

INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUÉES DE ROUEN

N° attribué par la bibliothèque

THÈSE

Présentée par

M. Issam MTIMET

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'INSA de Rouen

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

École Doctorale Normande de Chimie

ELABORATION DE SURFACES BIOCIDES CONTENANT DES NANOPARTICULES D'ARGENT

Date de soutenance le 05 décembre 2011 devant le jury composé de :

Pr K. VALLEE-REHEL	Rapporteur Université de Bretagne Sud (Lorient)
Pr A. CRESPIY	Rapporteur Université du Sud Toulon-Var (La garde)
Pr J.-F. PILARD	Examineur Université du Maine (Le Mans)
Dr T. JOUENNE	Examineur CNRS (Rouen)
Dr L. LECAMP	Co-directeur Université de Rouen (Rouen)
Pr F. BUREL	Co-directeur INSA de Rouen (Rouen)

*A la mémoire de mon père, à ma mère,
mes frères, mes sœurs, ma femme, toute ma famille et mes amis
qui m'ont toujours soutenu et encouragé.*

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire Polymères, Biopolymères, Surfaces (PBS, UMR 6270) et plus particulièrement dans l'équipe de Matériaux Macromoléculaires (L2M) de l'INSA de Rouen sous la direction de Monsieur le Professeur Fabrice BUREL. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour m'avoir, d'une part, accueilli dans son équipe de recherche et d'autre part pour avoir dirigé ce travail de thèse. Je le remercie pour ses conseils avisés et son soutien constant.

Je remercie profondément ma directrice de thèse, ma « Chef » Laurence LECAMP, qui m'a continuellement encouragé à me dépasser et m'a toujours soutenu aux moments les plus difficiles. C'est elle qui m'a montré et appris la persistance et la précision indispensables au métier de chercheur. Je reste impressionné et admiratif de ses compétences, sa rigueur et sa passion pour la recherche. Merci pour tout le temps et l'énergie consacrés à me former et m'encadrer.

Je remercie le professeur Karine VALLEE-REHEL et le professeur Alain CRESPIY qui ont accepté d'être les rapporteurs de ma thèse à une période très chargée. Je remercie le professeur Jean François PILARD pour avoir accepté d'être l'examineur de ma thèse. Je tiens à remercier Monsieur Thierry JOUENNE directeur de recherche au CNRS pour m'avoir accueilli au sein de son équipe «Biofilms Résistances Interactions Cellules Surfaces». Je retiens sa large culture scientifique, l'aide et le soutien qu'il m'a apporté tout au long de ce travail.

Je souhaite remercier Monsieur Didier Lecerf Professeur à l'université de Rouen pour les analyses par Nanosizer. Je remercie également Nadège FOLLAIN Maître de conférences de l'Université de Rouen pour les mesures de traction. Merci également à tous les thésards du laboratoire PBS : Abdel, Nadine, Ghania, Raphaél, Alexandre, Hayette, Ghina, Sandra, Samir, Mohamed...

Je remercie vivement Monsieur Claude Bunel pour sa gentillesse, ses discussions passionnantes, son humour, sans oublier : Nicolas pour son aide informatique, son humanisme, et ses chaleureuses discussions ; Philippe pour son humour et son côté humain ; Gaëlle pour ses sévères règles de sécurité ; Mumu pour son humanisme, son aide et son soutien ; Catherine notre Assistante Ingénieur adorable ; Nasreddine, pour son aide précieuse et son enthousiasme.

Merci à l'ensemble des doctorants, post-doctorants, étudiants et stagiaires du laboratoire : Jérôme pour ses discussions bien animées ; Majed, Louise et Martin pour les poses de 16h00 ; Samir pour nos discussion ; Najib, félicitation pour sa thèse ; Sandra pour son sérieux ; Mélanie pour son aide et ses conseils ; HanBin pour le cours de chinois ; Ornella et Marc.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : BIBLIOGRAPHIE.....	4
INTRODUCTION.....	5
I. LES BIOFILMS	6
I.1. INTRODUCTION	6
I.2. FORMATION DES BIOFILMS BACTERIENS	6
I.3. LOCALISATION DES BIOFILMS	7
I.4. MOYENS DE LUTTE CONTRE LA FORMATION DES BIOFILMS	8
I.4.1. <i>Nettoyage par des produits biocides</i>	8
I.4.2. <i>Utilisation des ammoniums quaternaires</i>	9
I.4.3. <i>Produits utilisant des éléments métalliques</i>	9
II. PROPRIETES BIOCIDES DE L'ARGENT	10
II.1. MECANISMES D'ACTION DES IONS Ag ⁺	11
II.2. RESISTANCE DES MICROORGANISMES AUX IONS Ag ⁺	14
II.3. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES NANOPARTICULES D'ARGENT	15
II.4. LES NANOPARTICULES D'ARGENT : BENEFICES ET RISQUES	16
II.4.1. <i>Prévention des infections dans le domaine biomédical</i>	16
II.4.2. <i>Applications dans le domaine agro-alimentaire et le traitement de l'eau</i>	17
II.4.3. <i>Autres applications : hygiène et désinfection</i>	18
II.4.4. <i>Risques liés à l'utilisation de nanoparticules d'argent</i>	19
III. DU COMPOSITE AU NANOCOMPOSITE	20
III.1. DEFINITION DES COMPOSITES	20
III.1.1. <i>Composites à particules</i>	21
III.1.2. <i>Composites à fibres</i>	22
III.2. LES NANOCOMPOSITES.....	22
III.2.1. <i>Nanoparticules à trois dimensions nanométriques</i>	22
III.2.2. <i>Nanoparticules à deux dimensions nanométriques : nanofibres</i>	23
III.2.3. <i>Nanoparticules à une dimension nanométrique : nanofeuillets</i>	23
III.3. NANOCOMPOSITES POLYMER-ARGENT	23
III.3.1. <i>Méthodes ex situ</i>	24
III.3.2. <i>Méthodes in situ</i>	25
III.3.2.1. <i>Décomposition thermique de précurseurs métalliques</i>	25
III.3.2.2. <i>Implantation ionique</i>	25
III.3.2.3. <i>Dépôt chimique en phase vapeur (CVD) et dépôt physique en phase vapeur (PVD)</i>	26
III.3.2.4. <i>Imprégnation en phase CO₂ supercritique (scCO₂)</i>	27
III.3.2.5. <i>Irradiation UV</i>	27
CONCLUSION.....	28
CHAPITRE 2 : ELABORATION ET CARACTERISATION DE DISPERSIONS AQUEUSES DE NANOPARTICULES D'ARGENT	37
INTRODUCTION.....	38
I. LES DIFFERENTES METHODES DE SYNTHESE DE NANOPARTICULES D'ARGENT	38
I.1. REDUCTION CHIMIQUE D'UNE SOLUTION D'IONS AG ⁺	39
I.1.1. <i>Réduction en milieu solvant</i>	39
I.1.2. <i>Réduction en micro-émulsion inverse</i>	40
I.2. REDUCTION ELECTROCHIMIQUE.....	41
I.3. REDUCTION SOUS RAYONNEMENT ELECTROMAGNETIQUE	41
I.4. REDUCTION BIOCHIMIQUE.....	42
I.5. CONCLUSION.....	43
II. SYNTHESE ET CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE DE NANOPARTICULES D'ARGENT EN DISPERSION AQUEUSE	44
II.1. METHODES ANALYTIQUES DE SUIVI DE LA REDUCTION DES IONS Ag ⁺	44

II.2. PROCÉDES DE SYNTHÈSE DES NANOPARTICULES D'ARGENT EN DISPERSION	44
II.2.1. Procédé en milieu organique	44
II.2.1.1. Principe	44
II.2.1.2. Optimisation du procédé	45
II.2.2 Procédé en milieu aqueux	49
II.2.2.1. Principe	49
II.2.2.2. Optimisation du procédé	50
II.2.3 Procédé à l'état fondu	52
II.2.3.1. Principe	52
II.2.3.2. Optimisation du procédé	53
III. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ANTIBACTÉRIENNES DES DISPERSIONS DE NANOPARTICULES D'ARGENT	59
III.1 CHOIX DES BACTÉRIES ET DES MÉTHODES EXPÉRIMENTALES	59
III.2 PRINCIPE	60
III.2.1 Préparation des échantillons	60
III.2.2 Méthode sur gélose	61
III.2.3 Méthode en suspension	61
III.3 RESULTATS ET INTERPRÉTATION	61
CONCLUSION.....	66
CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE POLYURETHANES EN DISPERSION AQUEUSE	73
INTRODUCTION.....	74
I. POLYURETHANES	75
I.1. CATEGORIES ET DOMAINES D'APPLICATION DES POLYURETHANES	75
I.1.1. Peintures, vernis, liants, revêtements, adhésifs et autres matériaux	75
I.1.2. Les mousses	75
I.1.3. Les polyuréthanes élastomères	76
I.2. MÉTHODES DE SYNTHÈSE DES POLYURETHANES	77
I.2.1. Méthodes classiques utilisant les isocyanates	78
I.2.1.1. Principe général	78
I.2.1.2. Réactifs utilisés	80
I.2.2. Méthodes n'utilisant pas les isocyanates	82
II. SYNTHÈSE DE POLYURETHANES EN DISPERSION AQUEUSE	84
II.1. PRINCIPE	84
II.2. PRÉSENTATION DES PRINCIPAUX RÉACTIFS	86
II.3. MISE AU POINT DU PROCÉDE DE SYNTHÈSE DU PUD	87
II.3.1. Synthèse de prépolymères à extrémités isocyanate	87
II.3.1.1. Mode opératoire	87
II.3.1.2. Méthode de suivi de la réaction de polyaddition	87
II.3.1.3. Optimisation de la quantité de catalyseur	88
II.3.2. Elaboration et caractérisation des dispersions aqueuses	89
II.3.2.1. Mode opératoire	89
II.3.2.2. Suivi de la mise en dispersion par conductimétrie	89
II.3.3. Allongement de chaîne	91
II.3.3.1. Choix de l'allongeur de chaîne	91
II.3.3.2. Mode opératoire	91
II.3.4. Caractérisation des dispersions	91
III. ELABORATION ET CARACTÉRISATION DES MATÉRIAUX PU OBTENUS.....	93
III.1. MODE OPÉRATOIRE	93
III.2. ÉTUDE DE LA STABILITÉ THERMIQUE PAR ATG	93
III.3. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS THERMIQUES PAR DSC	94
III.4. RÉSISTANCE À LA TRACTION	94
III.5. RÉSISTANCE AU GONFLEMENT À L'EAU	95
IV. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ANTIBACTÉRIENNES DES MATÉRIAUX	96
IV.1. CHOIX DE LA MÉTHODE EXPÉRIMENTALE	97

IV.2. PREPARATION DES ECHANTILLONS.....	97
IV.3. INFLUENCE DU DBTL SUR LA CULTURABILITE DES BACTERIES EN PRESENCE DE POLYURETHANE.....	98
CONCLUSION.....	99
CHAPITRE 4 : SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE NANOCOMPOSITES POLYURETHANE-ARGENT	103
INTRODUCTION.....	104
I. ELABORATION DES NANOCOMPOSITES PU-Ag.....	104
I.1. PAR UN PROCÉDE EX SITU	104
I.2. PAR UN PROCÉDE IN SITU	105
I.2.1. <i>Rappels bibliographiques</i>	105
I.2.2. <i>Mise au point du procédé in situ sous UV</i>	107
I.2.2.1. Principe	107
I.2.2.2. Suivi de la réaction de réduction par spectroscopie UV-visible	108
I.3. CONCLUSION.....	110
II. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES NANOCOMPOSITES PU-Ag.....	111
II.1. ANALYSE DE SURFACE DES MATÉRIAUX PAR MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE (MEB) COUPLÉ À LA SPECTROSCOPIE DISPERSIVE EN ÉNERGIE DES RAYONS X (EDX)	111
II.2. ÉTUDE DE LA DÉGRADATION THERMIQUE DES NANOCOMPOSITES PU-Ag	114
II.3. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS THERMIQUES DES NANOCOMPOSITES PU-Ag	116
II.4. RÉSISTANCE À LA TRACTION DES NANOCOMPOSITES PU-Ag	117
II.5. ÉTUDE DU GONFLEMENT À L'EAU	117
II.6. PROPRIÉTÉS DE SURFACE DES NANOCOMPOSITES PU-Ag	118
II.7. CONCLUSION	120
III. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ANTIBACTÉRIENNES DES MATÉRIAUX	120
III.1. MÉTHODES EXPÉRIMENTALES	120
III.1.1. <i>Numération bactérienne</i>	120
III.1.2. <i>Mesure des zones d'inhibition</i>	121
III.1.3. <i>Méthode du test Live/Dead</i>	121
III.2. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.....	122
III.2.1. <i>Numération bactérienne</i>	122
III.2.1.1. Mise en évidence de l'effet antiadhésif du PEG	122
III.2.1.2. Influence de la concentration en nanoparticules d'argent	123
III.2.1.3. Influence de la taille des nanoparticules d'argent	125
III.2.1.4. Influence du degré d'oxydation de l'argent	126
III.2.2. <i>Mesure des zones d'inhibition</i>	127
III.2.3. <i>Test Live/Dead</i>	129
CONCLUSION.....	130
CONCLUSION GÉNÉRALE	132
ANNEXES : DESCRIPTION DES APPAREILLAGES ET TECHNIQUES D'ANALYSE UTILISÉES	135

Liste des abréviations

- AAO : oxyde d'aluminium anodisé;
- AOT : bis-(2-éthylhexyl)sulfosuccinate de sodium
- BSPP : bis(p-sulfonatophényl)phénylphosphine dihydrate dipotassium
- CTAB : bromure de cetyltriméthylammonium;
- EG : éthylène glycol;
- fs : femtoseconde (10^{-15} s);
- IPA : alcool isopropylique;
- MPEG : méthoxypolyéthylène glycol;
- N_2H_4 , H_2O : hydrate d'hydrazine;
- ns : nanoseconde;
- P123 : copolymère triblocs (PEO20PPO70PEO20);
- PEG : poly(éthylène glycol);
- PFPE-NH₄ : perfluoropolyéther d'ammonium;
- PSS : poly(styrène sulfonate);
- PVA : polyvinyl alcool;
- PVP : poly(vinylpyrrolidone);
- SCF : fluide supercritique;
- SDS : Dodécylsulfate de sodium;

INTRODUCTION GENERALE

Les biofilms fongiques et bactériens sont connus pour être à l'origine de problèmes de santé publique dans divers domaines tels que l'industrie agro-alimentaire ou le domaine biomédical et chirurgical avec des pertes économiques non négligeables. La nécessité de lutter contre la colonisation des surfaces dans ces secteurs stratégiques justifie l'intérêt croissant pour le domaine de recherche dédié à l'amélioration de l'hygiène des surfaces. Le polyuréthane, l'un des principaux matériaux d'équipement dans les industries agro-alimentaires, utilisé également pour la fabrication d'outils chirurgicaux, constitue un support de prédilection pour l'adhésion et le développement des microorganismes. Dans ce cadre, la maîtrise de l'hygiène des surfaces de polyuréthane se révèle un enjeu primordial pour assurer la sécurité des personnes, la conservation des produits et la durée de vie des équipements. Les biofilms étant très difficiles à éradiquer une fois formés, une stratégie préventive visant à limiter l'adhésion des microorganismes au polyuréthane et à éliminer ceux réussissant à entrer en contact avec la surface, constitue une approche pertinente et prometteuse. Notre travail s'inscrit dans ce contexte et a pour but d'élaborer des matériaux polyuréthanes à surfaces biocides vis-à-vis de différents microorganismes cibles.

Les propriétés biocides de l'argent ionique sont connues depuis très longtemps, celles des particules d'argent métallique de façon beaucoup plus récente. Incorporées à l'échelle nanométrique dans les matériaux polymères, elles peuvent donc tout à fait être envisagées comme agent bactéricide, la difficulté étant d'obtenir une bonne dispersion dans la matrice polymère sans passer par une phase métallique solide synonyme de risques de toxicité et de problèmes d'agrégation.

De nombreuses méthodes in-situ et ex-situ ont été développées pour l'incorporation de nanoparticules d'argent dans un polymère. Celles-ci font souvent intervenir des procédés complexes, des solvants organiques, des agents réducteurs, des agents stabilisants...

Ce travail de thèse a donc pour objectif de proposer des procédés d'élaboration de nanocomposites polyuréthane-argent simples, rapides et propres vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur. Pour répondre à ces critères, nous avons choisi d'élaborer les polymères et les nanoparticules métalliques en dispersion aqueuse.

Dans cette optique, un travail interdisciplinaire a été entrepris avec pour objectifs de :

(i) mettre au point un procédé de synthèse en phase aqueuse de polyuréthanes renfermant des nanoparticules d'argent en s'appuyant sur les potentialités des procédés chimiques ;

(ii) évaluer et comparer l'efficacité anti-adhésive et biocide des matériaux réalisés sur un panel de souches (bactéries à Gram positif et à Gram négatif) de caractéristiques (propriétés de surface, structure pariétale, réactivité) différentes.

Ce travail se décompose en quatre chapitres. Le premier chapitre a tout d'abord pour but de poser la problématique de la colonisation bactérienne des surfaces polymères au travers de la compréhension des phénomènes de prolifération bactérienne et des moyens de prévention existant actuellement. Un regard particulier sera porté sur les propriétés biocides de l'argent sous forme ionique et métallique et sur les mécanismes d'action de ces espèces sur les microorganismes. Ensuite, nous nous intéresserons aux travaux sur la synthèse de nanocomposites polymère-métal (argent) et les différents procédés existant à l'heure actuelle.

Le deuxième chapitre sera consacré aux procédés de synthèse de nanoparticules d'argent en dispersion. Après une étude bibliographique des travaux réalisés dans le domaine, nous nous intéresserons plus particulièrement à trois procédés d'obtention de dispersion aqueuse de nanoparticules d'argent. Les propriétés antibactériennes de ces dispersions seront caractérisées.

Les polyuréthanes, en général, et le procédé de synthèse d'un polyuréthane en dispersion aqueuse (PUD), en particulier, feront l'objet du troisième chapitre. La composition chimique du matériau sera optimisée en termes de propriétés physicochimiques et antibactériennes.

Enfin, le quatrième chapitre présentera deux procédés d'élaboration de nanocomposites PU-Ag. Le premier, *ex situ*, consistera à introduire les dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent au cours du procédé de synthèse du PUD. Le second, *in situ*, permettra la formation des nanoparticules d'argent par réduction photochimique du nitrate d'argent incorporé dans la matrice PU. Les propriétés physicochimiques et antibactériennes des différents matériaux seront étudiées en fonction de paramètres tels que la quantité d'Ag, la taille des particules, la nature du procédé...

