches.....	42
II.2-Dispositifs électrochimiques.....	43
II.3-Méthodes d'étude.....	44
II.3.1-Méthodes électrochimiques.....	44
II.3.1.1-Chronoampérométrie.....	44
II.3.1.2-Voltampérométrie cyclique.....	44
II.3.2-Méthodes d'analyses utilisées.....	45
II.3.2.1-Diffraction des Rayons X(DRX).....	45
II.3.2.2-Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible (UV-Visible).....	46
II.3.2.3- Analyse thermogravimétrie (TG).....	47
II.3.2.4- Microscope électronique à balayage (MEB).....	48
II.3.2.5-Analyseur en fluorescence X en dispersion d'énergie (EDX).....	48

Chapitre III : résultat et discussion

III.1- Caractérisation des nanoparticules métalliques de cuivre, argent et l'alliage argent- cuivre (Ag-Cu).....	49
III.1.1- Analyse UV-visible.....	49
III.1.2- Evolution temporelle du potentiel de réduction, du pH et de la concentration des ions métalliques dans le mélange réactionnel.....	52
III.1.3- Analyse DRX.....	55
III.1.4- Analyse thermogravimétrique.....	58
III.1.5- Analyse MEB couplée à l'EDX.....	59
III.2-Application des nanoparticules métalliques de Cu, Ag et Ag-Cu vis-à- -vis de l'oxydation d'hydrazine	62
III.2.1- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par le cuivre (CG-Cu) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine.....	62
III.2.1.1-Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG-Cu vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	62
III.2.1.2- Effet de la teneur en nanoparticules métallique de cuivre dans la pâte de CG vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	63
III.2.1.3-Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	65
III.2.1.4-Détection chronoampérométrique de l'hydrazine.....	69
III.2.1.5-Effet de la concentration de l'hydrazine.....	71
III.2.2- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par l'argent (CG-Ag) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine.....	73
III.2.2.1-Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG-Ag vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	73
III.2.2.2- Effet de la teneur en nanoparticules métallique d'argent dans la pâte de CG vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	74

III.2.2.3- Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	75
III.2.2.4-Effet de concentration de l'hydrazine.....	76
III.2.3- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par l'alliage (Ag-Cu) (CG-Ag-Cu) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine.....	77
III.2.3.1-Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG/Ag-Cu vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	77
III.2.3.2-Effet du rapport molaire Ag/Cu des nanoparticules métallique de l'alliage Ag-Cu	78
III.2.3.3-Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.....	79
III.3- Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées.....	80
1- Généralité sur les bactéries utilisées.....	80
➤ Escherichia coli (E. coli).....	80
➤ Staphylococcus aureus (S. aureus).....	81
2- Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	82
III.4- Références bibliographiques.....	88

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La synthèse de nanomatériaux métalliques par les moyens physique diversifiée, chimiques et biologiques a été développée au cours des dernières décennies [1]. Cette caractéristique dimensionnelle confère à ces matériaux des propriétés ou des comportements particuliers, utilisés notamment pour des nouvelles applications technologiques. En effet, les nanoparticules possèdent des propriétés magnétiques, optiques, électroniques, catalytiques et biologiques uniques, différentes de celles du matériau massif ou de la molécule, liées à leur taille et à leur forme. Leur champ d'application est par conséquent très vaste.

Les propriétés des nanomatériaux varient notamment selon leur composition chimique, leur taille, leur surface spécifique, l'état de surface, ou encore la forme du nano-objet considéré. De plus, chaque nanomatériau peut être doté d'une réactivité ou d'un comportement différent selon la formulation et la matrice du produit fini qui le contient.

Plusieurs méthodes physiques, chimiques, biologiques et procédures sont disponibles pour la synthèse des nanomatériaux. Parmi ceux-ci, Laser pulsé, Implantation ionique et Pyrolyse laser seraient classés comme des méthodes physiques de production des nanoparticules (NP) métalliques. Les principaux inconvénients de ces méthodes sont leurs faibles taux de production, forte consommation d'énergie et les coûts élevés. Les méthodes les plus populaires et les plus largement utilisées pour produire les nanoparticules métallique sont des procédures chimiques, qui consistent en une réduction contrôlée des sels métalliques pour obtenir des NP métalliques avec la taille et la forme désirée. Diverses méthodes chimiques sont utilisées pour la production des NP métalliques tel que transfert de phase liquide-liquide [2], la Voie micellaire inverse [3], Méthode Sol-gel [4]. Ces approches chimiques ont des avantages bien que certains procédés chimiques sont peu coûteux, et elles présentent les inconvénients tels que la contamination résulte des précurseurs chimiques, la toxicité des solvants utilisés et de la production des sous-produits dangereux.

En revanche, les méthodes biologiques sont considérées comme «chimie verte», elles ont tendance à être des approches respectueuses de l'environnement pour la production des NP métalliques puisqu'elles impliquent des processus naturels qui se déroulent dans les systèmes vivants.

C'est en particulier pour cette raison, mais également pour leurs propriétés catalytiques et antimicrobiennes remarquables, que plusieurs groupes de chercheurs se sont intéressés à l'utilisation des produits naturels non toxiques comme réducteurs dans la synthèse des NP métalliques [5]. Ces produits sont utilisés sous forme d'extraits bruts solubles dans les milieux de synthèse. L'avantage de ces composés naturels est qu'ils sont faciles à utiliser, peu chers et non toxiques pour le manipulateur et l'environnement.

Les nanoparticules métalliques telles que le cuivre (Cu), l'argent (Ag) et leur alliage (Cu-Ag) [6] ont été largement étudiés pour leurs propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes, qui dépendent de l'historique de leur formation. Le vert et/ou bio-tracé de synthèse de ces nanoparticules (NP) sont la meilleure approche pour leurs examens biologiques. Par exemple, les plantes extraient qui agit comme agent réducteur pour les ions métalliques restent également sur les NP de métal comme agent de coiffage afin d'améliorer l'activité biologique.

Dans ce contexte, les objectifs de ce travail sont orientés vers la synthèse par voie biologique des nanoparticules métalliques d'Ag, de Cu et de l'alliage Ag-Cu à partir de l'extrait de la plante romarin, du nom scientifique *rosmarinus officinalis*. Le romarin pousse abondamment dans la région de Bejaïa. Cette plante présente de nombreuses propriétés médicinales, vantées depuis l'antiquité. De nos jours, elle entre dans la composition d'un grand nombre des médicaments et fait toujours l'objet de recherches.

Après la cueillette de la plante et sa mise en condition (séchage, broyage, tamisage,...), l'extrait de la plante de romarin est obtenu par la technique d'extraction à reflux dans l'eau. Cet extrait est ensuite utilisé comme réducteur dans l'élaboration des nanoparticules métalliques d'Ag, de Cu et de l'alliage Ag-Cu. Ces dernières sont utilisées comme catalyseurs pour modifier la pâte de carbone graphite (CG) afin d'obtenir des électrodes modifiées : CG-Cu, CG-Ag et CG-Ag-Cu, dans le but d'étudier leur comportement électrochimique et leur activité électrocatalytique ainsi que leur aptitude à l'électrocatalyse et à la détection de l'hydrazine.

En raison de la grande importance de l'hydrazine, sa détermination précisée et économique est toujours une recherche provocante en chimie. Plusieurs techniques qui ont été

rapportées pour sa détermination telles que le potentiomètre, l'ampèremètre et la spectrométrie.

L'activité antibactérienne des NP métalliques envers les bactéries pathogènes a été étudiée et décrite [7]. Comme par exemple, il a été cité dans la littérature [8] que les nanoparticules (Cu, Ag) ont été largement utilisées comme agents antibactériens en biomédecine tels que les onguents guérison des plaies et des vêtements de bandage depuis les temps anciens. Ils sont également utilisés dans les emballages alimentaires, les dispositifs médicaux instrumentaux, revêtements textiles, cosmétiques et un certain nombre d'applications industrielles en raison de leurs propriétés antimicrobiennes inhérentes. Toutes ces propriétés peuvent faire une stratégie puissante pour lutter contre la propagation croissante de la multirésistance résultant de la large utilisation des antibiotiques. Par conséquent, l'efficacité clinique des antibiotiques a été examinée. L'activité antimicrobienne est efficace pour les NP métalliques Ag contre *Escherichia coli* [9]. De même, les nanoparticules Cu [10] sont d'excellents candidats en raison de leur faible toxicité et une plus grande stabilité dans les systèmes biologiques.

Dans ce contexte notre travail est orienté vers la vérification de l'effet antimicrobien des NP métalliques (Cu, Ag et de l'alliage Ag-Cu) contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et le Gram négatif (*E. coli*).

Dans ce cadre, ce mémoire s'articule autour de trois chapitres:

Le chapitre I est consacré à une synthèse bibliographique relative à l'élaboration des nanomatériaux ainsi que l'application des extraits de plantes comme réducteurs verts dans l'élaboration des nanoparticules métalliques.

Le chapitre II présente la mise en place de différents montages d'extraction et la description des méthodes et conditions expérimentales mises en œuvre au cours de cette étude.

Le chapitre III englobe les résultats de la caractérisation des nanoparticules métalliques (Ag, Cu et l'alliage Ag-Cu), les tests électrocatalytiques de l'oxydation de l'hydrazine (en utilisant des électrodes à pâte de carbone graphite modifiée par ces nanoparticules métalliques) et les tests antimicrobiens.

Ce travail se termine par une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats et les perspectives à entreprendre pour approfondir l'étude.

Les références bibliographiques sont présentées à la fin de chaque chapitre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] Samira Mondal, Nayan Roya, Rajibul A. Laskara, Ismail Ska, Saswati Basub, Debabrat Mandal, Naznin Ara Beguma *Colloids and Surfaces B: Bio interfaces* 82 (2011) 497–504.
- [2] Demortiere, A. and Petit, C. *Langmuir* 23(2007) (16).
- [3] Petit, C. and Pileni, M. P. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 166(1997) (1 -2).
- [4] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* (2000) 30, 545.
- [5] Amit Kumar Mittal , Yusuf Chisti , Uttam Chand Banerjee *Biotechnology Advances* 31 (2013) 346–356.
- [6] S. Yallappa , J. Manjanna , M.A. Sindhe , N.D. Satyanarayan , S.N. Pramod , K. Nagaraja *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 110 (2013) 108–115.
- [7] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, *J. Colloid Interface Sci.* 275 (2004) 177–182.
- [8] M.M. Kholoud, A. El-Noura, A. Eftaihab, A. Al-Warthanb, R.A.A. Ammar, *Arabian J. Chem.* 3 (2010) 135–140.
- [9] J.G. Leu, S.A. Chen, H.M. Chen, W.M. Wu, C.F. Hung, Y.D. Yao, C.S. Tu, Y.J. Liang, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 8 (2012) 767–775.
- [10] L.M. Deshpande, B.A. Chopade, *Biometals* 7 (1994) 49–56.

CHAPITRE I

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

Ce chapitre a pour but de cadrer le sujet et de présenter la problématique du sujet traité.

Dans un premier temps, une brève synthèse sur les généralités sur les nanomatériaux est abordée, suivie de la description des méthodes de synthèse des nanomatériaux usuelles. Enfin une revue bibliographique est présentée sur l'application des extraits de plantes comme réducteurs verts dans l'élaboration des nanoparticules métalliques.

I.1- Généralités sur les nanomatériaux

I.1.1-Historique

La dispersion en solution de pigments naturels ultra-divisés par broyage (aujourd'hui méthode appelée « top-down ») est une méthode utilisée depuis la période préhistorique puis l'antiquité dans la fabrication des peintures, fards, encres... Par la suite les particules de métaux nobles comme l'or, l'argent et le cuivre furent aussi employées.

L'utilisation de sels d'or ajoutés aux composants du verre, puis leur réduction et la coalescence des atomes pendant la fusion (qui constitue la première méthode « bottom-up ») a permis aux artisans verriers de fabriquer des œuvres en verre aux couleurs fascinantes comme le rouge rubis (coupe romaine de Lycurgues au II^{ème} siècle). Ces propriétés optiques remarquables n'ont été étudiées qu'au dix-neuvième siècle par Faraday (1856) qui a montré sur une pierre supposée précieuse que la couleur rouge provenait des particules d'or dispersées dans le verre. Puis Graham (1860), Tyndall (1880) et Ostwald (1909) ont mené des travaux systématiques sur la matière ultra-divisée, notamment de métaux dans les liquides, appelées suspensions colloïdal [1].

Des travaux sur des colloïdes formés par réduction d'ions métalliques en solution par des rayonnements ionisants de grande énergie (rayons X et γ) ont été effectués au début des années 1950 par M. Haïssinsky et son équipe. Dans ces expériences, les ions métalliques agissent comme les intercepteurs d'espèce primaire radiolytique réductrice de l'eau [2].

En 1965 J.H. Baxendale et al. ont réussi à synthétiser des agrégats d'argent par radiolyse pulsée, cependant ces espèces s'oxydaient spontanément par l'oxygène, ce que les auteurs ne réussissaient pas à expliquer, dans la mesure où ils supposaient classiquement un caractère noble pour l'élément argent [3]. Au cours d'une expérience de radiolyse en milieu réducteur sur le comportement des ions cuivreux dans l'ammoniac liquide (NH_3), M. O. Delcourt et J. Belloni (1973) ont démontré que le métal cuivre ultra-divisé en fait n'apparaissait pas et que du gaz H_2 était formé. Ce phénomène a été expliqué par les auteurs en proposant une interprétation très nouvelle selon laquelle les propriétés thermodynamiques, et en particulier les propriétés redox, du métal à l'état quasi-atomique sont complètement différentes du métal massif. Le métal naissant présente donc un caractère très réducteur que ne possède pas le métal massif [4].

Les nanoparticules peuvent être stabilisées en solutions subcolloïdales ou greffées sur différents types de supports :

- L'alumine, l'oxyde de titane, ou la silice pour les applications catalytiques [5].
- Les électrodes transparentes de SnO₂ pour des applications photoélectrochimiques [6].
- Les électrodes métalliques modifiées afin d'augmenter leur réactivité catalytique [7].
- Les membranes polymériques (en surface ou au cœur dans les cavités) comme par exemple le Nafion en vue d'applications électrocatalytiques [8].

Au début des années 1980, un intérêt particulier s'est manifesté pour préparer des particules de très petite taille de semiconducteurs dans le but de concevoir des systèmes électroniques miniaturisés. Les techniques d'élaboration développées par Efröset Ekimov dans le domaine de la croissance cristalline les ont conduits à maîtriser la croissance de nanocristaux de semiconducteurs dans des matrices vitreuses [9]. Depuis les années 1990, beaucoup d'études ont été réalisées par les chercheurs, physiciens et chimistes, afin de comprendre la relation entre la taille et les nouvelles propriétés physico-chimiques observées.

Aujourd'hui, de multiples champs d'applications se sont ouverts d'abord aux nanoparticules pour la catalyse puis aux nanoparticules fluorescentes du fait notamment qu'elles peuvent être préparés en solution. En biologie en particulier, ces nano-objets peuvent être utilisés comme marqueurs fluorescents pour l'imagerie multicolore de tissus biologiques, le suivi de macromolécules et le marquage de tumeurs [10].

I.1.2- Les nanoparticules métalliques

Les nanoparticules métalliques font l'objet d'un intérêt croissant dans divers domaines de sciences et de technologies. En raison de leur comportement quantique qui induit des propriétés optiques et électriques non-linéaires, ainsi que de leur très importante surface active, ces matériaux présentent de nombreuses applications dans des domaines aussi divers que la catalyse, l'analyse biologique, la photovoltaïque ou l'électronique du futur.

I.1.2.1- Définition

Une nanoparticule de dimension nanométrique, dont le diamètre varie entre 1 et 100 nm, est constituée de plusieurs atomes métalliques. Pour désigner des assemblages, les termes de colloïdes et de clusters sont souvent reportés dans la littérature. Les nanoclusters présentent, à l'état solide, une étroite distribution de taille (1-10 nm) alors que les colloïdes en solution ont un diamètre moyen supérieur à 10 nm et une distribution de taille large [11].

Le terme de colloïde a été employé pour la première fois, en 1861, par Graham suite à l'observation de la lente sédimentation et de l'état non cristallin de ce qui s'apparentait à des solutions aqueuses de chlorures d'argent ou d'or insolubles dans l'eau [12].

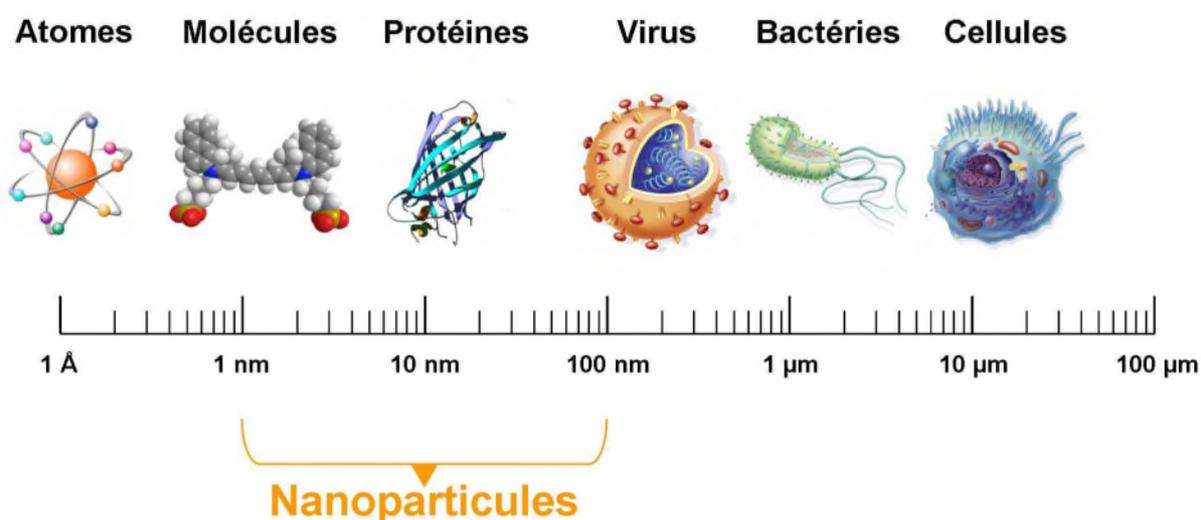


Figure I-1: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques [13].

I.1.2.2- Propriétés physiques des nanomatériaux

Le passage de l'état massif vers le nano-objet conduit à l'apparition de nouvelles caractéristiques spécifiques et de nouvelles propriétés. Nous avons choisi de faire une rapide présentation des propriétés catalytiques, antimicrobiennes, magnétiques, optiques et vibrationnelles des nanoparticules en les illustrant par quelques résultats choisis dans la littérature.

* *Propriétés catalytiques :*

La diminution de la taille des nanoparticules entraîne un rapport surface sur volume important qui joue un rôle prédominant dans les propriétés mettant en jeu des échanges à l'interface entre l'objet considéré et son environnement.

Ce large pourcentage d'atomes de surface rend les matériaux plus réactifs d'un point de vue chimique, ce qui en fait des candidats potentiels très prometteurs pour les applications en catalyse hétérogène. Haruta et al. ont mis en évidence que les nanoparticules d'or d'environ 3 nm de diamètre catalysent activement l'oxydation du CO tandis qu'elles sont inactives pour des tailles supérieures à 10 nm [14]. Depuis ces observations, des efforts considérables ont été faits afin d'étudier l'influence de la taille des nanoparticules sur l'activité catalytique. Wang et al. ont par exemple montré que les nanoparticules de CoPt_3 présentent une activité électrocatalytique importante vis-à-vis de la réduction de l'oxygène, fonction de la taille des particules [15]. Joo et al. reportent que l'oxydation catalytique du monoxyde de carbone (CO) augmente avec la taille des nanoparticules de ruthénium de 2 à 6 nm de diamètre [16]. Il est important de noter que d'autres facteurs tels que la forme, la composition ou l'état d'oxydation des nanoparticules peuvent également jouer un rôle dans la réactivité des nanoparticules [17].

*** Propriétés antimicrobiennes :**

Les nanoparticules métalliques représentent un « réservoir » d'ions, permettant de conserver une activité antimicrobienne pendant un laps de temps plus long que dans le cas d'une inclusion sous forme de sels [18]. Selon Gibbins et Werner (2005), l'argent ionique est actif pour une courte période, de l'ordre de quelques jours, alors que les nanoparticules d'argent peuvent libérer des ions jusqu'à 100-200 jours en fonction de leur quantité et de la nature de la matrice. Les ions Ag^+ sont progressivement libérés par oxydation de la surface des particules métalliques lors de l'exposition à l'air ou à un milieu humide, puis dissolution de l'oxyde d'argent dans le milieu environnant. En raison de leur aire spécifique élevée, le potentiel de relargage d'ions Ag^+ par les nanoparticules est important [19]. Par conséquent, les nanoparticules d'argent sont plus réactives que l'argent massif. Le relargage d'ions Ag^+ contribue donc à l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent [20].

Sondi et Salopek-Sondi (2004) ont démontré l'activité bactéricide de nanoparticules d'argent en suspension (diamètre : 12 ± 4 nm) sur *E. coli* en milieu gélosé, pour des concentrations de l'ordre de 10 à 50 mg/L. En utilisant la microscopie électronique à balayage (MEB), ils ont observé une altération de la paroi cellulaire (formation de « trous » dans la membrane externe). Ces altérations entraînent une augmentation de la perméabilité, conduisant à la libération des constituants cellulaires, et, par suite, à la mort d'une fraction de la population bactérienne [21].

Kim *et al.* (2007) ont étudié l'activité antimicrobienne de nanoparticules d'argent (diamètre~ 10 nm) sur *E. coli*, *S. aureus* et sur une souche de levure, en milieu gélosé (méthode du disque d'inhibition). Les auteurs suggèrent que l'action antimicrobienne des nanoparticules est liée à la présence de radicaux libres générés en surface, qui endommagent la membrane lipidique des cellules. Les résultats obtenus sur les trois microorganismes testés montrent que *E. coli* est plus sensible que la levure, elle-même plus sensible que *S. aureus* [22].

Khan Behlolet *al.*(2014)ont étudié l'activité bactéricide des nanoparticules d'or (diamètre ~ 22nm) par la méthode de diffusion sur disque contre les bactéries pathogènes, *Pseudomonas areuoginosa* , *Salomonellatyphii* , *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* . Les résultats obtenus montre que *P. areuoginosa* et *E. coli* ont une zone d'inhibition plus importante. Les auteurs expliquent que ces variations sont dues à la différence dans la composition de la paroi cellulaire bactérienne [23].

*** Propriétés magnétiques :**

Les matériaux ferromagnétiques se caractérisent par un alignement spontané des moments magnétiques de chaque entité élémentaire dans la même direction, contrairement aux matériaux paramagnétiques pour lesquels l'orientation est aléatoire. A haute température, les matériaux ferromagnétiques subissent une transition vers un état paramagnétique. En effet, l'énergie thermique désorganise le système et vient contrer l'alignement, laissant une orientation aléatoire des moments magnétiques. La température de transition est appelée température de Curie. Celle-ci décroît avec la taille du matériau étudié. Au-dessous d'une certaine taille, le système se comporte comme un matériau paramagnétique du point de vue de sa courbe d'aimantation, même en-dessous de sa température de Curie, alors qu'il devrait être ferromagnétique [24], c'est le super paramagnétisme.

La compréhension des paramètres clés déterminant les propriétés magnétiques des nanoparticules permet d'envisager des applications notamment dans le domaine de l'électronique (stockage de l'information) ou de la médecine. Ces propriétés peuvent notamment être affectées par la forme des nanoparticules. Lagrow *et al.* ont par exemple montré que les nanocubes de nickel de 12 nm sont super paramagnétiques et ont une saturation magnétique quatre fois plus élevée que celle des nanoparticules sphériques de nickel. Il est à noter que certains matériaux non magnétiques à l'état massif le deviennent à l'échelle nanométrique, comme par exemple le rhodium [25].

*** Propriétés optiques :**

La réduction de la taille d'un objet semi-conducteur ou métallique à l'échelle nanométrique conduit à de fortes modifications de sa réponse dans le domaine optique, comparée à celle du massif. Les nanoparticules métalliques exhibent une résonance plasmon de surface. Les caractéristiques (position spectrale, amplitude et largeur spectrale) de cette dernière dépendent de la taille, de la forme et de l'environnement des nanoparticules.

Link et al. ont étudié la réponse optique de nanoparticules d'or sphériques en fonction de leur taille, variant de 9 à 99 nm [26].

Il apparaît que lorsque la taille des particules diminue, la position spectrale de la résonance plasmon se déplace vers les basses longueurs d'ondes. La dépendance de la réponse optique en fonction de la forme des particules a également été mise en évidence. Mock et al. ont en effet élaboré par voie colloïdale des nanoparticules d'argent aux formes et tailles variées (triangulaire, sphérique, pentagonale) [27].

Pour les nanoparticules de cuivre, Salzemann *et al.* ont montré que les proportions relatives de sphères et de disques font varier le spectre optique [28].

Ils ont alors observé que le spectre se décale vers les grandes longueurs d'ondes en partant des sphères aux triangles ainsi que lorsque leur taille augmente. L'influence de l'organisation des nanoparticules d'argent à deux dimensions, en réseau hexagonal sur la résonance plasmon de surface a également été étudiée dans le cas de l'argent. Les auteurs ont observé un décalage vers les grandes longueurs d'ondes ainsi qu'une augmentation de la largeur à mi-hauteur de la bande, comparé aux nanoparticules d'argent en solution. Ce phénomène est attribué à l'augmentation du constant diélectrique de l'environnement des nanoparticules.

Les nanoparticules semi-conductrices présentent quant à elles un comportement luminescent intéressant. Kahn et al. ont par exemple observé une forte influence de la forme des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) ainsi que des ligands utilisés sur les propriétés de luminescence dans le domaine du visible [29].

Dabousiet *al.* ont également montré l'influence de la taille de nanoparticules de (CdSe)ZnS sur ces propriétés [30].

***Propriétés vibrationnelles :**

En ce qui concerne les vibrations, le passage du cristal massif au nanocristal de taille finie provoque la perte de la périodicité du réseau. La brisure de symétrie due au confinement dans les nanocristaux conduit alors à de nouveaux modes vibrationnels résultant du couplage entre les modes longitudinaux et transversaux.

Plusieurs techniques sont utilisées pour l'observation de ces modes de vibrations telles que la diffusion Raman basse fréquence (LFRS) [31] ou la spectroscopie pompe-sonde résolue en temps [32].

Par exemple, Hodak et al. ont étudié les modes de respiration acoustique basse fréquence de nanoparticules métalliques cœur-coquille (Au-Pb) par spectroscopie résolue en temps [33]. Leurs résultats montrent que ces modes de respiration sont perturbés lorsque les deux métaux ont des propriétés élastiques différentes. Par des mesures de LFRS, Courty et al. ont mis en évidence des propriétés de cohérence vibrationnelle de nanoparticules d'argent organisées à 3D [34]. Plus récemment, Portales *et al.* ont montré le rôle de la cristallinité des nanoparticules d'or sur leurs vibrations acoustiques [35].

I.2- Méthodes de synthèse des nanomatériaux

De nombreuses techniques permettant de fabriquer des nanoparticules, pour lesquels plusieurs paramètres doivent être maîtrisés : particulièrement la taille et la forme. Les procédés actuels permettant l'élaboration de nano-objets sont classés par différentes catégories:

I.2.1- Procédés par voie physique

- **Laser pulsé**

Cette méthode a été utilisée dans la synthèse des nanoparticules d'argent. Une solution AgNO_3 et un agent réducteur sont mélangés à l'aide d'un dispositif mélangeur «blenderlike», dans lequel y a un disque solide en rotation dans la solution. Ce disque est soumis aux impulsions d'un faisceau laser. Sous l'effet de ces impulsions, le nitrate d'argent et l'agent

réducteur réagissent dans les zones de surfaces du disque irradiées donnant des particules d'argent qui peuvent être séparées de la solution par centrifugation.

La taille des particules est contrôlée par l'énergie du laser et la vitesse de rotation du disque. Cette méthode peut donner de 2 à 3 g/mn [36].

- **Implantation ionique**

Elle est utilisée pour implanter les ions d'un matériau dans un autre solide, changeant de ce fait les propriétés physiques de ce solide. L'implantation ionique est utilisée dans la fabrication des dispositifs à semi-conducteurs, pour le traitement de surface des métaux, ainsi que pour la recherche en science des matériaux. Les ions permettent à la fois de changer les propriétés chimiques de la cible, mais également les propriétés structurales car la structure cristalline de la cible peut être abîmée ou même détruite. Plusieurs éléments ont été implantés dans une matrice de silice ou de verre tels que (Si, Co, Ni, Zn)[37].

- **Pyrolyse laser**

Elle repose sur l'interaction en jets croisés entre un faisceau laser infrarouge CO₂ et un flux de réactifs dans un réacteur sous atmosphère contrôlée. Le transfert d'énergie provoque une élévation de température dans la zone de réaction, les précurseurs sont dissociés, une flamme apparaît dans laquelle des nanoparticules sont formées sans interaction avec les parois du réacteur. Les précurseurs peuvent être gazeux ou liquides. Dans le cas d'un liquide, le précurseur est injecté dans le réacteur sous forme d'aérosol.

Des nano-objets de différents matériaux ont été synthétisés par cette méthode de même que des nanoparticules de métaux nobles tels que l'argent [38] et l'or[39] ainsi que de semi-conducteurs tels que TiO₂[40].

I.2.2- Procédés par voie chimique

Les méthodes chimiques de synthèse de nanoparticules en solution offrent une grande variété de conditions expérimentales. Une caractéristique commune aux voies de synthèse que nous allons présenter est l'utilisation de trois composants indispensables :

Un précurseur, un agent réducteur et un agent stabilisant. Le contrôle précis de la taille, de la forme et de la composition des nanoparticules passe par le contrôle et l'ajustement des divers paramètres de réaction. La température, la nature et la concentration des réactifs et des

agents stabilisants sont autant de paramètres modulables. Les systèmes pouvant être obtenus sont donc très variés.

○ **Transfert de phase liquide-liquide**

Développée par Brust dans les années 1990 pour la synthèse de nanoparticules d'or [41], elle consiste à transférer un sel d'or (AuCl_4^-), solubilisé en phase aqueuse, dans une phase organique (toluène) par l'intermédiaire d'un agent de transfert, le bromure de tétraoctylammonium (TOAB). Après l'addition d'un agent stabilisant (décane-thiol), le sel d'or est réduit par du borohydrure de sodium (NaBH_4), s'ensuivent, après 12 heures d'agitation, plusieurs lavages et une sélection en taille par précipitation. Les nanoparticules d'or habillées de thiols finalement obtenues sont stables thermodynamiquement et de 2,5 nm de diamètre. Cette méthode de synthèse a, par la suite, été adaptée à différents éléments :Pt[42], CoPt[43].

Dans le cas de l'argent, le protocole de synthèse est le même que pour l'or, le sel utilisé pouvant être par exemple le nitrate d'argent (AgNO_3) ou le perchlorate d'argent (AgClO_4). Les nanoparticules d'argent sont habillées de thiols et de tailles comprises entre 5 et 7 nm de diamètre, avec une distribution de taille inférieure à 10 %. De multiples variantes ont également été développées, permettant de contrôler la taille finale des nanoparticules ainsi que leur habillage par différents ligands tels que des amines, des phosphines ou encore des polymères [44].

○ **Voie micellaire inverse**

Les micelles inverses (MI) sont des gouttelettes d'eau dans un solvant, stabilisées par un tensioactif. Ce dernier est une molécule amphiphile qui va se placer à l'interface eau-solvant, abaissant ainsi la tension interfaciale. Les MI sont utilisés comme microréacteur pour réaliser la synthèse de nanoparticules.

Nous pouvons ensuite distinguer deux modes opératoires pour la réduction : soit l'introduction directe d'agent réducteur en phase aqueuse dans le milieu micellaire, soit l'introduction d'une autre solution micellaire contenant l'agent réducteur. Sous l'effet du mouvement brownien, de multiples et incessantes collisions se produisent, les cœurs aqueux s'échangent et la réaction a alors lieu. Il y a ensuite séparation et reconstitution de nouvelles gouttelettes indépendantes, contenant en leur cœur les nanoparticules. Un agent stabilisant est ajouté à la solution et s'adsorbe à la surface des nanoparticules, assurant leur stabilité et

permettant ainsi leur extraction du milieu de synthèse. Plusieurs lavages successifs permettent de retirer le tensioactif résiduel et une sélection en taille par précipitation affine la distribution de taille.

La taille des micelles et par conséquent, la taille des nanoparticules, peut être contrôlée par le rapport des concentrations en eau et tensioactif.

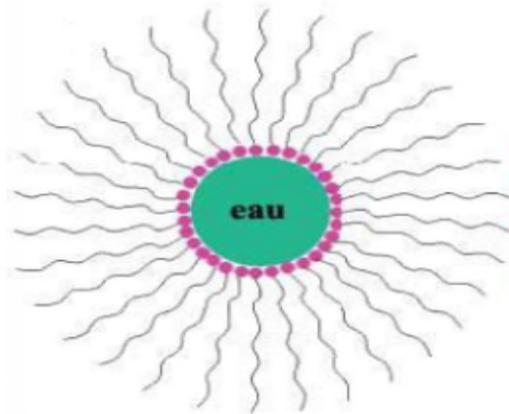


Figure I.2: Structure de la micelle inverse

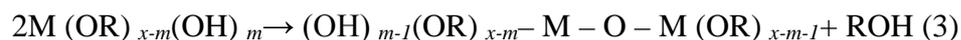
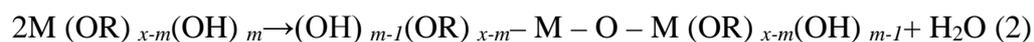
Des nanoparticules de nombreux matériaux ont pu être synthétisées par ce mode de synthèse tel le cobalt [45], le cuivre [46], l'or [47] ou encore des nanoparticules bimétalliques (CoPt, AuAg, AuPd, PdPt...). Les premières nanoparticules d'argent synthétisées via ce système ont été réalisées au laboratoire [48]. Les nanoparticules d'argent obtenues sont bien cristallisées [49], sphériques, de 4 à 6 nm de diamètre, avec une distribution de taille inférieure à 13% et habillées de chaînes d'alcanethiols de différentes longueurs (décanethiol ou dodécaneethiol).

○ **Méthode Sol – gel**

Le terme sol-gel correspond à l'abréviation « solution-gélification ». Brièvement, un « sol » est une suspension colloïdale d'oligomères. Par la suite, on peut faire évoluer ce « sol », par le biais de réactions chimiques, en un réseau à viscosité infinie, appelé « gel ».

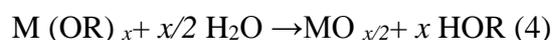
Cette méthode est un procédé de « chimie douce » en solution liquide permettant l'élaboration de nombreux composés inorganiques ou hybrides organique/inorganique dans une large variété de structures telles que des films minces, des fibres optiques, des verres monolithiques ou encore des nano poudres calibrées, nanoparticules [50].

Le principe de cette méthode est basé sur les réactions inorganiques de polymérisation. Le processus sol-gel suit quatre étapes : l'hydrolyse, la polycondensation, le séchage et la décomposition thermique. Le précurseur (M) (métallique ou non-métallique) s'hydrolyse avec de l'eau ou de l'alcool suivant la réaction (1) Cette étape est suivie de la condensation, qui s'effectue soit en présence d'eau (réaction (2)) ou d'alcool (réaction (3)):

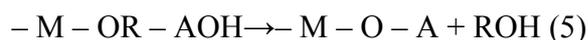


Où R est un radical organique

La réaction globale peut être exprimée par :



Selon le pH de la solution (par addition d'un acide ou d'une base), on peut favoriser l'hydrolyse de l'ion précurseur. Dans le cas du milieu acide, le précurseur réagit avec l'acide.



Après évaporation du solvant, la solution forme un gel. Dans le cas d'un solvant organique, des températures très élevées sont nécessaires pour sa décomposition. La taille des particules dépend des conditions opératoires telles que la composition de la solution, le pH et la température. Le contrôle de ces paramètres permet la formation de particules de taille désirée [1].

○ Synthèse radiolytique

La synthèse radiolytique de nanoparticules métalliques consiste à réduire les ions métalliques dans une solution aqueuse. Les espèces réductrices, notamment l'électron solvaté, sont issues du solvant lors de l'irradiation par un rayonnement ionisant, γ ou électrons. Dans

un milieu polaire, l'eau par exemple, le passage des rayonnements la décompose en produits radicalaires, moléculaires et ioniques. Les nanoparticules se forment par interaction des espèces réductrices issues du solvant, dont l'électron solvaté, avec les ions métalliques. Entre autres, les nanoparticules en solutions colloïdales de métaux comme l'argent, le cuivre [51] et les structures bimétalliques telles que or/argent [52], alliées ou en structure cœur-coquille. Cette méthode a permis aussi l'élaboration de nanoparticules de nickel supportées sur l'alumine [53], la cérine [54] et l'oxyde de titane [55].

De plus, grâce à la réduction radiolytique d'ions métalliques, de nombreux matériaux nanostructurés de platine et de palladium ont été élaborés sous différentes formes, sphériques et fils [56].

La synthèse radiolytique constitue aussi un moyen d'élaboration de nanoparticules semiconductrices [57]. La radiolyse pulsée par électrons accélérés permet la formation et l'étude de la croissance des particules.

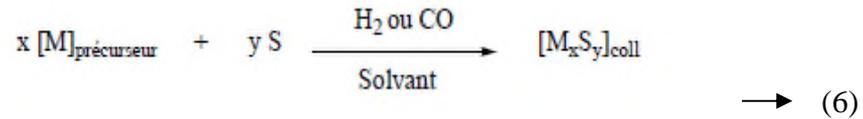
○ **Réduction de sels métalliques**

Les sols d'or de Faraday sont les premières nanoparticules sciemment synthétisées. Une solution colloïdale stable de nanoparticules d'or de 6 ± 2 nm de diamètre a en effet été obtenue par réduction d'un sel d'or (NaAuCl_4) avec une solution de phosphore, dans le disulfure de carbone [58]. La réduction de AuCl_4 ou AgNO_3 par le citrate de sodium a quant à elle permis d'obtenir respectivement des nanoparticules d'or de 20 nm de diamètre [59] et plus récemment d'argent beaucoup plus grande (60 à 200 nm de diamètre) avec une large distribution de taille [60].

○ **Décomposition de précurseurs organométallique**

Cette méthode de synthèse a été développée par le groupe de Chaudret. Elle consiste en la décomposition d'un précurseur organométallique sous atmosphère réductrice soit de dihydrogène soit de monoxyde de carbone et en présence d'agents stabilisants [61].

Les principaux agents stabilisants sont des ligands organiques ou des polymères. De nombreux précurseurs ont été utilisés comme par exemple le $[\text{Ni}(\text{COD})_2]$, le $[\text{Ru}(\text{COD})(\text{COT})]$, le $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$, le $[\text{Pt}_2(\text{dba})_3]$... [62].



M = Métal

S = Stabilisant

Le principal avantage de cette méthode est l'obtention de particules de petite taille ($f < 10$ nm) possédant une forme et une composition chimique de la surface bien définies. Une bonne reproductibilité des synthèses des clusters est également obtenue par ce mode de préparation.

I.2.3-Réduction électrochimique

La voie de synthèse électrochimique, largement développée par le groupe de Reetzetal, consiste en la dissolution oxydative d'une anode afin de former des ions métalliques qui vont ensuite être réduits à la cathode[63].

L'agglomération des atomes métalliques en présence d'un sel d'ammonium quaternaire servant à la fois d'électrolyte et d'agent stabilisant permet d'obtenir des nanoparticules stabilisées par effet électrostatique (Figure I.2) [64].

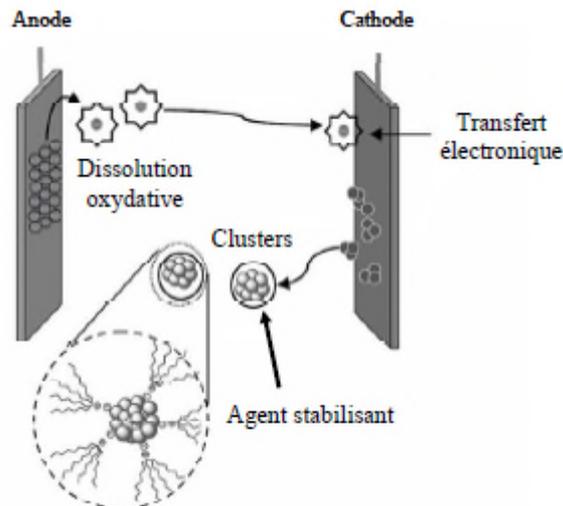


Figure I.2 : Synthèse de nanoparticules métalliques par la voie électrochimique

I.2.4- Synthèse biologique

La synthèse de nanoparticules métalliques est habituellement réalisée par différents procédés physico-chimique cités précédemment. Les produits chimiques utilisés lors de ces synthèses sont souvent toxiques et non respectueux de l'environnement.

Pour y remédier, des recherches ont été récemment menées sur la synthèse des nanoparticules en utilisant des produits biologiques naturels tels que les plantes. Ces produits sont utilisés sous forme d'extraits ou sous forme d'huiles essentielles solubles. L'intérêt de ce domaine de recherche est principalement au fait que les produit naturels n'agressent pas l'environnement et sont écologiquement satisfaisant.

Les extraits de plantes sont considérés comme des antioxydants et peuvent agir à la fois comme agents réducteurs et agents stabilisants [65].

Au cours des dernières années, des nanoparticules de nombreux matériaux ont pu être synthétisées par ce mode de synthèse :

D. Philip *et al.* (2009), a utilisé le miel naturel pour une synthèse verte des nanoparticules d'or. L'éventuel agent réducteur est le fructose et les protéines présentes dans le miel sont responsables de la stabilisation [66].

S. Yallappa *et al.* (2013) ont synthétisé des nanoparticules de cuivre de forme sphérique et de taille d'environ 23nm par irradiation micro-ondes en utilisant l'extrait d'écorce de *T. Arjuna* comme agent réducteur et agent stabilisant. La réduction complète des ions Cu^{2+} s'est produite en environ 8 minutes [67].

F. Gholamhoseinpoor *et al.* (2015) ont synthétisé des nanoparticules d'argent à température ambiante de taille moyenne de 20nm en utilisant un extrait de plante de *Z. tenuior* (*Zt*). La croissance des nanoparticules d'argent est arrêté dans les 35 min de temps de réaction [68].

Des nanoparticules bimétalliques or/argent ont été synthétisées à température ambiante en utilisant le jus de fruit de grenade par M. Meena Kumari *et al.* (2015) La réduction simultanée des ions d'or et d'argent conduit à la formation de l'alliage [69].

I.3- Romarin

I.3.1- Introduction

Le romarin vient du latin *rosmarinus officinalis* « Rosée de la mer », c'est un arbrisseau aromatique, peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus. La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai [70].



Figure I.3 : Plante de romarin (Rosmarinus officinalis)

I.3.2- Classification et origine de la plante

Le romarin fait partie de la famille des labiées c'est l'un des familles les plus répondues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres. Le romarin pousse sur les côtes méditerranéennes, et le sud-ouest de l'Asie et souvent cultivé dans le jardin comme clôture. Le romarin affectionne particulièrement les terrains calcaires. En Algérie, le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50000 hectares sur le territoire national [71].

I.3.3-Domaine d'utilisation de la plante

I.3.3.1- Industrie agro-alimentaire

❖ Alimentation

Les deux, l'épice et l'huile sont largement utilisé en alimentation, l'épice est utilisé dans les boissons alcoolisées, l'aliment cuit, viande et produit de viande, les aliments industriels, sauce et autre avec le niveau maximum utilisé est d'environ 0.41% (4.098ppm) dans les

aliments cuits. L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glacés, aliments cuits, gélatines avec le niveau maximum utilisé est d'environ à 0.003% (26.2ppm).

❖ **Alimentations diététiques, tisanes, herbales**

Des infusions, des poudres, extrait sec ou autres préparations galénique, pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac.

I.3.3.2-Industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle l'essence de romarin servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui elle rentre dans la composition de savonnerie, détergent, crème et la plupart des eaux de Cologne ; le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie [72].

I.3.3.3-Thérapie

- ❖ Le romarin était déjà cité en médecine arabe classique (Leclerc 1877) pour ses propriétés hépatotrope, diurétique et emménagogue qui sont dues aux présences des flavonoïdes [73].
- ❖ Les feuilles de romarin sont utilisées dans la phytomédecine européen pour brulures d'estomac et thérapie d'appui, des maladies rhumatismales ; en usage externe pour les problèmes de circulation [72].
- ❖ Le romarin a des effets d'inhibition contre les virus HIV-1[74] et certains cancers [75].

I.3.4-Propriétés de romarin

Les propriétés du romarin sont contenues dans les feuilles et les extrémités florales. Une des façons les plus simples de l'utiliser est de le prendre en infusion (ou en décoction), où ses propriétés digestives font merveille. On peut aussi, pour des traitements de longue durée, prendre des gélules vendues en pharmacie. Autre présentation : l'huile essentielle, utilisée soit en massages, soit dans le bain, soit par voie orale [76].

I.4- Méthodes d'extraction

I.4.1- Définition et rôle écologique

Généralement l'extraction est un procédé de séparation par lequel un matériau peut être traité par différentes méthodes. Dans les plantes, les extraits peuvent être stockés dans divers organes : feuilles, écorces, bois, racines. Parmi ces les composants majoritaires extraits, nous trouvons les trapézoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agent allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination. Par ailleurs, les plantes, ont fait l'objet de diverses recherches en particulier dans le domaine de la parfumerie [77,78].

I.4.2- Méthodes et équipement d'extraction

Avant l'extraction de substances aromatiques naturelles, il existe une préparation de la matière végétale d'où la qualité de l'extraction varie en fonction de la précision temporelle de la récolte dans l'année ou dans la journée à savoir le degré d'ensoleillement, l'humidité et la température. Certains facteurs influençant l'extraction sont aussi prépondérants :

- La nature du végétale
- La partie du végétal utilisée (bourgeons, fleurs, bois...)
- L'action choisie : - mécanique (hachage, broyage...)
- Chimique (dessiccation, macération ...).

I.4.2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, la matière végétale est soumise à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic.

Actuellement la technique la plus utilisée ressemble beaucoup à la précédente. Elle consiste à introduire la vapeur d'eau générée par une chaudière en deçà de la matière végétale contenue dans un alambic. A son passage, la vapeur d'eau entraîne l'huile essentielle des plantes pour être condensée et séparée dans un séparateur des phases. Au laboratoire, la vapeur est générée dans un premier ballon et acheminée verticalement entraînant avec elle l'huile essentielle contenue dans la matière végétale. Cette méthode a pour avantage d'éviter le contact prolongé

de la matière végétale avec l'eau en ébullition et évite donc la formation de certains artefacts [79].

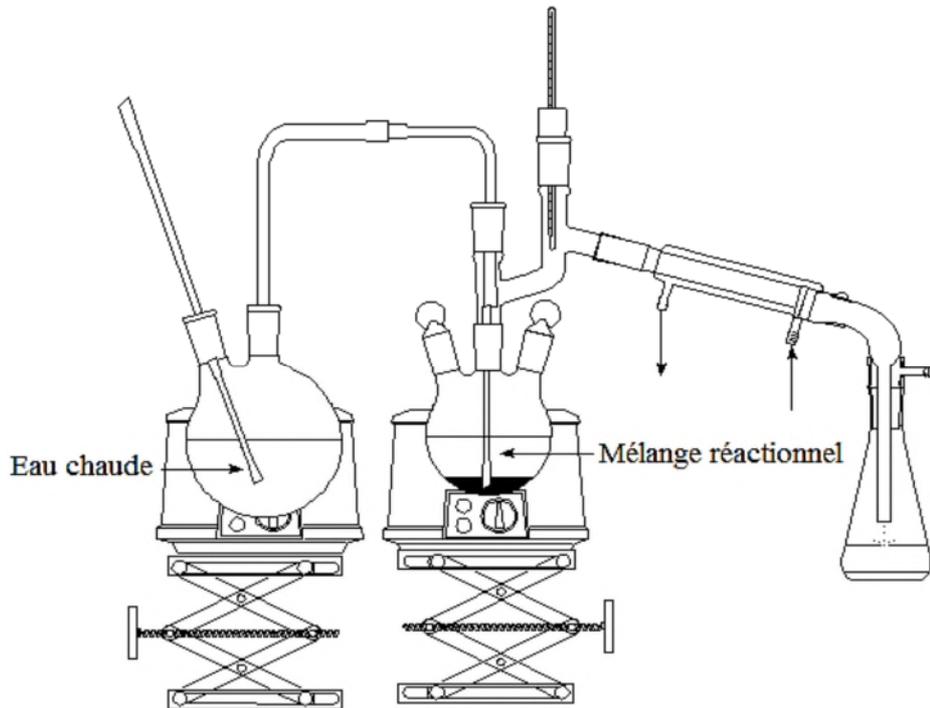


Figure I.4 : Montage d'hydrodistillation (entraînement à la vapeur)

I.4.2.2- Infusion

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur les plantes ou inversement, au moment précis où l'eau entre en ébullition. On couvre le récipient et on laisse infuser le temps nécessaire qui varie selon la nature de la plante de dix minutes à une heure. C'est par l'infusion que sont traitées les plantes médicinales les plus utilisées camomille, verveine...etc.

I.4.2.3- Décoction

Cette méthode s'opère en faisant bouillir les plantes, le plus souvent dans l'eau, parfois dans l'alcool. Elle convient surtout aux écorces, aux racines, tiges et fruits.

On laisse bouillir pendant un temps plus ou moins long selon les espèces, en général de 10 à 30 minutes. Pour extraire le plus possible de principes actifs, il faut avoir soin de couper les plantes en menus morceaux.

La différence entre la décoction et l'infusion est la température à laquelle les substances sont extraites d'une matrice naturelle (feuille, fleur, écorce...). Pendant la décoction, l'ébullition est maintenue et la température est donc maximale alors que l'infusion est réalisée à partir d'une eau, éventuellement très chaude, dans laquelle on plonge la plante. On ne maintient pas le chauffage pendant l'infusion. On extrait moins de substances lors d'une infusion, et on risque moins de décomposer les substances extraites si elles sont thermiquement peu stables, comme le sont de nombreux produits naturels.

I.4.2.4- Macération

La préparation s'obtient facilement en mettant les plantes en contact, à froid, avec un liquide quelconque soit du vin, l'alcool ou de l'huile. Le temps de contact est parfois très long .les macérations à l'eau, plus rarement employées, car elles ont l'inconvénient de fermenter facilement, ne doit pas de toute manière, excéder une dizaine d'heures.

I.4.2.5- Extraction à reflux

Une méthode qui consiste à mettre la poudre de la plante dans l'eau et chauffer jusqu'à l'ébullition qui empêche la perte de réactif ou de produit par évaporation. Dans la vase réaction (ballon), du fait de l'augmentation de la température certaine espèce chimique s'évaporent montent vers le réfrigérant au contact des parois ou s'écoule l'eau froide, les gaz refroidissent et se condense sous forme de gouttelettes sur les parois du réfrigérant et finissant par retomber dans la vase à réaction.

I.4.2.6- Extraction au soxhlet

C'est l'un des méthodes les plus utilisées, elle est adaptée pour les échantillons de faibles rendements d'extraction. L'échantillon est introduit dans un filtre, le solvant est placé dans le ballon sous-jacent et chauffé jusqu'à sa température d'ébullition. Après évaporation, le solvant se condense sur le réfrigérant en verre et tombe dans le réservoir. Lorsque ce dernier est plein, le solvant se déverse dans le ballon, et un nouveau cycle recommence. les durées d'extraction varient de 1 à 24 ,la quantité d'échantillon de 1g à 50g le type et la quantité de solvant de 150 à 300 ml .Les solvants les plus utilisées sont le dichlorométhane, le chloroforme, le toluène, l'hexane, le mélange hexane/acétone ou le méthanol[80,81] .

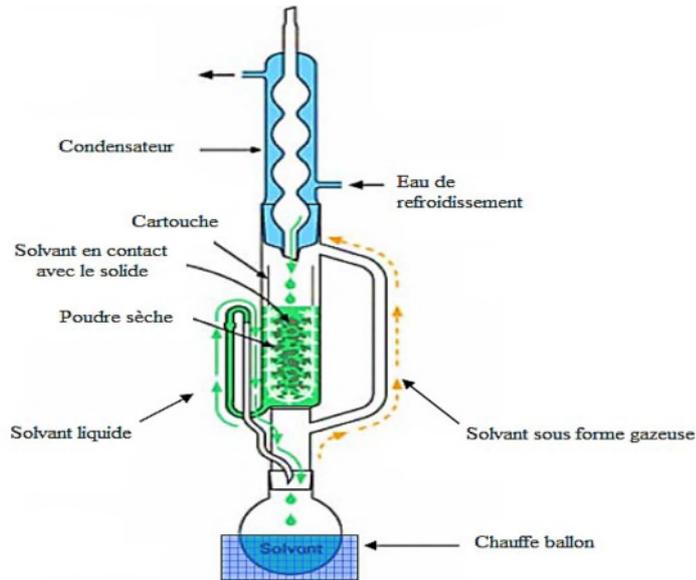


Figure I-5 : Schéma de l'appareillage d'extraction au Soxhlet

I.5- Electrocatalyse et oxydation de l'hydrazine :

I.5.1- Electrocatalyse

L'action d'un catalyseur consiste à diminuer l'énergie d'activation E_a d'une réaction thermodynamiquement possible (Figure I-6). Ainsi il augmente la vitesse de réaction (ou la sélectivité), c'est une action cinétique [82].

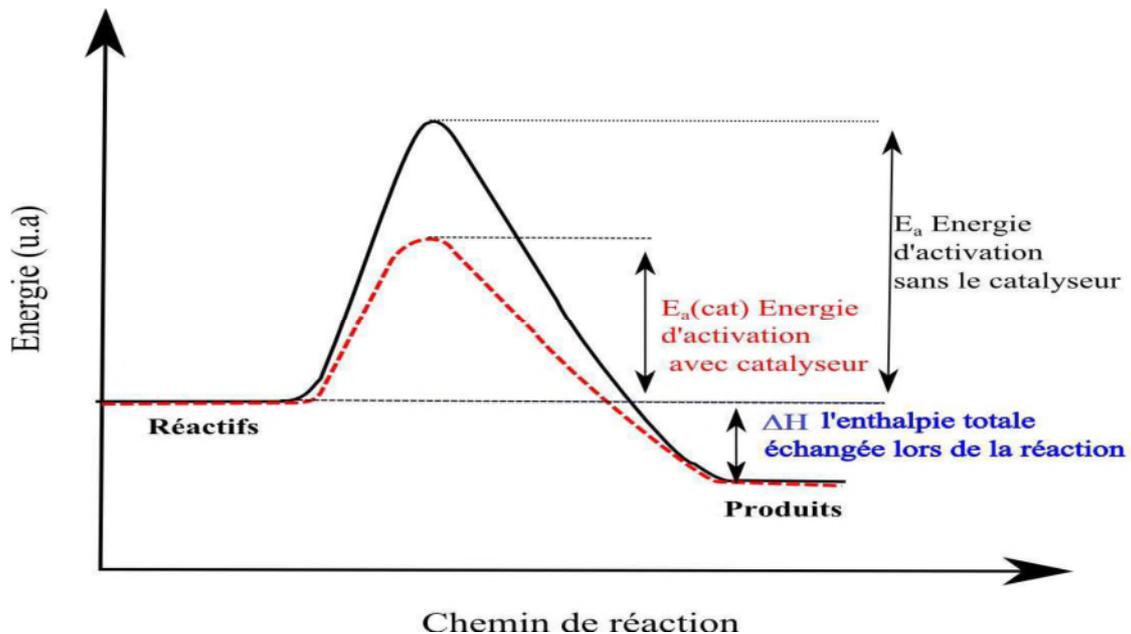


Figure I.5 : Barrière d'activation d'une réaction chimique. L'énergie d'activation est E_a sans catalyseur, $E_a(\text{cat})$ en présence d'un catalyseur et ΔH l'enthalpie totale échangée lors de la réaction.