CHAPITRE 1 : BIBLIOGRAPHIE

Introduction

Ces dernières années, une stratégie largement répandue pour prévenir la contamination microbienne a consisté à tuer les microorganismes (espèces pathogènes, flore d'altération) entrant directement en contact avec la surface réceptrice ou s'approchant d'elle. Cette stratégie consistait à ajouter des antibiotiques par imprégnation dans une matrice, fixation par interactions ioniques ou par liaisons covalentes, ou adsorption sur la surface. A titre d'illustration, des surfaces d'acier ont été recouvertes d'un dépôt d'acide polylactique biodégradable, dans lequel était incorporé un antibiotique (gentamicine et/ou teicoplanine) [1]. Les auteurs ont démontré un relargage progressif de l'antibiotique pendant 96 h, qui se traduit par une activité biocide sur *Staphylococcus epidermidis*.

Toutefois, l'émergence de phénomènes de résistance bactérienne aux antibiotiques a rapidement incité les chercheurs à se tourner vers d'autres solutions [2]. Ainsi, Fu et al. [3] ont montré l'efficacité anti-adhésive et l'activité biocide, *in vitro* sur *Escherichia coli*, de surfaces de poly(éthylène téréphthalate) (PET) recouvertes par des couches alternées de chitosane et d'héparine par physisorption. Par ailleurs, des tests menés *in vivo* chez des rats infectés par *Staphylococcus aureus* ont montré une réduction de l'infection bactérienne en présence d'implants en élastomère de silicone recouverts d'un dépôt sol-gel relargant du monoxyde d'azote [4].

Aujourd'hui, l'utilisation de procédés basés sur la chimie de réaction et les plasmas permettent de réaliser des revêtements antimicrobiens sur les surfaces avec des avantages significatifs que nous allons développer par la suite.

Après un rappel sur le principe du développement de biofilms sur des surfaces polymères, la première partie de ce chapitre sera consacrée à un aperçu des moyens actuels de prévention et d'éradication de ces biofilms. Nous verrons notamment que les éléments métalliques, et plus particulièrement l'argent, présentent une efficacité avérée en tant qu'agents antimicrobiens. Nous nous intéresserons alors, dans une deuxième partie, aux propriétés biocides de l'argent ionique et métallique en nous focalisant plus particulièrement sur les propriétés des nanoparticules d'argent. Enfin, la troisième partie de ce chapitre sera consacrée aux nanocomposites polymère-argent et à leurs différents procédés de synthèse.

I. Les biofilms

I.1. Introduction

Dans leur environnement naturel, les micro-organismes sont attachés à une surface, organisés en communautés structurées, et enrobés par une matrice d'exopolysaccharide. L'adhésion des bactéries sur une surface (état sessile) est une stratégie de survie qui leur permet de s'installer et de coloniser un environnement. L'état planctonique, où les bactéries se trouvent libres et isolées dans le milieu environnemental, pourrait être considéré comme un état transitoire. Cette forme de vie, appelée biofilm [5], a pris une importance toute particulière lorsqu'il a été établi qu'elle était impliquée dans un grand nombre d'infections bactériennes [5].

Jusqu'à récemment, les biofilms, et l'activité bactérienne qui en résulte, étaient connus pour les problèmes inhérents à leur capacité à recouvrir et à corroder les canalisations ou encore les coques de bateaux. Depuis quelques années, il est apparu que leur implication dans le milieu hospitalier est importante, puisque 65% des infections bactériennes chez l'Homme impliquent des biofilms [5,6]. Les biofilms peuvent en effet se former au niveau de cathéters ou d'implants (valves cardiaques, hanches artificielles), et attaquer des tissus corporels comme les dents, les yeux, les poumons, les oreilles ou le tractus urogénital [5].

I.2. Formation des biofilms bactériens

La formation d'un biofilm bactérien se déroule en trois étapes (Figure 1) [7] :

- l'initiation correspondant à l'adhésion des cellules sur la surface : flottantes ou planctoniques, les bactéries rencontrent une surface immergée et, en quelques minutes, s'y attachent. Elles commencent par produire des substances polymériques extracellulaires (EPS) puis colonisent la surface.

- la maturation, c'est-à-dire le développement de structures complexes organisées spatialement : la production d'EPS permet aux biofilms émergents de développer un complexe, une structure tridimensionnelle qui est influencée par une variété de facteurs environnementaux. Le biofilm peut se développer en quelques heures.

- le détachement soit de cellules individuelles, soit de portions entières de la communauté : les biofilms peuvent se propager par le détachement d'amas de cellules de

petites ou de grandes tailles, chaque type de détachement permettant aux bactéries de se fixer sur une surface ou à un biofilm en aval de la communauté d'origine.

Ces étapes sont influencées par les conditions environnementales comprenant la disponibilité des nutriments (excès ou carence) et les différents stress physico-chimiques (pH, température, présence de composés bactéricides etc.).



Figure 1. Développement en trois phases d'un biofilm bactérien (MSU Center for Biofilm Engineering) [7]

I.3. Localisation des biofilms

Bien que les bactéries aient été isolées pour la première fois à partir de leur état planctonique, il a été montré que la plupart des bactéries vit fixée sur des surfaces [8]. Les microbiologistes admettent, désormais, que plus de 99% des bactéries présentes dans l'environnement, le milieu industriel ou médical vit sous la forme de biofilms.

La formation des biofilms est un phénomène qui se produit à la fois dans l'environnement naturel et artificiel. En effet, les biofilms sont principalement pluri-espèces et sont trouvés dans les ruisseaux, les lacs et autres milieux aquatiques [9-12]. On les retrouve même dans des failles océaniques à 3500 mètres de profondeur [13] mais aussi, selon certains chercheurs de la NASA, sur Mars [14].

Dans les domaines industriels et biomédicaux, les biofilms sont responsables des phénomènes de biodétérioration engendrant des dégâts économiques et sanitaires importants. A titre d'exemple, en France, une enquête nationale, commandée par le Ministère de la Santé en 1996, montre qu'environ 7% des personnes hospitalisées contractent une infection

nosocomiale. Parmi les infections, 36% sont urinaires, 13% pulmonaires et 11% sont localisées sur la zone opérée. Les maladies nosocomiales deviennent de plus en plus une priorité de santé publique, du fait de leur fort taux de mortalité (50% des pneumopathies nosocomiales sont létales) et de leur coût (45000 lits sur 550000, problème juridique...), sans parler de l'utilisation des antibiotiques qu'elles entraînent.

I.4. Moyens de lutte contre la formation des biofilms

La recherche de solutions pour lutter contre les modes de contamination s'est donc accentuée. Deux voies sont possibles.

La première est le traitement d'un biofilm existant. Il s'agit dans ce cas de le détruire entièrement et on parle alors de traitements curatifs. Très courants, ils consistent en un nettoyage chimique par des agents antibactériens du marché tels que les solutions de sels d'ammonium quaternaire (QAS) ou contenant du triclosan. Cependant, leur efficacité n'est pas pleinement satisfaisante car il est notamment très difficile de détruire les bactéries dans le biofilm, ces dernières étant « protégées » par celui-ci.

Il est donc plus intéressant et important de limiter la formation du biofilm. Cette seconde stratégie, appelée traitements préventifs, fait intervenir sensiblement les mêmes agents bactéricides, mais à un stade où les bactéries n'ont pas encore eu le temps de former le biofilm, ce qui rend ces traitements plus efficaces. Ainsi, pour des systèmes liquides, l'agent antibactérien est intégré dans la formulation du produit, alors que pour des objets, le traitement consiste à déposer une couche mince antibactérienne fonctionnalisant le matériau de base à protéger afin d'éviter, ou du moins de limiter, la prolifération des bactéries et donc la formation de biofilms.

Des produits existent sur le marché. Quelques-uns des principaux agents utilisés de manière curative ou préventive sont commentés ci-après.

I.4.1. Nettoyage par des produits biocides

Le triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphényl éther) est un agent antibactérien à large spectre. Il a été commercialisé pour la première fois dans l'industrie des soins en 1972 [15]. On le retrouve, dans de nombreux objets domestiques quotidiens : dentifrice, liquide

vaisselle, savon liquide, mousse de rasage, déodorant, sols, etc. Bien que son efficacité soit prouvée depuis plus de trente ans, l'Union Européenne l'a interdit depuis peu (2010) car il présente quelques inconvénients : il réagit très rapidement dans le milieu aquatique [16,17] et est extrêmement persistant et toxique pour le milieu marin [18], il génère l'apparition de souches bactériennes résistantes [19,20] et peut favoriser le développement d'allergie à long terme [21].

I.4.2. Utilisation des ammoniums quaternaires

Les sels d'ammonium quaternaire dénommés « Quaternary Ammonium Salts (QAS) » présentent des propriétés antibactériennes [22]. On les retrouve dans des lotions, des crèmes cosmétiques, le traitement du bois (anti-moisissure) ou dans l'industrie du cuir [23,24].

Ces ammoniums quaternaires, grâce à leurs groupements hydrosolubles et liposolubles, se fixent sur la membrane lipidique de la bactérie. Ils modifient et dénaturent la structure de la membrane, la privant de ses fonctions vitales de perméation [25].

Les ammoniums quaternaires limitent fortement l'adhésion bactérienne du fait de leur cytotoxicité impliquant une destruction des bactéries, mais n'empêchent pas totalement le phénomène d'adhésion [26].

I.4.3. Produits utilisant des éléments métalliques

De nombreux éléments métalliques présentent une activité antimicrobienne sur les bactéries et sur les levures [27-29]. Toutefois, l'or et le platine sont rarement utilisés en raison de leur coût économique élevé, rédhibitoire pour des applications industrielles, le mercure est toxique pour l'homme et l'environnement [30], le nickel peut induire des réactions allergiques [31] et le zinc se caractérise par une activité trop faible [28]. Par conséquent, le cuivre et l'argent focalisent l'essentiel des travaux concernant la synthèse de surfaces métalliques biocides [32].

A titre d'exemple, Zhang et ses collaborateurs [33] ont réalisé une implantation de cuivre par immersion plasma de substrats en polyéthylène, pour rendre la surface antibactérienne. Les analyses XPS ont montré que les éléments implantés dans les couches inférieures étaient présents sous forme métallique, alors que les espèces à proximité de la surface ou déposées sur le matériau étaient plutôt oxydées (CuO). L'efficacité biocide des

matériaux traités a été démontrée sur *S. aureus* et *E. coli*, révélant une diminution de la viabilité cellulaire de 96,2% et 86,1%, respectivement.

Les biocides à base d'argent, quant à eux, sont employés dans un nombre croissant de domaines, comme le traitement de l'eau, les fibres textiles, les machines à laver le linge, les peintures, vernis et teintures, les polymères, les applications médicales, les céramiques à usage sanitaire et les éviers, ainsi que toutes sortes de produits de consommation [34].

Des volumes d'argent croissants sont utilisés dans les produits industriels et de consommation courante sous forme de « nanoargent ». L'argent à échelle « nano » ou nanoargent est devenu l'un des nanomatériaux les plus employés dans les produits de consommation, principalement en tant que bactéricide. En août 2008, le projet d'Inventaire des produits de consommation incorporant des nanotechnologies du Woodrow Wilson International Center for Scholars recensait 235 produits contenant du nanoargent sur les 803 nanoproduits de l'inventaire [35].

Si l'élément argent possède des propriétés antimicrobiennes notoires, il pourrait se révéler encore plus puissant sous forme de nanoargent. Des études [36,37] ont montré que du nanoargent inclus dans des polymères est deux fois plus efficace pour tuer *Escherichia Coli* que l'argent sous sa forme habituelle. Les mêmes études ont aussi montré que le nanoargent conserve plus longtemps son efficacité bactéricide, faisant ainsi ressortir les usages potentiels de cette technologie pour des applications antimicrobiennes de longue durée.

Dans les paragraphes suivants, nous allons nous intéresser de façon plus approfondie aux produits antibactériens renfermant de l'argent et incorporés à des fins préventives dans la masse des matériaux ou sur leur surface sous forme de films minces fonctionnels recouvrant les objets.

II. Propriétés biocides de l'argent

Les propriétés bénéfiques de l'argent pour limiter la propagation des infections et améliorer l'hygiène quotidienne sont connues et utilisées depuis plus de 7000 ans [38,39]. Les Romains employaient le nitrate d'argent, sans en comprendre le mécanisme d'action, pour soigner les blessures, les brûlures et les ulcères [40]. Par la suite, ce composé n'a cessé d'être

employé pour prévenir la contamination de l'eau ou pour éviter les infections oculaires chez les nourrissons par application d'AgNO₃ [38]. Ses qualités antimicrobiennes, attribuées au relargage d'ions Ag⁺, ont été admises dès l'identification des bactéries comme agents responsables d'infections [40]. De nombreux produits à base d'argent, comme des crèmes composées de sulfadiazine d'argent ou des pansements constitués de feuilles d'argent, ont été utilisés jusqu'à la découverte des antibiotiques [39]. L'argent est considéré comme un élément «oligo-dynamique», en raison de son efficacité antimicrobienne pour de très faibles concentrations (de l'ordre de 0,1 à 10 ppm) [39]. Selon Schierholz et al. [41], la concentration minimale inhibitrice de la majorité des bactéries à Gram positif et à Gram négatif se situe entre 0,5 et 10 ppm. Une bactérie en présence d'argent ionique, même très dilué, peut contenir jusqu'à une centaine d'ions Ag⁺, chiffre du même ordre de grandeur que le nombre d'enzymes présentes dans la cellule [38]. Ce phénomène, appelé «bioaccumulation», explique l'efficacité des ions Ag⁺ à de faibles concentrations [38].

L'argent sous forme métallique est inerte. Toutefois, lorsqu'il s'oxyde au contact de l'atmosphère ou d'un environnement humide ($\text{Ag M\acute{e}tal} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O}$), la dissolution de l'oxyde d'argent formé conduit à la libération d'ions Ag⁺. Ces ions présentent un large spectre d'action, aussi bien contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, que les levures, les champignons ou les virus. Il est important de noter que l'action biocide de l'argent dépend de la quantité d'ions Ag⁺ présents dans le milieu et réellement disponibles pour interférer avec les microorganismes. En effet, de part sa forte réactivité, l'argent peut interagir avec les protéines et les sels du milieu suspendant (ex : formation de AgCl, précipité très peu soluble), ce qui minimise la quantité active vis-à-vis des cellules. La lumière a également une incidence négative sur l'efficacité biocide des ions Ag⁺ [42], car elle provoque la photo-réduction des cations en atomes métalliques (Ag⁰).

II.1. Mécanismes d'action des ions Ag⁺

De nombreuses études sont dédiées à la compréhension des mécanismes d'action des ions Ag⁺ sur les bactéries. En raison de leur complexité, ces mécanismes ne sont pas complètement élucidés à l'heure actuelle et dépendent du genre et de l'espèce du microorganisme considéré. Néanmoins, les principaux sites de liaison et modes d'action sont connus et décrits dans la littérature.

Les ions Ag^+ interagissent avec de nombreux groupements chargés négativement contenus dans les molécules biologiques. Ces ions Ag^+ forment des liaisons avec les molécules biologiques contenant le groupement thiol ($-\text{SH}$), en particulier certains acides aminés tels que la cystéine. D'autres études mentionnent l'interaction des cations Ag^+ avec les groupements aminés des acides aminés et des peptides, avec les fonctions amides des liaisons peptidiques [43] et, en particulier, avec l'oxygène de la fonction carbonyle $\text{C}=\text{O}$. Il est à noter également l'interaction des ions Ag^+ avec les bases des molécules d'ADN et la formation de complexes Ag^+/ADN [44]. Enfin, les ions Ag^+ se lient également aux groupements phosphates reliant les bases des molécules d'ADN [45].

En revanche, les ions Ag^+ n'interagissent pas avec les acides aminés privés de la fonction chimique thiol tels que la glycine ainsi que les acides aminés constitués de ponts disulfure ou contenant du soufre sous forme $-\text{S}-$ [46].

Feng et al. [45] ont observé par microscopie électronique en transmission (MET), couplée à une analyse dispersive en énergie des rayons X (EDX), la croissance des deux souches bactériennes *E. coli* et *S. aureus* en absence et en présence d' AgNO_3 à la concentration de $10 \mu\text{g/mL}$. Les résultats obtenus avec *E. coli* montrent :

- le blocage de la réplication d'ADN ainsi que la multiplication de la bactérie,
- le détachement de la membrane cytoplasmique qui n'est plus solidaire de la paroi,
- la détérioration de la paroi et de la membrane cellulaire (présence de trous),
- l'inhibition de l'activité enzymatique de la cellule en raison de l'interaction des ions métalliques avec les groupements thiols présents notamment dans les protéines.

Dans le cas de *S. aureus*, les bactéries conservent leur intégrité cellulaire (pas de lyse, contrairement à *E. coli*). *S. aureus* présente donc un mécanisme de défense face aux ions Ag^+ , lié à l'épaisseur de la couche de peptidoglycane qui empêche la pénétration efficace des ions Ag^+ dans la cellule.

De leur côté, Jung et al. [47] ont démontré l'efficacité antibactérienne d'une solution d'ions Ag^+ de faible concentration (de l'ordre de $0,2 \mu\text{g/mL}$) vis-à-vis de *S. aureus* et d'*E. coli*. Ils ont obtenu des résultats similaires à ceux décrits par Feng et al. [45]. Ils ont, de plus, constaté une altération de l'activité enzymatique intracellulaire et un relargage d'ions K^+ (éléments nécessaires au maintien de la pression osmotique interne) provoqué par les ions Ag^+ [47].

Une autre étude a été réalisée par Holt et al. [48], pour voir la relation entre les ions Ag^+ et la chaîne respiratoire des bactéries, sur des bactéries *E. coli* en suspension ou immobilisées sur une surface de verre. Ils ont constaté que les ions métalliques interagissent avec les enzymes de la chaîne respiratoire (ex : NADH déshydrogénase) et empêchent le transport des électrons d'un complexe à l'autre de cette chaîne.

Enfin, les interactions entre les ions Ag^+ et les groupements chargés négativement présents sur les parois bactériennes provoquent des dommages structurels majeurs, notamment des trous. Ceci augmente la perméabilité membranaire et facilite la sortie des constituants cellulaires, ainsi que la pénétration des ions Ag^+ dans la cellule [49]. L'ensemble de ces phénomènes conduit à la mort de la bactérie.

La figure 2 répertorie les principaux sites d'action des ions Ag^+ sur les bactéries, relevés dans la littérature, et montrent clairement les multiples cibles de ces ions, expliquant leur activité antimicrobienne redoutable.

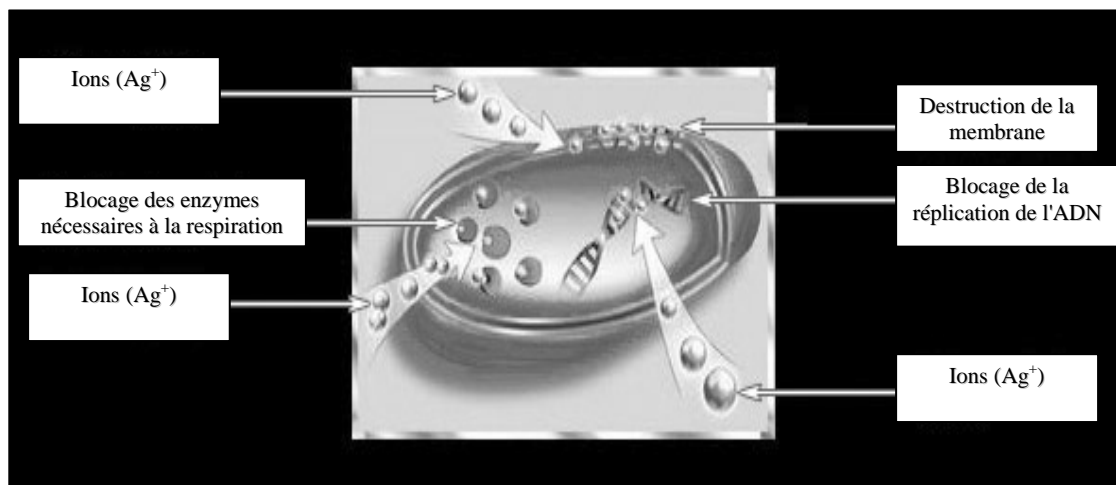


Figure 2. Site d'action des ions Ag^+ sur les cellules bactériennes [45]

Pour conclure cette partie concernant l'activité antibactérienne des ions Ag^+ , le Tableau 1 présente les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des ions issus de la dissolution de la sulfadiazine d'argent, d'après les travaux de Yin et al. [50]. Comme mentionné précédemment, les bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*) sont plus sensibles aux ions Ag^+ (*i.e.* CMI plus faibles) que les bactéries à Gram positif (*S. aureus*, *S. epidermidis*).

Microorganismes	CMI ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. aureus</i>	12,5
<i>S. epidermidis</i>	10,0
<i>E. coli</i>	7,5
<i>K. pneumoniae</i>	5,0
<i>P. aeruginosa</i>	7,5

Tableau 1. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de différentes bactéries à Gram positif et à Gram négatif, traitées par de la sulfadiazine d'argent [50].

II.2. Résistance des microorganismes aux ions Ag^+

Contrairement aux antibiotiques, les ions Ag^+ provoquent très rarement l'émergence de résistance de la part des bactéries ou des levures [51]. Les cations métalliques agissent simultanément sur de nombreux sites de la cellule et lorsque la concentration en Ag^+ est suffisante, le microorganisme ne peut pas muter avant d'être tué.

Toutefois, des études ont révélé l'existence d'un phénomène de résistance pouvant être lié aux gènes présents dans le génome du microorganisme [38,39,52]. Par exemple, Kierans et al. [42] ont montré qu'après des cultures répétées des bactéries *C. albicans* et *S. cerevisiae* en présence d'argent à des concentrations comprises entre 1 et 2 mmol.L^{-1} , ces microorganismes mettent en place un système de résistance tel qu'ils peuvent alors se développer en présence de concentration en argent plus importantes (5 mmol.L^{-1}) et normalement létales [42]. Ce phénomène de bio-accumulation a également été observé chez *Pseudomonas* et *E. coli* [53]. D'autres travaux [54-56] ont montré que l'entrée des ions Ag^+ dans la cellule des microorganismes s'accompagne d'une excrétion de cations afin de conserver l'électroneutralité au sein de la cellule. L'étude des mutants d'*E. coli*, obtenus par sélection en laboratoire a montré l'absence de ce mécanisme d'excrétion, conférant à ces microorganismes une résistance aux ions Ag^+ . Il a également été montré que cette résistance aux ions Ag^+ est liée à la présence de plasmides, molécules d'ADN surnuméraires contenant neuf gènes de résistance à l'argent.

II.3. Activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent

Comparé aux sels d'argent, l'avantage des nanoparticules d'argent métallique réside dans le fait qu'elles représentent un réservoir d'ions Ag^+ [57] permettant une activité antibactérienne pendant une période de temps plus longue. Ainsi Gibbins et Werner [51] ont montré 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, alors que l'argent ionique est actif sur une période de quelques jours. La libération des ions argent se fait progressivement 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 (phénomène de «leaching»). Comme les nanoparticules d'argent présentent une aire spécifique très élevée, leur potentiel de relargage d'ions Ag^+ est aussi important [58,59]. Par conséquent, les nanoparticules d'argent sont plus actives que l'argent massif vis-à-vis des bactéries [60], ce qui explique en partie leurs propriétés biocides [38].

Les nanoparticules d'argent peuvent toutefois présenter une efficacité antimicrobienne qui leur est propre en fonction de leur taille et de leur forme. Ainsi, Morones et al. [59] ont observé que seules les nanoparticules d'argent 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 viabilité cellulaire (CMI = 75 $\mu\text{g/mL}$). Une étude récente de Pal et al. [60] sur *E. coli* a également démontré le rôle joué par la forme : les nanoparticules en forme de pyramides triangulaires, dont la base est un plan cristallin {111} de densité atomique élevée, présentent la toxicité la plus élevée par rapport à leurs homologues sphériques ou sous forme de bâtonnets.

Leur mécanisme d'action est favorisé par leur interaction avec la paroi du microorganisme puis la pénétration dans la cellule rendue possible par «évitement» des mécanismes de défense observés dans le cas de particules de taille plus importante, et enfin par leur interaction avec les constituants cellulaires (ADN, protéines, enzymes) [61]. Selon Kim et al., l'action biocide des nanoparticules est liée à la présence de radicaux libres, générés en surface, qui endommagent la membrane lipidique des cellules [62].

Enfin, l'existence d'une interaction directe entre les nanoparticules d'argent et l'ADN génomique chez *E. coli* a été mise en évidence récemment par Wang et al. [63]. Dans cette

même étude, les chercheurs ont constaté une augmentation d'un facteur 3 de la fréquence de mutation du génome d'*E. coli* en présence de nanoparticules d'argent de 30-50 nm de diamètre (*i.e.* la fréquence de mutation passe de $1,08 \cdot 10^{-6}$ pour l'échantillon contrôle à $3,14 \cdot 10^{-6}$). De plus, cette étude montre que les ions Ag^+ issus de la dissolution d' AgNO_3 provoquent également une augmentation de la fréquence de mutations mais d'un facteur 2,5. Les risques potentiels des nanoparticules d'argent pour la santé et l'environnement seront discutés ultérieurement.

En conclusion, les nanoparticules d'argent présentent une activité biocide à large spectre, due au relargage progressif et contrôlé d'ions Ag^+ , mais aussi à une efficacité propre par interaction directe avec les cellules.

II.4. Les nanoparticules d'argent : bénéfiques et risques

Depuis la fin des années 1990, l'utilisation de nanoparticules d'argent colloïdal connaît un essor extrêmement important en raison de leur réactivité élevée et de leur capacité à libérer progressivement, et de manière contrôlée et durable, les ions Ag^+ . Aujourd'hui, on assiste à une véritable explosion du marché économique des produits contenant des nanoparticules d'argent. Le marché européen des produits et équipements contenant de l'argent est passé de 30 tonnes environ en 2004 à 130 tonnes en 2010 [64]. En 2008, Mueller et Nowack [65] estimaient la production mondiale de nanoargent à environ 500 tonnes/an.

II.4.1. Prévention des infections dans le domaine biomédical

L'utilisation la plus répandue de l'argent sous forme de nanoparticules correspond aux pansements et aux différents soins employés dans le domaine médical. Des pansements dits «argentiques» contiennent des nanoparticules d'argent colloïdal adsorbées sur leur surface [66]. C'est le cas par exemple des pansements Acticoat®, commercialisés par Smith & Nephew [50], Actisorb Silver® (Johnson and Johnson), Silverlon® (Argentum Medical) ou Hansaplast® [38, 39]. Ces produits ont prouvé leur efficacité antimicrobienne envers différentes bactéries à Gram positif et négatif [66] et les levures [67]. De plus, selon certains auteurs, l'argent participerait à la guérison anticipée des blessures [68]. Les bénéfices thérapeutiques de ces pansements ont été évalués *in vivo* sur des modèles animaux [69] et par des essais cliniques [70]. Ils sont aujourd'hui couramment utilisés avec succès dans les

hôpitaux et centres de soins [39]. En outre, leurs applications et retraits quotidiens sont moins douloureux pour le patient que les crèmes et, contrairement au nitrate d'argent, leur utilisation ne provoque pas d'irritations [66].

Des cathéters urinaires, vasculaires et péritonéaux ont également été fabriqués à partir de polymères imprégnés d'argent sous forme métallique ou oxydée, afin de prévenir la formation de biofilms bactériens [53]. Bien que la plupart des travaux réalisés avec ces cathéters aient démontré leur activité antimicrobienne, et par conséquent, une réduction des coûts d'hospitalisation [71], certaines études soulèvent le problème d'une efficacité relativement faible *in vivo* [72].

D'autres produits dérivés sont également employés dans le domaine médical. Des masques chirurgicaux contenant des nanoparticules d'argent ont été fabriqués et testés [73] : ils présentent une efficacité antibactérienne sur *E. coli* et *S. aureus* et ne provoquent pas d'allergie ni d'irritation chez les sujets les ayant portés pendant 1h.

Alt et ses collaborateurs [74] ont étudié un ciment pour os (NanoSilver®), constitué de polyméthacrylate de méthyle contenant des particules d'argent métallique (diamètre : 5 à 50 nm). Ils ont démontré *in vitro* son activité biocide contre des bactéries adhérees (*S. epidermidis* et *S. aureus* résistantes à la méticilline).

II.4.2. Applications dans le domaine agro-alimentaire et le traitement de l'eau

L'argent est employé dans l'industrie alimentaire pour éviter les contaminations microbiennes et prévenir l'apparition d'un goût métallique. Des équipements en argent sont utilisés pour la manipulation d'huiles essentielles, de sirops et de jus de fruits [75].

Des compléments alimentaires contenant de l'argent sont actuellement vendus en Chine et au Japon (ex : comprimés Jin Tan). A Mexico, un colloïde d'argent appelé Microdyn® est vendu en supermarché pour prévenir la contamination des légumes et entre dans la composition des filtres des circuits d'acheminement d'eau potable [39,40].

Des boîtes plastiques pour le stockage de denrées alimentaires, contenant des nanoparticules d'argent, sont commercialisées par la société Blue Moon Goods LLC (Fresh Box Silver™) et la société A-DO Global Company. Lohrer et al. [76] ont mis au point un film alimentaire plastique dans lequel sont incorporées des particules de phosphate de calcium biodégradables (diamètre : 20-50 nm) portant des nanoparticules d'argent (diamètre : 1-2 nm). Les microorganismes se présentant à proximité du film dégradent les particules de phosphate de calcium, pour assimiler les minéraux nécessaires à leur croissance, ce qui permet la libération progressive d'ions Ag^+ . Les propriétés biocides de ce film ont été démontrées sur *P. aeruginosa* et *C. albicans*, sans qu'il soit possible de reproduire la même efficacité sur *S. aureus* et *A. niger*.

Les nanoparticules d'argent sont également utilisées pour empêcher le développement d'agents infectieux, notamment les *Legionella*, dans les circuits de distribution d'eau potable [53]. Différents travaux démontrent l'efficacité antimicrobienne de filtres de polyuréthane, de céramique ou de charbon actif contenant ces nanoparticules [77]. Zodrow et ses collaborateurs [78] ont imprégné des membranes de filtration en polysulfone avec des nanoparticules d'argent. Ces membranes ont provoqué une réduction de la viabilité d'*E. coli*, une inhibition de la croissance de *P. mendocina* et ont également favorisé l'élimination de virus. De manière similaire, des systèmes de filtration de l'air contiennent des nanoparticules d'argent incorporées dans le charbon actif composant la membrane [77].

II.4.3. Autres applications : hygiène et désinfection

Le Tableau 2 expose un inventaire non exhaustif des domaines pour lesquels sont développés et commercialisés des produits contenant des nanoparticules d'argent et montre la diversité des applications actuelles.

Catégories	Produits	Remarques
Vêtements et textiles	Fibres et fils (SilverSTAT [®]), Chaussettes, tenue de sport (Polartec [®] Power Dry [®] ; Meryl Skinlife [®] ; Eclectic Silver), baskets (Adidas [®] , Polartec [®]) Serviettes de toilette, linge de literie, sac de couchage, matelas (SpringAir)	Objectifs : - retarder le développement de bactéries et de champignons ; - éviter les mauvaises odeurs ; - empêcher l'adhésion des pollens responsables d'allergies.
Hygiène des personnes	Déodorants (Shiseido), savon (Nanogist – Nanover TM), gel bactéricide pour les mains, dentifrice (Chine) Produits cosmétiques (Japon) Spray pour chaussures (Simplicity) Sièges des toilettes publiques (Toto – Japon)	
Equipements électroménagers (* certains appareils ne sont plus en vente actuellement)	Machines à laver le linge* (Samsung Electronics - SilverWash [®] ; Sharp), Lave-vaisselle (Samsung, Hitachi) Réfrigérateurs* (Samsung Electronics) Aspirateurs (LG Electronics, Daewoo, Polti) Climatisation* (Samsung)	Principe : libération d'ions Ag ⁺ à partir d'argent métallique grâce à un courant électrique
Technologies	Ordinateurs, PDA (Samsung –technologie SilverNano [®]) Combinés téléphoniques, calculatrice, clavier d'ordinateurs (technologie Amenitop [®] – Japon)	Amenitop [®] (gel de silice contenant du thiosulfate d'argent), mélangé au plastique lors de la fabrication
Désinfection des surfaces	Peintures murales, revêtements de sol, revêtement de murs extérieurs pour la construction (Atheco–BioiniNature [®]) Revêtement de surfaces d'acier inoxydable pour équipements médicaux, industries agro-alimentaires ou pharmaceutiques (Engineered nanoProducts Germany)	Applications : pour les personnes allergiques aux désinfectants habituels

Tableau 2. Domaines d'application de produits contenant des nanoparticules d'argent [79]

II.4.4. Risques liés à l'utilisation de nanoparticules d'argent

L'utilisation des pansements et des crèmes «argentiques» ne fait pas débat car leur emploi est peu fréquent, limité dans le temps et restreint à un individu donné, avec des bénéfices thérapeutiques avérés. En revanche, l'exploitation commerciale des produits «nano-argent» explosant à l'heure actuelle, il nous a semblé important de nous intéresser à la fois aux conséquences liées à l'utilisation de ces ions et des nanoparticules d'argent.

La plupart des études montre que l'argent ionique n'induit pas de conséquences négatives pour l'être humain, aux concentrations requises pour obtenir une activité antimicrobienne [80]. Toutefois, lorsque l'argent ionique est appliqué sur une lésion corporelle sous forme de crème ou de pansements, il se lie à la sueur, au sébum et aux protéines présentes. Il peut ensuite passer dans la circulation sanguine, ce qui se traduit par une augmentation de la concentration en argent dans le sérum. Selon certains auteurs, il est alors excrété dans les urines en 2 à 5 jours, alors que d'autres chercheurs ont montré une

bioaccumulation de granules métalliques dans différents organes : le foie, les reins, l'intestin, les glandes surrénales et, dans de rares cas, la moelle épinière [81].

L'argent sous forme de nanoparticules peut pénétrer dans le corps humain par différentes voies [82]. Après ingestion ou contact dermique en présence d'une lésion cutanée, les nanoparticules métalliques peuvent se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique et s'accumuler dans les organes, comme les ions Ag^+ . Une étude in vivo sur des rats a démontré que l'ingestion par voie orale d'une dose supérieure à 300 mg/kg de nanoparticules d'argent pendant 28 jours entraîne des lésions au niveau du foie et une accumulation dans de nombreux tissus, sans toutefois avoir de conséquences négatives sur la moelle osseuse [83].

D'autres travaux se focalisent sur l'influence de l'argent sous forme de nanoparticules sur les cellules de mammifères. Certaines de ces études n'ont répertorié aucun impact négatif [84], alors que d'autres ont mis en évidence une cytotoxicité sur différentes lignées (kératinocytes, fibroblastes, neutrophiles, monocytes, leucocytes, cellules du foie, cellules endothéliales, cellules germinales), qui se traduit par une perte d'identité cellulaire, une réduction de la capacité de prolifération et des modifications de la structure des organites et du noyau cellulaire [80]. Les quantités de nanoparticules d'argent utilisées dans les différentes expériences exposées ici sont très importantes et ne reflètent pas les niveaux auxquels les êtres humains sont pour le moment confrontés [85].

III. Du composite au nanocomposite

III.1. Définition des composites

Un composite est un matériau constitué de deux phases (ou plus) non miscibles ayant des propriétés et des rôles différents [86]. L'une, continue, est appelée matrice et l'autre, discontinue, appelée renfort (Figure 3). Les composants doivent être physiquement identifiés : il doit exister une interface distincte entre eux. Ce mélange possède des propriétés nouvelles et on recherche, en les associant, un ensemble de performances supérieures aux composants pris séparément. Les matériaux de renfort confèrent aux composites leurs caractéristiques mécaniques : rigidité, résistance à la rupture, dureté... Ils permettent également de modifier certaines propriétés physiques comme le comportement thermique, la résistance à l'abrasion

ou les propriétés électriques. La matrice assure la cohésion et le transfert des efforts vers le renfort.

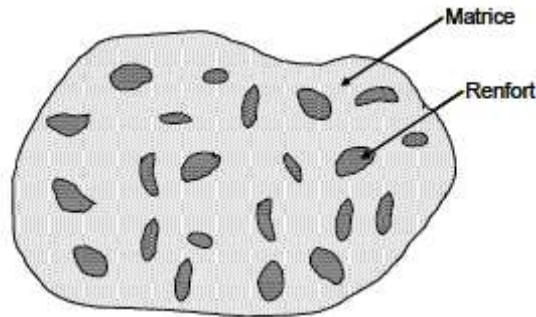


Figure 3. Matériau composite [87]

Les propriétés des matériaux composites dépendent de trois facteurs [87]:

- la nature et les propriétés des matériaux constituants,
- la géométrie et la distribution du renfort,
- les interactions entre constituants et la nature de l'interface matrice-renfort.

Le renfort sera caractérisé par sa forme, sa taille, sa concentration et son orientation. La concentration en renfort est définie par la fraction volumique ou massique. Il s'agit d'un paramètre déterminant des propriétés du composite. Selon la géométrie et l'orientation du renfort, il est possible de contrôler l'anisotropie des caractéristiques souhaitées du composite.