En catalyse hétérogène, le réactif et le catalyseur ne sont pas dans la même phase physique. De ce fait, leur rencontre ne peut donc se faire qu'à l'interface entre les deux phases. La probabilité de rencontre mais aussi la cinétique de la réaction est d'autant plus grande que la surface de contact entre les deux phases est grande. Comme la réaction se passe à la surface du catalyseur, les caractéristiques de celle-ci sont cruciales pour sa réalisation. La forme, la structure et la surface du catalyseur jouent un rôle important. Il apparaît que les atomes de surface n'ont pas la même activité. Certains semblent plus actifs que d'autres. Ce constat a été fait pour la première fois par Taylor [83]. en 1926. A ce jour, dans le domaine de la catalyse hétérogène, le concept de « site actif » est couramment utilisé pour distinguer les atomes de surface de leur activité catalytique. Les travaux de Boudart [84] ont permis de classer les réactions catalysées en deux groupes : celles sensibles et celles insensibles à la structure du catalyseur. Contrairement aux réactions sensibles à la surface, les réactions insensibles sont indépendantes de la taille et du mode de préparation du catalyseur (particules).

En 1974, Manogue et al. [85] ont proposé de regrouper les réactions sensibles à la structure en trois sous catégories. Ainsi, une réaction est dite primaire lorsqu'elle requiert des sites de coordination particulière alors qu'une réaction sera dite secondaire lorsqu'elle est affectée par l'empoisonnement de la surface sur laquelle se déroulent les étapes élémentaires de la réaction. Enfin, la troisième sous-catégorie de réaction est une réaction qui ne dépend que du nombre exact d'atomes qui constitue le cluster. Ces réactions sont également appelées les réactions primaires sensibles à la taille. Ces concepts de la catalyse hétérogène sont à présent intégrés dans le vocabulaire des électrochimistes pour expliquer les effets de taille et de structure des particules observés en électrocatalyse [86].

En effet, l'électrocatalyse est une catalyse hétérogène par le matériau d'électrode dont la surface est le siège des réactions de transfert de charge qui se passent à l'interface électrode/électrolyte sous l'effet d'un potentiel appliqué. La surface du catalyseur joue alors un rôle très important. Catalyser une réaction par un matériau d'électrode n'implique directement que les atomes de surface de ce matériau. La taille, la forme, la structure ou globalement la morphologie sont des paramètres caractéristiques qui influencent les propriétés électrocatalytiques des nanomatériaux [87].

I.5.2- Oxydation de L'hydrazine

I.5.2.1-Définition

L'hydrazine est un composé chimique azoté de formule chimique (N_2H_4) et de formule semi développée (NH_2-NH_2). L'hydrazine est une poudre blanche soluble dans l'eau en toutes proportions avec une odeur rappelant celle de l'ammoniaque et de densité semblable à celle de l'eau [88].

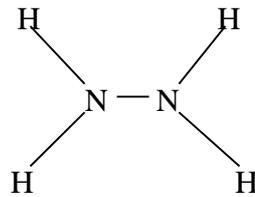


Figure I.7 : Structure chimique de la molécule de l'hydrazine

I.5.2.2-Domaine d'application

Hydrazine ($N_2 H_4$) est un puissant agent réducteur qui est largement utilisé dans l'industrie comme des antioxydants, des catalyseurs, des agents émulsionnants, et des agents réducteurs il est aussi utilisé en tant que réactif dans des piles à combustible militaires et des explosifs, un inhibiteur de corrosion dans les chaudières, un propulseur de fusée, et dans l'agriculture comme la production des insecticides, des herbicides, des pesticides, des colorants. L'hydrazine est également un combustible idéal pour un système de pile à combustible directe [89].

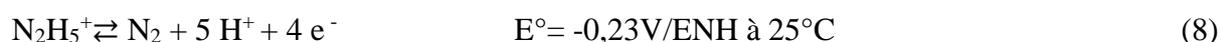
I.5.2.3-Toxicité et Risque

L'hydrazine (N_2H_4) est connue comme une neurotoxine est un composé cancérigène et mutagène, ce qui crée des anomalies du sang et des dommages irréversibles dans le système nerveux ; il est également une substance hépatotoxique avec des effets néfastes sur la santé sur le foie et le cerveau, susceptibles de provoquer des dommages à l'ADN. Les symptômes d'une exposition aiguë (à court terme) à des niveaux élevés de l'hydrazine comprennent une irritation des yeux, du nez et de la gorge, une cécité temporaire, des étourdissements, des maux de tête, nausée, œdème pulmonaire, des convulsions, le coma chez les humains. L'exposition aiguë peut également endommager les reins. Information sur les risques de cancer ne sont pas encore disponibles chez les humains, mais une incidence accrue de tumeurs pulmonaires et hépatiques ont été observées chez des souris exposées à l'hydrazine par

inhalation, ingestion d'eau, par l'intermédiaire de l'exposition et de l'injection. Les tumeurs dans les fosses nasales ont été rapportées chez les rats et les hamsters exposés par inhalation [90].

I. 5.2.4- Mécanisme d'oxydation de l'hydrazine

La réaction d'oxydation de l'hydrazine, sous forme neutre ou protomé est donnée par les équations suivantes:



Lee, en 1978, a calculé le potentiel standard d'oxydo-réduction du couple $\text{N}_2/\text{N}_2\text{H}_4$, dont les données sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau I.1 : Valeur du potentiel redox standard E^0 ($\text{N}_2/\text{N}_2\text{H}_4$) pour différentes températures

Température (°C)	E^0 ($\text{N}_2/\text{N}_2\text{H}_4$) (V/ENH)
25	-0,33*
100	-0,39
200	-0,46
250	-0,53
288	-0,55

La figure I.8, représentant le diagramme potentiel-pH de l'hydrazine, permet de visualiser l'évolution du potentiel standard du couple N_2 /hydrazine en fonction de l'acidité du milieu.

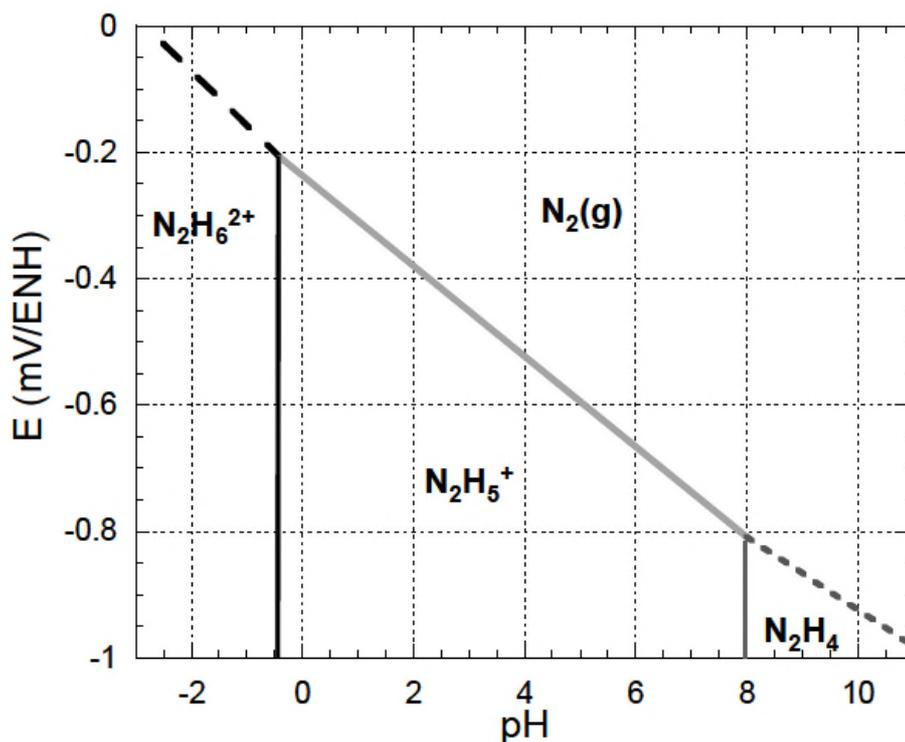


Figure I.8 : Diagramme potentiel-pH du couple N_2 /hydrazine à 25°C à partir de la réaction 9 pour une concentration des espèces en phase aqueuse de 1 mol.L^{-1} .

Cette figure montre que les propriétés réductrices de l'hydrazine sont beaucoup plus faibles en milieu acide qu'en milieu basique. Le potentiel standard de demi-réactions d'oxydation de l'hydrazine ou de l'ion hydrazinium a été établi à 25°C [91] :



I.6- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] A.H.Souici «Etude des propriétés optique et structurales de nanoparticules de *ZnS ET PbS induites par radiolyse*» Thèse de Doctorat, Université Constantine (2009).
- [2] M. Haïssinsky, A. M. Pujo, *C. R. Acad. Sci.* 240(1955)2630.
- [3] J. H. Baxendale, E. M. Fielden, J. P. Keene, *Proc. Roy. Soc. A* 286 (1965) 320.
- [4] M. O. Delcourt, J. Belloni, *Radiochem. Radioanal. Lett.* 13 (1973) 329.
- [5] N. Keghouche, S. Chettibi, F. Latreche; M. M. Bettahar, J. Belloni, J. L. Marignier. *J. Radiat. Phys. Chem.* 74 (2005) 18.
- [6] J. Bruneaux, H. Cachet, M. Froment, J. Amblard, M. Mostafavi, *Electroanal. Chem.* 269 (1989) 375.
- [7] J. Amblard, J. Belloni, O. Platzner, *J. Phys. Chem.* 88 (1991) 835.
- [8] M. Horisberger, M. T. Volanthen, *Histochemistry.* 77 (1983) 37.
- [9] A. I. Ekimov, A. L. Efrös, A. A. Onushchenko. *Solid. State. Comm.* 56 (1985) 921.
- [10] S. Kim, Y. T. Lim, E. G. Soltész, A. M. De Grand, J. Lee, A. Nakayama, J. A. Parker, T. Mihaljevic, R. G. Laurence, D. M. Dor, L. H. Cohn, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nature Biotechnology.* 22 (2004) 93.
- [11] L. StarkeyOtt, R. G. Finke, *Coord. Chem. Rev.* 251 (2007) 1075. R. G. Finke, dans *Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Applications* (Eds D. L. Feldheim, C. A. Foss Jr.), Marcel Dekker, New York Chapter 2 (2002) 17.
- [12] T. Graham, *Phil. Trans. Roy. Soc.* 151 (1861) 183.
- [13] M. Hosokawa, *Nanoparticle Technology Handbook*, (Elsevier B.V), (2007).
- [14] Haruta, M. (1997). *Catalysis Today* 36(1): 153-166.
- [15] Wang, C., van der Vilet, *Journal of Physical Chemistry C* 113(2009)45.
- [16] Joo, S. H., Park, J. Y, *Nano Letters* 107(2010)13.
- [17] Cuenya, B. R, *Thin Solid Films* 518(2010)12.
- [18] E.P.Sardella, R.Favia, M.Gristina, M. Nardulli, *Plasma Process. Polym.*, 3(2006) 456-469.
- [19] B.Gibbins, L. Warner, *Med. Dev. Diagnos. Ind.*, (2005) 112-116.
- [20] S.Pal, Y.K. Tak, J.M. Song. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73 (2006) 1712-1720.
- [21] I.Sondi, B. Salopek-Sondi, *J. Colloid Interf. Sci.*, 275 (2004) 177-182.
- [22] J.S. Kim., E. Kuk, K.N. Yu, J.H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, S.H. Kim, Y.K. Park, Y.H. Park, C.Y. Hwang, Kim Y.K., Y.S. Lee, D.H. Jeong, M.H. Cho. *Biol. Med.*, 3 (2007) 95-101.

- [23] Khan BehlolAyaz Ahmed, Swetha Subramanian, Aravind Sivasubramanian , Ganapathy Veerappan, AnbazhaganVeerappan, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 130 (2014) 54–58.
- [24] Neel, L. "*Théorie du traînage magnétique des ferromagnétiques engrains fins avec applications aux terres cuites.*" Annals of Geophysics 5: (1949) 99-136.
- [25] Yang, J. L., Toigo, F., Physical Review B 50 (1994) 11.
- [26] Link, S. and El-Sayed, M. A. Journal of Physical Chemistry B 103 (1999) 21.
- [27] Mock, J. J., Barbic, M., Journal of Chemical Physics 116 (2002) 15.
- [28] Salzemann, C., Brioude, A., Journal of Physical Chemistry B 110 (14): 7208-7212.
- [29] Kahn, M. L., Cardinal, T., Chemphyschem 7(2006)11.
- [30] Dabousi, B. O. R.-V., J. ; Mikulec, F.V. ; Heine, J.R. ; Mattoussi, H, Ober, R. ; Jensen, K.F. ; Bawendi, M.G. The Journal of Physical Chemistry B 101(1997) 9463-9475.
- [31] Duval, E., Boukenter, A, Physical Review Letters 56(1986)19.
- [32] Del Fatti, N., Voisin, C, Journal of Chemical Physics 110(1999)23.
- [33] Hodak, J. H. H., A ; Hartland, G.V, The Journal of Physical Chemistry B 104(2000) 5053-5055.
- [34] Courty, A., Mermet, A., Nature Materials 4(2005) 395-398.
- [35] Portales, H., Goubet, N., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105(39)(2008)14784-14789.
- [36] Charles P. Poole, Jr. Frank J. Owens, Frank, "Introduction to Nanotechnology", Wiley-Inter science Eds, New Jersey (2003).
- [37] Delphine SANHES, «*Nouveaux ligands dihydro anthracène vers la formation de nanoparticules et de complexes de palladium. Etudes de leur comportement catalytique dans différents milieux.* » , thèse de Doctorat, (2008), Université de Toulouse.
- [38] W. Cai, L. Zhang, *J. Phys. Condensed Matter*, (1997) 9, 7257.
- [39] L. Maya, M. Paranthaman, T. Thundat, M. L. Bauer, *J. Vac. Sci. Technol, B* (1996).
- [40] L. E. Depero, P. Bonzi, M. Musci, C. J. Casale, *Solid State Chem*, 111 (1994) 247.
- [41] M. Brust, M. Walker, *Journal of the Chemical Society- Chemical Communications* 7 (1994).
- [42] K. Wikander, C. Petit, *Langmuir* 22 (2006) 10.
- [43] A. Demortiere, C. Petit, *Langmuir* 23 (2007) 16.
- [44] J. Yang, J.Y. Lee, *Chemical Society Reviews* 40 (2011) 3.
- [45] C. Petit, M.P. Pileni, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 166 (1997) 1 -2.
- [46] I. Lisiecki, M.P. Pileni, *Journal of the American Chemical Society* 115 (1993) 10.

- [47] J.P. Wilcoxon, R.L. Williamson, *Journal of Chemical Physics* 98 (1993) 12.
- [48] C. Petit, P. Lixon, *Journal of Physical Chemistry* 97 (1993) 49.
- [49] A. Courty, I. Lisiecki, *Journal of Chemical Physics* 116 (18) (2002) 8074-8078.
- [50] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* 30 (2000) 545.
- [51] M. Mostafavi, N. Keghouche, M. O. Delcourt, *Chem. Phys. Lett.* 169 (1990) 81,
J. Khatouri, M. Mostafavi, J. Amblard, J. Belloni, *Chem. Phys. Lett.* 191 (1992) 351.
- [52] M. Treguer, Ch. De. Cointet, H. Remita, J. Khatouri, M. Mostafavi, J. Amblard, J. Belloni, R. DeKeyzer. *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 4310.
- [53] N. Keghouche, S. Chettibi, F. Latreche ; M. M. Bettahar, J. Belloni, J. L. Marignier. *J. Radiat. Phys. Chem.* 74 (2005) 18.
- [54] S. Chettibi, R. Wojcieszak, E. H. Boudjennad, J. Belloni, M. M. Bettahar, N. Keghouche. *Catal. Today*. 113 (2006) 15.
- [55] S. Chettibi, J. Belloni, J. L. Marignier, *Phys. Chem.* 45 (2004) 128.
- [56] G. Surendran, G. Apolstoescu, M. Tokumoto, E. Prouzet, L. Ramos, P. Beaunier, P. Kooyman, A. Etcheberry, H. Remita, *Small*. 1 (2005) 964.
- [57] M. Mostafavi, Y. P. Lin, P. Pernot, J. Belloni, *Radiat. Phys. Chem.* 59 (2000) 49.
- [58] M. Faraday *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 147 (1857) 145-181.
- [59] J. Turkevich, P.C. Stevenson, *Discussions of the Faraday Society* (1951) 11.
- [60] Z.S. Pillai, P.V. Kamat, *Journal of Physical Chemistry B* 108 (2004) 3.
- [61] K. Philippot, B. Chaudret, *Journal of Physical Chemistry* 6 (2003) 1019.
- [62] B. Chaudret, *C. R. Physique* 6 (2005) 117.
- [63] M. T. Reetz, W. Helbig, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 7401.
- [64] M. T. Reetz, S. A. Quaiser, *Angew. Chem. Int. Ed.* 34 (1995) 2240.
- [65] N. Jayachandra Reddy, D. NagoorVali, M. Rani, S. Sudha Rani, *Mat. Sci. Engin. C* 34 (2014) 115–122.
- [66] D. Philip, *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 650–653 (2009).
- [67] S. Yallappa , J. Manjanna , M.A. Sindhe , N.D. Satyanarayan , S.N. Pramod , K. Nagaraja, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 110 (2013) 108.
- [68] Babak Sadeghi, F. Gholamhoseinpoor. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 134 (2015) 310.

- [69] M. Meena Kumari, John Jacob, Daizy Philip. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 137 (2015) 185.
- [70] Jean Brineton. *Pharmacognosie, phytochimie-plante médicinale* (1991), 3^{ème} édition.
- [71] P. Iserin, M. Masson et J.P. Restellini. *Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins*. Ed Larousse, (2007) pp14.
- [72] Y.A. Leung, S. Foster, *Encyclopedia of common natural ingredients Used in foods, Drugs, And Cosmetics*, (1996) 445, 2^{ème} édition.
- [73] V. Hammiche, K. Maiza, *Traditional medicine in Central Sahara, Ethnopharmacology* 105 (2006) 358-367
- [74] Karin Schwarz and Waldemar Ternes, *isolation and formation of Other Phenolic diterpene, Z, Lebensmuntersuchung*, 195 (1992) 99.
- [75] B. Deans, *Chemical Composition Antibacterial, and Antioxidant Activity of Laurel, Sage, rosemary and Coriander Essential Oils. J. Essent oil Res.* 10 (1998) 618.
- [76] Bencheham Amrat et Homrouni Samia, « *Etude de l'Effet Inhibiteur de Corrosion des extraits aqueux de quelques plantes* » mémoire d'ingénieur, Université de Ouargla (2007).
- [77] L. Duval « *Les Huiles Essentielles à l'officine* » thèse de doctorat, Université de Médecine et de Pharmacie de Rouen, France (2012).
- [78] J. Brunechon « *Pharmacognosie* » Ecole technique de documentation, éd. Ravoilie (1987).
- [79] H. Bennar, L. Delbasse, C. Lesseq, J. Bensaid, M. Fournier, P. Vadooren, C. Caenoy, L. Guyer et W. Werquin, projet DESS QUALIMAPA (USTL-LILLE) (2002).
- [80] C. J. Guy, J. F. Ida, D. Lord « *Essential oils and microwave, extracts of cultivated plants* » *Perfumer and Flavorist* 17 (1992) 34.
- [81] E. Jardé « *Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration lorraines: caractérisation moléculaires et effets de la biodégradation* » Thèse de Doctorat, Université de Lyon, France (2002).
- [82] H. Seydou « *Études électrochimiques des nanoparticules d'or : corrélation structure/activité* » Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, France (2013).
- [83] H.S. Taylor, *The Journal of Physical Chemistry* 30 (1925) 145.
- [84] M. Boudart, *Chemical Reviews* 95 (1995) 661.
- [85] W.H. Manogue, J.R. Katzer, *Journal of Catalysis* 32 (1974) 166.
- [86] K. Kinoshita, *Small-Particle Effects and Structural Considerations for Electrocatalysis, Modern Aspects of Electrochemistry*, Plenum Press, 1982.

- [87] B. Blizanac, M. Arenz, P. Ross, M. Marković, *Journal of the American Chemical Society* 126 (2004) 10130.
- [88] AFSSET, *Les Nanomatériaux «Effet sur la santé de l'homme et sur l'environnement»*, France (2006).
- [89] G. Schmid «Nanoparticules: from theory to application » Wiley-VCH (2004).
- [90] C. Poole, F.J. Owens «Introduction to Nanotechnology» Wiley – Interscience Eds, New Jersey (2003).
- [91] S.DELAUNAY « *Réactivité de la magnétite dans les conditions représentatives du circuit secondaire des réacteurs à eau sous pression* » Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, France (2010).

CHAPITRE II

CONDITIONS EXPERIMENTALES ET METHODES D'ETUDE

Ce chapitre a pour but de présenter les conditions et les méthodes expérimentales utilisées dans le cadre de cette étude. Les techniques électrochimiques sont présentées, de manière à souligner leur intérêt et leur pertinence dans l'étude de la réactivité des particules métalliques (Cu, Ag et alliage Cu-Ag) obtenues par synthèse chimique en présence de l'extrait de la plante de romarin. Les méthodes d'analyse chimique et caractérisation de surface permettent d'apporter des informations complémentaires aux résultats issus des techniques électrochimiques.

II.1-Conditions expérimentales

II.1.1- Synthèse des nanoparticules Cu, Ag et Cu-Ag

Dans la littérature, différents types d'extraits de plantes sont utilisés comme réducteurs pour réaliser la synthèse de catalyseurs ayant la même composition et les mêmes propriétés. En effet, il a été reporté que les biomolécules présentes dans les extraits des plantes peuvent être utilisées pour réduire les ions métalliques aux nanoparticules. Ainsi, la méthode utilisée au cours de cette étude n'est pas unique. Le réducteur utilisé ici est l'extrait de la plante de romarin obtenu à reflux dans l'eau. En ce qui concerne les sels métalliques, nous utilisons pour le cuivre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, (Sigma-Aldrich 98%) et pour l'argent AgNO_3 (Merck 99,8%). De l'eau distillée constitue la phase aqueuse contenant les sels métalliques. L'agent réducteur utilisé est l'extrait de la plante de romarin obtenu par la méthode à reflux dans l'eau distillée.

Les paramètres susceptibles d'assurer la synthèse des nanoparticules métalliques (Cu, Ag, Cu-Ag) et de modifier les structures métalliques de l'alliage Cu-Ag ont été fixées :

- La concentration en sel métallique dans la phase aqueuse sera de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.
- Le rapport molaire en sel métallique dans la phase aqueuse est varié dans le cas de la synthèse de l'alliage Cu-Ag.
- Le volume de l'extrait de la plante de romarin est fixé à 20 ml car à des volumes inférieurs, le rendement en particules métalliques est très faible.

Le protocole utilisé ici pour préparer les nanoparticules de cuivre, d'argent et de l'alliage Cu-Ag est décrit comme suit :

- Une solution aqueuse 10 ml contenant les ions métalliques de cuivre ou d'argent est mise sous agitation.
- La solution réductrice (20 ml) (extraite de la plante de romarin) est versée dans la solution contenant le sel métallique et le tout est mis sous agitation. La solution qui est à l'origine limpide devient instantanément trouble et colorée suite à la formation des nanoparticules métalliques. L'agitation est maintenue pendant 4 heures de façon à ce que le rendement en nanoparticules soit maximal.
- Après précipitation de la phase solide, on procède à son lavage répétitif par l'eau distillée afin d'éliminer le reste de l'extrait de la plante de romarin. Le solide est séché dans l'étuve à la température de $70 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 12 heures afin d'obtenir une poudre métallique.

Pour préparer l'alliage Cu-Ag, la procédure est effectuée de la même manière que précédemment. Dans ce cas, les nanoparticules d'alliage (Cu-Ag) ont été synthétisées dans notre expérience en versant dans un bécher 10ml de la solution AgNO_3 (10^{-1}M) à laquelle on

rajoute simultanément un volume de 10ml de CuSO_4 (10^{-1}M) et 20ml d'extrait frais de romarin, pour obtenir un rapport molaire en Ag/Cu de 1:1. D'autres alliages Cu-Ag avec des rapports molaires en Ag/Cu de 1:2, 1:3, 1:4 et 1:5 sont obtenus en faisant varier le volume de la solution en CuSO_4 (10^{-1}M) de 20, 30, 40 et 50 ml respectivement.

Après synthèse des nanoparticules métalliques de Cu, Ag et l'alliage Cu-Ag, ces derniers sont soit utilisés directement comme agents antimicrobiens ou comme catalyseurs modifiant la pâte de carbone vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.

II.1.2- Elaboration de l'électrode à pâte de carbone graphite modifiée par les nanoparticules métalliques (CG-Cu, CG-Ag, CG-Cu-Ag)

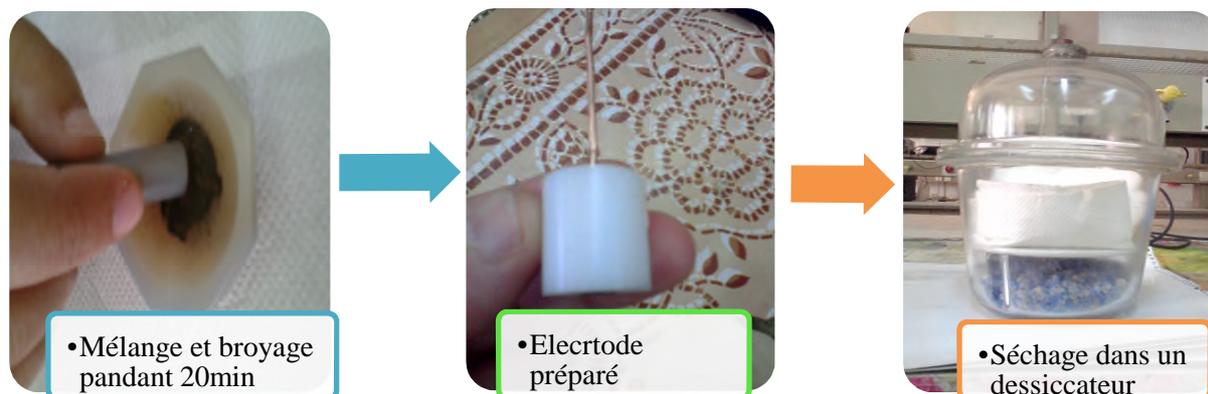
Dans le cadre de la détection de l'hydrazine par les nanoparticules de Cu, Ag et Cu-Ag, une électrode à pâte de carbone a été élaborée comme suit :

L'électrode à pâte de carbone modifiée a été préparée en mélangeant manuellement des quantités mesurées (tableau II.1) de microparticules de carbone graphite (CG), de la paraffine et du modifiant (Cu, Ag ou Cu-Ag) à l'aide d'un mortier et un pilon pendant 20 min, afin d'obtenir une pâte homogène avec la proportion massique désirée. Une certaine quantité de la pâte ainsi préparée est encastrée dans l'une des extrémités d'un tube en téflon ($s = 0,221 \text{ cm}^2$). Le courant électrique est assuré avec un fil en cuivre qui est relié à la pâte de l'autre extrémité du tube en téflon (figure II.1). La pâte de carbone graphite dépourvue des nanoparticules métalliques est préparée de la même façon que précédemment. Toutes ces électrodes sont séchées dans un dessiccateur pendant 24 heures à température ambiante.

La surface de l'électrode à pâte de carbone graphite est renouvelée par extrusion de la pâte puis polie à l'aide d'un papier abrasif lisse.

Tableau II.1- : Pourcentage du catalyseur et du carbone graphite utilisé pour la préparation des électrodes CG/catalyseur (Ag, Cu, (Ag-Cu))

Les électrodes préparé CG-Catalyseur		
% de carbone graphite	% de paraffine	%de catalyseur
80	20	0
75	20	5
70	20	10
65	20	15
60	20	20
55	20	25
50	20	30
40	20	40
30	20	50
20	20	60

*Figure II.1* : Les étapes de la préparation de l'électrode à pâte de carbone modifiée par les nanoparticules métalliques

II.1.3- Préparation de l'extrait de la plante de romarin

L'extrait de la plante de romarin étudié est obtenu par la méthode à reflux dans l'eau distillée selon la procédure suivante :

- La plante de romarin fraîchement récoltée, est lavée, et mise à sécher dans une étuve à température de 60°C afin d'éliminer toute trace d'eau.

- La plante séchée est broyée à l'aide d'un moulin, pour obtenir une poudre homogène (figure II.2).

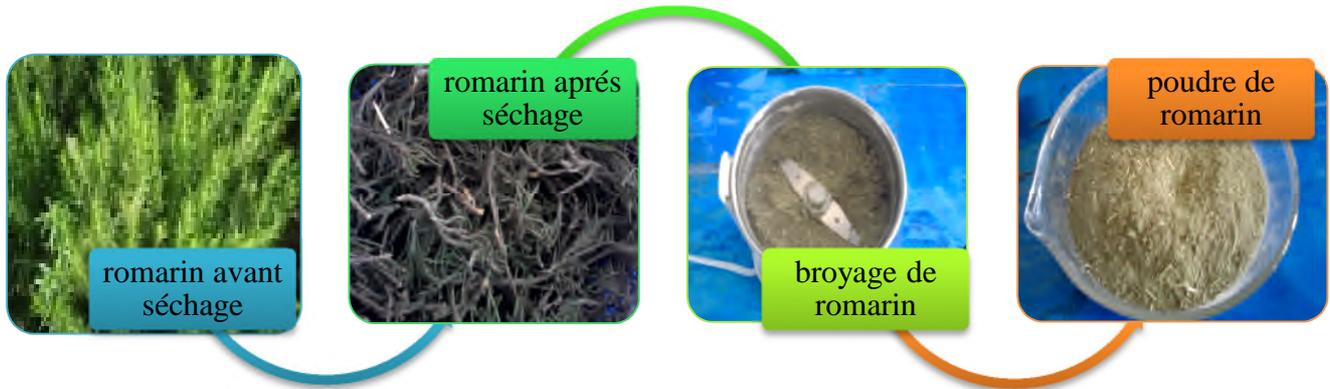


Figure II.2 : Préparation de la plante de romarin et son broyage

- Un mélange de 10 g de la poudre de romarin et 100 ml d'eau distillée sont placés dans un ballon et l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 1 heure. Les vapeurs, qui s'échappent du ballon, traversent un réfrigérant et se condensent (figure II.3).
- L'échantillon est laissé macérer durant une nuit.

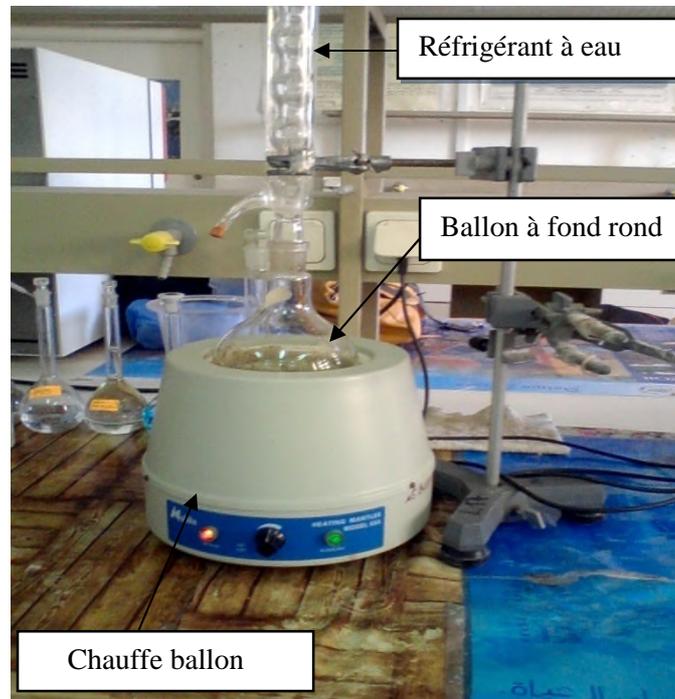


Figure II.3 : Schéma du montage de chauffage à reflux

- Le reflux est filtré pour éliminer toutes contaminations (figure II.4). L'extrait en solution est conservé dans une bouteille fumée dans un réfrigérateur

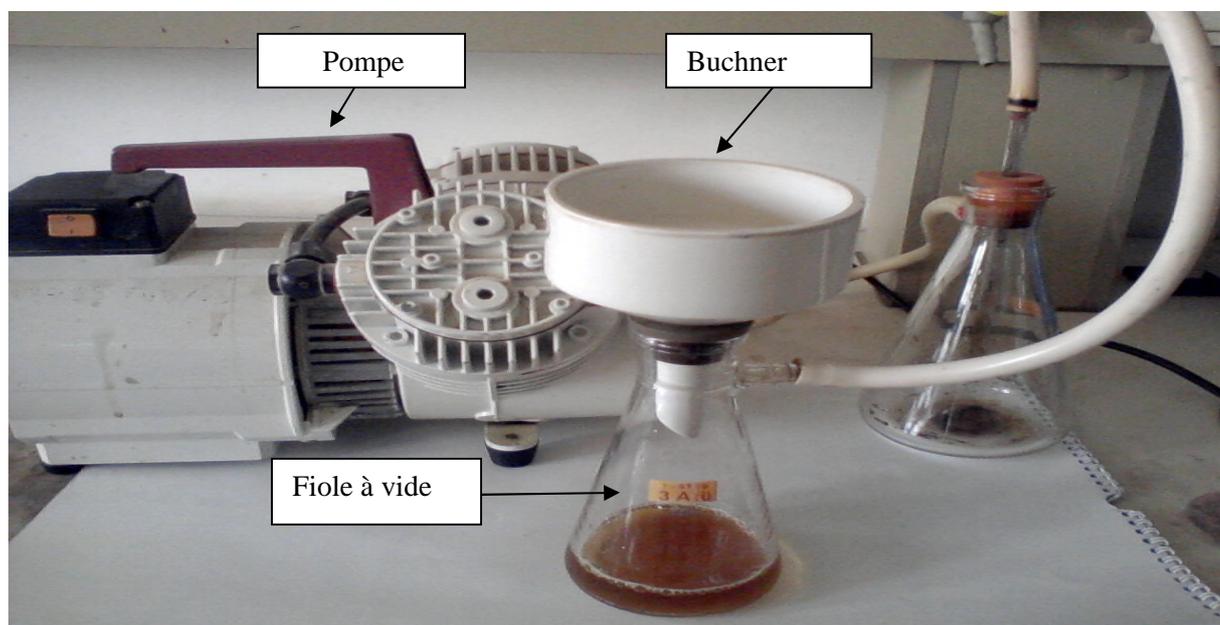


Figure II.4 : Filtration sous vide

II.1.4-Electrodes

Les caractéristiques des trois électrodes utilisées dans les tests électrochimiques de la détection de l'hydrazine sont les suivantes:

a) Electrode de travail (ET)

L'électrode de travail utilisée dans la détection de l'hydrazine est une électrode à pâte de carbone graphite modifiée par les nanoparticules métalliques (Cu, Ag et Cu-Ag), dont la surface géométrique ($S=0.221\text{cm}^2$) est exposée à la solution électrolytique.

b) Electrode de référence (ER)

C'est une électrode dont le potentiel est stable et reproductible quelque soit le milieu dans lequel elle est plongée.

Les électrodes de référence utilisées sont :

- Pour les tests électrochimiques de la détection de l'hydrazine, une électrode au calomel saturé «ECS», schématisée par la chaîne électrochimique: $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}$ saturé, est utilisée. Elle est placée aussi près que possible de l'électrode de travail pour minimiser la chute ohmique que peut provoquer la résistance de l'électrolyte (comprise entre l'électrode de travail et l'électrode de référence), son potentiel est de 0,241V/ENH (Electrode Normale à Hydrogène) à 25°C.
- Pour le suivie de l'évolution du potentiel libre pendant la synthèse chimique des nanoparticules métalliques, l'électrode de référence choisie est une électrode Ag/AgCl saturée en KCl schématisée par la chaîne électrochimique (Ag/AgCl/KCl) saturée. Tous les potentiels ont été référés par rapport à cette électrode (Ag/AgCl) et peuvent être transposés par rapport à l'électrode à hydrogène (ENH), d'après l'équation : $E(\text{ENH}) = E(\text{Ag}/\text{AgCl}) + 0,197 \text{ V}$.

c) Contre électrode (CE)

La contre électrode (ou électrode auxiliaire) est constituée d'une grille de platine de grande surface, son rôle est d'assurer le passage du courant électrique dans la cellule électrochimique, elle représente également le siège d'une réaction électrochimique. Sa position dans la cellule doit tenir compte des lignes du champ électrique, très concentrées au voisinage de l'électrode de travail.

II.1.5-Cellule électrochimique

Toutes les expériences électrochimiques sont réalisées dans une cellule à trois électrodes : une électrode de travail, une contre électrode et une électrode de référence. Le tout est mis dans un bûcher en verre contenant la solution à analyser à une température ambiante et dans un milieu aéré (figure II.1).

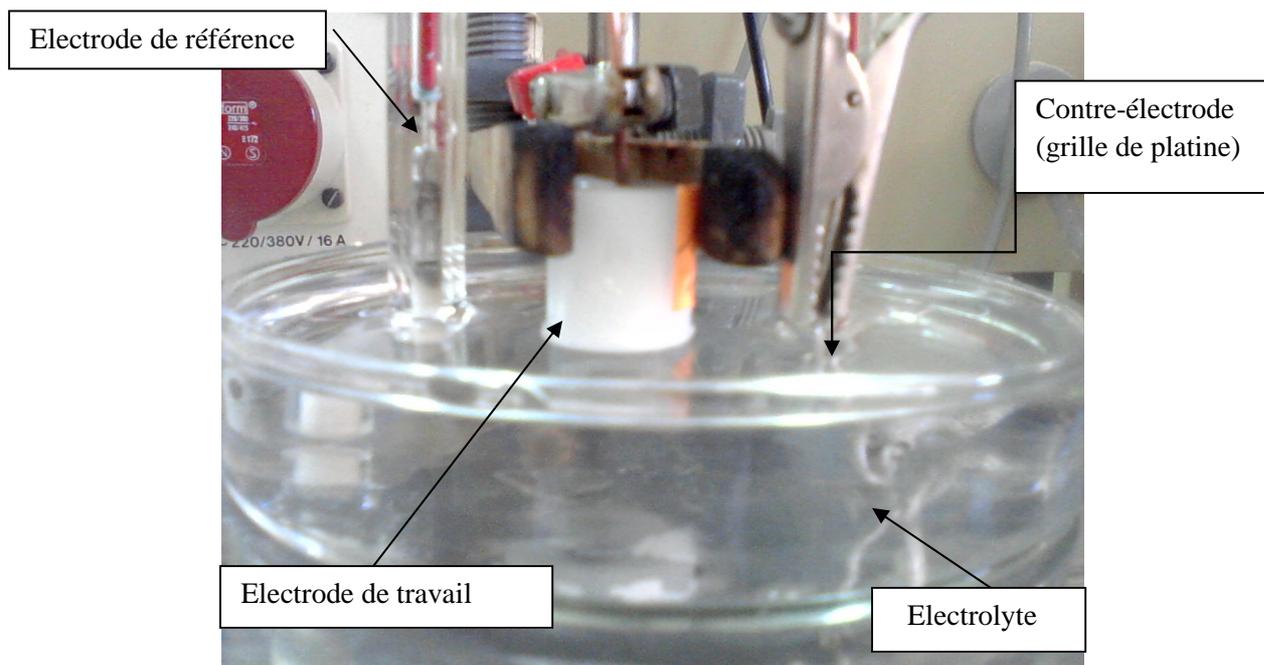


Figure II.5 : Schéma de la cellule électrochimique

II.1.6-Milieu de détection

Les tests d'oxydation de l'hydrazine sont réalisés dans une solution aqueuse d'hydrazine sulfate ($\text{H}_4\text{N}_2\text{H}_2\text{SO}_4$) (Fluka 98%) en ajustant son pH avec une solution aqueuse tampon phosphate 0,1 M, pH=7, préparée à partir de deux sels de phosphate :

-Potassium dihydrogénophosphaté (KH_2PO_4) (Sigma –Aldrich 99%).

-Di-potassium hydrogénophosphaté (K_2HPO_4) (Sigma –Aldrich 97%).

Les concentrations de l'hydrazine dans ce milieu tampon sont variées de 0 à 4 mM.

II.1.7- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

La recherche de l'activité antimicrobienne consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes (bactérie) soumis au produit synthétisé et ceci par « méthode de diffusion sur milieu gélosé ».

Les produits synthétisés (nanoparticule Ag, Cu, Ag-Cu) sont testés pour leurs activités antibactériennes vis-à-vis de deux souches :

- *Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif)
- *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram positif)

Cette étude est réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Bejaia.

a- Préparation de la suspension bactérienne

À partir d'une préculture âgée de 24 heures ensemencée sur une gélose nutritive, on prélève 3 à 4 colonies bien isolées avec une anse et on les émulsionne dans un tube contenant 5 mL de bouillon nutritif.

b- Technique de diffusion sur disque

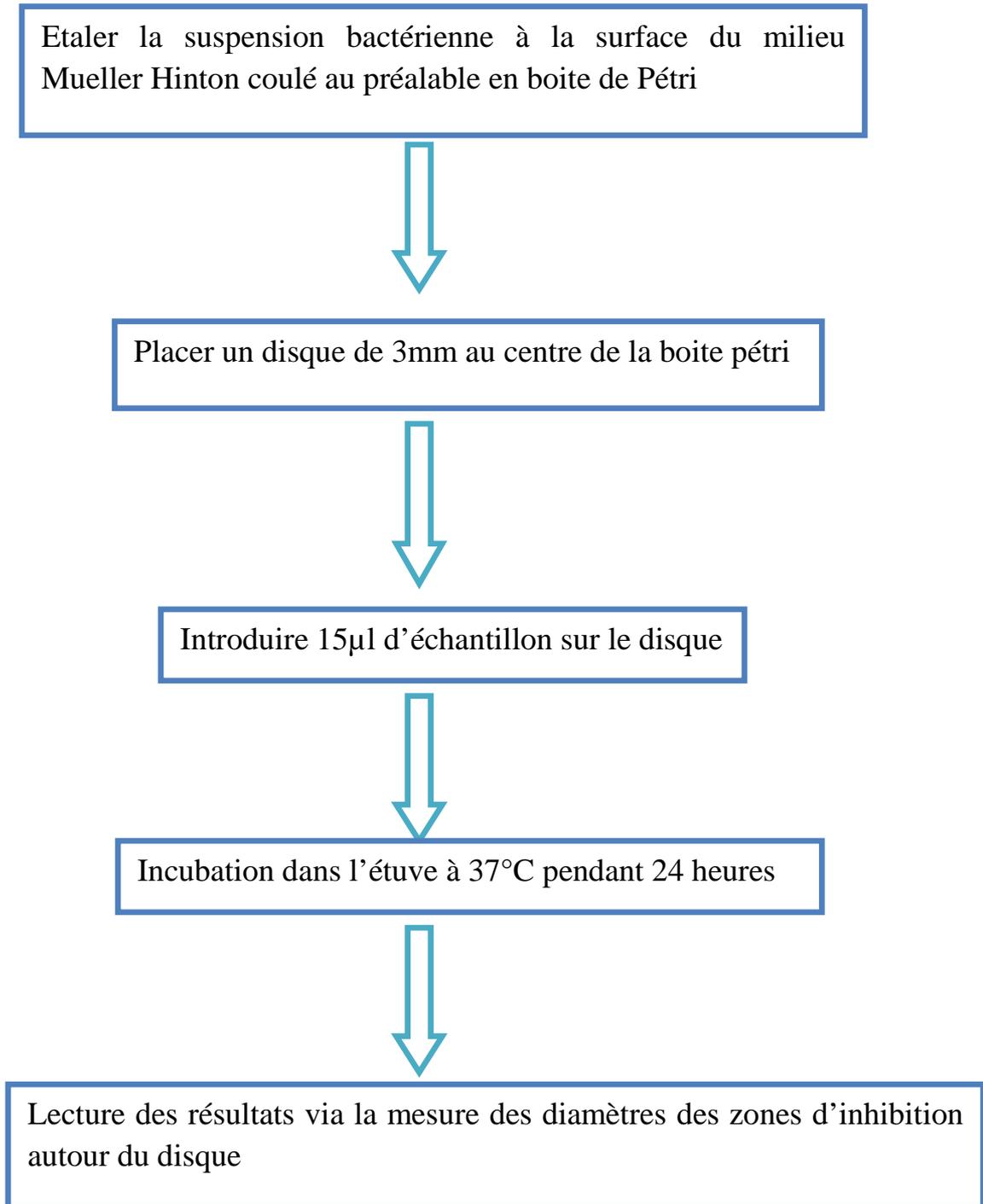
La mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos produits est effectuée par la technique de diffusion sur disque. Dans cette technique le milieu utilisé est celui de Muller-Hinton (milieu semi solide 16 g.L-1 d'agar), qui une fois coulé dans des boîtes de Pétri (d'une épaisseur environ de 4 mm), est ensemencé avec des souches bactériennes. Des disques en papier wattman sont placés au centre de la boîte à pétri.

c- Ensemencement des souches

A l'aide d'un tampon de coton-tige stérile qui a été trempé dans la suspension bactérienne préparée, la culture de bactérie est répandue sur la surface du milieu Muller-Hinton. 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 d'échantillon à analyser. Ces échantillons sont préparés en diluant les nanoparticules synthétisées dans 4.5 ml d'agar à 0.2%. Par la suite les boîtes sont incubées à 37° 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, boîtes de Pétris ouvertes le moins longtemps possible.

Etapes du test de l'activité antibactérienne



II.2-Dispositifs électrochimiques

Les mesures électrochimiques sont effectuées à l'aide de deux dispositifs :

- ✓ Le premier est constitué d'un seul appareil de mesure de marque AUTOLAB intégrant à la fois un Potentiostat / Galvanostat, commandé par le logiciel GPES pour les mesure chronoampérométriques, chronopotentiométriques et de voltampérométrie cyclique dans un large domaine de vitesse de balayage, représenté sur la figure II.6.

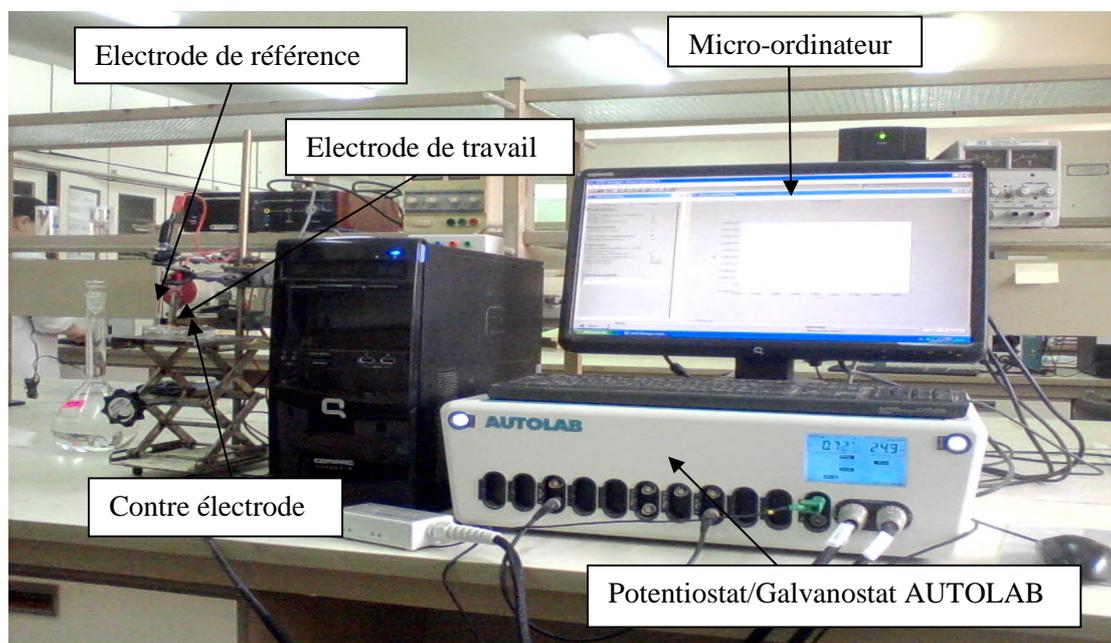


Figure II.6 : Dispositif expérimental de type AUTOLAB.

- ✓ Le deuxième montage électrochimique utilisé pour le suivi de l'évolution du potentiel libre pendant la synthèse chimique des nanoparticules métallique est constitué de (figure II.7):
 - Un voltmètre.
 - Une électrode de référence Ag/AgCl saturé en KCl.
 - Une électrode de travail constituée d'un fil métallique en Ag pour la synthèse des nanoparticules d'argent ou en cuivre pour la synthèse des nanoparticules de cuivre.
 -

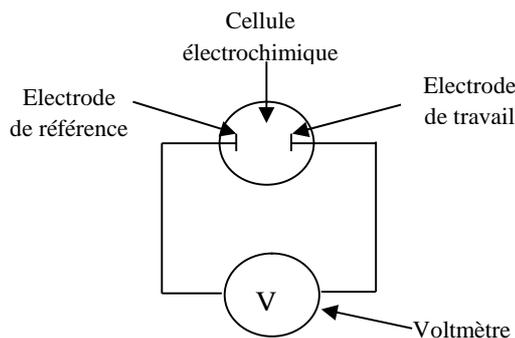


Figure II.7 : Schéma Dispositif expérimental pour des mesures du potentiel libre.

II.3- Méthodes d'étude

II.3.1- Méthodes électrochimiques

Pendant notre étude on a utilisé différentes méthodes électrochimiques qui sont présentées comme suit :

II.3.1.1- Chronoampérométrie

La chronoampérométrie est une méthode électrochimique qui consiste à imposer à l'électrode de travail une tension constante et à étudier l'évolution du courant en fonction du temps. La tension E appliquée est choisie sur la courbe courant-tension.

II.3.1.2- Voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie cyclique est une technique électrochimique basée sur la mesure des variations du courant en fonction de la tension appliquée (dans nos expériences, c'est le potentiel d'abandon de l'électrode de travail) aux bornes d'une cellule électrolyse et d'enregistrer la réponse en courant. Les courbes de polarisation $I=f(E)$ (ou courbes intensité-potentiel) ainsi obtenues nous renseignent sur les processus électrochimique mis en jeu.

II.3.2-Méthodes d'analyses utilisées

II.3.2.1- Diffraction des Rayons X(DRX)

Cette technique permet de déterminer les distances interatomiques et l'arrangement des atomes dans les réseaux cristallins. Comme les rayons X sont diffractés de façon différente par les éléments du réseau suivant la construction de ce dernier, l'irradiation de la matière par rayon X permet de connaître sa nature cristallographique. L'angle (2θ) de diffraction dépend de l'énergie du rayonnement incident et de la distribution spatiale des atomes (structure cristalline). Le spectre de diffraction constitue une empreinte caractéristique des structures cristallines analysées. Les mesures sont effectuées avec un appareil, constitué par un tube émetteur de rayons X qui irradie un échantillon, lequel diffracte une partie d'un rayonnement émis vers un système de détecteur. Cette technique permet principalement aux géologues d'identifier les minéraux. Les spectres de diffraction peuvent être obtenus directement à partir d'un fragment solide, ou de petites quantités de poudre (spectre de poudre).

Les mesures de DRX ont été effectuées sur un diffractomètre du type "Expert Prof Panalytical, type MPD et système vertical20" (figure II.8). Il est doté d'un tube à anticathode en Cu, un PDS passe (Programme divergence Slit, programme antiscatér) et une plateforme Spinner. La tension utilisée est de 45kV et le courant est de 30mA [3].



Figure II.8 : Diffraction des Rayons X (DRX)

II.3.2.2-Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible (UV-Visible)

La spectrophotométrie d'adsorption dans le domaine visible ou l'ultraviolet est une technique d'analyse très utilisée pour les substances minérales et organiques. Les matériaux absorbent la lumière différemment selon la longueur d'onde de la lumière. Ce phénomène est souvent responsable de la couleur des matériaux quand les absorptions concernent des longueurs d'onde du domaine visible.

La loi d'absorption est valable pour les spectres d'absorption dans les domaines ultraviolet et visible et même dans le domaine infrarouge. Cette loi est donnée par la relation suivant :

$$A = \log I / I_0 = \epsilon \times L \times C$$

A : Densité optique(ou absorbance)

I₀ : Faisceau de la lumière sortant.

L : Epaisseur de la cuve d'analyse.

ε: Constante de proportionnalité.

C : Concentration de la substance absorbante.

La transmission T est définie comme étant le rapport de deux intensités lumineuses :

$$T(\%) = I/I_0 \times 100$$

Dans ce travail, nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Visible de marque Spectro Scan 50, Split Beam (version3.3) (Figure II.9).



Figure II.9 : Spectrophotomètre Ultraviolet-Visible (UV-Visible)

II.3.2.4- Analyse thermogravimétrie

La thermogravimétrie est une méthode d'analyse utilisée pour la détermination de la stabilité thermique des polymères. Son principe consiste à suivre l'évolution de la masse d'échantillon au cours d'une remontée en température linéaire. La manipulation se fait sous gaz inerte (argon) puis s'achève sous l'oxygène.

Le dispositif de cette analyse est appelé thermobalance, qui est une combinaison d'une microbalance et un fourneau associé à un programmeur de température.

Les échantillons sont généralement de l'ordre de 5 mg, ils sont étudiés sur une plage de température pouvant aller de la température ambiante à 1000°C à des vitesses de l'ordre de 10°C/min. On obtient ainsi soit un tracé de TG (en% ou en mg) en fonction de la température ou en fonction du temps, soit le tracé de ATG (en % ou en mg/min) qui exprime la vitesse de dégradation de l'échantillon et qui se calcule par différentiation numérique.

Les analyses thermogravimétriques de nos échantillons ont été conduites entre 40 et 800°C à une vitesse de chauffe de 10°C/min sous argon.

L'appareil utilisé est de type LINSEIS STA Platinum 1600 .

II.3.2.5- Microscope électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est actuellement la méthode la plus utilisée pour observer la topographie ou la morphologie d'une surface avec une profondeur de champ beaucoup plus importante.

Son principe consiste à balayer la surface d'un échantillon par un faisceau d'électrons finement localisé pour en collecter, par détecteurs respectifs, les électrons secondaires et les électrons rétrodiffusés. Le spectromètre utilisé est de marque FEI Quanta 200.

II.3.2.6-Analyseur en fluorescence X en dispersion d'énergie (EDX)

Le spectromètre est généralement couplé avec le MEB. Il permet la détermination de la nature et de la concentration semi quantitative des éléments présents. Les Analyses sont possibles sur des échantillons petits ou grands à conditions qu'ils puissent entrer dans l'enceinte du MEB. Ils peuvent être massifs ou minces qui supportent le vide et le faisceau

d'électrons. L'impact des électrons produit un spectre d'émission X caractéristique. Le faisceau pénètre environ 1 μm de profondeur.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre est consacré à l'étude de la synthèse chimique des nanoparticules de Cu, d'Ag et de l'alliage Ag-Cu en présence de l'extrait de la plante de romarin comme agent réducteur. L'extrait vert de la plante de romarin, du nom scientifique «rosmarinus officinalis», est obtenu par la méthode à reflux dans l'eau. Nous avons choisi cette méthode pour son impact vis-à-vis de l'environnement.

Ces nanoparticules métalliques sont testées soit : directement comme agents antimicrobiens ou dans l'oxydation électrocatalytique de l'hydrazine en milieu aqueux en utilisant une électrode à pâte de carbone modifiée par ces nanoparticules métalliques. Pour ce faire, nous avons conjointement mis en œuvre des techniques microbiologiques et des méthodes électrochimiques, ainsi que des techniques d'analyse.

III.1- Caractérisation des nanoparticules métalliques de cuivre, argent et l'alliage argent-cuivre (Ag-Cu)

Pendant la synthèse chimique des nanoparticules (NP) métalliques de Cu, Ag et de l'alliage Ag-Cu en présence de l'extrait de la plante de romarin selon la méthode décrite au chapitre II (II.1.1), les analyses UV-visible, pH et le potentiel de réduction (E) ont été suivies. Aussi d'autres méthodes d'analyse (analyse MEB couplée à l'EDX, DRX et la thermogravimétrie) sont conjointement utilisées. Ceci permettra la confirmation de la synthèse de ces nanoparticules métalliques.