Les matériaux composites sont classés en deux grandes catégories selon la forme et la nature des constituants: les composites à particules et les composites à fibres [87].

III.1.1. Composites à particules

Un matériau composite est dit à particules quand son renfort se trouve sous forme de particules ne possédant pas de dimension privilégiée. Elles sont généralement utilisées pour améliorer des caractéristiques telles que la rigidité de la matrice, la résistance à l'abrasion ou la tenue en température. Elles sont aussi souvent employées pour diminuer le coût du matériau.

III.1.2. Composites à fibres

Un composite est dit à fibres quand son renfort est sous forme de fibres, c'est-à-dire qu'il possède une direction privilégiée. L'arrangement des fibres, leur orientation définissent les propriétés souhaitées et peuvent rendre le matériau fortement anisotrope ou fortement isotrope dans un plan. Les fibres constituent le renfort le plus fréquent et peuvent être de différents types :

- fibres minérales (verre, carbone, carbure de silicium)
- fibres métalliques (bore, aluminium)
- fibres organiques (Kevlar, polyamides)

et sous différentes formes :

- formes linéiques (fils, mèches...)
- formes surfaciques (tissus simples...)
- formes multidirectionnelles (tresses, tissus complexes).

III.2. Les Nanocomposites

Un nanocomposite est un matériau composite dont le renfort possède au moins une des trois dimensions de l'ordre du nanomètre [88]. On peut les classer de la même manière que les composites, selon la morphologie du renfort qui y est dispersé et plus particulièrement selon le nombre de leur dimension nanométrique. On retrouvera en plus des composites à fibres et à particules, un nouveau type de composite dit à renforts lamellaires.

Il existe trois classes de renfort : les nanoparticules à trois dimensions nanométriques, les nanofibres et les nanofeuillets (Figure 4) [88].

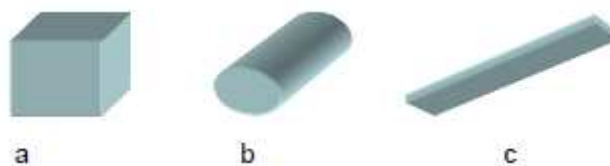


Figure 4. Représentation schématique des différents renforts.
(a) nanoparticule ; (b) nanofibre ; (c) feuillet

III.2.1. Nanoparticules à trois dimensions nanométriques

Les trois dimensions de la particule sont de l'ordre du nanomètre. Dans cette catégorie on compte, par exemple :

- les agrégats d'atomes

- les nanoparticules métalliques (or, fer, cobalt, argent, platine...)
- les fullerènes (carbone C₂₀, C₆₀...).

Le gain de propriétés physiques particulières (optiques, électriques, magnétiques...) est recherché lors de l'ajout de ce type de particule ; le renfort mécanique n'est ici que secondaire.

III.2.2. Nanoparticules à deux dimensions nanométriques : nanofibres

Les nanofibres sont des particules dont deux dimensions sont de l'ordre du nanomètre. La troisième est beaucoup plus grande. La grandeur caractéristique est le facteur de forme. Il est défini comme le rapport de la longueur sur le diamètre de la fibre et est souvent supérieur à 100. Il existe des fibres creuses, les plus connues étant les nanotubes de carbone, et des fibres pleines (nanofils).

III.2.3. Nanoparticules à une dimension nanométrique : nanofeuillets

Les feuilletés possèdent deux directions privilégiées. La particule possède une dimension de l'ordre du nanomètre et les deux autres de l'ordre du micromètre. Le facteur de forme est alors défini comme le rapport de la longueur du feuillet sur l'épaisseur. L'arrangement des feuilletés et leur orientation vont engendrer les propriétés souhaitées. Cette famille de particules est issue de matériaux naturellement feuilletés. Les principaux précurseurs utilisés pour la fabrication de nanocomposites à matrice polymère sont, d'une part, les hydroxydes doubles à feuilletés et, d'autre part, les argiles gonflantes aussi appelées smectites. Ces nanofeuilletés sont caractérisés respectivement par des charges positives et négatives en surface.

III.3. Nanocomposites Polymère-Argent

Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, l'effet multifactoriel de l'argent explique son efficacité biocide importante vis-à-vis d'un large spectre de microorganismes. Face à ce constat, de nombreux travaux ont ciblé cet agent antimicrobien comme composant biocide majeur pour l'élaboration de nouvelles surfaces. Dans le cadre d'applications fonctionnelles des nanoparticules, l'utilisation des polymères comme phase de

fixation est particulièrement intéressante en raison de la grande variété de caractéristiques qu'ils peuvent avoir : ils peuvent être isolant ou conducteur électrique et thermique, avoir un caractère hydrophobe ou hydrophile, être mécaniquement durs ou mous etc... Par ailleurs, l'incorporation des nanoparticules dans les polymères est le moyen le plus simple et le plus commode pour la stabilisation, la manipulation et l'application des métaux nanostructurés [89].

Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux différentes techniques de préparation de nanocomposites polymère-argent qui peuvent être classées en méthodes ex situ et in situ [89]. Devant l'étendue de la littérature et l'intérêt porté à cette problématique, nous ne développerons pas une liste exhaustive de l'ensemble des techniques possibles, mais mettrons plutôt en exergue la diversité des méthodes existantes.

III.3.1. Méthodes ex situ

Les nanoparticules d'argent sont préparées d'abord, traditionnellement, par précipitation contrôlée et stabilisation simultanée des colloïdes naissants. Cela peut être fait par la réduction d'un sel métallique dissous dans un solvant approprié [89-92], contenant souvent un polymère jouant le rôle de stabilisant [89-94]. Alternativement, elles peuvent être préparées par micro-émulsion inverse [89-97]. Ces méthodes seront décrites de façon plus détaillée dans le deuxième chapitre de cette thèse. Ces particules doivent ensuite être introduites dans les polymères par mélangeage avec une solution de polymère, ou de monomère, qui peut ensuite être moulé, injecté etc. selon la norme de traitement des polymères techniques [89]. Toutefois, cette méthode est limitée par des problèmes de dispersion. Aussi, les particules produites par ces méthodes sont souvent modifiées en surface de manière covalente par la liaison thiol-métal [98] ou par enrobage avec un polymère approprié [91], ce qui permet de limiter leur agrégation mais peut altérer également leurs propriétés biocides. Mais même avec cette étape, il est difficile d'obtenir des composites bien homogènes, et des phénomènes d'agrégation sont observés. En outre, cette voie est limitée à des systèmes compatibles polymère-particule-solvant.

III.3.2. Méthodes in situ

Les méthodes in situ qui ont été utilisées pour la fabrication de nanocomposites métal-polymère sont très variées. Bien que souvent moins simples et directes que les méthodes ex situ, les méthodes in situ sont communément considérées comme conduisant à des matériaux nanocomposites de qualité plus contrôlée.

De manière générale, elles consistent à introduire des ions métalliques dans le monomère qui est ensuite polymérisé, ou dans un polymère. Ces ions métalliques, qui se trouvent dans la matrice du polymère, sont réduits chimiquement, thermiquement ou par irradiation UV, pour former des nanoparticules.

III.3.2.1. Décomposition thermique de précurseurs métalliques

C'est la méthode la plus adaptée à grande échelle de production [89]. Un certain nombre de précurseurs organiques a été étudié pour cette application [99], mais aucun n'a montré un comportement tout à fait satisfaisant. Carotenuto et al. ont ainsi découvert que les métaux de transition liés à des mercaptides ($M_x(SR)_y$), sels organiques covalents présentant une grande compatibilité avec les polymères les plus hydrophobes, pouvaient constituer de bon précurseurs de nanoparticules [100]. Le mercaptide est dispersé dans un polymère et l'ensemble est ensuite chauffé entre 110-180°C pour décomposer le mercaptide. La littérature rapporte également l'existence de composites intéressants préparés par inclusion de nitrates de métaux (par exemple $AgNO_3$) [101-103] et de sels métalliques [104].

Les inconvénients de cette méthode sont liés au fait que des sous-produits organiques sont piégés dans le polymère, et que la réduction du métal cause des dommages au substrat.

III.3.2.2. Implantation ionique

L'implantation ionique est un procédé qui consiste à bombarder un matériau avec des ions accélérés à une certaine énergie comprise pour les ions Ag^+ entre 30 à 150 keV. Les ions accélérés sont projetés sur une cible dont la température peut être contrôlée. Une forte concentration d'implantation permet de créer un état de sursaturation et de provoquer la nucléation de particules dans une région proche de la surface.

Comparé à d'autres techniques d'élaboration de nanoparticules, l'implantation ionique présente un attrait particulier car elle permet de contrôler divers paramètres avec précision :

- la profondeur moyenne de l'espèce implantée par rapport à la surface en ajustant l'énergie d'accélération des ions,
- la quantité de l'espèce introduite en agissant sur le courant ionique et la durée d'exposition au faisceau,
- le profil de l'espèce implantée en effectuant des implantations multiples à différentes énergies.

Un autre de ses avantages majeurs réside dans le fait que les précipités formés sont « enterrés » dans la matrice, et ainsi protégés de l'environnement extérieur. Offrant une bonne maîtrise de la taille des particules et de la mise en dispersion, cette méthode est limitée à l'imprégnation de surfaces de quelques micromètres carrés. Néanmoins, cette méthode a été utilisée pour une synthèse efficace de matériaux nanocomposites PMMA-Ag [105,106].

III.3.2.3. Dépôt chimique en phase vapeur (CVD) et dépôt physique en phase vapeur (PVD)

Ces méthodes peuvent être efficacement utilisées pour la synthèse simultanée de nanoparticules métalliques et d'un substrat polymère [107], le contrôle de la forme des nanoparticules à l'intérieur du substrat polymère et de la structure du composite produit étant possible. En contrôlant le flux de matières premières, le nanocomposite peut être homogène, à gradient ou en couches. Dans le cas du procédé CVD, le substrat est chauffé et exposé à un ou plusieurs précurseurs volatils, qui réagissent et / ou se décomposent sur la surface du substrat pour produire le dépôt souhaité. Fréquemment, les sous-produits volatils sont éliminés par écoulement des gaz dans la chambre de réaction. Les précurseurs utilisés sont des complexes organométalliques volatils, semblables à ceux parfois utilisés dans la synthèse de nanoparticules par des méthodes chimiques. Dans les CVD, les gaz précurseurs, souvent dilués dans des gaz transporteurs, sont injectés dans la chambre de réaction à température ambiante.

Le PVD permet d'obtenir des films nanocomposites plus simplement par évaporation thermique par faisceau d'électrons ou chauffage ohmique du polymère pur et du métal destiné à former le composite. Un gaz porteur est ensuite introduit pour le transport du métal évaporé,

et se refroidit vers la fin du réacteur. Comme la vapeur se refroidit, la nucléation se produit et les gouttelettes de métal liquide se forment. Ces gouttelettes se condensent et se solidifient de façon contrôlée par le gradient de température, le temps de séjour et les débits de gaz utilisés pendant la procédure. Contrairement au procédé CVD, le PVD ne produit pas de sous-produits. L'oxygène est souvent utilisé comme gaz porteur pour produire des particules d'oxyde métallique.

Ces deux procédés CVD et PVD permettent d'obtenir des revêtements de quelques micromètres d'épaisseur seulement avec des vitesses de dépôt assez faibles, généralement de l'ordre de quelques centaines de micromètres par heure. Ces processus sont difficiles et coûteux à utiliser sur une grande échelle.

III.3.2.4. Imprégnation en phase CO₂ supercritique (scCO₂)

La génération des nanoparticules métalliques dans des polymères solides se fait par infusion et réduction simultanée des complexes précurseurs, en milieu fluide supercritique [107, 108]. Les avantages de cette méthode scCO₂ sont nombreux. Parmi ceux-ci, on peut citer le fait que c'est un processus vert évitant l'utilisation de solvants toxiques et nuisibles, et qu'il permet de pré-fabriquer des matériaux polymères imprégnés de nanoparticules après qu'ils aient été transformés en leur forme finale, ce qui évite l'agrégation des nanoparticules pendant le traitement. Ce processus est utilisé pour la modification des polymères qui sont difficiles à traiter par des méthodes normales.

III.3.2.5. Irradiation UV

L'irradiation sous UV est l'une des méthodes utilisées pour la synthèse in-situ des nanoparticules métalliques dans les polymères. La formation de ces nanoparticules s'effectue par réduction simultanée des complexes précurseurs dans le composite [109-112]. Les avantages de cette méthode d'irradiation sont nombreux. C'est notamment un processus vert évitant l'utilisation de solvants toxiques et nuisibles d'une part. D'autre part, cette méthode permet de contrôler la taille des nanoparticules et l'absence d'agrégation de nanoparticules pendant le traitement.

Conclusion

L'abondance de la littérature, illustrée par les nombreux exemples exposés dans ce chapitre, prouve l'intérêt porté à la conception de surfaces biocides dans le but de prévenir la colonisation microbienne. Comme nous l'avons par ailleurs décrit dans ce chapitre, l'argent ionique constitue un agent antimicrobien efficace vis-à-vis d'un large spectre de microorganismes, en raison de son action simultanée en différents sites des cellules.

Les évolutions actuelles et les applications déjà réalisées dans le domaine tendent à promouvoir l'incorporation d'argent sous forme de nanoparticules dans les revêtements de surface, en raison notamment de leur forte réactivité.

Les nanoparticules d'argent se caractérisent, en effet, par une activité antimicrobienne qui perdure dans le temps, en raison du relargage progressif d'ions Ag^+ . Ces ions attaquent simultanément de multiples sites dans la cellule (ADN, protéines, enzymes, chaîne respiratoire...), conduisant à une inactivation irréversible des fonctions physiologiques essentielles, les microorganismes. Les nanoparticules présentent également une efficacité propre, due à leurs spécificités physique (taille, forme) et chimique (réactivité de surface). Elles provoquent des modifications structurelles et fonctionnelles des parois et membranes cellulaires et pénètrent à l'intérieur de la cellule, entraînant des dommages irrémediables.

Différents procédés d'incorporation de nanoparticules métalliques ont été développés, la difficulté étant à chaque fois de pouvoir assurer un bon contrôle de l'homogénéité en taille et en dispersion dans la matrice polymère des particules synthétisées. Il n'en reste pas moins que les bénéfices apportés par les nanoparticules d'argent dans des matériaux tels que les polyuréthanes sont indéniables dans le domaine médical et l'hygiène des personnes.

C'est dans ce contexte que nous allons élaborer des nanocomposites polyuréthane-argent à surfaces biocides en mettant en œuvre des procédés d'introduction de nanoparticules d'argent ex situ et in situ.

Références

- ¹ Schierholz J.M. and J. Beuth. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria, *J. Hosp.Infect.*, 49 (2001), 87-93.
- ² Kumar C.G. and S.K. Anand. Significance of microbial biofilms in food industry: a review, *Int. J. Food Microbiol.*, 42 (1998), 9.
- ³ Fu J., J. Ji, W. Yuan, J. Shen. Construction of anti-adhesive and antibacterial multilayer films via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan, *Biomaterials*, 26 (2005), 6684.
- ⁴ Nablo B.J., H.L. Prichard, R.D. Butler, B. Klitzman, M.H. Schoenfish. Inhibition of implant-associated infections via nitric oxide release, *Biomater.*, 26 (2005), 6984.
- ⁵ J.W. Costerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg, Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284 (1999), 1318.
- ⁶ M. Chicurel, Bacterial biofilms and infections. *Nat.* 408 (2000), 284.
- ⁷ P. Stoodley, K. Sauer, D. G. Davies & J. W. Costerton, Biofilms as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56 (2002), 187.
- ⁸ C.E. Zobell, The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity. *J. Bacteriol.*, 46 (1943), 39.
- ⁹ G.G. Geesey, W.T. Richardson, H.G. Yeomans, R.T. Irvin, J.W. Costerton, Microscopic examination of natural sessile bacterial populations from an alpine stream. *Can. J. Microbiol.*, 23 (1977), 1733.
- ¹⁰ K. Hanaki, S. Kawasaki, J. Matsumoto. Characteristics of the degradation of organic matter by attached biofilm in rivers. *Technology Reports*, 47 (1982), 225.
- ¹¹ M.R.W. Brown, J.W. Costerton, P. Gilbert, Extrapolating to bacterial life outside the test tube. *J. of Antimic. Ag.*, 27 (1991), 565.
- ¹² J.W. Costerton, Z. Lewandowski, Microbial Biofilms. *Ann. Rev. of Microbiol.*, 49 (1995), 711.
- ¹³ I.H. Thorseth, T. Torsvik, V. Torsvik, F.L. Daae, R.B. Pedersen, *Ear. and Planet. Sci. Let.*, 6035 (2002), 1.
- ¹⁴ J.E.K. Gibson, D.S. McKay, K.L. Thomas-Keprta, S.J. Wentworth, F. Westall, A. Steele, C.S. Romanek, M.S. Bell, J. Toporski, Life on Mars: evaluation of the evidence within Martian meteorites ALH84001, Nakhla, and Shergotty. *Precamb. Res.*, 106 (2001), 15.
- ¹⁵ American Medical Association. Use of Antimicrobials in Consumer Products. Report 2 of the Council on Scientific Affairs (A-00) (2000).

- ¹⁶ Tatarazako N, H.Ishibashi, K.Teshima, K.Kishi, K.Arizona. Effects of Triclosan on Various Aquatic Organisms. *Envir. Sci.* 11 (2004), 133.
- ¹⁷ Wilson BA, D.R.Orvos, D.J.Versteeg, J.Inauen. Aquatic Toxicity of Triclosan. *Env. Tox. and Chem.* 21 (2002), 1338.
- ¹⁸ Environment News Daily. Denmark Discourages Household Antibacterials. ENDS Report 862 (2000).
- ¹⁹ Environment News Daily. German Appeal to Limit Anti-Bacterial Use. ENDS Report 957 (2001).
- ²⁰ Environment News Daily. Finnish Warning on Anti-Bacterial Chemicals. ENDS Report 933 (2001).
- ²¹ Aviva Glaser. The Ubiquitous Triclosan, A Common Antibacterial Agent Exposed. *Beyond Pesticides/National Coalition Against the Misuse of Pesticides* 24 (2004),12.
- ²² Massi L, Guittard F, Geribaldi S, Levy R, Duccini Y. Antimicrobial Properties of Highly Fluorinated Bis-Ammonium Salts. *Inter. J. of Antimic. Ag.* 21 (2003), 20.
- ²³ Gao B, Qi C, Liu Q. Immobilization of Quaternary Ammonium Salts on Grafting Particle Polystyrene/SiO₂ and Preliminary Study of Application Performance. *Appl. Surf. Sci.* 254 (2008), 4159.
- ²⁴ Marini M, Bondi M, Iseppi R, Toselli M, Pilati F. Preparation and Antibacterial Activity of Hybrid Materials Containing Quaternary Ammonium Salts Via Sol-Gel Process. *Europ. Poly. J.* 43 (2007), 3621.
- ²⁵ H. Leclerc, D. Izard, M.-O. Husson, P. Watre, E. Jakubczak, *Microbiologie générale, nouvelle édition*, Doin Editeurs, Paris (1983).
- ²⁶ R.G. Flemming, C.C. Capelli, S.L. Cooper, R.A. proctor, Bacterial colonization of functionalized polyurethanes. *Biomater.*, 21 (2000), 273.
- ²⁷ Wataha J.C., P.E. Lockwood, A. Schedle. Effect of silver, copper, mercury and nickel ions on cellular proliferation during extended, low-dose exposures, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 52 (2000), 360.
- ²⁸ Yang H.C. and L.A. Pon. Toxicity of metal ions used in dental alloys: a study in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Drug Chem. Toxicol.*, 26(2003), 75.
- ²⁹ Chohan Z.H., M. Arif, M.A. Akhtar, C.T. Supuran. Metal-based antibacterial and antifungal agents: synthesis, characterization, and in vitro biological evaluation of Co(II), Cu(II), Ni(II), and Zn(II) complexes with amino acid-derived compounds, *Bioinorg. Chem. Appl.*, (2006), 1.
- ³⁰ Clarkson T.W.. The toxicology of mercury, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 34 (1997), 369.