III.1.1- Analyse UV-visible

L'effet du temps sur la synthèse des nanoparticules métalliques et l'identification de la formation de nanostructures a été vérifié en suivant l'évolution des spectres d'absorption UV-visible pendant la synthèse chimique.

Dans le cas de la synthèse des nanoparticules de cuivre la réaction a été suivie pendant 60min. La figure III.1 montre un pic d'absorbance dans le domaine du visible à environ 708 et 728nm, en fonction du temps de synthèse. Il est à noter qu'avec l'augmentation de la durée d'agitation, les pics deviennent plus nets. La formation des NP commence dès la première minute de synthèse et augmente jusqu'à 30min. Après ce temps, l'augmentation de l'absorbance du pic se ralentit et enfin une saturation est observée aux temps longs jusqu'à 60 min. [1].

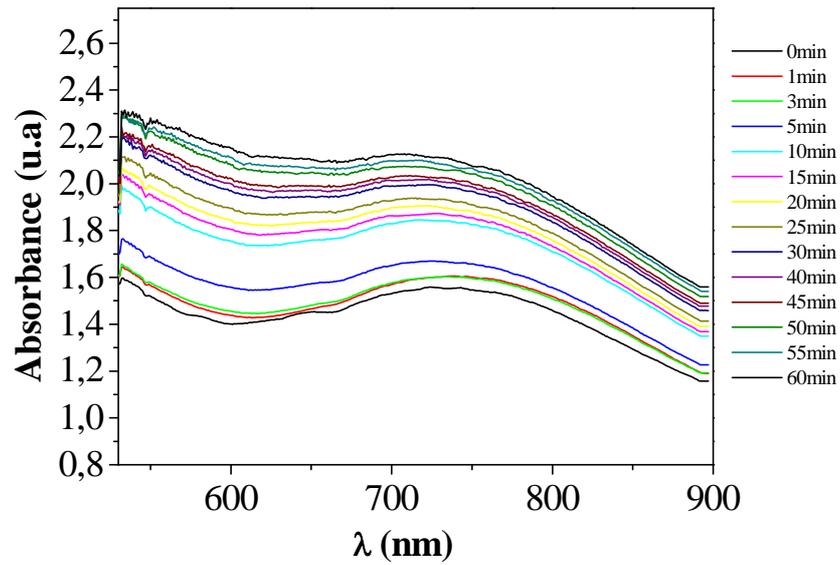


Figure III.1 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml de CuSO_4 (0,1M) et 20ml de l'extrait de romarin.

A titre de comparaison, on a également analysé l'extrait aqueux de romarin par l'UV-visible. Le spectre enregistré (figure III.2) ne présente aucun pic sur toute la longueur d'onde balayée (400-900nm) et son allure diffère de celle du spectre obtenu du mélange de solutions de CuSO_4 et de l'extrait vert. Ceci confirme de plus la formation des nanoparticules de cuivre.

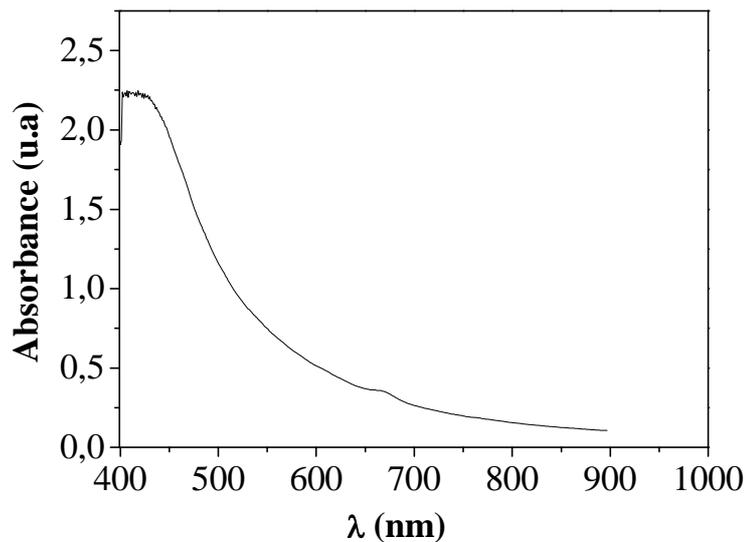


Figure III.2 : Les spectres d'absorption UV-visible de l'extrait aqueux de la plante de romarin.

Lors de la synthèse chimique des nanoparticules d'argent, il est observé que la couleur du mélange (10ml AgNO_3 +20ml Romarin) se tourne du jaune pâle à une couleur noire. Ces couleurs sont dues à l'excitation de vibrations de plasmon de surface dans les nanoparticules métalliques [1]. Ces changements de couleur distincte fournissent ainsi des preuves visuelles de la formation des nanoparticules.

La Figure III.3 montre les résultats de la réaction entre les ions Ag^+ et la solution d'extrait de la plante de romarin en fonction du temps dans le mélange réactionnel. Après agitation, un pic d'absorption apparait sur un domaine de longueur d'onde qui varie de 533 à 613 nm en fonction du temps de synthèse. La bande de résonance de plasmon de surface en argent augmente progressivement en intensité en fonction du temps. Ceci est probablement dû à l'accroissement de la taille des particules dans la solution colloïdale. Ce résultat est en accord avec celui de la littérature [2].

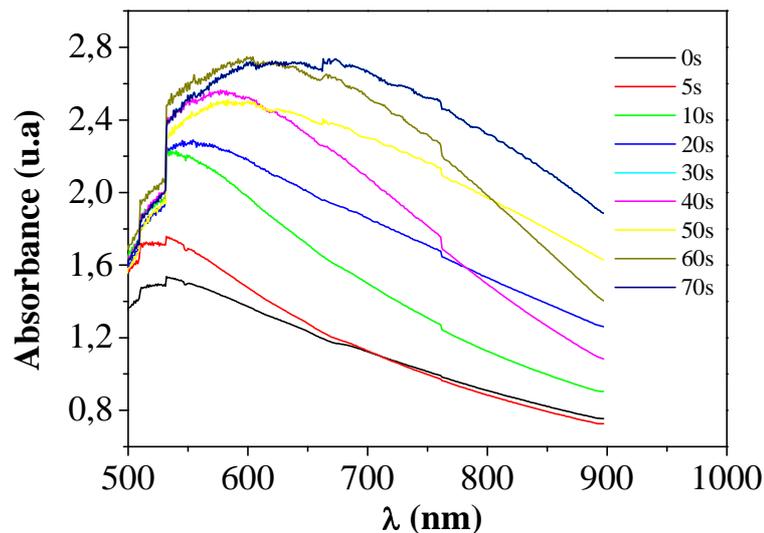


Figure III.3 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml d' AgNO_3 (0,1 M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin.

Les ions Ag^+ et Cu^{2+} présents dans la même solution sont simultanément réduits par l'extrait de romarin pour former des nanoparticules bimétalliques de l'alliage Ag-Cu. L'effet du temps sur la synthèse des NP Ag/Cu a été effectué en utilisant la spectroscopie UV-vis de 0 à 120s.

La figure III.4 représente les tracés de l'absorbance de la solution des nanoparticules argent-cuivre en fonction de la longueur d'onde du temps de synthèse. La réduction des ions

métalliques dans ce mélange réactionnel (10ml d'AgNO₃+10mlCuSO₄+20 ml de l'extrait de la plante de romarin) se produit assez rapidement avec une forte bande d'absorbance qui se décale de 758 à 777nm en fonction du temps de synthèse. Il est à noter que l'allure de ces spectres ainsi que la longueur d'onde enregistrée sont différentes de celle observée sur les spectres enregistrés par les nanoparticules de cuivre et d'argent. Ceci indique clairement la formation des nanoparticules bimétalliques de l'alliage Ag-Cu.

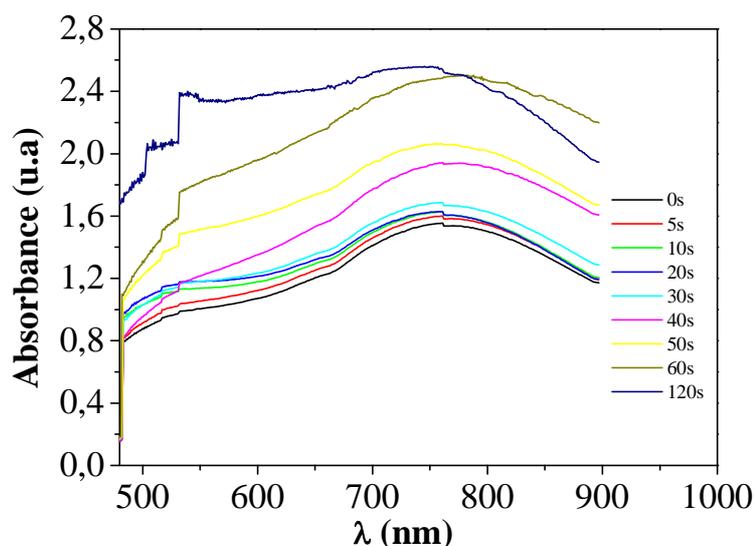


Figure III.4 : Les spectres d'absorption en fonction du temps d'un mélange de solutions de 10ml d'AgNO₃ (0,1 M) + 10ml de CuSO₄ (0,1M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin.

III.1.2- Evolution temporelle du potentiel de réduction et du pH dans le mélange réactionnel

Afin de comprendre la capacité réductrice de l'extrait de la plante de romarin, le potentiel de réduction (E) et le pH du mélange réactionnel (ion métallique et l'extrait de la plante de romarin) ont été mesurés en utilisant un voltmètre et un pH-mètre, respectivement. Cette procédure est utile pour le choix d'un matériau de plante adapté pour la réduction d'ions métalliques.

Avant d'entamer cette expérience, il est donc utile de vérifier expérimentalement les potentielles d'équilibre des couples redox Cu²⁺/Cu et extraitⁿ⁺/extrait, qui sont de l'ordre de

0,092V_{Ag/AgCl} et -0,308V_{Ag/AgCl}, respectivement. Conformément à ces résultats, la réaction de réduction de cuivre (équation III.1) a lieu dans ces conditions.



La variation du pH et du potentiel (E) de réduction du mélange réactionnel (extrait de la plante de romarin+ ions cuivre) en fonction du temps est représentée sur la figure III.5.

Les résultats obtenus révèlent que l'augmentation du potentiel E de réduction des ions cuivre (conformément à l'équation de Nernst (équation III.2)), de 60 mV_{Ag/AgCl} (initialement) à 91mV_{Ag/AgCl} (après 90 min de synthèse), indique la consommation des biomolécules présentes dans l'extrait vert, ainsi que l'auto-oxydation des espèces réductrices.

$$E_{redox} = E_{redox}^0 + \frac{0,06}{n} \text{Log} \frac{[ox]}{[red]} \quad (\text{III.2})$$

Selon la figure III.5 (b), le pH du milieu a également diminué en raison de la libération de H⁺ par les espèces de l'extrait de la plante au cours de leur oxydation, le pH initial décroît de 3,2 jusqu'à 3.

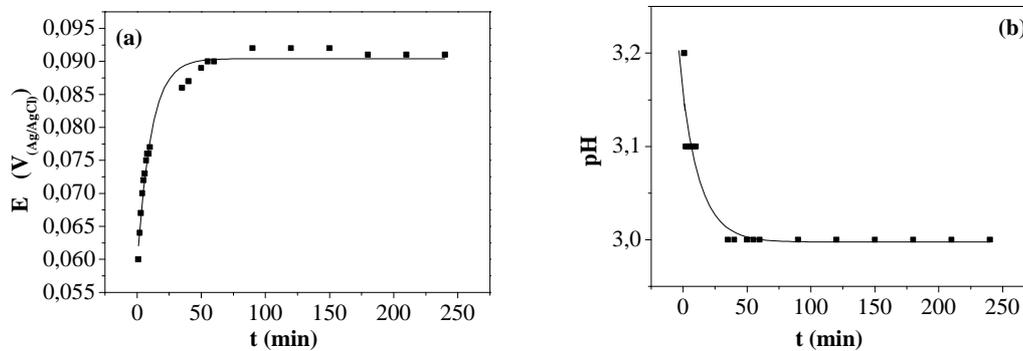


Figure III.5 : Variation temporelle (a) du potentiel redox et (b) du pH du mélange réactionnel de 10ml de CuSO₄ (0,1M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

De la même manière que précédemment, les potentiels d'équilibre des couples redox Ag⁺/Ag et extraitⁿ⁺/extrait ont été mesurés et les résultats obtenus montrent que le potentiel redox de l'Ag est de l'ordre de 0,553 V_{Ag/AgCl} qui est plus positif que celui de l'extrait. Dans ce cas la réaction de réduction des ions Ag⁺ a lieu en présence de l'extrait de la plante de romarin.

La variation temporelle du potentiel redox et du pH pendant le processus de réduction dans le mélange réactionnel (Ag^+ + extrait de romarin) est représenté sur la figure III.6. Dans ce cas le potentiel redox diminue avec le temps, dû probablement à la réduction de l'espèce active (Ag^+). Alors que le pH diminue dans les premiers instants puis augmente et se stabilise avec le temps. L'augmentation du pH peut être attribuée à la libération des ions OH^- par les espèces actives.

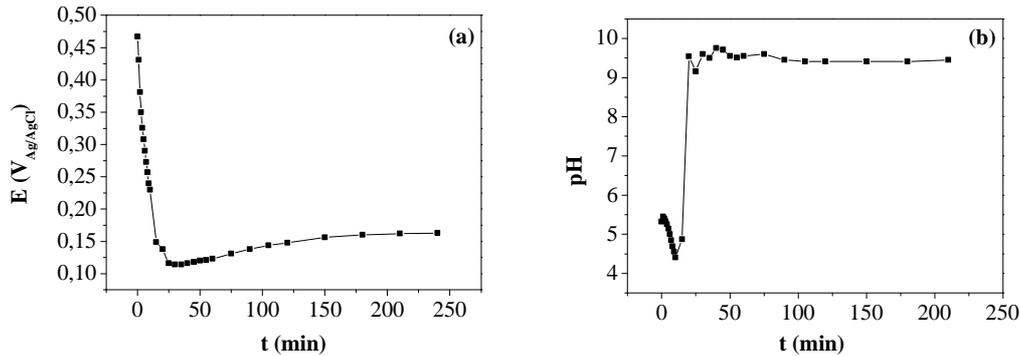


Figure III.6 : Variation temporelle (a) du potentiel redox et (b) du pH du mélange réactionnel de 10ml d' AgNO_3 (0,1 M) et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

Pour ce qui est de l'alliage Ag-Cu, l'évolution du potentiel redox et du pH en fonction du temps a été étudié en faisant varier le rapport molaire $\text{Ag}^+/\text{Cu}^{2+}$ (figure III.7) ainsi que le volume de l'extrait de la plante de romarin (figure III.8). Dans les deux cas, le potentiel redox diminue avec le temps suite à la réduction des deux espèces actives. De la même manière, le pH décroît en fonction du temps, en raison de la libération des protons par les espèces de l'extrait de la plante au cours de leur oxydation.

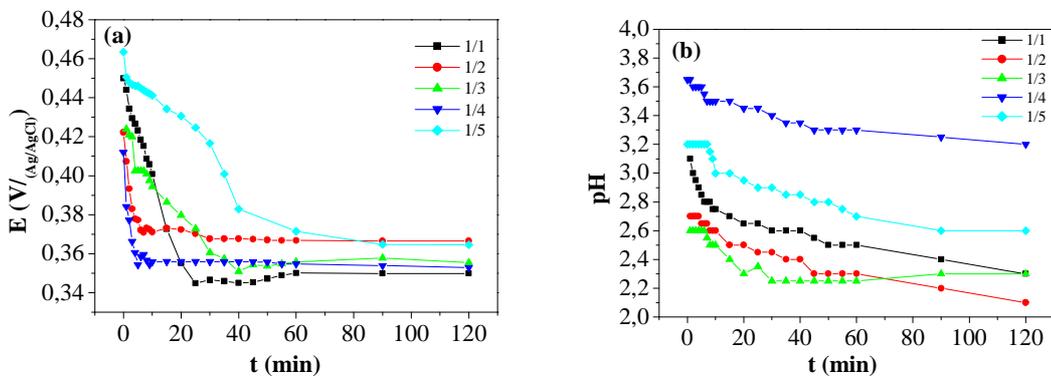


Figure III.7 : Variation temporelle (a) du potentiel redox et (b) du pH, en fonction du rapport molaire (Ag/Cu), du mélange réactionnel de 10ml de AgNO_3 (0,1M) + 10ml CuSO_4 et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

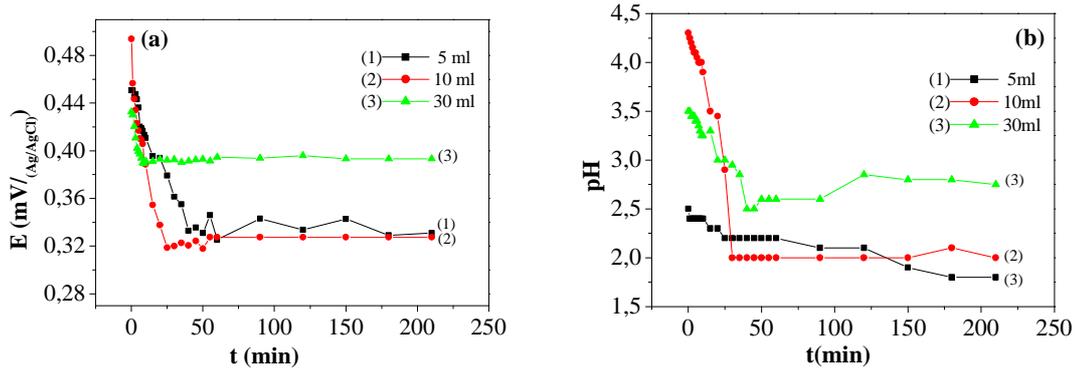


Figure III.8 : Variation temporelle (a) du potentiel redox et (b) du pH, en fonction du volume de l'extrait vert, du mélange réactionnel de 10ml de AgNO_3 (0,1M) + 10ml CuSO_4 et 20 ml de l'extrait de la plante de romarin pendant le processus de réduction.

III.1.3- Analyse DRX

Une étude par DRX pour les poudres des nanoparticules métalliques est réalisée afin d'observer d'éventuels changements structuraux. Les spectres DRX des nanoparticules métalliques de Cu, Ag et leur alliage Ag-Cu sont présentés dans la figure III.9.

Le spectre (1) de la figure II.1, relatif aux nanoparticules métallique de cuivre (Cu) présente un pic large et de faible intensité situé à $2\theta = 43.9562^\circ$.

Le spectre enregistré par les nanoparticules d'argent présente cinq nouveaux pics, situés respectivement à $2\theta = 38.3160^\circ$; $44,4338^\circ$; $64,6105^\circ$; $77,5436^\circ$ et $81,5959^\circ$ indique la formation des nanoparticules métallique Ag. Cependant, le pic intense observé à $2\theta = 38,3160^\circ$ correspond à une orientation (1 1 1).

Le spectre (3) caractéristique aux nanoparticules d'alliages Ag-Cu est semblable à celui d'Ag. La différence qui existe entre ces deux spectre est que les pics enregistrés par l'alliage Ag-Cu sont plus intenses ce qui confirme de plus la formation de l'alliage Ag-Cu.

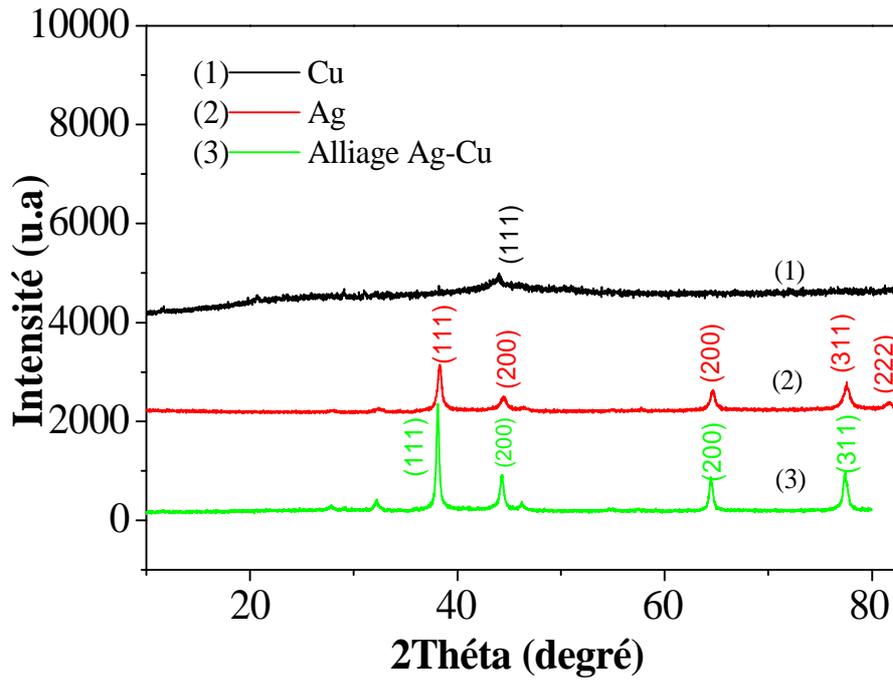


Figure III.9 : Diagramme DRX des différentes poudres.

L'effet du rapport molaire Ag/Cu sur la structure cristallographique de l'alliage est également étudié. Suivant la figure III.10, tous les spectres enregistrés présentent quatre pics distingués à $2\theta = 38.3160^\circ$; $44,4338^\circ$; $64,6105^\circ$ et $77,5436^\circ$. Cependant, l'intensité des pics diminue avec la diminution du nombre de mole de Cu^{2+} dans le milieu réactionnel.

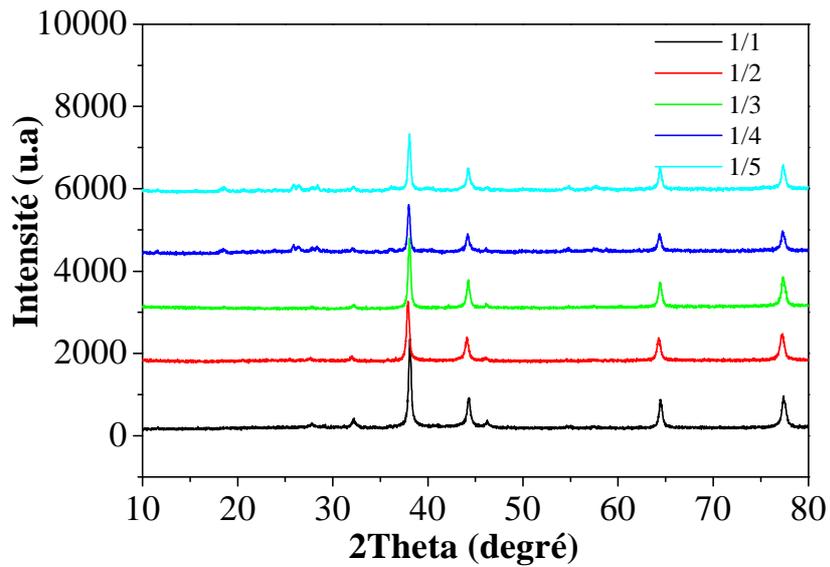


Figure III.10 : Diagramme DRX des différentes poudres de l'alliage Ag-Cu obtenu à différents rapports molaires $\text{Ag}^+/\text{Cu}^{2+}$.

Dans la préparation de l'alliage Ag-Cu de rapport molaire 1/1 nous avons fait varier le volume de l'extrait de la plante de romarin (5, 10, 20, 30 et 50ml). Les résultats obtenus (figure III.11) montrent que l'intensité des pics augmente avec l'accroissement du volume de l'extrait jusqu'à 20ml, puis se stabilise. Ce résultats explique que l'extrait joue un rôle important dans la formation de l'alliage et le volume de 20 ml et largement suffisant.

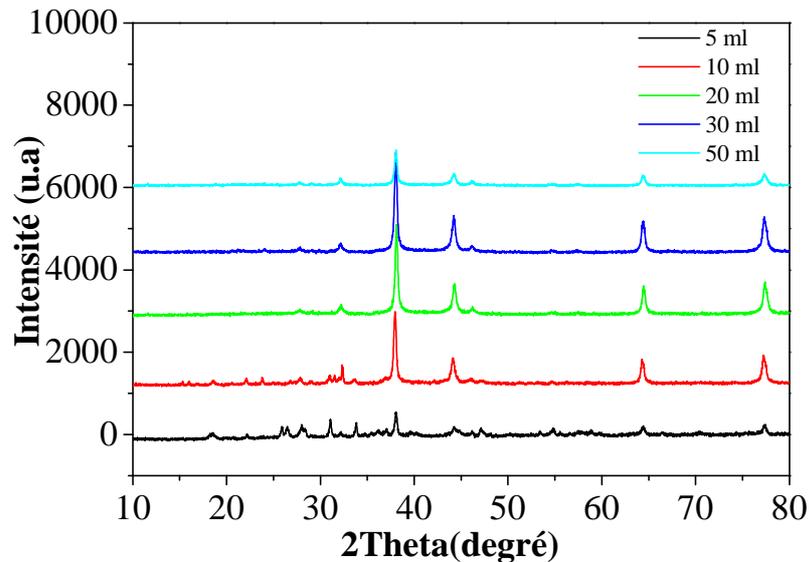


Figure III.11 : Diagramme DRX des différentes poudres de l'alliage Ag-Cu obtenu à différents volumes de l'extrait de la plante de romarin (10, 20, 30 et 50ml).

L'estimation de la taille des cristallites a été étudiée en utilisant la formule de Scherrer[3]:

$$d = 0.9 \lambda / \beta \cos \theta \text{ (III.3)}$$

où :

d : le diamètre des particules

λ : longueur d'onde des rayons X incidents

β : largeur à mi-hauteur du pic (full width at half maximum FWHM)

θ : angle de diffraction.

Le tableau III.1 regroupe les informations sur la taille moyenne des cristallites de Ag, Cu et Ag-Cu calculée par la formule de Scherrer en utilisant le logiciel X' Pert High Score.

Tableau III.1 : la taille moyenne des cristallites d'Ag, Cu et Ag-Cu calculée par la formule de Scherrer

Cristallites	Diamètre (nm)
Ag	18.7
Cu	17.5
Ag-Cu (1/1)	62.9
Ag-Cu (1/2)	58.8
Ag-Cu (1/3)	62.8
Ag-Cu (1/4)	50.3
Ag-Cu (1/5)	54.6

III.1.4- Analyse thermogravimétrique

L'Analyse thermogravimétrique (ATG) nous a permis de suivre l'évolution de la masse de l'échantillon au cours d'une augmentation de la température linéaire et la dégradation thermique de résidus végétaux.

Les analyses thermogravimétriques de nos échantillons ont été conduites entre 30 et 800°C à une vitesse de chauffe de 10°C/min sous argon.

La figure III.12 représente les courbes ATG (SETARAM TG-DTA 92) tracé en mg en fonction de la température.

La perte de poids initial, qui varie de 0.5 - 2 mg (de la température ambiante à 100 ° C) est attribuée à l'évaporation des molécules d'eau adsorbées. La perte de poids subséquente est entre 2 et 12 mg (de 100 à 550 °C) est attribuée à la dégradation de la bio-masse recouvrant les NPs. Ensuite, les pertes de poids à 800 ° C sont négligeables. Le comportement observé est probablement dû à la désorption sur la surface des molécules bioactives de l'extrait de plante de romarin qui sont responsables de la réduction des espèces ioniques.