- ³¹ Uter W., A. Pfahlberg, O. Gefeller, J. Geier, A. Schnuch. Risk factors for contact allergy to nickel – results of a multifactorial analysis, *Contact Dermatitis*, 48 (2003), 33.
- ³² Chu P.K.. Applications of plasma-based technology to microelectronics and biomedical engineering, *Surf. Coat. Technol.*, 203 (2009), 2793.
- ³³ Zhang W., Y.H. Zhang, J.H. Ji, J. Zhao, Q. Yan, P.K. Chu. Antimicrobial properties of copper plasma-modified polyethylene, *Polymer*, 47 (2006 b), 7441.
- ³⁴ Hund-Rinke, K., Frank Marscheider-Weidemann and M. Kemper, Beurteilung der Gesamtumweltexposition von Silberionen aus Biozid-Produkten. Forschungsbericht des Umweltbundesamtes, Texte 43/08 (2008).
- ³⁵ Project_on_Emerging_Nanotechnologies. (2009). Consumer Product Inventory Analysis.” Retrieved 16th April 2009, from http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/.
- ³⁶ Damm, C., Munsted, H., Rosch, A., Long-term antimicrobial polyamide6/silver-nanocomposites. *Journal of Materials Science* 42 (2007), 6067.
- ³⁷ Zeng, F. Hou, C. Wu, S., Tong, Z. and S. Yu. Silver nanoparticles directly formed on natural macroporous matrix and their anti microbial activities. *Nanotechnology* 18 (2007).
- ³⁸ Lansdown A.B.G.. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action, *J. Wound Care*, 11 (2002 a), 125.
- ³⁹ Silver S., L.T. Phung, G. Silver. Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 33 (2006), 627.
- ⁴⁰ Klasen H.J.. Historical review of the use of silver in the treatment of burns I. Early uses, *Burns*, 26 (2000), 117.
- ⁴¹ Schierholz J. M., L.J. Lucas, A. Rump, G. Pulverer. Efficacy of silver-coated medical devices, *J. Hosp. Inf.*, 40 (1998), 257.
- ⁴² Kierans M., A.M. Staines, H. Bennett, G.M. Gadd. Silver tolerance and accumulation in yeasts, *Biol. Metals*, 4 (1991), 100.
- ⁴³ Ng K.M., W.K. Li, S.K. Wo, C.W. Tsang, N.L. Ma. Silver(I) affinities of amides: a combined ab initio and experimental study, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6 (2004), 144.
- ⁴⁴ Fox C.L. and S.M. Modak. Mechanism of silver sulfadiazine action on burn wound infections, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 5 (1974), 582.
- ⁴⁵ Feng Q.L., J. Wu, G.Q. Chen, F.Z. Cui, T.N. Kim, J.O. Kim. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 52 (2000), 662.

- ⁴⁶ Liau S.Y., D.C. Read, W.J. Pugh, J.R. Furr, A.D. Russell. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions, *Lett. Appl. Microbiol.*, 25 (1997), 279.
- ⁴⁷ Jung W.K., H.C. Koo, K.W. Kim, S. Shin, S.H. Kim, Y.H. Park. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74 (2008), 2171.
- ⁴⁸ Holt K.B. and A.J. Bard. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag⁺, *Biochemistry*, 44 (2005), 13214.
- ⁴⁹ Pierard-Franchimont C., P. Quatresooz, P. Paquet, F. Henry, G.E. Pierard. Comment je traite... la colonisation bactérienne critique d'un ulcère de jambe – Le Yin et le Yang des pansements argentiques, *Rev. Med. Liège*, 59 (2004), 403.
- ⁵⁰ Yin H.Q., R. Langford, R.E. Burrell. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of Acticoat antimicrobial barrier dressing, *J Burn Care Rehabil.*, 20 (1999), 195.
- ⁵¹ Gibbins B. and L. Warner. The role of antimicrobial silver nanotechnology, *Med. Dev. Diagnos. Ind.*, (2005), 112.
- ⁵² Percival S.L., P.G. Bowler, D. Russell. Bacterial resistance to silver in wound care, *J. Hospital Infect.*, 60 (2005), 1.
- ⁵³ Silver S.. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds, *FEMS Microbiol. Rev.*, 27 (2003), 341.
- ⁵⁴ Li X.Z., H. Nikaido, K.E. Williams. Silver-resistant mutants of *Escherichia coli* display active efflux of Ag⁺ and are deficient in porins, *J. Bacteriol.*, 179 (1997), 6127.
- ⁵⁵ Gupta A., L.T. Phung, D.E. Taylor, S. Silver. Silver resistance genes in plasmids of the IncHIII incompatibility group and on the *Escherichia coli* chromosome, *Microbiology*, 147 (2001), 3393.
- ⁵⁶ Franke S., G. Grass, C. Rensing, D.H. Nies. Molecular analysis of the copper-transporting efflux system CusCFBA of *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, 185 (2003), 3804.
- ⁵⁷ Sardella E., P. Favia, R. Gristina, M. Nardulli, R. d'Agostino. Plasma-aided micro- and nanopatterning processes for biomedical applications, *Plasma Process. Polym.*, 3 (2006), 456.
- ⁵⁸ Egger S., R.P. Lehmann, M.J. Height, M.J. Loessner, M. Schuppler. Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material, *Appl. Environ. Microbiol.*, 75 (2009), 2973.

- ⁵⁹ Morones J.R., J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramirez, M.J. Yacaman. The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology*, 16 (2005), 2346.
- ⁶⁰ Pal S., Y.K. Tak, J.M. Song. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticles? A study of the Gram negative bacterium *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 73 (2007), 1712.
- ⁶¹ Sondi I. and B. Salopek-Sondi. Silver nanoparticles as antimicrobial agents: a case study on *E. coli* as a model for Gram negative bacteria, *J. Colloid Interf. Sci.*, 275 (2004), 177.
- ⁶² Kim J.S., 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. Antimicrobial effects of silver nanoparticles, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, 3 (2007), 95.
- ⁶³ Yang W., C. Shen, Q. Ji, H. An, J. Wang, Q. Liu, Z. Zhang. Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA, *Nanotechnology*, 20 (2009), 085102.
- ⁶⁴ Blaser S.A., M. Scheringer, M. MacLeod, K. Hungerbuhler. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles, *Sci. Total Environ.*, 390(2008), 396.
- ⁶⁵ Mueller N.C. and B. Nowack. Exposure modelling of engineered nanoparticles in the environment, *Environ. Sci. Technol.*, 42(2008), 4447.
- ⁶⁶ Ip M., S.L. Lui, V. Poon, I. Lung, A. Burd. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison, *J. Med. Microbiol.*, 55 (2006), 59.
- ⁶⁷ Holder I.A., P. Durkee, A.P. Supp, S.T. Boyce. Assessment of a silver-coated barrier dressing for potential use with skin graft on excised burns, *Burns*, 29 (2003), 445.
- ⁶⁸ Lansdown A.B.G.. Silver II: toxicity in mammals and how its products aid wound repair, *J. Wound Care*, 11 (2002 b), 173.
- ⁶⁹ Wright J.B., K.Lam, A.G. Buret, P.E. Olson, R.E. Burrell. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing, *Wound Rep. Reg.*, 10 (2002), 141.
- ⁷⁰ Demling R.H. and M.D.L. DeSanti. The rate of re-epithelialisation across meshed skin grafts is increased with exposure to silver, *Burns*, 28 (2002), 264.
- ⁷¹ Rupp M.E., R. Fitzgerald, N. Marion, V. Helget, S. Puumala, J.R. Anderson, P.D. Fey. Effect of silver-coated urinary catheters: efficacy, cost-effectiveness, and antimicrobial resistance, *Am. J. Infect. Control.*, 32 (2004), 445.

- ⁷² Darouiche R.O.. Anti-infective efficacy of silver-coated medical prostheses, *Clin. Infect. Dis.*, 29 (1999), 1371.
- ⁷³ Li Y., P. Leung, L. Yao, Q.W. Song, E. Newton. Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles, *J. Hospital Inf.*, 62 (2006), 58.
- ⁷⁴ Alt V., T. Bechert, P. Steinrucke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, E. Domann, R. Schnettler. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement, *Biomaterials*, 25 (2004), 4383.
- ⁷⁵ Smith G.D. and E. Zysk. Corrosion of the noble metals. In: "Metals Handbook", 9th ed., 13 (1987), 793.
- ⁷⁶ Lohrer S., O.D. Schneider, T. Maienfisch, S. Bokorny, W.J. Stark. Microorganism-triggered release of silver nanoparticles from biodegradable oxide carriers allows preparation of selfsterilizing polymer surfaces, *Small*, 4 (2008), 824.
- ⁷⁷ Sharma V.K., R.A. Yngard, Y. Lin. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities, *Adv. Colloid Interf. Sci.*, 145 (2009), 83.
- ⁷⁸ Zodrow K., L. Brunet, S. Mahendra, D. Li, A. Zhang, Q. Li, P.J.J. Alvarez. Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal, *Water Res.*, 43 (2009), 715.
- ⁷⁹ Claire SAULOU. Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides de films nanocomposites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par procédé plasma. Thèse doctorat de l'université de Toulouse (2009).
- ⁸⁰ Rai M., A. Yadav, A. Gade. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnol. Adv.*, 27 (2009), 76.
- ⁸¹ Drake P.L. and K.J. Hazelwood. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review, *Ann. Occup. Hyg.*, 49(7), 575.
- ⁸² Panyala N.R., E.M. Pena-Mendez, J. Havel. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health?, *J. Appl. Biomed.*, 6 (2008), 117.
- ⁸³ Kim Y.S., J.S. Kim, H.S. Cho, D.S. Rha, J.M. Kim, J.D. Park, B.S. Choi, R. Lim, H.K. Chang, Y.H. Chung, I.H. Kwon, J. Jeong, B.S. Han, I.J. Yu. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats, *Inhal. Toxicol.*, 20 (2008), 575.
- ⁸⁴ Alt V., T. Bechert, P. Steinrucke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, E. Domann, R. Schnettler. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement, *Biomaterials*, 25 (2004), 4383.

- ⁸⁵ Hussain S.M. and J.J. Schlager. Safety evaluation of silver nanoparticles: inhalation model for chronic exposure, *Toxicol. Sci.*, 108 (2009), 223.
- ⁸⁶ J. Renard, « Elaboration, microstructure et comportement des matériaux composites à matrice polymère », Hermès Sciences Publications, Cachan, (2005).
- ⁸⁷ J.M. Berthelot, « Matériaux composites, comportement et analyse des structures », Edition TEC & DOC, Cachan, (1999).
- ⁸⁸ M. Wautelet et coll., « Les nanotechnologies », Edition Dunod, Paris, (2003).
- ⁸⁹ L. Nicolais and G. Carotenuto, metal-polymer nanocomposites, Wiley, Hoboken, (2005).
- ⁹⁰ D. V. Goia, Preparation and formation mechanisms of uniform metallic particles in homogeneous solutions. *J. Mater. Chem.*, 14 (2004), 451.
- ⁹¹ E. Hutter and J. H. Fendler, Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance. *Adv. Mater.*, 16 (2004), 1685.
- ⁹² g. schmid, clusters and colloids: from theory to applications, VCH, Weinham, (1994).
- ⁹³ Y. P. Sun, J. E. Riggs, H. W. Rollins and R. Guduru, Strong optical limiting of silver-containing nanocrystalline particles in stable suspensions. *J. Phys. Chem. B*, 103 (1999), 77.
- ⁹⁴ N. V. Serebryakova, O. Y. Uryupina and V. I. Roldughin, Formation of the bimodal ensemble of silver nanoparticles in polymer solutions. *Coll. J.*, 67 (2005), 79.
- ⁹⁵ M. Ji, X. Y. Chen, C. M. Wai and J. L. Fulton, Synthesizing and dispersing silver nanoparticles in a water-in-supercritical carbon dioxide microemulsion. *J. The Am. Chem. Soc.*, 121 (1999), 2631.
- ⁹⁶ C. Petit, P. Lixon and M. P. Pileni, In situ synthesis of silver nanocluster in AOT reverse micelles. *J. Phys. Chem.*, 97 (1993), 12974.
- ⁹⁷ M. P. Pileni, Reverse micelles as microreactors. *J. Phys. Chem.*, 97 (1993), 6961.
- ⁹⁸ G. Carotenuto and L. Nicolais, Size-controlled synthesis of thiol-derivatized gold clusters. *J. Mater. Chem.*, 13 (2003), 1038.
- ⁹⁹ A. B. R. Mayer, *Mate. Sci. & Eng. C-Biomimetic And Supramolecular Systems*, 6 (1998), 155.
- ¹⁰⁰ G. Carotenuto, B. Martorana, P. B. Perlo and L. Nicolais, A universal method for the synthesis of metal and metal sulphide clusters embedded in polymer matrices. *J. Mater. Chem.*, 13 (2003), 2927.
- ¹⁰¹ S. Matsuda and S. Ando, Generation Behaviors of Optical Anisotropy Caused by Silver Nanoparticles Precipitated in Uniaxially Drawn Polyimide Films. *Japanese J. App. Phy. Part 1- Regular Papers Short Notes & Review Papers*, 44 (2005), 187.

- ¹⁰² S. Porel, S. Singh, S. S. Harsha, D. N. Rao and T. P. Radhakrishnan, Nanoparticle-Embedded Polymer: In Situ Synthesis, Free-Standing Films with Highly Monodisperse Silver Nanoparticles and Optical Limiting. *Chem. Mater.*, 17 (2005), 9.
- ¹⁰³ S. Matsuda, S. Ando and T. Sawada, Thin flexible polariser of Ag-nanoparticle dispersed fluorinated polyimide. *Elec. Lett.*, 37 (2001), 706.
- ¹⁰⁴ S. Koizumi, S. Matsuda and S. Ando, Synthesis, Characterization, and Optical Properties of Uniaxially Drawn and Gold Nanoparticle Dispersed Fluorinated Polyimide Films. *J. Photopolym. Sci. And Tech.*, 15 (2002), 231.
- ¹⁰⁵ A. L. Stepanov, S. N. Abdullin, V. Y. Petukhov, Y. N. Osin, R. I. Khaibullin and I. B. Khaibullin, Formation of metal-polymer composites by ion implantation. *Philosophical Magazine B*, 80 (2000), 23.
- ¹⁰⁶ A. L. Stepanov, S. N. Abdullin and I. B. Khaibullin, Optical properties of polymer layers with silver particles. *J. Non-Cryst. Sol.*, 223 (1998), 250.
- ¹⁰⁷ T. Hasell, *Synthesis of Metal-Polymer Nanocomposites*, these, (2008).
- ¹⁰⁸ Furno F., K.S. Morley, B. Wong, B.L. Sharp, P.L. Arnold, S.M. Howdle, R. Bayston, P.D. Brown, P.D. Winship, H.J. Reid, Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection? *J. Antimicrob. Chemother.*, 54 (2004), 1019.
- ¹⁰⁹ T. Tamai, M. Watanabe, T. Teramura, N. Nishioka, K. Matsukawa, *Macromol. Symp.* 282 (2009), 199.
- ¹¹⁰ Y. Yagci, M. Sangermano, G. Rizza, A visible light photochemical route to silver-epoxy nanocomposites by simultaneous polymerization-reduction approach *Polymer* 49 (2008), 5195.
- ¹¹¹ M. Uygun, M.U. Kahveci, D. Odaci, S. Timur, Y. Yagci, Antibacterial Acrylamide Hydrogels Containing Silver Nanoparticles by Simultaneous Photoinduced Free Radical Polymerization and Electron Transfer Processes. *Macromol. Chem. Phys.* 210 (2009), 1867.
- ¹¹² M. Cocca, L. D'Orazio, Novel silver/polyurethane nanocomposite by *in situ* reduction: Effects of the silver nanoparticles on phase and viscoelastic behaviour. *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.* 46 (2008), 344.

**CHAPITRE 2 : ELABORATION ET
CARACTERISATION DE DISPERSIONS
AQUEUSES DE NANOPARTICULES D'ARGENT**

Introduction

Depuis 1994, les nanomatériaux à base de nanoparticules d'argent se sont développés de façon exponentielle en couvrant un grand nombre de secteurs industriels : matériaux antibactériens [1], matériaux antistatiques, matériaux supraconducteurs cryogéniques [2], matériaux biocapteurs [3], textiles synthétiques [4], circuits imprimés [5], matériaux catalytiques [6,7]... Ces nanomatériaux présentent en effet de nouvelles propriétés qui diffèrent largement des autres matériaux en raison de la faible taille des charges. Les procédés de synthèse de nanoparticules d'argent ont fortement évolué au fil du temps et vont de la synthèse par simple dispersion en solution proposée par Reetz et al [8] en 1994 à la synthèse sous micro-ondes [9] en 2009. Or la nature du procédé mis en jeu influe sur la taille, la forme et la distribution granulométrique des nanoparticules formées, donc sur leurs propriétés optiques, électriques, bactéricides...

La première partie de ce chapitre sera consacrée à une description des différents procédés de synthèse de nanoparticules d'argent rencontrés dans la littérature. Nous nous intéresserons en particulier à l'influence des conditions de réaction sur la nucléation et la morphologie des nanoparticules d'argent.

A l'issue de cette étude bibliographique, deux procédés ont été choisis pour leur simplicité de mise en œuvre et pour la taille de nanoparticules qu'ils produisent. Un troisième procédé original a également été développé. La deuxième partie de ce chapitre sera donc consacré au développement et à l'optimisation de ces trois procédés en vue de l'obtention de nanoparticules sphériques, de diamètre inférieur à 50 nm, idéalement de 1 à 10 nm, et sous forme de dispersions aqueuses. Dans la troisième et dernière partie de ce chapitre, nous vérifierons les propriétés bactéricides des dispersions de nanoparticules d'argent obtenues.