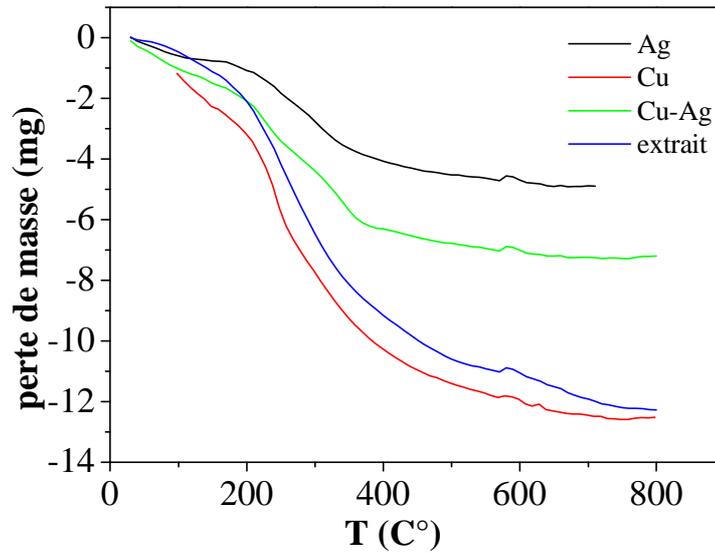
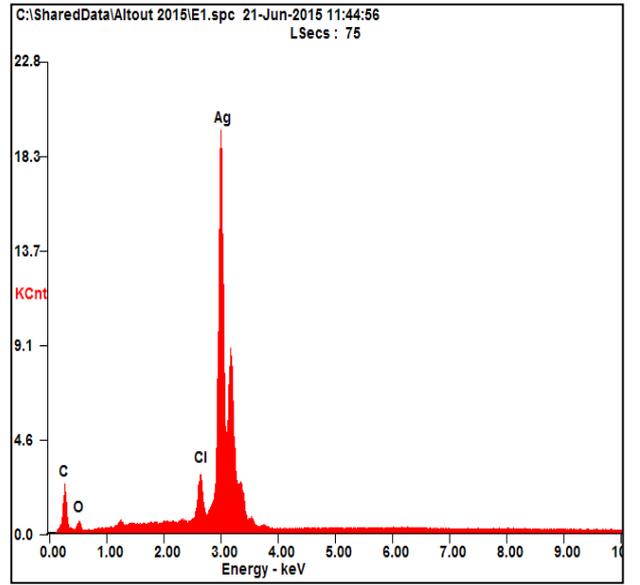
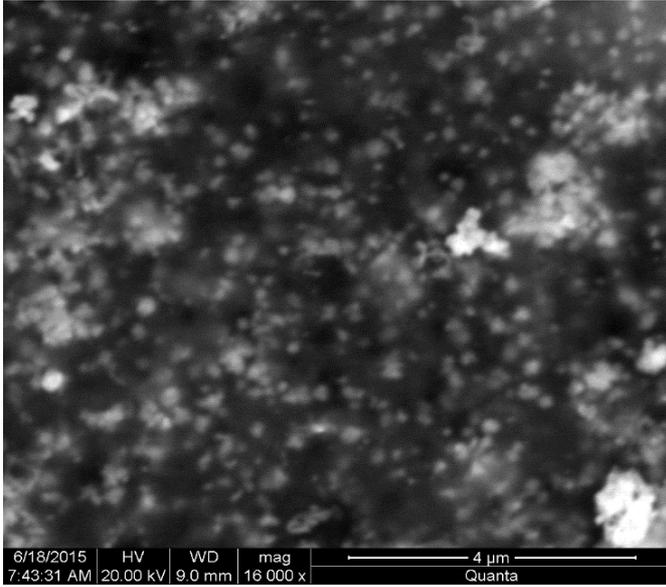


Figure III.12 : Courbes thermogravimétriques obtenues sur des poudres de Cu, Ag, Cu-Ag et l'extrait de la plante de romarin.

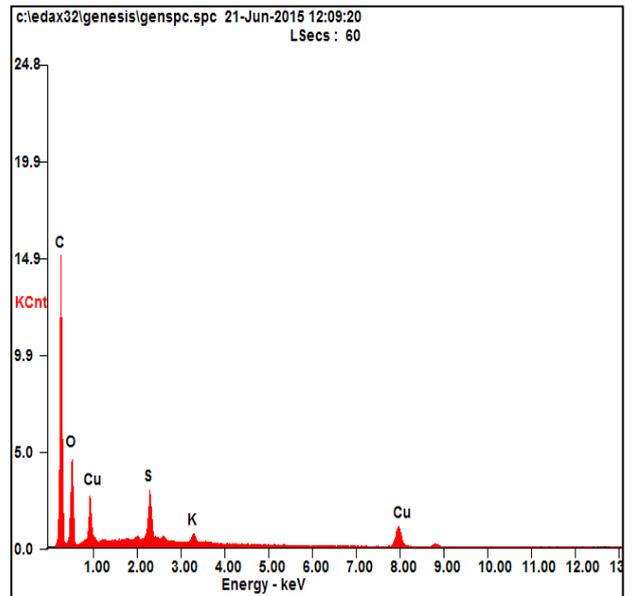
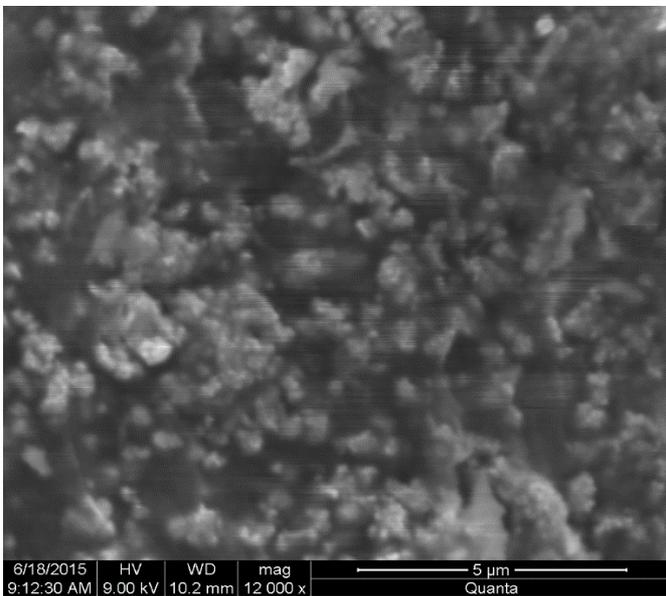
III.1.4- Analyse MEB couplée à l'EDX

La figure III.13 montre les images MEB et les spectres EDX de l'Ag, de Cu et de l'alliage Ag-Cu. Il est clair que les particules ont presque la forme sphérique avec un diamètre très petit de l'ordre nanométrique. En outre, aucune différence significative de la morphologie n'est observée entre l'Ag, le Cu et l'alliage Ag-Cu. Les spectres EDX confirme que seuls l'Ag, le Cu et Ag-Cu sont les principaux éléments présents ici. Les quantités mineures de C et d'O enregistrées sont attribués à la biomasse végétale attachée sur les nanoparticules métalliques. En effet, le spectre EDX de l'extrait vert enregistré fait état de la présence des éléments C, O, Na, Mg, S, P, Cl, K et Ca caractéristiques de l'extrait. Les résultats similaires sont rapportés dans la littérature [4,5] des nanoparticules d'Ag et de Cu en utilisant les extraits de plantes.

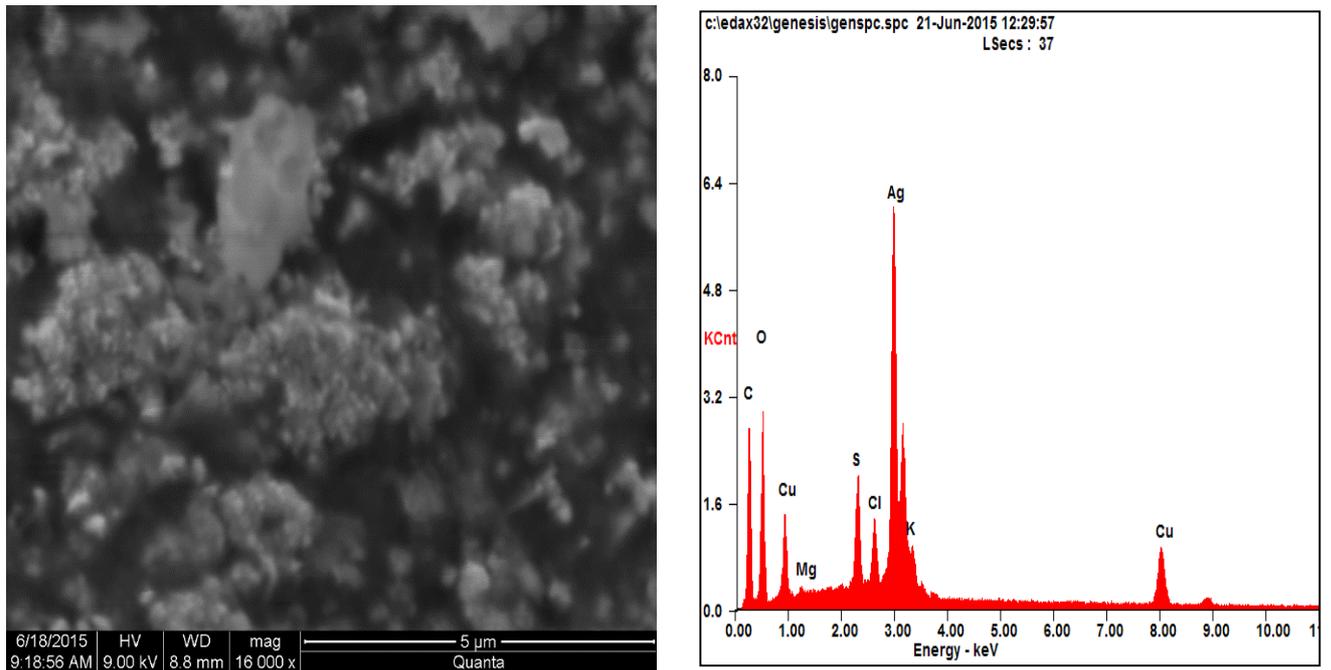
Ag



Cu



Ag-Cu



Extrait de la plante de romarin

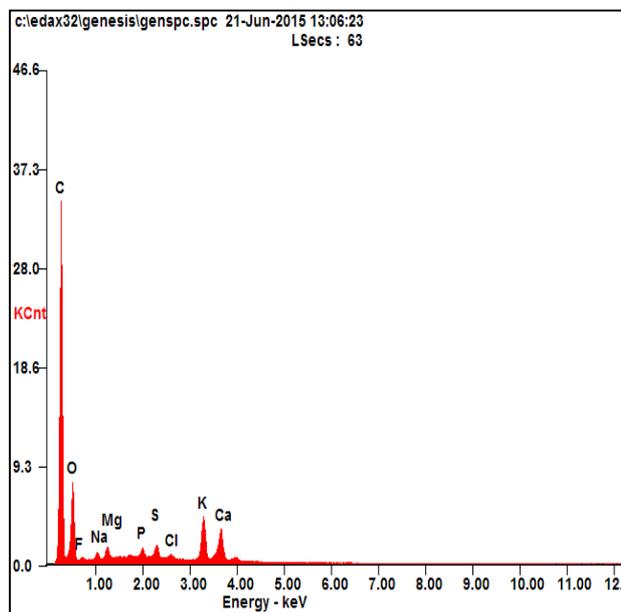


Figure III.13 : Images MEB et leurs spectres EDX Correspondants de l'Ag, le Cu et l'alliage Ag-Cu et le spectre EDX de l'extrait de la plante de romarin.

III.2- Application des nanoparticules métalliques de Cu, Ag et Ag-Cu vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine

Cette partie est consacrée à l'application des électrodes à pâte de carbone modifiées par des nanoparticules de Cu, Ag et Ag-Cu à l'oxydation de l'hydrazine.

Ces électrodes modifiées sont préparées selon la méthode décrite au chapitre II. Le comportement électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine a été étudié dans une solution aqueuse d'hydrazine et un tampon phosphate à 0,1M, pH=7.

III.2.1- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par le cuivre (CG-Cu) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine

III.2.1.1-Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG-Cu vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

La figure III.14 montre les voltampérogrammes correspondants à l'oxydation de l'hydrazine obtenue sur des électrodes à pâte de carbone en absence (CG) (figure III.14 (b)) et en présence de 15% en nanoparticules de cuivre (CG-Cu15%) (Figure III.14(c)) dans le milieu tampon phosphate contenant 2mM en hydrazine, et à titre comparatif à celui d'une électrode à pâte de carbone en présence de 15% en nanoparticules de cuivre (CG-Cu15%) obtenu dans le milieu tampon phosphate seul (figure III.14(a)) à une vitesse de balayage de 10 mV/s.

L'analyse de ces résultats montre que l'électrode à pâte de carbone en présence de 15% en nanoparticules de cuivre (figure III.14(c)) donne une meilleure activité électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine, avec apparition d'un pic d'oxydation bien définie aux alentours de 549 mV_{ECS}. Contrairement au cas de la pâte de carbone graphite (CG) seule qui ne présente aucune activité électrocatalytique (figure III.14 (b)). Ceci est relié à la grande surface spécifique des particules de cuivre présentes dans la pâte de CG.

Par ailleurs, en absence de l'hydrazine dans le milieu tampon phosphate, l'électrode à pâte de carbone graphite (CG) contenant 15% en Cu ne présente aucun pic d'oxydation et sa réponse reste faible sur toute la gamme de potentiel appliqué.

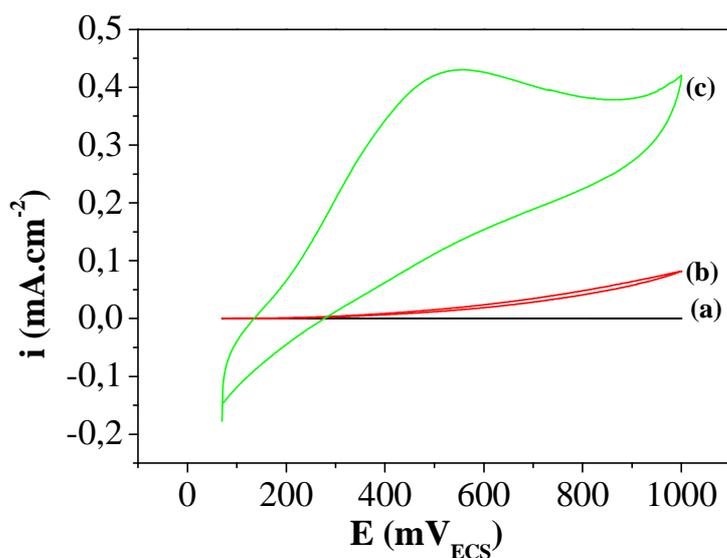
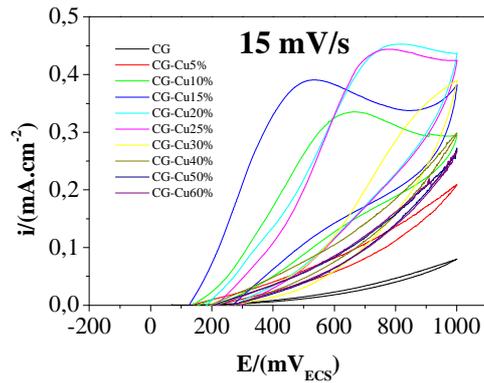
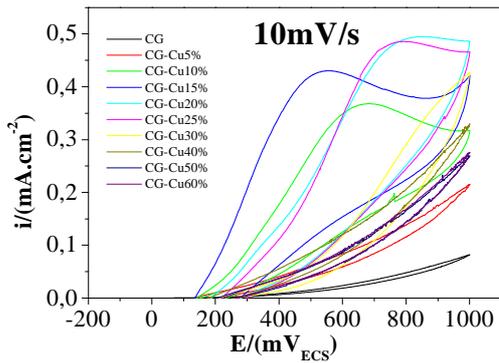
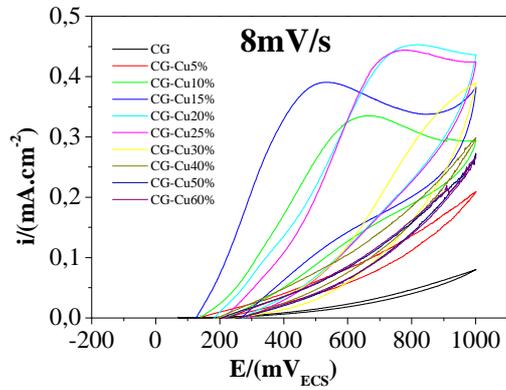
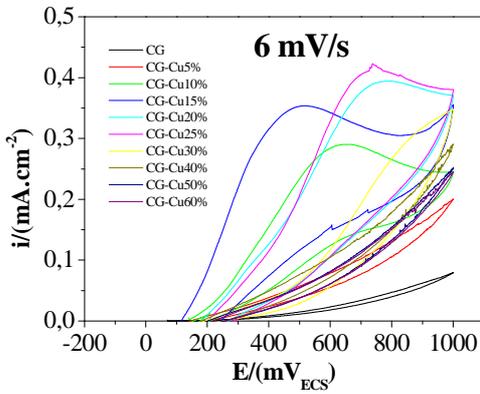
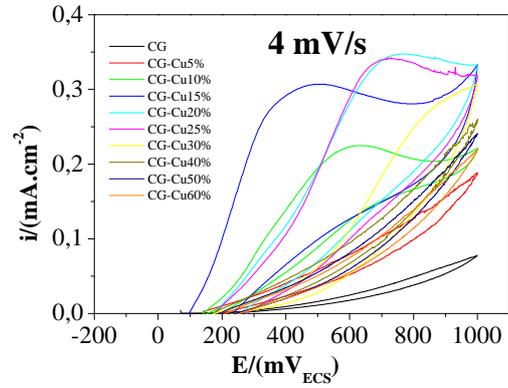
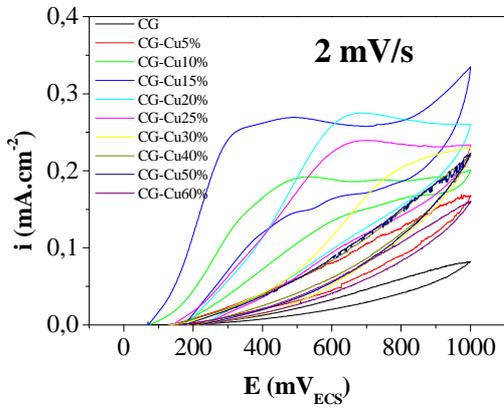


Figure III.14 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2\text{mM}$, tampon phosphate $0,1\text{ M}$ et $\text{pH}=7$), en absence(a) et en présence de 2 mM d'hydrazine ((c) et (b)), sur les électrodes CG-Cu15% et CG seul respectivement, $v_b=10\text{mV/s}$.

III.2.1.2- Effet de la teneur en nanoparticules métallique de cuivre dans la pâte de CG vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

L'influence que peut avoir la variation de la teneur en cuivre sur la réactivité de l'électrode à pâte de CG modifiée vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine a été également vérifiée (figure III.15). En effet, les voltampérogrammes de détection de l'hydrazine correspondants montrent que l'intensité des pics d'oxydation augmente lorsque la teneur en cuivre dans la pâte de carbone croît jusqu'à 15%. Au-delà de ce pourcentage l'effet électrocatalytique diminue avec disparition du pic d'oxydation quand la teneur en cuivre passe de 30 à 60%. Par ailleurs, l'effet électrocatalytique de l'électrode contenant 15% en cuivre se manifeste par le déplacement du potentiel de pic d'oxydation vers des valeurs moins positives. Indiquant, qu'avec cette électrode, une très faible énergie est suffisante pour l'oxydation de l'hydrazine. Ce phénomène est vérifié sur toutes les vitesses de balayage appliquées allant de 2 à 100mV/s.

Nous avons optimisé pour le reste de notre travail une teneur en cuivre de 15% dans la pâte de carbone autour duquel nous avons obtenu une meilleure détection.



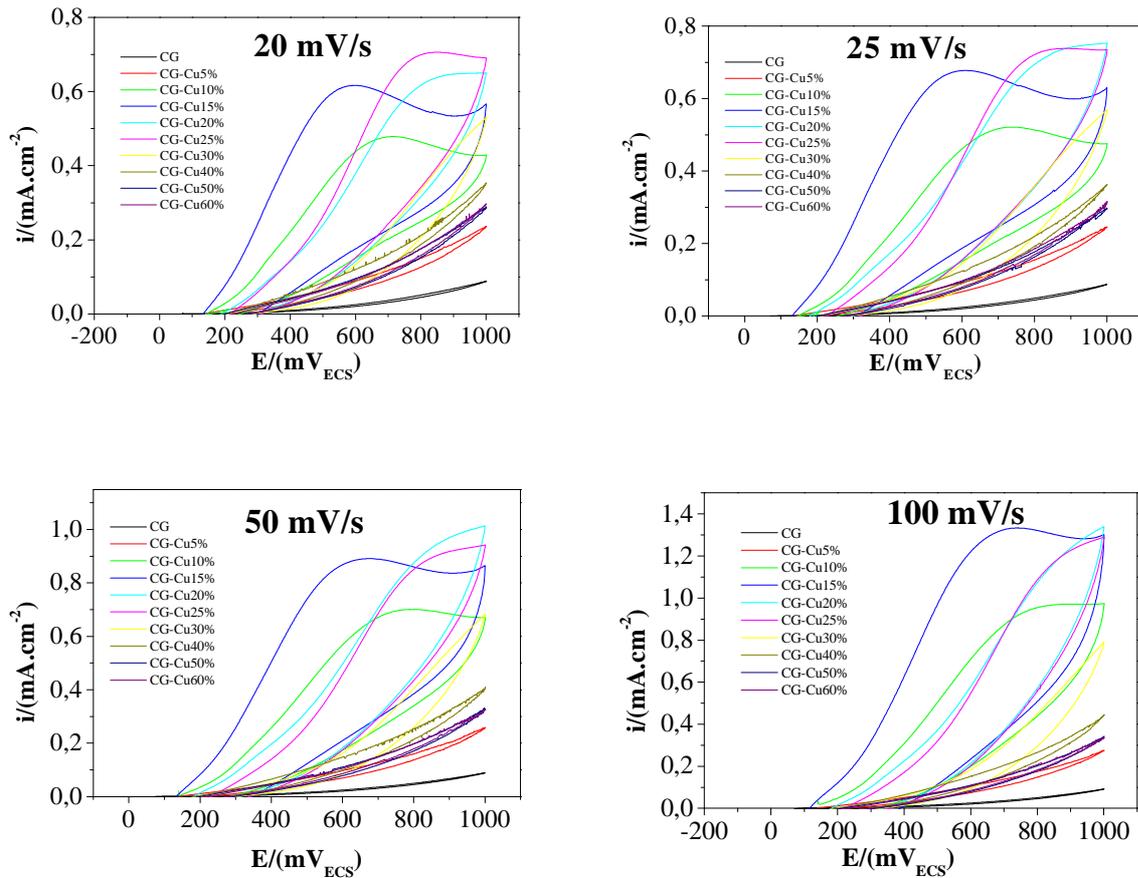


Figure III.15 : Voltampérommes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$) sur différentes électrodes de CG-Cu contenant différentes teneurs en catalyseur (5, 10, 15, 20,25, 30,40, 50 et 60%) à une vitesse de balayage fixée.

III.2.1.3- Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

L'effet de la vitesse de balayage sur les propriétés électrocatalytique de l'électrode à pâte de carbone modifiée par 15% de cuivre (CG/15%Cu), a été étudié et montré sur la figure III.16. Nous constatons que l'augmentation de la vitesse de balayage provoque une augmentation du courant du pic d'oxydation de l'hydrazine, ainsi qu'un déplacement positif de son potentiel d'oxydation. Ces résultats ont été déjà observés par d'autres auteurs pour d'autres espèces électroactives [6-8].

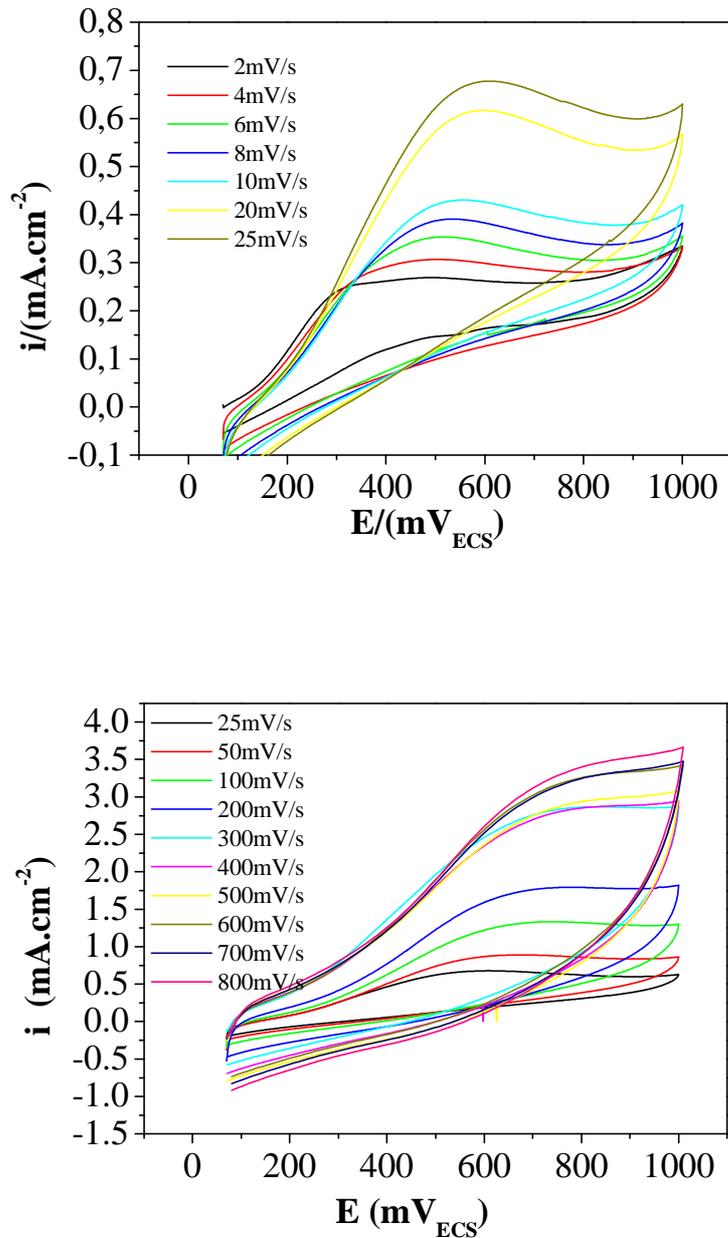


Figure III.16: Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$) sur l'électrode CG-Cu15% obtenus à différentes vitesses de balayage.

A partir des voltampérogrammes cycliques obtenus aux vitesses de balayage allant de 2 à 25mV/s, nous pouvons examiner la variation du courant du pic d'oxydation en fonction de la vitesse de balayage.

Le courant du pic d'oxydation de l'hydrazine suit une relation linéaire avec la racine carrée de la vitesse de balayage (figure III.17). Ce qui explique que la réaction est limitée par la diffusion.

A partir de la pente de la droite, nous pouvons estimer le nombre total d'électrons transférés durant la réaction d'oxydation de l'hydrazine, en utilisant l'équation suivante pour un système diffusionnel totalement irréversible [13,14] :

$$i_p = 3.01 \cdot 10^{-5} n \cdot [(1 - \alpha) \cdot n_\alpha]^{1/2} D^{1/2} v^{1/2} C \quad (\text{III.4})$$

Où :

i_p : densité de courant du pic ($\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$).

n : nombre d'électrons global transféré durant la réaction.

α : coefficient de transfert d'électrons.

n_α : nombre d'électrons relatif à l'étape déterminante.

v : vitesse de balayage ($\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$).

C : concentration de l'hydrazine ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Il a été montré dans la littérature que la cinétique d'oxydation de l'hydrazine sur beaucoup de matériaux s'effectue avec un échange d'un seul électron (relatif à l'étape déterminante) [9,10].

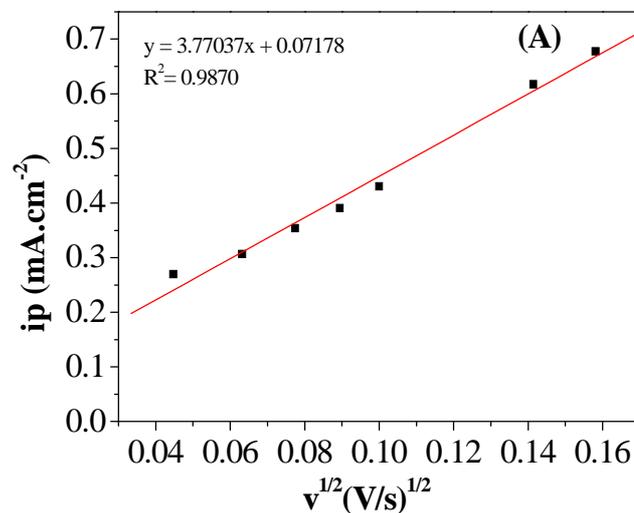


Figure III.17 : Variation du courant des pics en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage (déduite de la figure III.16).