I. Les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent

De nombreuses méthodes ont été utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'argent, parmi lesquelles on peut citer la réduction chimique des ions argent en solution aqueuse [10-17] ou organique [18-24], la réduction électrochimique [25-28], la réduction sous ultrasons [29-31], la réduction photoinduite ou photocatalytique [32-39], la réduction sous micro-ondes [40-44], la réduction par irradiation γ [45-48], la méthode de microémulsion [49-55] et la

réduction biochimique [56-69]. Nous allons passer successivement chaque méthode en revue en précisant de façon succincte leurs principes, avantages et inconvénients, ainsi que les caractéristiques physicochimiques des nanoparticules obtenues.

I.1. Réduction chimique d'une solution d'ions Ag^+

I.1.1. Réduction en milieu solvant

Solvant	Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et taille des particules	Réf
Eau	NH_2OH , HCl (Chlorhydrate d'hydroxylamine)		Nanosphères	[10]
	Citrate de Sodium	Citrate de Sodium	Nanofils ou nanosphères 50-100 nm	[11,12]
	Réactif de Tollens		Nanosphères	[13]
	Nickel de Raney		Structure squelette (poreuse) d'Ag	[14]
	$NaBH_4$	Dodécane-thiol	Nanosphères 2-7 nm	[15]
	Ethylène glycol	PVP	Nanofils 30-60nm	[16]
	Ethylène glycol	PVP	Nanocubes	[17]
	Genamin T020 (agent tensio-actif non ionique)	Vésicules multilamellaires	Nanosphères 3-9,6 nm	[21]
	Ion phosphotungstate	Ion phosphotungstate	Réseau de nanoparticules	[23]
	Diméthylacétamide	PEG	Nanosphères	[18]
Organique	DMF	PVP	Nanoprismes et nanosphères	[19]
	Acétonitrile	Tétrathiafulvalène	Nanoarticules dendritiques	[20]
	Acide ascorbique	Micelles sous forme de tige	Nanotriangles	[22]
	Radicaux libres obtenus par sonication	AAO	Nanofils	[24]

Tableau 1 Méthodes de synthèse par réduction chimique [63]

Le tableau 1 regroupe les différents travaux utilisant la réduction chimique en solution pour synthétiser des nanoparticules d'argent. La taille des particules formées est indiquée lorsque celle-ci est mentionnée dans la publication correspondante.

La réduction chimique permet d'obtenir des nanoparticules avec un rendement dépassant les 90 % en un temps relativement court (quelques secondes). En outre, des nanoparticules de différentes taille et forme peuvent être facilement préparées en contrôlant les conditions de réaction. Ainsi, le choix du composé organique (tensioactif, polymère et ligand de stabilisation) utilisé pour passiver les particules et les empêcher de s'agréger, est un des facteurs les plus importants dans la préparation des nanoparticules. Le choix de l'agent réducteur est également important. Il peut aussi bien être toxique et présenter des dangers pour l'environnement et la santé qu'être d'origine naturelle, peu coûteux et non toxique. Certains d'entre eux jouent simultanément le double rôle d'agent stabilisant et d'agent réducteur. Ainsi, par exemple, des nanoparticules d'argent presque sphériques peuvent être préparées par réduction des ions Ag^+ en présence de citrate de sodium. Les cristallites ont un diamètre relativement important (50-100 nm) et présentent une distribution large en taille et en forme [12].

I.1.2. Réduction en micro-émulsion inverse

La méthode de micro-émulsion inverse permet d'obtenir des nanoparticules d'argent de taille contrôlée et uniforme tout en palliant les limitations de la réduction chimique et en prévenant l'aggrégation des particules. Cette méthode a donc des avantages évidents pour synthétiser des nanoparticules ayant un diamètre et une morphologie bien déterminés [64].

Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et taille des particules	Réf
Acide ascorbique	CTAB, molécules SDS	Nanofils et nanostructures dendritiques	[49,50]
KBH_4	Micelles ellipsoïdales (water/AOT/isooctane)	Nanofils	[51]
N_2H_4	Dodécane-thiol, micelles AOT	Nanohexagones	[52,53]
$NaBH_4$	PFPE- NH_4	Nanosphères 3,5 nm	[54]
Quercétine	AOT	Nanosphères 1–1000 nm	[55]

Tableau 2 Méthodes de réduction chimique par microémulsion [63]

La microémulsion est un mélange ternaire d'eau, d'agent tensio-actif et d'huile ou un mélange quaternaire d'eau, d'agent tensio-actif, de co-agent tensio-actif et d'huile. Selon la proportion des divers composants et la valeur de l'équilibre hydrophilie-lypophilie (HLB) de l'agent tensioactif utilisé, les microgouttes dans la microémulsion peuvent être sous forme de

micelles d'huile dispersées dans la phase aqueuse (microémulsion Huile/Eau) ou de micelles d'eau dispersées dans la phase huileuse (microémulsion Eau/Huile).

I.2. Réduction électrochimique

La méthode de réduction électrochimique est utilisée pour préparer des nanoparticules métalliques en petite quantité, le rendement de la réaction de réduction étant autour de 30%. Outre le fait qu'elle permet l'obtention de petites particules métalliques, les avantages de cette méthode sont la grande pureté des particules et la possibilité d'un contrôle granulométrique précis obtenu en ajustant la densité de courant ou le potentiel appliqué.

Solvant	Procédé	Agent stabilisant	Morphologie et taille des particules	Réf
	Voltampérométrie cyclique	Polyphénylpyrrole	Nanosphères 3–20 nm	[25]
Eau	Réduction sur électrodes modifiées par film de Zéolithe	Zéolithes	Nanosphères 1–18 nm	[26]
	Réduction sur cathode tournante en platine	PVP	Nanosphères 10–20 nm	[27,28]

Tableau 3 Méthode de synthèse par réduction électrochimique [63]

I.3. Réduction sous rayonnement électromagnétique

Les micro-ondes, les ultrasons, et les rayonnements γ , UV et visible peuvent être employés pour la synthèse des nanoparticules d'argent (tableau 4). En outre, les nanoparticules d'argent obtenues peuvent être sous forme de sphères, de tiges, de fils, de disques, de cubes, ou de structures dendritiques.

Rayonnement	Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et taille des particules	Réf
Ultrason		PVP	Nanosphères, nanofils et nanoparticules dendritiques	[29]
		Nitrilotriacétate	Nanosphères 8–2700 nm	[30]
	NaBH ₄	Polydichloroéthylène et dibutyl-β-naphthalènesulfonate	Nanosphères	[6,31]
Lumière visible	Acide ascorbique	PVP	Nanosphères	[32]
	PSS	PSS	Nanosphères 8 nm	[33]
	P123	P123	Nanosphères	[34]
	NaBH ₄	PVP et citrate de sodium	Nanosphères et nanoprismes	[35]
	Citrate de soduim	Citrate et BSPP	Nanotriangles 30–120 nm	[36]
UV	MPEG	MPEG (méthoxy polyéthylène glycol)	Nanosphères	[37]
	Ag ₂ S colloïdal	PVA ou gélatine	Nanosphères	[38]
	NaBH ₄	Nanotiges de TiO ₂	Nanosphères 15–60 nm	[39]
Micro-ondes	Citrate de sodium	Citrate de Sodium	Nanotiges ou nanosphères	[40]
	Citrate de sodium, formaldéhyde	PVP	Nanosphères et nanoprismes	[41]
	Ethylène glycol	PVP	Nanosphères	[42]
	Formaldéhyde	Citrate de Sodium	Nanosphères	[43]
	Polyacrylamide	Polyacrylamide	Nanosphères 65 nm	[44]
γ	IPA	Silice mésoporeuse	Nanosphères 1–4 nm	[45]
	IPA	PVP	Nanosphères	[46]
Faisceau d'électron	IPA	PVA	Nanosphères 30 nm	[47]
Ablation laser fs et ns			Nanosphères 25-40 nm	[48]

Tableau 4 Méthodes de synthèse par réduction sous rayonnement électromagnétique [63]

I.4. Réduction biochimique

La réduction biochimique est une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que les ressources suffisantes de matières premières, les conditions de réaction bénigne, l'obtention de nanoparticules présentant une distribution fine des tailles de

particules ainsi que l'utilisation de peu d'additifs chimiques toxiques. Cette méthode de préparation des nanoparticules d'argent peut se faire par voie enzymatique ou non-enzymatique. Par exemple, l'exposition d'ions argent à plusieurs types d'enzymes *Fusarium oxysporum* en solution conduit à la formation d'argent colloïdal. Les nanoparticules d'argent obtenues ont des dimensions de l'ordre de 20-50 nm [65]. L. Sintubin et al. [66] ont, quant à eux, utilisé des bactéries à Gram positif et Gram négatif pour la production par voie non-enzymatique de nanoparticules d'argent via l'interaction des ions argent et des composés organiques présents sur la cellule bactérienne.

Toutefois, le temps de réaction nécessaire pour la réduction complète des ions d'argent est très long et les taux de réduction sont assez faibles. Par exemple, en utilisant des mycètes [60,61] ou des bactéries [67-69], le temps de réaction varie de 24 à 120 h, ce qui est un désavantage évident de la biosynthèse par rapport aux méthodes chimiques pour la synthèse de nanoparticules.

Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et tailles des particules	Réf
Peptide	Peptide	Nanohexagones, nanosphères et nanotriangles	[56]
Plantes de luzerne	Tissus de luzerne	Nanosphères et nanofils	[57]
Feuille de Géranium	Protéines ou enzymes	Nanosphères et nanotiges	[58]
Souche de levure	Protéines	Nanosphères 2–5 nm	[59]
Champignon	Protéines ou enzymes	Nanosphères 5–15 nm	[60,61]
Feuille de Neem	Flavanones, terpènes	Nanosphères 5–35 nm	[62]

Tableau 5 Méthodes de synthèse par réduction biochimique [63]

I.5. Conclusion

Comme les exigences d'utilisation des nanoparticules d'argent avec différents diamètre et morphologie varient en fonction du domaine d'application, il est souvent difficile de dire quelle est la meilleure technique de synthèse. Néanmoins, la réduction chimique et la synthèse sous micro-ondes sont les plus fréquemment utilisées pour des raisons de commodité et de temps de réaction. De plus, la synthèse sous micro-ondes permet d'obtenir des nanoparticules d'argent de taille contrôlable. C'est donc sur ces deux méthodes de synthèse que nous avons axé nos travaux.

II. Synthèse et caractérisation physicochimique de nanoparticules d'argent en dispersion aqueuse

Trois méthodes de synthèse ont été étudiées dans cette partie. Les deux premières sont inspirées de protocoles décrits dans la littérature et ont été développées en termes d'optimisation des conditions opératoires pour répondre aux caractéristiques de taille et de forme recherchées pour les nanoparticules d'argent. La simplicité, la rapidité et l'aspect écologique des procédés ont également été des critères de choix. La troisième méthode est originale et a été développée avec l'objectif de pouvoir incorporer facilement par réaction chimique les dispersions de nanoparticules dans les matrices polymères.

II.1. Méthodes analytiques de suivi de la réduction des ions Ag^+

La formation des nanoparticules d'argent au cours des réactions de synthèse a été suivie par analyse spectrophotométrique UV-visible après dilution des dispersions quatre fois dans l'acétonitrile. La présence de nanoparticules d'argent métallique se manifeste par un maximum d'absorption dans le domaine de l'UV-visible. Plus précisément, d'après la littérature [70], un maximum d'absorption observé entre 300 et 330 nm caractérise la présence de nanoprismes. Lorsque ce maximum se situe entre 400 et 450 nm, les nanoparticules sont de géométrie sphérique ou proche d'une sphère. Enfin, la présence d'un maximum d'absorption au-delà de 450 nm indique la formation de particules de taille supérieure à 100 nm.

La distribution en taille des nanoparticules sphériques a été déterminée par analyse au Nanosizer (Zetasizer nano ZS, Malvern Instruments, LTD United Kingdom). Pour cette technique, les dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent ont été diluées trois fois dans l'eau. Enfin, un dosage potentiométrique par étalonnage des ions Ag^+ restants dans le milieu a permis de déterminer le rendement de la réaction.

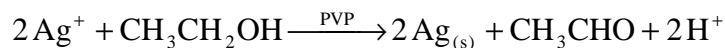
II.2. Procédés de synthèse des nanoparticules d'argent en dispersion

II.2.1. Procédé en milieu organique

II.2.1.1. Principe

Cette méthode de synthèse repose sur le procédé développé par Angshuman et al. [71]. Ces chercheurs ont obtenu des nanoparticules d'argent de diamètre 10 ± 5 nm par irradiation

sous micro-ondes de 10 mL d'éthanol contenant 1% de polyvinylpyrrolidone (PVP) comme agent stabilisant et 0,2 mL d'une solution aqueuse de nitrate d'argent à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. L'éthanol joue à la fois le rôle de solvant et d'agent réducteur et la réduction est effectuée en 5 secondes avec une puissance d'irradiation de 800 W selon la réaction :



II.2.1.2. Optimisation du procédé

Ne disposant pas du même système de réacteur à micro-ondes que Angshuman et al., nous avons repris ces conditions opératoires et les avons adaptées, en prenant en compte les caractéristiques techniques du réacteur CEM que nous avons utilisé. Divers paramètres expérimentaux (temps et température de réaction, concentration en réactifs) ont ainsi été optimisés de façon à contrôler la taille et la forme des nanoparticules synthétisées.

II.2.1.2.1. Influence de la température et du temps de réaction

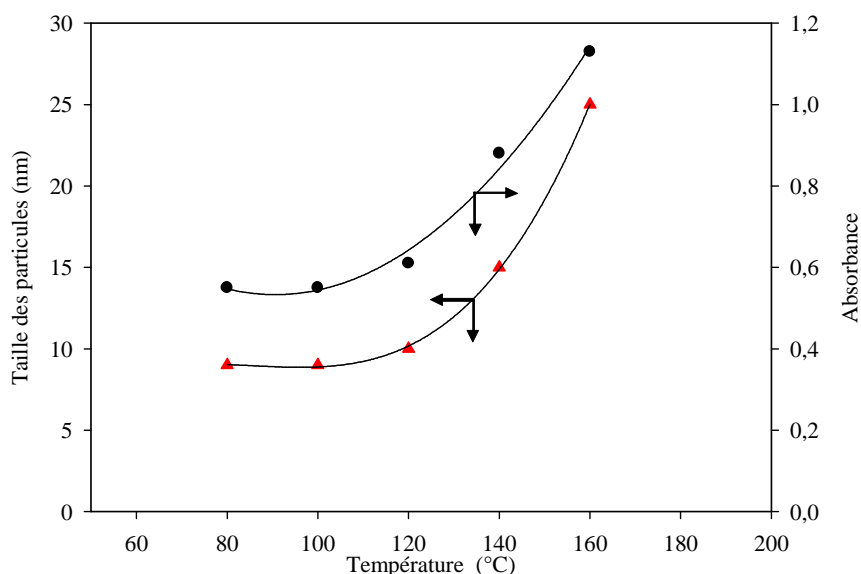


Figure 1 Influence de la température de chauffage sur l'absorbance à $\lambda = 420 \text{ nm}$ la taille moyenne des particules pour $t = 3 \text{ min}$ et $[\text{AgNO}_3] = 2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Dans cette étude, la concentration en nitrate d'argent préconisée par Angshuman et al. a été conservée ($2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). La figure 1 montre tout d'abord l'évolution de l'absorbance

de la solution et de la taille des particules obtenues en fonction de la température de réaction. Il s'avère que plus cette température est élevée, plus l'absorbance de la solution augmente traduisant une augmentation de la concentration en nanoparticules formées.

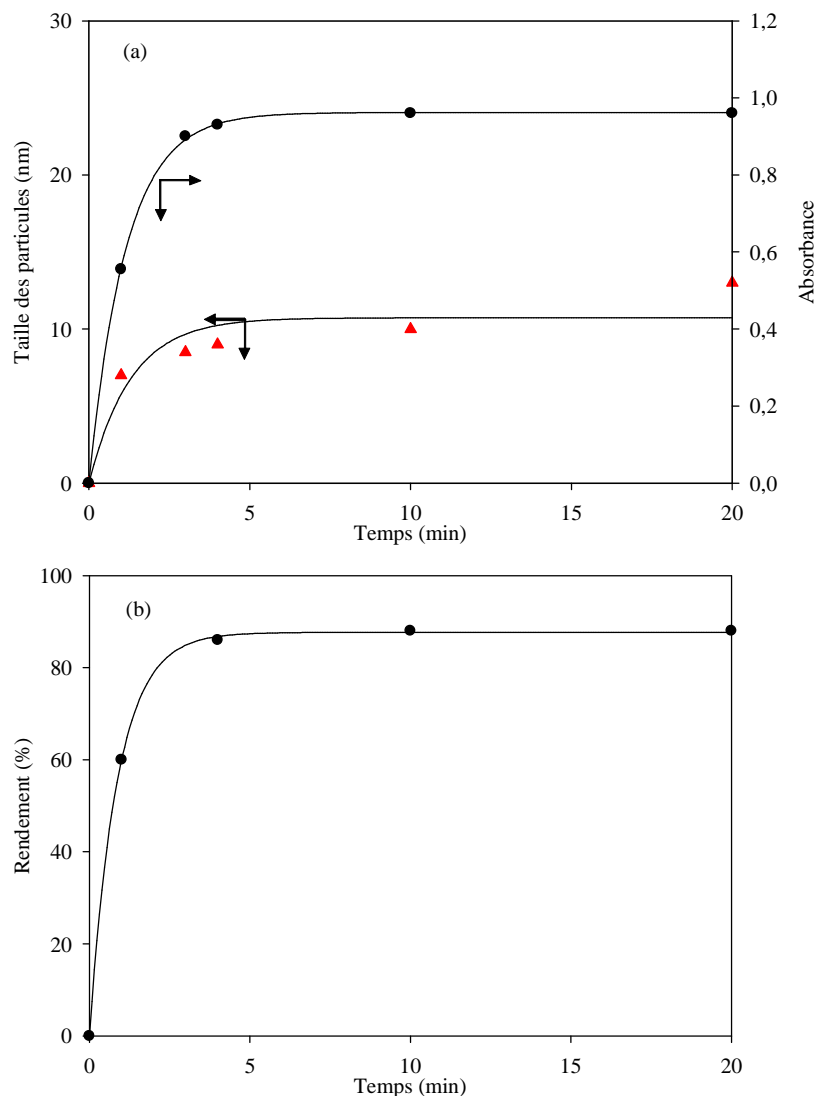


Figure 2 Influence du temps de réaction sous micro-ondes à $T = 120^{\circ}\text{C}$ pour $[\text{AgNO}_3] = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ sur : (a) la taille moyenne des particules et l'absorption maximale à $\lambda = 420 \text{ nm}$; (b) le rendement de la réaction

Dans un second temps, nous avons fixé la température de réaction à 120°C (puissance du réacteur micro-ondes de 30 W) et fait varier le temps de réaction (Figure 2). D'après la figure 2-a, l'absorbance, c'est-à-dire la concentration en nanoparticules d'argent formées, et la taille de ces nanoparticules atteignent leurs valeurs maximales dès 3 minutes de réaction à 120°C . Le rendement de la réaction atteint alors 88%. Néanmoins, l'augmentation du temps de réaction se traduit par une augmentation de la taille des particules que l'on peut visualiser sur les spectres d'absorption UV-visible présentés sur la figure 3. En effet, on observe un

déplacement du maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées, caractéristique de cette croissance en taille [72]. Etant donné que le rendement est quasi quantitatif dès 3 min de réaction, on peut alors supposer que cette augmentation de taille se fait par agrégation des nanoparticules au cours du temps.

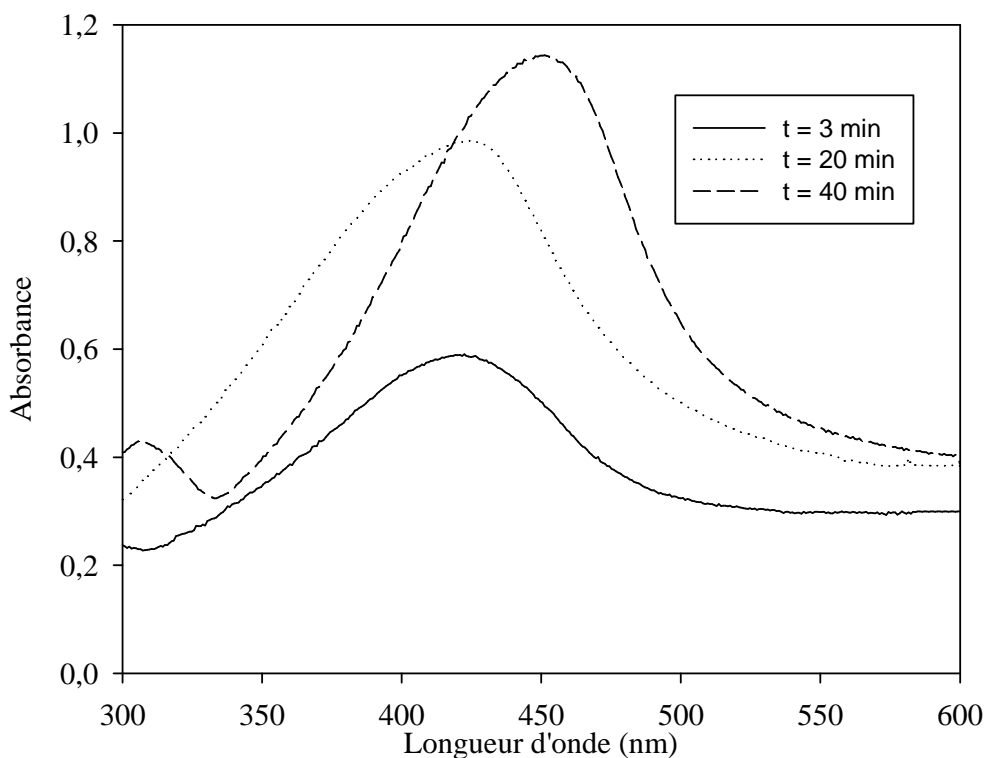


Figure 3 Spectres d'absorption des dispersions de nanoparticules d'argent en fonction du temps de réaction sous micro-ondes à $T = 120^{\circ}\text{C}$ pour $[\text{AgNO}_3] = 2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Nous avons donc poursuivi l'étude en fixant les conditions d'irradiation micro-ondes à 3 min et 120°C .

II.2.1.2.2. Influence de la concentration en ions Ag^+

La figure 4 montre que la concentration finale en nanoparticules d'argent augmente (augmentation de l'absorbance à 400 nm) quand la concentration initiale en ions Ag^+ augmente. Il en est de même pour la taille des nanoparticules qui continue de croître avec l'augmentation de la concentration initiale de la solution d' AgNO_3 , dépassant les 10 nm pour des concentrations supérieures à $3.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Le rendement est autour de 90 % quelle que soit la concentration en ions Ag^+ . La concentration optimale retenue est donc $[\text{AgNO}_3] = 2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

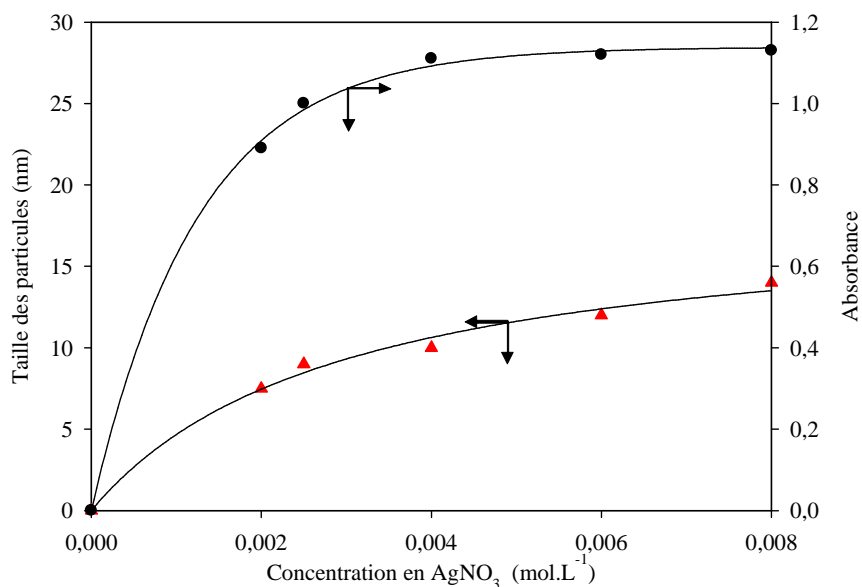


Figure 4 Evolution de l'absorbance maximale à $\lambda = 400$ nm et de la taille moyenne des particules en fonction de la concentration d' AgNO_3 après 3 min sous micro-ondes à $T = 120^\circ\text{C}$

II.2.1.2.3. Conditions optimales

Au regard de ces résultats, les conditions optimales retenues sont les suivantes : 3 min d'irradiation micro-ondes à 120°C avec une concentration initiale en AgNO_3 de $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L^{-1} .

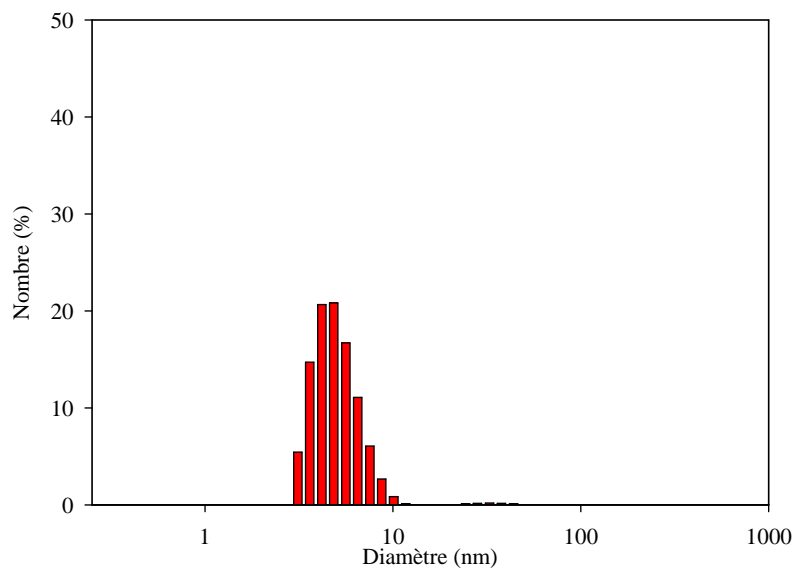


Figure 5 Distribution des tailles moyennes de particules obtenues par le procédé en milieu organique après 3 min d'irradiation micro-ondes à 120°C avec une concentration initiale en AgNO_3 de $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L^{-1}

Dans ces conditions, l'analyse au Nanosizer révèle la présence de nanoparticules sphériques présentant une taille moyenne de 5 nm avec une distribution étroite variant entre 3 et 10 nm (Figure 5). Sur la même figure, on observe la présence d'agrégats ayant des tailles supérieures comprises entre 20 et 60 nm. Leur proportion en nombre étant inférieure à 1 %, nous négligerons leur influence sur l'activité microbienne.

II.2.1.2.4. Obtention de dispersion aqueuse

Il est à noter que, sous forme de poudre, les nanoparticules ont tendance à s'agréger. La coalescence des particules rend alors difficile la détermination de leurs propriétés caractéristiques et leur utilisation en tant que nanoparticules. La difficulté est donc d'éviter l'agglomération des nanoparticules d'argent lors de la synthèse et du stockage.

Dans notre cas, l'éthanol a été évaporé à température ambiante et sous pression réduite et remplacé progressivement par de l'eau. La dispersion aqueuse obtenue renferme 100 µg d'Ag/mL. Le passage en phase aqueuse ne modifie pas la taille des particules.

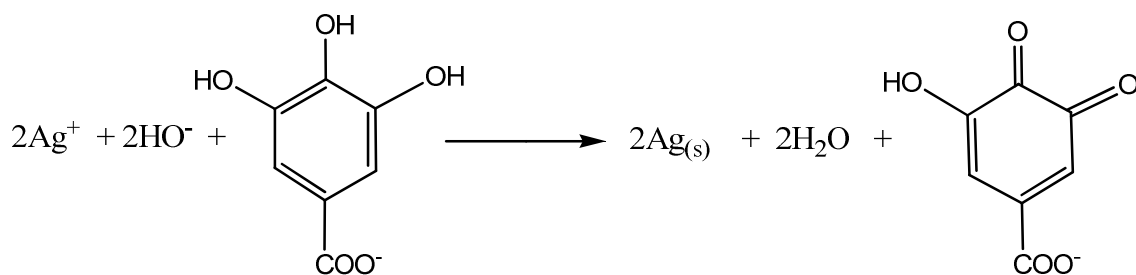
II.2.2 Procédé en milieu aqueux

II.2.2.1. Principe

Ce procédé de synthèse provient des travaux de Martinez-Castanon et al. [72]. Il a l'avantage d'être rapide (réaction quasi-instantanée), simple, en milieu aqueux et à température ambiante. Il consiste à introduire 10 mL d'eau contenant 0,01 g d'acide gallique dans 100 mL d'une solution de nitrate d'argent à une concentration de 0,001 mol.L⁻¹. Le pH du mélange est alors ajusté immédiatement à 11 sous agitation magnétique par ajout d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium NaOH à 1 mol.L⁻¹.

Dans ce procédé, l'acide gallique est utilisé en tant qu'agent réducteur et stabilisant. La réduction des ions Ag⁺ est due au pouvoir réducteur du groupement phénol de l'acide gallique. Le composé cétoénolique formé est adsorbé à la surface des nanoparticules d'argent pour les stabiliser [73].

L'équation bilan de la réaction mise en jeu s'écrit :

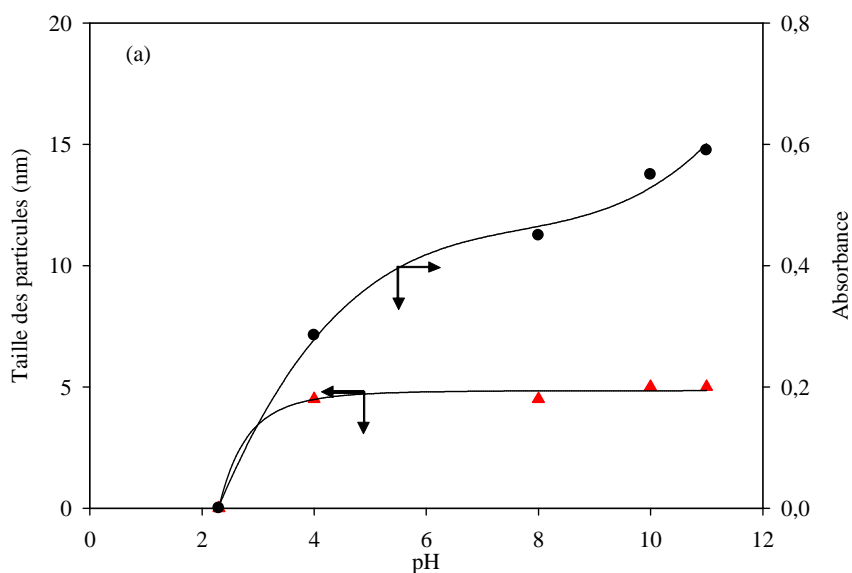


II.2.2.2. Optimisation du procédé

Deux paramètres expérimentaux, le pH et la concentration en ions Ag^+ , ont été optimisés de façon à contrôler la taille des nanoparticules synthétisées.

II.2.2.2.1. Influence du pH

Nous nous sommes, dans un premier temps, intéressés à l'influence du pH sur la réaction de réduction. La figure 6-a montre que le pH n'a pas d'effet remarquable sur la taille des particules. En revanche, le maximum d'absorbance mesuré à 425 nm augmente avec le pH (Figure 6-b).



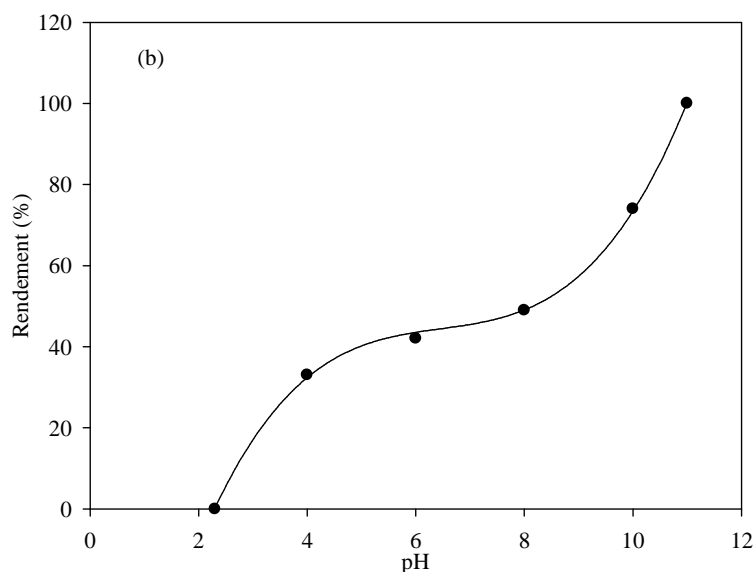


Figure 6 Influence du pH pour $[AgNO_3] = 1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ sur :
 (a) la taille moyenne des particules et l'absorption maximale à $\lambda = 425 \text{ nm}$;
 (b) le rendement de la réaction

II.2.2.2.2. Influence de la concentration en ions Ag^+

La figure 7 montre qu'à pH fixe et égal à 11, plus la concentration initiale en ions Ag^+ augmente, plus l'absorbance donc la concentration en nanoparticules d'argent augmente pour atteindre une valeur maximale pour une concentration en $AgNO_3$ égale à $3.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

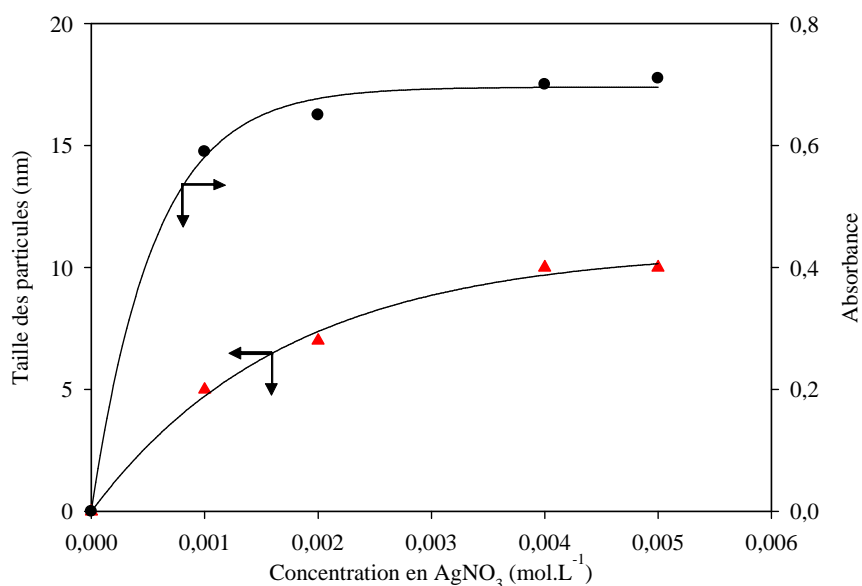


Figure 7 Evolution de l'absorbance maximale à 425 nm et de la taille moyenne des particules en fonction de la concentration d' $AgNO_3$ à pH=11

Il en est de même pour la taille de nanoparticules qui croît à mesure que la concentration de la solution d'AgNO₃ augmente (Figure 7), atteignant 10 nm pour une concentration en AgNO₃ égale à 5.10⁻³ mol.L⁻¹.

II.2.2.2.3. Conditions optimales

Finalement, les conditions opératoires retenues sont celles préconisées par Martinez-Castanon et al., à savoir une réduction menée à pH=11, à température ambiante et en présence d'une solution d'ions Ag⁺ initialement de concentration égale à 10⁻³ mol.L⁻¹.

Dans ces conditions, la distribution en taille des particules est étroite et le diamètre moyen des particules varie entre 4 et 12 nm (Figure 8). La dispersion aqueuse obtenue renferme 100 µg d'Ag/mL.