Le potentiel d'oxydation cathodique de l'hydrazine se décale vers des valeurs plus positives avec l'accroissement de la vitesse de rotation, cela confirme de plus que l'étape limitante est la diffusion.

Afin de déterminer les propriétés de l'étape limitante de cette réaction, la pente de Tafel « b » est évaluée en utilisant l'équation (III.5) valable pour les processus totalement irréversibles contrôlé par diffusion [6, 11,12].

$$E_p = \frac{b}{2} \log v + \text{constante} \quad (\text{III.5})$$

Où :

b : la pente de Tafel

v : Vitesse de balayage

La pente de Tafel « b » est évaluée en utilisant l'équation (III.6) :

$$b = \frac{2,3RT}{(1-\alpha)n_\alpha F} \quad (\text{III.6})$$

Où :

R : la constante des gaz (8.31 j mol⁻¹ k⁻¹)

F : la constante de faraday (96485 C par mole d'électrons)

T : la température (k)

En supposant $n_\alpha=1$, la valeur du coefficient de transfert de charge (α) est égale à 0,78. L'ordre de grandeur du coefficient de transfert de charge est dans la gamme des valeurs [0,25, 0,75] admise dans la littérature. Dans notre cas, la valeur du coefficient de transfert de charge dépasse la limite donnée dans la littérature.

A partir de la pente de la droite $i_p=f(v^{1/2})$ qui est égale à 3.77037 (mA.cm⁻²)/(V.s⁻¹)^{1/2}, et du coefficient de diffusion $D= 4.89.10^{-5}$ cm².s⁻¹ qui est calculé plus loin par la méthode chronoampérométrie, nous pouvons estimer le nombre d'électrons global n qui vaut 5,8 qu'on pourra arrondir à n= 6. Or que dans la littérature, la réaction globale de l'oxydation de l'hydrazine se fait avec un transfert de 4 électrons [10,11]. Ce qui laisse supposer qu'à pH=7, d'autres phénomènes se passent dans ces conditions. Il est donc nécessaire de vérifier l'effet du pH de la solution tampon sur la réaction d'oxydation de l'hydrazine sur nos électrodes.

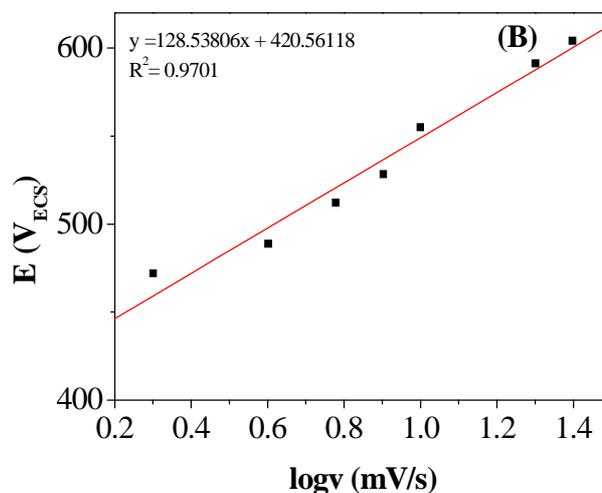


Figure III.18 : Variation du potentiel des pics en fonction du logarithme de la vitesse de balayage (déduite de la figure III.16).

III.2.1.4- Détection chronoampérométrique de l'hydrazine

La chronoampérométrie comme les autres méthodes électrochimiques est employée pour l'investigation du processus électrocatalytique sur les électrodes modifiées. Nous observons sur la figure III.19(A), l'évolution du courant en fonction du temps à une tension imposée de 530 mV_{ECS} (correspondante au potentiel d'oxydation optimal de l'hydrazine sur notre électrode modifiée) et à différentes concentrations en hydrazine. La chute du courant caractéristique obtenu à des temps courts, est due à la charge de la double couche qui peut être accompagnée par l'adsorption de l'hydrazine à l'interface. Après cette chute, le courant enregistre des paliers correspondant à l'oxydation de l'espèce à la surface de l'électrode. On remarque aussi une augmentation du courant des paliers d'oxydation avec la concentration en hydrazine.

On vérifie que pour les portions décroissantes (pour différentes concentrations en hydrazine), la variation du courant $i=f(t^{-1/2})$ est linéaire d'après la figure III.19 (B)

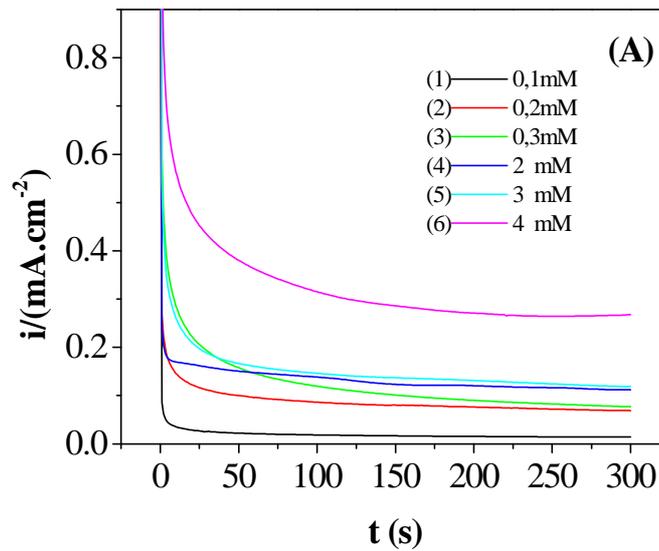
Pour un système sous contrôle diffusionnel, le courant correspondant à la réaction électrochimique (sous un contrôle de diffusion pure) est décrit par la loi de Cottrell (équation III.7) :

$$I(t) = nFCD^{1/2} \mathcal{J}^{-1/2} t^{-1/2} \quad (\text{III.7})$$

A partir de cette équation, et de la pente de la droite obtenue en figure III.19(B), nous avons calculé le coefficient de diffusion D en supposant que le nombre d'électron impliqués dans l'étape limitante est de 1 comme il a été reporté précédemment.

Tableau III.2: Evaluation du coefficient de diffusion D à partir des courbes de Cottrell

Concentration de l'hydrazine (mol.cm ⁻³)	Coefficient de diffusion D (cm ² .s ⁻¹)
1.10 ⁻⁷	1,808.10 ⁻⁴
2.10 ⁻⁶	0,333.10 ⁻⁶
3.10 ⁻⁶	6,45.10 ⁻⁶
4.10 ⁻⁶	8,264.10 ⁻⁶
	D _{moy} = 4.89.10 ⁻⁵



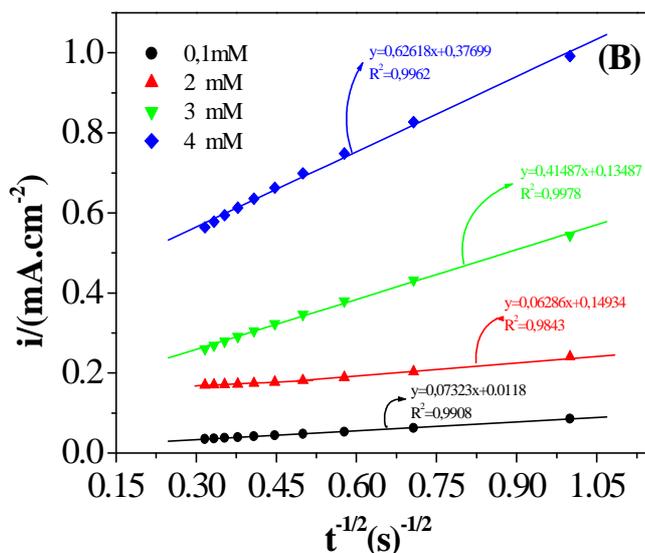


Figure III.19 : (A) Chronoampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$), à différentes concentrations $0,1, 0,2, 0,3, 2,3$ et $4mM$ sur l'électrode CG/Cu. (B) courbe de cottrell, pour différentes concentrations en hydrazine.

III.2.1.5- Effet de la concentration de l'hydrazine

L'effet de la concentration de l'hydrazine sur les réponses voltaampérométriques de l'électrode CG-Cu15% a été étudié. Les résultats obtenus montrent que le courant des pics d'oxydation de l'hydrazine à la surface de l'électrode est proportionnel à sa concentration (figure III.20 (A))

La figure (III.20 (B)) montre que le courant catalytique varie linéairement avec la concentration de l'hydrazine dans l'intervalle allant de $0,01mM$ à $4mM$ [13-16].

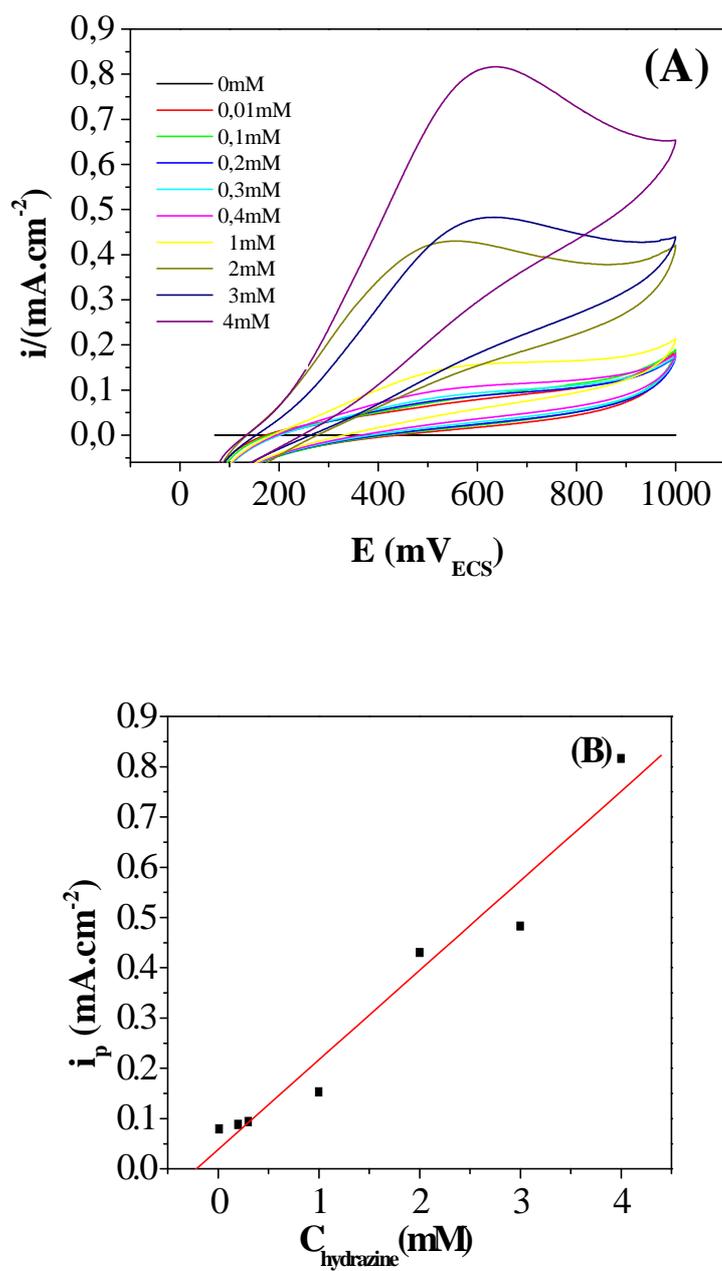


Figure III 20: (A) Voltampérommes d'oxydation de l'hydrazine (tampon phosphate 0,1 M et pH=7), à différentes concentration en hydrazine sur l'électrode CG-Cu15%. (B) Variation de la densité de courant des pics en fonction de la concentration de l'hydrazine. $V_b = 10$ mV/s.

III.2.2- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par l'argent (CG-Ag) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine

III.2.2.1- Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG-Ag vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

L'électrode CG-Ag60% est également testée vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine. La figure III.21 présente les voltampérogrammes de l'oxydation de l'hydrazine obtenus sur des électrodes à pâte de carbone, (CG) en absence (figure III.21 (b)) et en présence de 60% en nanoparticules d'argent (CG-Ag60%) (Figure III.21 (c)) dans le milieu tampon phosphate contenant 2mM en hydrazine et à titre comparatif à celui d'une électrode à pâte de carbone en présence de 60% en nanoparticules d'argent (CG-Ag60%) obtenu dans le milieu tampon phosphate seul (figure III.21 (a)) à une vitesse de balayage de 10 mV/s.

Dans ce cas aussi, l'électrode à pâte de carbone modifiée par 60% en nanoparticules d'argent (figure III.21 (c)) enregistre une meilleure activité électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine, avec apparition d'un pic d'oxydation bien définie aux alentours de 554 mV_{ECS}, due à la présence de l'argent. En effet, la pâte de carbone graphite (CG) seule ne présente aucune activité électrocatalytique (figure III.21 (b)) [17].

Aussi, en absence de l'hydrazine dans le milieu tampon phosphate, l'électrode à pâte de carbone graphite (CG) contenant 60% en argent donne une réponse en courant très faible sur toute la gamme de potentiel appliqué avec absence d'un pic d'oxydation

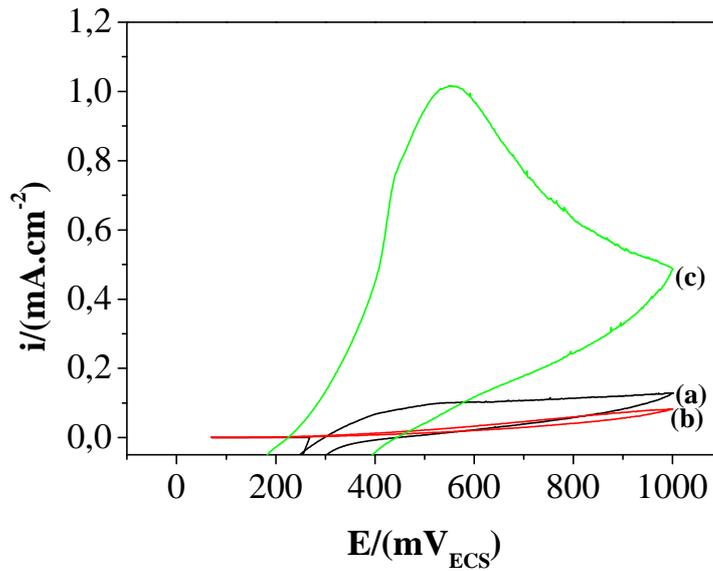


Figure III.21 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$), en absence(a) et en présence de $2 mM$ d'hydrazine ((b) et (c)), sur les électrodes CG-Ag60%, CG et CG-Ag60% respectivement, $v_b=10mV/s$.

III.2.2.2- Effet de la teneur en nanoparticules métallique d'argent dans la pâte de CG vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

La figure III.22 présente l'effet de la teneur en argent sur le comportement électrocatalytique de la pâte de carbone vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine. Nous remarquons qu'une meilleure activité est enregistrée sur l'électrode à pâte de carbone contenant 60% en catalyseur Ag, et cela est vérifié pour toutes les vitesses de balayage appliquées. Par ailleurs, avec cette même électrode, un meilleur pic d'oxydation de l'hydrazine est enregistré pour de faibles vitesses de balayage (2 et 4 mV/s) [18].

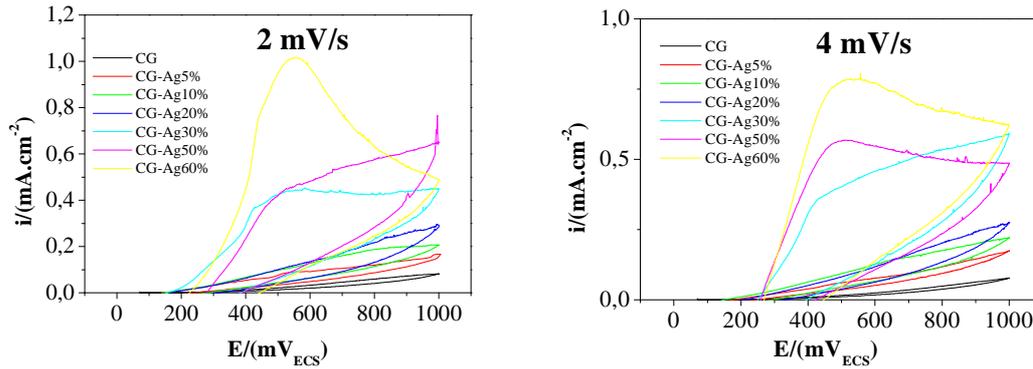


Figure III.22 : Voltampérométries d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$) sur différentes électrodes de CG-Ag contenant différentes teneurs en catalyseur (5, 10, 15, 20,25, 30,40, 50 et 60%) à une vitesse de balayage fixée.

III.2.2.3- Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

Les voltampérométries de l'électrode CG en présence de 60% en catalyseur Ag dans la solution tampon phosphate $pH = 7$ contenant $2mM$ d'hydrazine scannée à différentes vitesses de balayage sont présentés dans la figure III.23. Il se trouve que la densité de courant augmente avec la croissance de la vitesse de balayage imposée. Cependant, pour de faibles vitesses de balayage un pic bien défini est enregistré et disparaît pour de très grandes vitesses de balayage. Apparemment, l'électrode CG-Ag60% est réactive qu'aux très faibles vitesses de balayage (2 et 4 mV/s) [19].

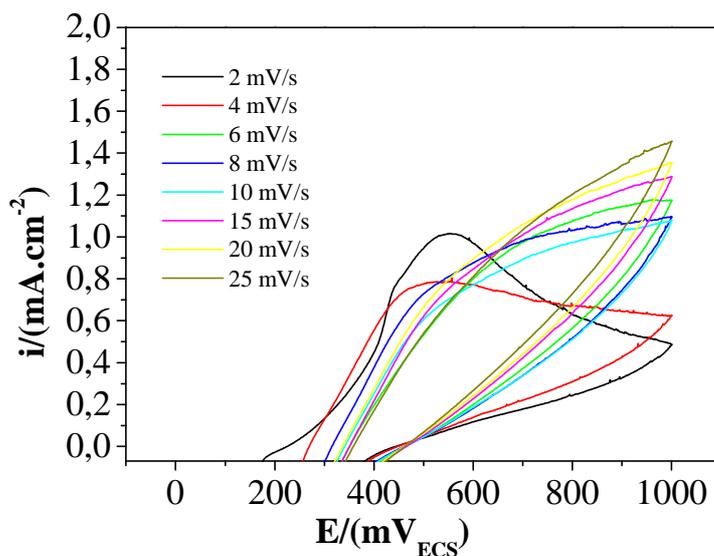


Figure III.23: Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0,1 M$ et $pH=7$) sur l'électrode CG-Ag60% obtenus à différentes vitesses de balayage.

III.2.2.4- Effet de concentration de l'hydrazine

L'effet de la concentration de l'hydrazine sur les réponses voltaampérométriques de l'électrode CG préparée avec 60% de catalyseur Ag (CG-Ag60%) est vérifié (figure III.24). Les résultats obtenus montrent que le courant des pics d'oxydation de l'hydrazine à la surface de l'électrode est proportionnel à sa concentration.

Nous observons sur la figure III.24 que des paliers de courant d'oxydation de l'espèce d'hydrazine sont enregistrés. Ainsi, la densité de courant augmente avec la croissance de la concentration en hydrazine allant de 0 à 1mM. Au-delà de 1mM un effet inverse est enregistré, dû probablement à la saturation de la surface active [20].

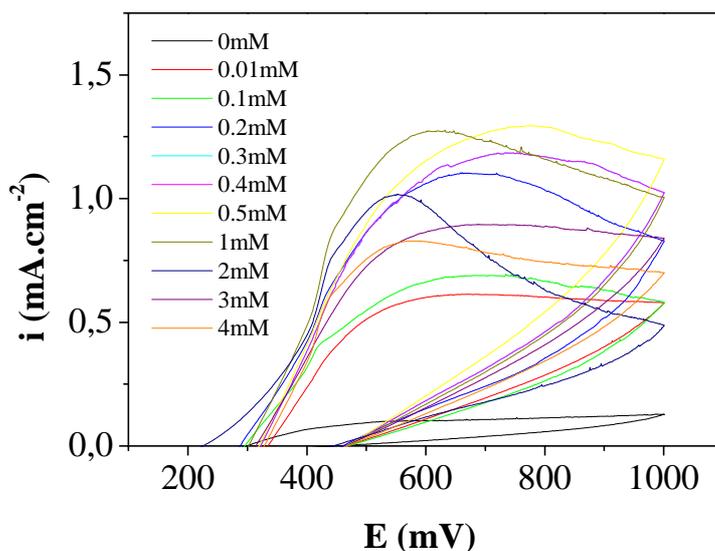


Figure III 24 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine (tampon phosphate 0,1 M et $\text{pH}=7$), à différentes concentration en hydrazine sur l'électrode CG-Ag60%. $V_b = 10 \text{ mV/s}$.

III.2.3- Application des électrodes à pâte de carbone modifiées par l'alliage (Ag-Cu) (CG-Ag-Cu) vis-à-vis de l'oxydation d'hydrazine

III.2.3.1- Comportement électrocatalytique de l'électrode de CG, CG/Ag-Cu vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

Le comportement électrocatalytique de l'électrode CG, CG-Ag-Cu concernant la détection de l'hydrazine est suivi par la voltampérométrie (Figure III.25).

Les résultats montrent que l'électrode de carbone graphite modifié par 10% en alliage Ag-Cu de rapport 1/5 exhibe une activité électrocatalytique meilleure que celles modifiées en cuivre et en argent à raison de 10%. Cependant, L'électrode en carbone graphite seul (figure III.25 (b)) n'enregistre aucun hydrazine. Par conséquent, la présence de l'Ag et de Cu simultanément engendre une meilleure réactivité électrocatalytique de l'oxydation de l'hydrazine.

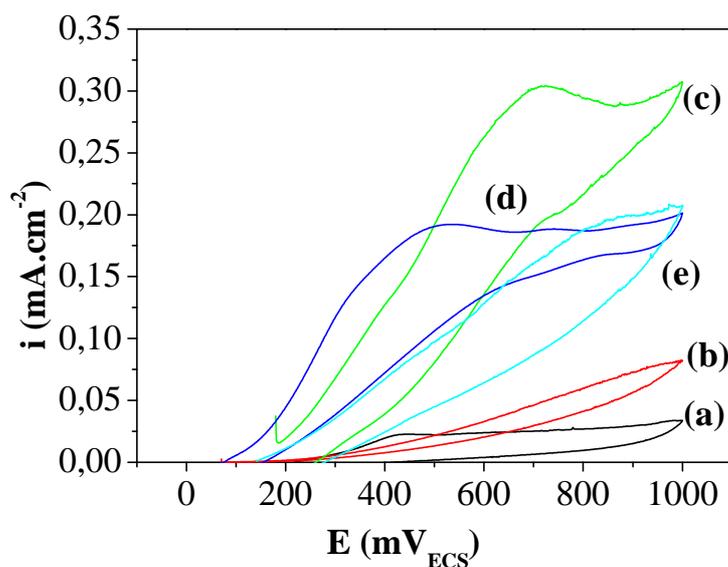


Figure III.25 : Voltampérométrie d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0.1 M$ et $pH=7$), (a) en absence et (b), (c), (d) et (e) en présence de $2 mM$ d'hydrazine, sur les électrodes CG, CG-Ag-Cu(10%), CG-Cu10% et CG-Ag10% respectivement. $v_b=2mV/s$.

III.2.3.2- Effet du rapport molaire Ag/Cu des nanoparticules métallique de l'alliage Ag-Cu

Dans la préparation des électrodes d'alliage CG-Ag-Cu (10%), nous avons fait varier le rapport molaire des ions Ag^+/Cu^{2+} de 1/1, 1/3 et 1/5. Les voltampérométries enregistrées sur ces électrodes sont présentées sur III. 26. Nous remarquons que ces électrodes modifiées présentent une bonne réactivité vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine sous les deux vitesses de balayages de 2 et 4mV/s. Par conséquent, une meilleure réactivité est enregistrée sur l'alliage dont le rapport molaire est de 1/5.

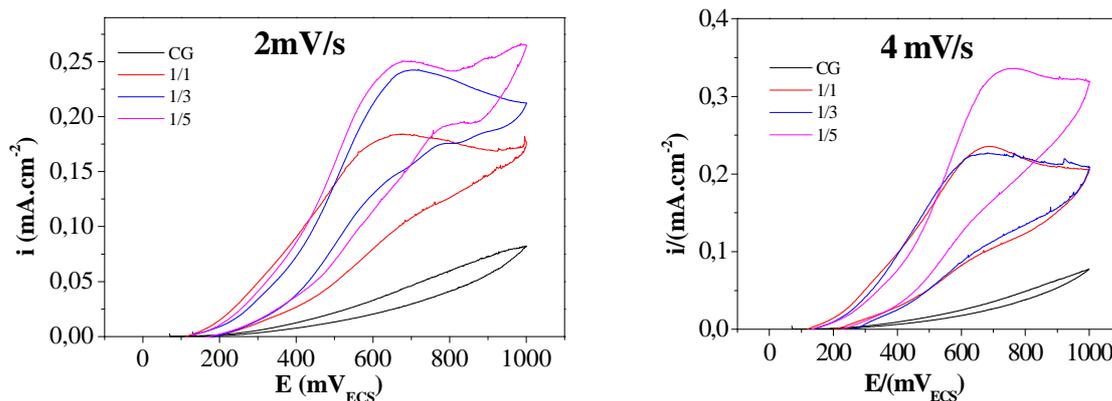


Figure III.26 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0.1 M$ et $pH=7$), sur les électrodes de CG-Ag-Cu(10%) à différents rapports molaires Ag/Cu.

III.2.3.3- Effet de la vitesse de balayage vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine

La figure III.27 présente les voltampérogrammes d'une électrode de carbone graphite modifiée par l'alliage Ag-Cu (10%) dans une solution d'hydrazine à $pH=7$ en appliquant des vitesses de balayage comprises entre 2 et 25 $mV.s^{-1}$.

La densité de courant augmente avec la croissance de la vitesse de balayage. Comme illustré sur la figure III.27, à de faibles vitesses de balayage, les voltampérogrammes enregistrent des pics bien définies [21]

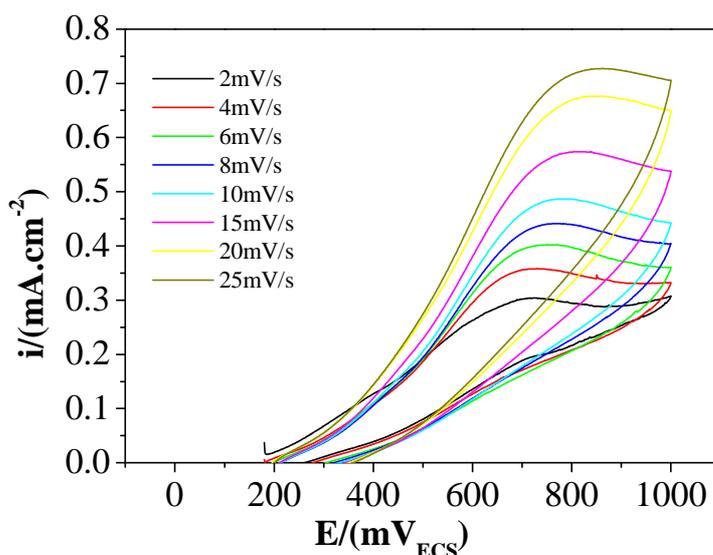


Figure III.27 : Voltampérogrammes d'oxydation de l'hydrazine ($[Hydrazine] = 2mM$, tampon phosphate $0.1 M$ et $pH=7$), sur les électrodes de CG-Ag-Cu(10%) à différentes vitesses de balayage.

III.3- Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées

Dans cette partie du travail nous avons testé l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent, cuivre et de l'alliage argent-cuivre synthétisées, ainsi que l'extrait de romarin, sur deux souches bactériennes :

- *Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif)

- *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram positif)

III.3.1- Généralité sur les bactéries utilisées :

➤ *Escherichia coli* (*E. coli*)

E. coli est un bacille à Gram négatif. C'est un hôte commun de la microflore intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux).

C'est une bactérie de « référence » pour la recherche, habituellement peu pathogène et d'une manipulation simple [22]. Elle se reproduit toutes les 20 min dans les conditions optimales de croissance. Typiquement elle se présente sous la forme de bâtonnets de 2-4 μm de longueur (Figure III.28).

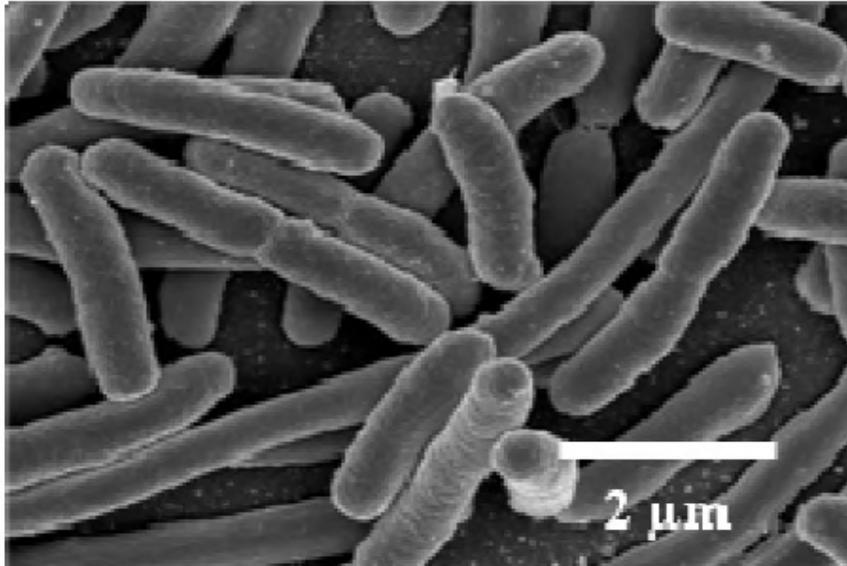


Figure III.28 : Image MEB d'*Escherichia coli* [23].

Certaines souches d'*E. Coli* présentent un pouvoir pathogène comme *E. coli* O157:H7 qui se retrouve dans les aliments non stériles tels que le lait cru, les plats non cuisinés et dans la viande (steak haché). Les symptômes couramment associés avec cette bactérie sont la diarrhée et la gastroentérite [22].

Dans notre cas elle servira de référence pour la famille des bactéries à Gram négatif.

➤ ***Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)**

S. aureus est une cocci à Gram positif. C'est une bactérie pyogène et toxigène, responsable de nombreuses infections communautaires qui représente donc un problème de santé publique important. Elle provoque de nombreuses infections suppuratives dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiques liées à la diffusion de toxines spécifiques. Typiquement elle se présente sous forme de coques sphériques de diamètre 1 μm (Figure III.29). *S. aureus* se trouve généralement dans les fosses nasales et sur la peau de personnes en bonne santé. Si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légères, telles que des furoncles ou des anthrax, ou désinfections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies [24].

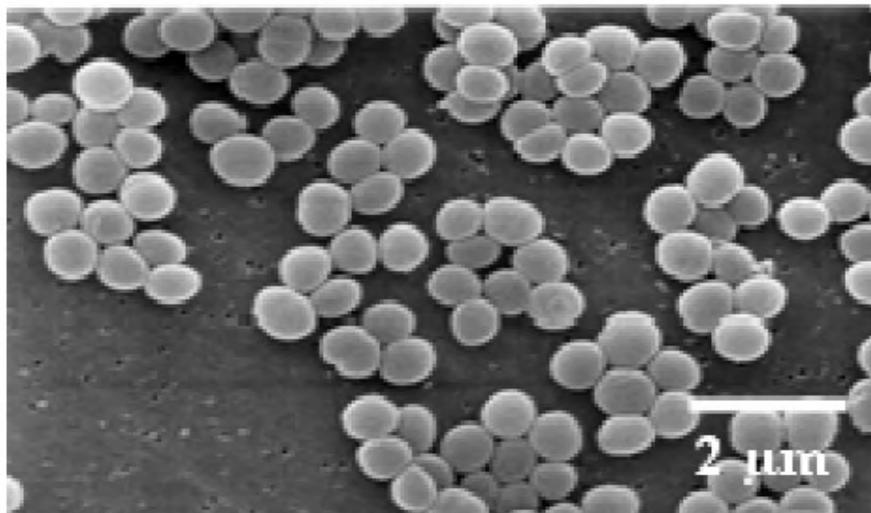


Figure III.29 : Image MEB de *Staphylococcus aureus* [25].

S. aureus sera utilisé dans nos travaux comme bactérie de référence pour les Gram positif.

III.3.2- Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Les nanoparticules (Np) synthétisées (Ag, Cu et l'alliage Ag-Cu) sont diluées dans de l'agar (0.2% en masse) à des concentrations différentes soit : $4,44 \text{ mg.ml}^{-1}$, $0,44 \text{ mg.ml}^{-1}$, $0,04 \text{ mg.ml}^{-1}$ et $0,004 \text{ mg.ml}^{-1}$. L'extrait de la plante du romarin a été utilisé comme témoin.

Ce test, a été développé pour déterminer l'activité antibactérienne d'un échantillon en mesurant une zone d'inhibition de la croissance des bactéries autour de l'échantillon. Cette zone d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antibactérien hors de l'échantillon.

Pour cela un volume de chaque solution (Np Ag, Np Cu, Np Ag-Cu et l'extrait de romarin) est prélevé stérilement ($15 \mu\text{l}$) puis introduit sur le disque de 5mm de diamètre dans un milieu Muller Hinton préalablementensemencé avec une bactérie cible. Les résultats de ce test, illustrés dans le tableau III.3 et les figures III.30, révèle une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *S.aureus* et peu significative ou inexistante envers *E.coli*, en effet l'activité la plus élevée est enregistrée contre la bactérie *S.aureus* avec un diamètre d'inhibition de 19 mm en utilisant une solution de Np Ag-Cu ($4,44 \text{ mg.ml}^{-1}$), et des diamètres de 14,11 et 12mm en utilisant une solution contenant les Np Ag($4,44 \text{ mg.ml}^{-1}$), Np Ag-Cu($0,44 \text{ mg.ml}^{-1}$) et Np Cu($0,04 \text{ mg.ml}^{-1}$) respectivement. En revanche, pour la bactérie *E.coli* aucune activité antibactérienne n'est enregistrée.

Les variations du diamètre de la zone d'inhibition observées à partir des deux espèces bactériennes sont dues à la différence dans la composition de la paroi cellulaire bactérienne en effet les bactéries à gram positif sont plus sensibles que celles à gram négatif.

Aussi cela peut être dû à l'effet de la taille des nanoparticules ; une étude menée par Morones *et al.* (2005) démontre que seules les nanoparticules dont le diamètre est compris entre 1 et 10 nm interagissent avec différentes bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *V. cholera* et *S. typhus*) en inhibant la croissance cellulaire [26].

Et d'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait de romarin n'a aucune activité antibactérienne.

Tableau III.3: Diamètre de la zone d'inhibition des différentes solutions par la méthode de diffusion sur disque.

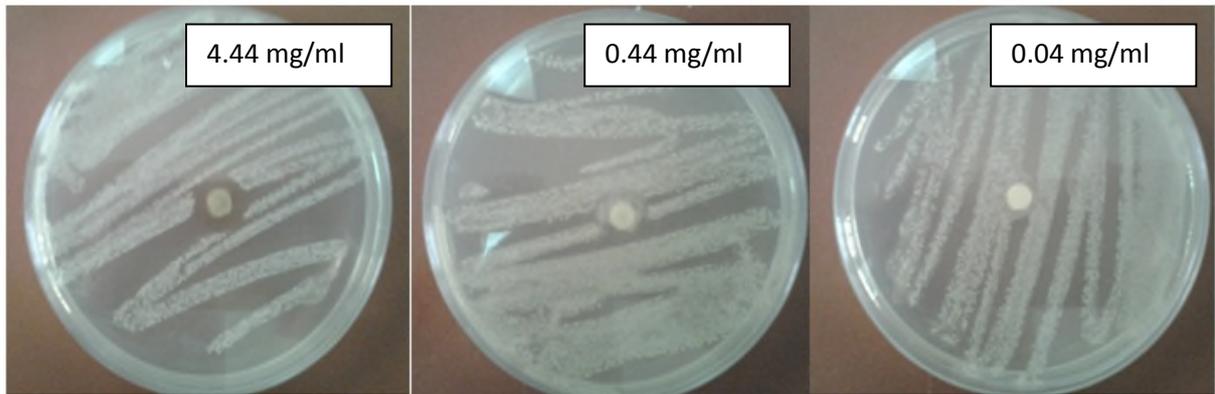
Solution	Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>s.aureus</i>
Extrait de romarin	0	0
Concentration (4.44mg.ml ⁻¹)		
Np Ag	7	14
Np Cu	0	0
Np Ag-Cu	0	19
Concentration (0.44mg.ml ⁻¹)		
Np Ag	0	0
Np Cu	0	0
Np Ag-Cu	0	11
Concentration (0.04mg.ml ⁻¹)		
Np Ag	0	0
Np Cu	0	12
Np Ag-Cu	0	0



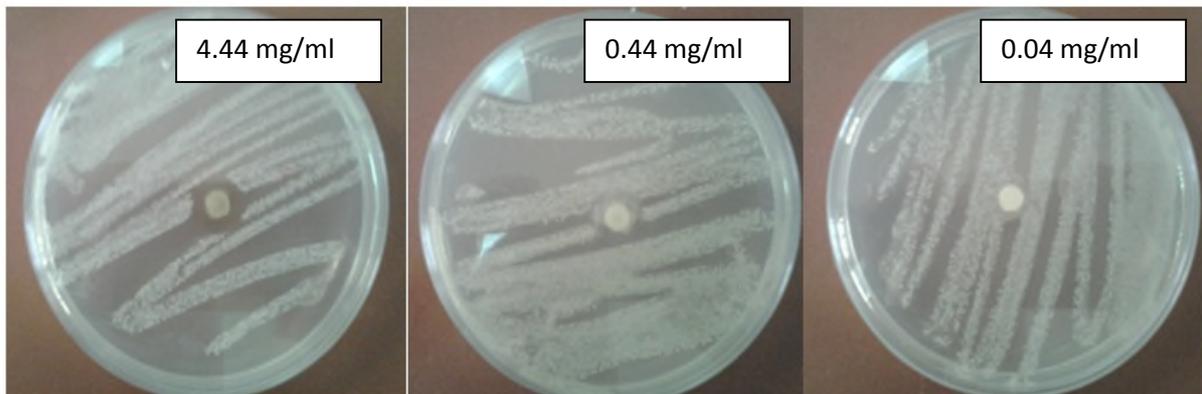
(a) *E.coli*

(b) *S.aureus*

(A) *Activité antibactérienne de l'extrait de romarin vis-à-vis des bactéries E.coli (a) et S.aureus (b).*

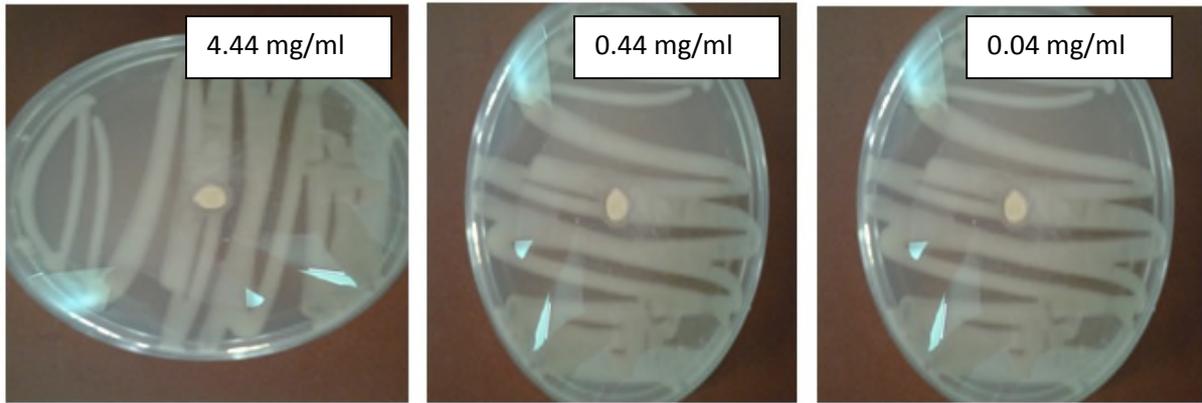


(a) *E.coli*

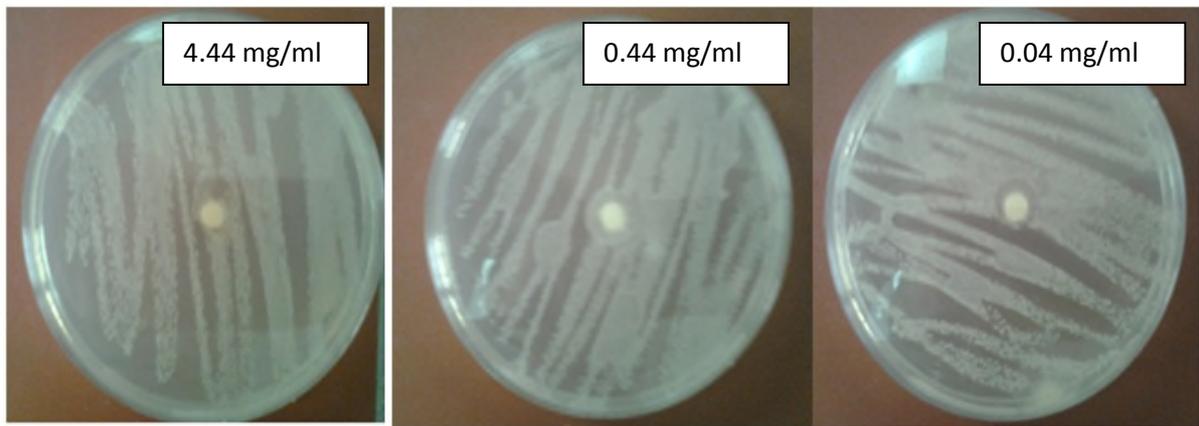


(b) *S.aureus*

(B) *Activité antibactérienne des Np Ag de concentration différentes vis-à-vis des bactéries E.coli(a) et S.aureus(b).*

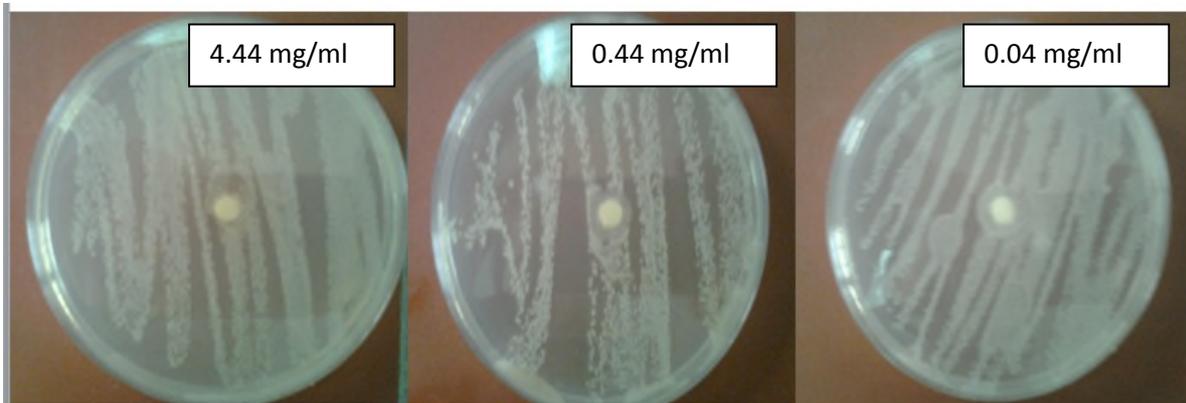


(a) *E.coli*

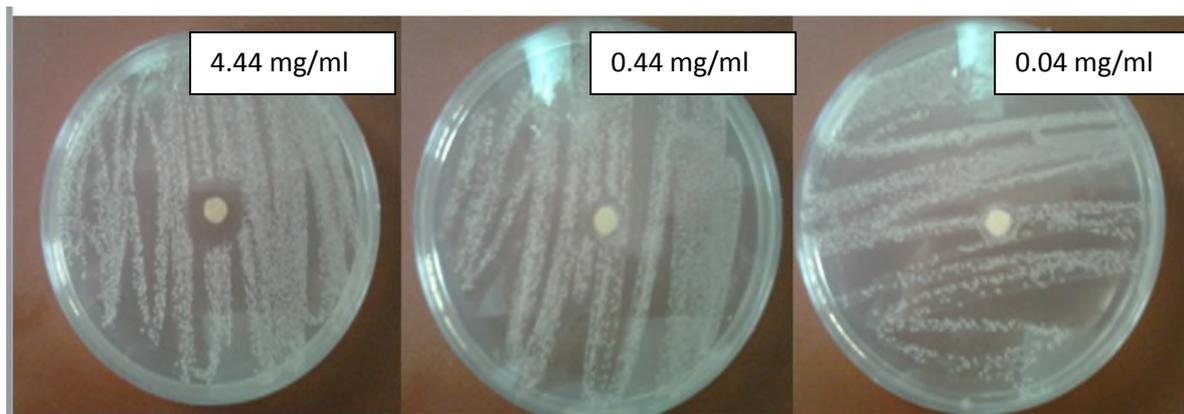


(b) *S.aureus*

(C) *Activité antibactérienne des Np Cu de concentration différentes vis-à-vis des bactéries E.coli (a) et S.aureus (b).*



(a) *E. coli*



(b) *S.aureus*

(D) *Activité antibactérienne des Np Ag-Cu de concentration différentes vis-à-vis des bactéries E. coli(a) et S.aureus (b).*

Figure III.30 : *Activité antibactérienne de l'extrait de romarin(A), Np Ag(B), Np Cu(C) et Np Ag-Cu (D) vis-à-vis des bactéries E. coli(a) et S.aureus (b).*

Bien que cette partie du travail n'a pas été plus approfondie et plus affinée, mais elle nous a permis d'avoir une idée de l'activité antibactérienne des nanoparticules étudiées. Ainsi, les premiers résultats obtenus sont encourageants pour la continuité de cette étude.

111.4- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S.Mondala, N.Roya, A. Rajibul, A. Laskara, I.Ska, S.Basub,D.Mandal , N.A. Beguma, Colloids and Surfaces Bio interfaces 82 (2011) 497–504.
- [2] S. Yallappa, J. Manjanna, L. Dhananjaya, SpectrochimicaActa Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 137 (2015) 236–243.
- [3] Y. Shin, I.T. Bae, B.W. Arey, G.J. Exarhos, J. Phys. Chem. C 112 (2008) 4844-4848.
- [4] S. Yallappa, J. Manjanna, S.K. Peethambar, A.N. Rajeshwara, N.D. Satyanarayan,J. Cluster Sci. 24 (2013) 1081–1092.
- [5] S. Yallappa, J. Manjanna, M.A. Sindhe, N.D. Satyanarayan, S.N. Pramod, K.Nagaraja, Spectrochim. Acta A 110 (2013) 108–115.

- [6] J.-B. Raouf, R. Ojani, S. Rashid-Nadini, *Electrochim. Acta*, 49 (2004) 271.
- [7] J. Zheng., Q. Sheng, L. Li, Yu Shen, *J. Electroanal. Chem.* 611 (2007) 155.
- [8] J.-B. Raouf., R. Ojani, A. Kiani, *J. Electroanal. Chem.* 515 (2001) 45.
- [9] L. Fernandez, H. Carrero, *Electrochim. Acta*. 50 (2005) 1233.
- [10] M. Mazloun Ardakani, Z. Akrami, H. R. Zare, *J. Electroanal. Chem.* 586 (2006) 31.
- [11] M. H. Pournaghi-Azar, H. Razmi-Nerbin, *J. Electroanal. Chem.* (488) (2000) 17.
- [12] A. J. Bard, L. R. Folkner, *Electrochimie principes methodes et applications*. Ed. Masson, Paris (1983).
- [13] Jing Li, Xiangqin Lin, *Sensors and Actuators B* 126 (2007) 527-535.
- [14] M. Ebadi, *Canadian journal of Chemistry*, 81 (2003) 161-168 (8).
- [15] J. Zheng, Q. Sheng, L. Li, Y. Shen, *J. Anal. Chem.* 611 (2007) 155-161.
- [16] A. Salimit, L. Miranzadeh, R. Hallaj, *Talanta* 75 (2008) 147-156.
- [17] N. Malekia, A. Safavia, E. Farjania, F. Tajabadia, *analytica chimica acta* 611 (2008) 151-155
- [18] Qingfeng Yi, Lei Li, Wenqiang Yu, Zhihua Zhou, Guorong Xu, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 295 (2008) 34-38
- [19] F.L. Li, B.L. Zhang, E.K. Wang, S.J. Dong, *J. Electroanal. Chem.* 422 (1997) 27.
- [20] S.J. R. Prabakar, S. S. Narayanan, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 617 (2008) 111-120.
- [21] E. Barton Cole, P.S. Lakkaraju, D.M. Rampulla, A.J. Morris, E. Abelev, A.B. Bocarsly, *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2001) 11539-51.
- [22] James B. Kaper, James P. Nataro, Harry L. T. Mobley. *Pathogenic Escherichia Coli. Nature Reviews Microbiology*, 2 (2004) 123-140.

[23]Image 8. http://www.Universityofcalifornia.Edu/Everyday/Agriculture/Images/e_Coli.Jpg 2008.

[24] Whitt DD, Salyers AA. *Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach*, 422 (2002) 27.

[25]Image13.<http://www.Universityofcalifornia.Edu/Everyday/Agriculture/Images/s-aureus.Jpg> 2008

[26]Morones J.R., J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramirez, M.J. Yacaman, *Nanotechnology*, 16(2005)2346-2353.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'objectif principal de ce travail est de proposer de nouvelles voies de la synthèse chimique des nanoparticules métalliques en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques pour des raisons d'écotoxicité essentiellement.

En premier lieu, nous nous sommes d'abord intéressés à l'extraction des composés de romarin par la méthode d'extraction à reflux dans l'eau. Ensuite cet extrait a été utilisé en tant que réducteur et antioxydant des ions métalliques dans le milieu aqueux.

Le mode d'action de cet extrait vert et l'effet de son volume ont été étudiés. Ceci a été réalisé par l'UV-visible et en suivant le potentiel redox et le pH pendant la synthèse chimique des nanoparticules métalliques (Ag, Cu et l'alliage Ag-Cu). Ces dernières sont utilisées comme catalyseurs dans la pâte de carbone graphite et comme agent antimicrobien. Cette étude a été approfondie en associant d'autres méthodes de caractérisation de surface, telles la microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'EDX, la diffraction des rayons X (DRX) et la thermogravimétrie, afin de vérifier l'efficacité de cet extrait vert sur la synthèse chimique de ces nanoparticules.

Les résultats de suivi du potentiel pendant la synthèse n'évoluent pas de la même manière pour le Cu, Ag et l'alliage Ag-Cu. En effet, dans le cas de la synthèse de Cu, le potentiel enregistré diminue avec le temps, dû à la consommation des biomolécules présentes dans l'extrait vert, ainsi que l'auto-oxydation des espèces réductrices. Alors que dans le cas d'Ag et de l'alliage Ag-Cu, un phénomène inverse se produit qui peut être lié à la réduction de l'espèce active (Ag^+).

La synthèse des nanoparticules métalliques de Cu, d'Ag et de l'alliage Ag-Cu a été réalisée avec succès en présence de l'extrait de la plante de romarin, ceci est confirmé par les analyses DRX et MEB couplé à l'EDX.

L'application des électrodes à pâte de carbone graphite (CG) modifiées par les nanoparticules métalliques de Cu, d'Ag ou de l'alliage Ag-Cu comme capteurs

électrochimiques destinés à l'électrocatalyse de l'hydrazine a été réalisée. Ces électrodes présentent une bonne activité électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine en présence de ces catalyseurs métalliques. Une meilleure activité électrocatalytique est enregistrée sur l'électrode à pâte de carbone graphite (CG) modifiée par les des nanoparticules de l'alliage Ag-Cu. Cependant, dans le milieu tampon pH=7, les résultats de l'étude cinétique de l'oxydation de l'hydrazine sont incohérents avec la littérature. Dans ce cas, nous proposons, pour la suite de cette étude, de vérifier l'effet du pH du milieu d'étude sur la cinétique d'électrooxydation de l'hydrazine.

Les nanoparticules métalliques de Cu, d'Ag ou de l'alliage Ag-Cu sont également testées dans l'activité antibactérienne en utilisant deux souches bactériennes :

- *Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif)
- *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram positif)

Les résultats obtenus révèlent que ces nanoparticules métalliques enregistrent une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *S. aureus* et peu significative ou inexistante envers *E. coli*. En effet, l'activité la plus élevée est enregistrée contre la bactérie *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 19 mm en utilisant une solution de Np Ag-Cu (4,44mg.ml⁻¹), et des diamètres de 14,11 et 12mm en utilisant une solution contenant les Np Ag (4,44mg.ml⁻¹), Np Ag-Cu (0,44mg.ml⁻¹) et Np Cu (0,04mg.ml⁻¹) respectivement. En revanche, pour la bactérie *E. coli* aucune activité antibactérienne n'est enregistrée.

Bien que cette partie du travail n'a pas été plus approfondie et plus affinée, mais elle nous a permis d'avoir une idée de l'activité antibactérienne des nanoparticules étudiées. Ainsi, les premiers résultats obtenus sont prometteurs.

L'influence de certains paramètres a été mise en évidence, mais en perspectives, certains points restent néanmoins à approfondir. Il serait donc intéressant d'approfondir cette étude par l'utilisation de la microscopie électronique à transmission (MET) afin de mettre en évidence la forme nanométrique des particules métalliques synthétisées. Il est également souhaitable d'étendre l'étude antimicrobienne à d'autres bactéries ainsi que à l'étude du mécanisme et de la cinétique de l'inhibition de l'accroissement de ces bactéries. Pour cela, le couplage avec des équipes de biologistes est indispensable.

Résumé

L'extrait de la plante de romarin a été utilisé en tant que réducteur et antioxydant des ions métalliques (Cu^{2+} , Ag^+) pour l'élaboration des nanoparticules de cuivre, argent et leur alliage (Ag-Cu). Les spectres d'absorption UV-visible ainsi que le potentiel redox et le pH ont été suivis pendant la synthèse chimique des nanoparticules métalliques (Ag, Cu et l'alliage Ag-Cu). Cette étude a été approfondie en associant d'autres méthodes de caractérisation de surface, telles la microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à l'EDX, la diffraction des rayons X (DRX) et la thermogravimétrie, afin de vérifier l'efficacité de cet extrait vert sur la synthèse chimique de ces nanoparticules et leur identification. Ces dernières sont testées dans l'activité antibactérienne et les résultats obtenus révèlent qu'elles enregistrent une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *S. aureus* et peu significative ou inexistante envers *E. coli*. Ces nanoparticules métalliques utilisées comme catalyseurs pour modifier la pâte de carbone graphite (CG) présentent également une meilleure activité électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation de l'hydrazine.

Mots clés : Romarin, nanoparticules métalliques, activité électrocatalytique, activité antibactérienne, hydrazine, argent, cuivre.

Abstract

Rosemarinus plant extract has been used as reducer and antioxidant of the metallic ions (Cu^{2+} , Ag^+) for the elaboration of copper nanoparticles, silver and their alloy supervised while recording the specters of UV-Visible absorption and while following the potential redox and the pH during the chemical synthesis of the metallic nanoparticles (Ag, Cu and Ag-Cu alloy). This study has been deepened while associating other methods of surface characterization, like SEM coupled to the EDAX, the X-rays diffraction (XRD) and the termogravimétric analysis (TG), in order to verify the efficiency of this green extract on the chemical synthesis of these nanoparticles and identification. These are tested in the antibacterial activity and the results show that they record a significant antibacterial activity vis-à-vis *S. aureus* and insignificant or no to *E. coli*. The metal nanoparticles used as catalysts for modified graphite carbon paste (CG) also exhibit improved electrocatalytic activity against the oxidation of hydrazine.

Key words: Rosemarinus, metallic nanoparticles, activity électrocatalytic, antibacterial activity, hydrazine, copper, silver.