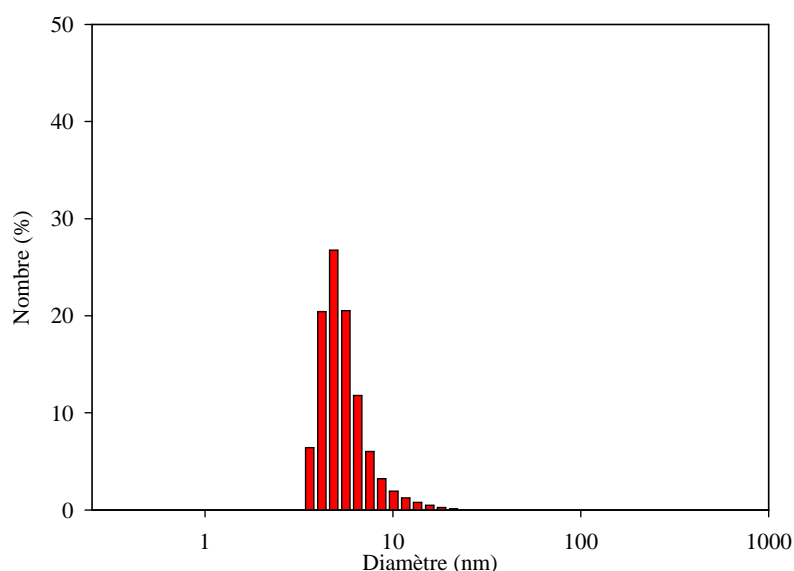


Figure 8 Distribution des tailles des particules obtenues par le procédé en milieu aqueux à pH=11, à température ambiante et en présence d'une solution d'ions Ag⁺ de concentration égale à 10⁻³ mol.L⁻¹

II.2.3 Procédé à l'état fondu

II.2.3.1. Principe

Comme nous avons pu le voir dans l'étude bibliographique, les procédés de synthèse de nanoparticules d'argent nécessitent généralement un solvant (eau ou solvant organique). De plus, ils mettent en jeu des agents réducteurs et stabilisants qui restent présents dans la dispersion à l'issue du phénomène de réduction et se retrouvent donc incorporés « à l'état libre » dans la masse du polymère.

Dans ce troisième procédé, nous avons développé un procédé d'obtention de dispersion de nanoparticules d'argent sans solvant, où les fonctions de réduction et de stabilisation sont assurées par le même réactif qui peut lui-même être ultérieurement incorporé chimiquement dans le polymère dans lequel sera introduite la dispersion de nanoparticules d'argent obtenue. Le polymère visé dans la suite de cette étude étant de type polyuréthane, nous avons naturellement pensé à un dialcool.

Notre choix s'est porté sur le polyéthylèneglycol (PEG) et sur un procédé avec chauffage sous micro-ondes permettant de travailler, sans solvant, à l'état fondu.

Le procédé développé ici est inspiré de celui proposé par Luo et al. [70]. Le principe du procédé de Luo et al. consiste à chauffer 2 g de polyéthylèneglycol (PEG 2000 g/mol) en présence de 0,1 mL d'une solution aqueuse de nitrate d'argent (AgNO_3) à $15 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans un réacteur plongé dans un bain d'huile. Au bout d'une heure, des nanoparticules d'argent présentant une taille de particules moyenne de 80 nm ont été obtenues. Le mélange initialement incolore change instantanément de couleur et vire au jaune pâle, ce qui indique la formation de nanoparticules d'argent.

L'équation bilan de la réaction mise en jeu s'écrit :



Dans ce travail, nous avons repris ce protocole en utilisant cette fois un mode de chauffage par micro-ondes en système fermé. La littérature ayant démontré l'intérêt de ce mode de chauffage pour contrôler la taille des particules formées, nous espérons ainsi accéder à des particules de faible taille et avec une distribution en taille fine.

II.2.3.2. Optimisation du procédé

Les paramètres expérimentaux optimisés sont le temps et la température de réaction ainsi que la concentration en ions Ag^+ et la longueur de chaîne du PEG.

II.2.3.2.1. Influence de la température et du temps de réaction

Dans cette étude, la concentration en ions Ag^+ a été fixée à $15 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ et un PEG de masse $2000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ a été employé.

La figure 9 montre le temps de réaction nécessaire pour atteindre une différence d'absorbance ($\Delta A = A_t - A_{t_0}$) maximale à 400 nm, c'est-à-dire un rendement maximum à une température donnée. Elle montre clairement une augmentation de la cinétique de réaction avec la température. Afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux obtenus par Luo et al. sous chauffage classique, nous avons choisi de travailler à 120°C .

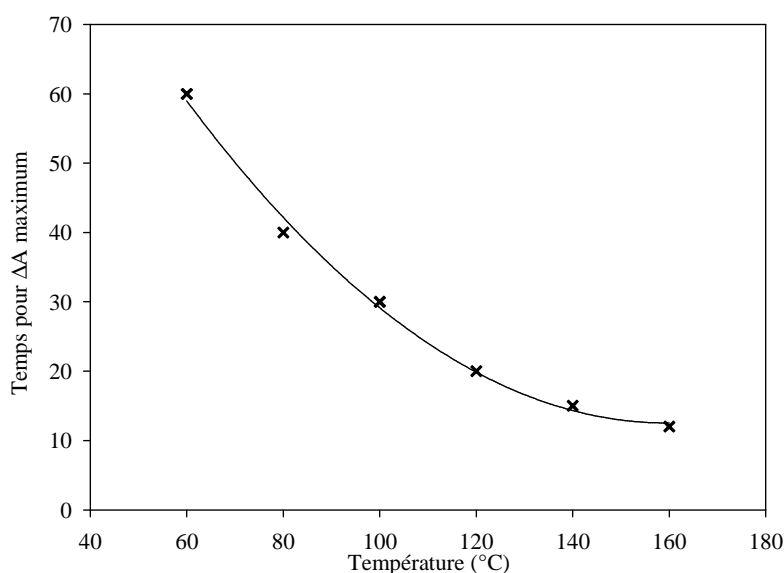


Figure 9 Influence de la température de réaction sous micro-ondes sur le temps pour avoir ΔA maximum à $\lambda = 400 \text{ nm}$

La figure 10 montre l'effet du temps de réaction, sous chauffage micro-ondes, sur le maximum d'absorption mesuré à 400 nm et la taille des particules (figure 10-a) ainsi que sur le rendement de la réaction (figure 10-b). Après 1 heure de réaction à 120°C , la réaction semble terminée avec un rendement de réaction de 80%. En réalité, l'augmentation du temps de réaction a pour effet d'améliorer le rendement de la réaction jusqu'à 100% mais se traduit par une augmentation de la taille des nanoparticules d'argent formées avec un déplacement du maximum d'absorption vers des valeurs de longueur d'onde plus élevées.

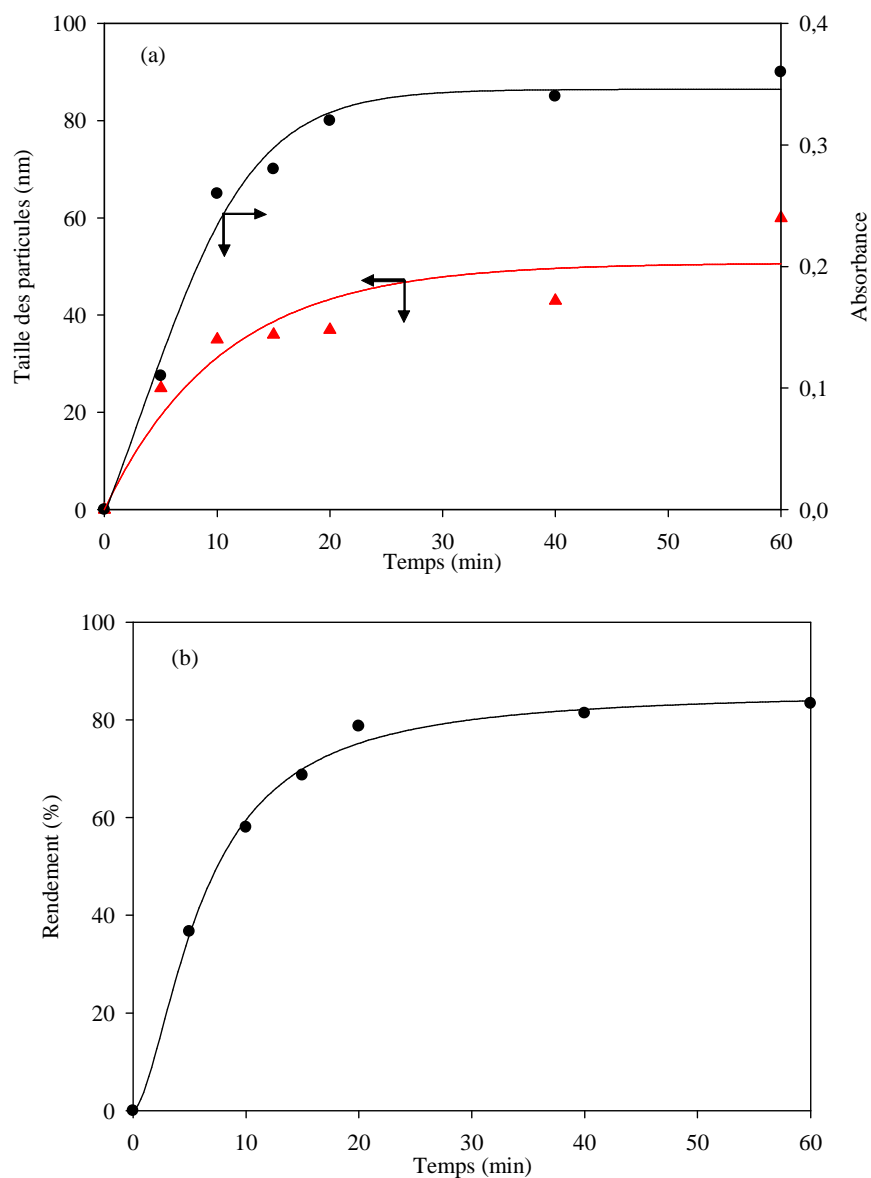


Figure 10 Influence du temps de réaction sous micro-ondes à $T = 120^{\circ}\text{C}$ pour $[\text{AgNO}_3] = 15 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ sur : (a) la taille moyenne des particules et le maximum d'absorbance à $\lambda = 400 \text{ nm}$; (b) le rendement de la réaction

II.2.3.2.2. Influence de la concentration en ions Ag^+

La figure 11 représente la variation de l'absorbance de la solution en Ag^+ à environ 400 nm en fonction de la concentration en précurseur après 20 min de réaction à 120°C en présence de PEG 2000. On constate que plus la concentration des ions Ag^+ est élevée, plus l'absorbance (donc la concentration) des nanoparticules d'argent est grande. Par ailleurs, la variation de l'absorbance et la taille des particules sont très faibles pour une concentration

supérieure à $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$ d' AgNO_3 . Pour des concentrations d' AgNO_3 supérieures à $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, un changement de la longueur d'onde d'absorption maximale, correspondant à une croissance de la taille des particules, a été observé.

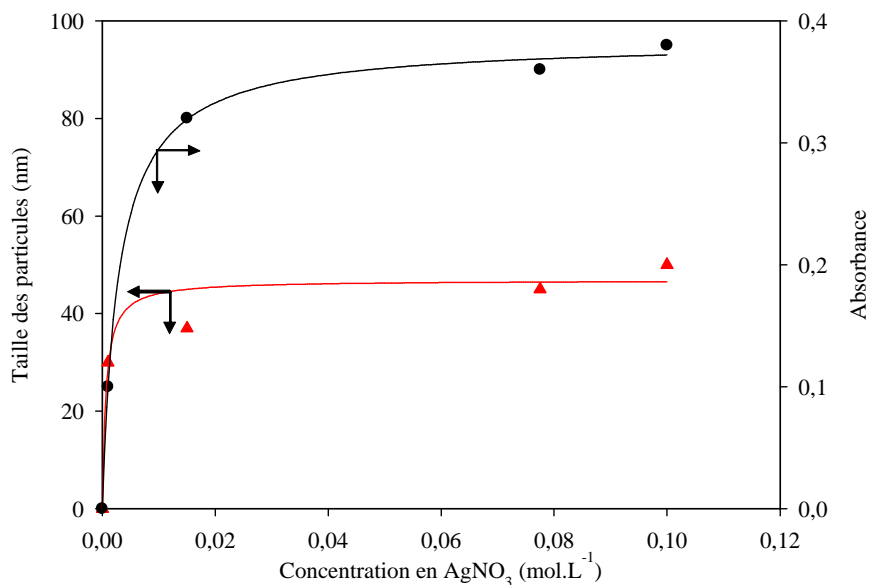


Figure 11 Evolution de l'absorbance maximale et de la taille moyenne des particules en fonction de la concentration d' AgNO_3 après 20 min sous micro-ondes à $T = 120^\circ\text{C}$ en présence de PEG 2000

II.2.3.2.3. Influence de la longueur de chaîne du PEG

Quatre dispersions de nanoparticules d'argent dans le PEG ont été synthétisées par réduction d'une solution aqueuse d' AgNO_3 à $15.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ pendant 20 min à 120°C . Seule la masse du PEG utilisé dans ces dispersions a été changée et a varié de 400 à 6000 g.mol^{-1} . La figure 12 montre les spectres d'absorption UV-Visible de ces quatre dispersions après dilution dans l'eau.

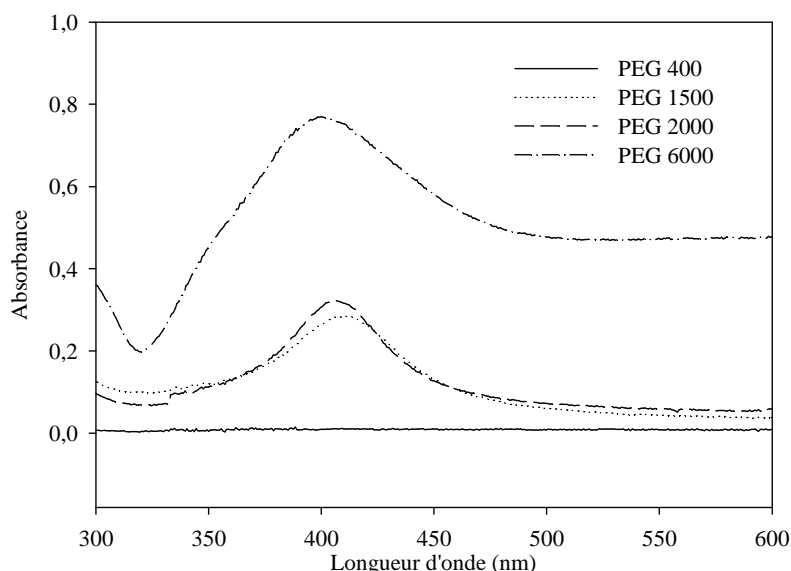


Figure 12 Spectres d'absorption UV-Visible de nanoparticules d'argent préparées à 120°C pendant 20 min en utilisant différentes longueurs de chaînes polymères de PEG

Dans le cas du PEG 400, une infime augmentation d'absorbance a été observée à 405 nm. Le rendement de la formation d'argent a été estimé à 15%. L'intensité de cette absorbance a significativement augmenté pour le PEG 1500 avec des tailles de nanoparticules d'argent d'environ 35 nm et un rendement de 75%. Dans le cas du PEG 2000, l'absorbance est encore plus importante révélant la formation d'une forte concentration de nanoparticules d'argent de taille avoisinant les 25 nm. Le rendement est alors de 80%. Enfin, pour le PEG 6000, la bande d'absorption des nanoparticules d'argent s'est élargie et l'intensité a significativement augmenté. Le rendement, quant à lui, est de 83%. En outre, un nouveau pic est apparu vers 300 nm, ce qui pourrait résulter de l'existence d'argent présent sous plusieurs formes géométriques et notamment de nanoprismes de plus grande dimension [70].

Le comportement du PEG pour différentes masses moléculaires a révélé que la réduction des ions argent est plus rapide pour des chaînes du PEG plus longue. Ainsi, la réaction de réduction dépend de la réactivité du PEG qui elle-même augmente avec l'augmentation de sa masse moléculaire.

II.2.3.2.4. Conditions optimales

Les conditions optimales de synthèse sont donc 20 min sous micro-ondes à $T = 120^{\circ}\text{C}$, en utilisant une solution d' AgNO_3 de concentration égale à $0,015 \text{ mol.L}^{-1}$, en présence du PEG 2000. Les nanoparticules d'argent obtenues dans ces conditions présentent une distribution plus large des tailles de particules comparée aux deux procédés précédemment utilisés avec un diamètre moyen de l'ordre de 35 nm (Figure 13). En revanche, comparé aux résultats de Luo et al. [70], l'intérêt des micro-ondes est confirmé puisque l'on obtient des particules de plus petite taille en un temps trois fois plus court.

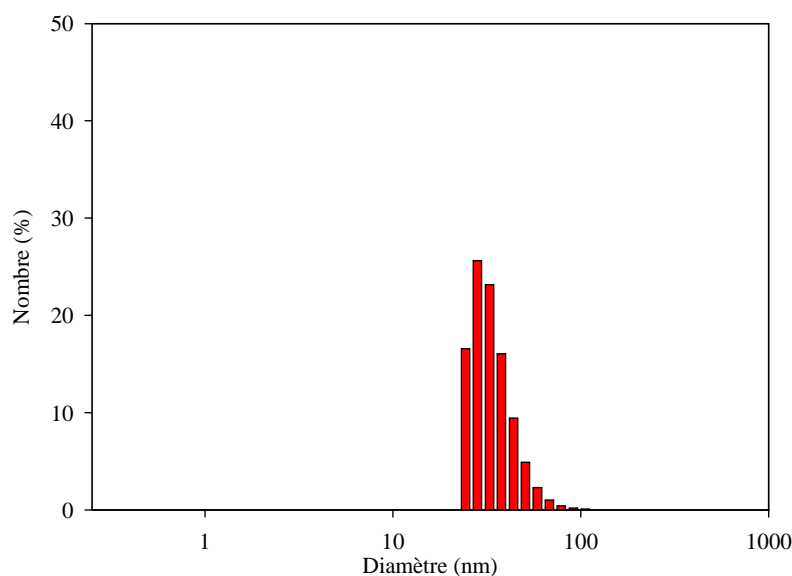


Figure 13 Distribution des tailles de particules d'argent obtenues par le procédé à l'état fondu pour le PEG2000 après 20 min sous micro-ondes à $T = 120^{\circ}\text{C}$, avec concentration d' AgNO_3 égale à $0,015 \text{ mol.L}^{-1}$

II.2.3.2.5. Etude cinétique de la réaction dans les conditions optimales

La vitesse de la réaction s'écrit comme suit :

$$v = -\frac{d[\text{Ag}^+]}{2dt} = k [\text{Ag}^+]^m [\text{HO} - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_j - \text{H}]^n \quad (1)$$

où k est la constante de vitesse, m et n sont les ordres partiels de réaction.

La réaction étant effectuée en présence de PEG en large excès, on peut considérer une dégénérescence de l'ordre par rapport au PEG donc :

$$v = \frac{d[Ag^+]}{dt} = k'[Ag^+]^m, \text{ où } k' = k[PEG]_0^n \text{ est la constante de la vitesse apparente.}$$

En supposant une réaction de premier ordre, on peut écrire :

$$\ln[Ag^+] = \ln[Ag^+]_0 - 2k' t \quad (2)$$

Le tracé de $\ln[Ag^+] = f(t)$ conduit à une droite (figure 14) confirmant que la réaction est d'ordre 1 par rapport à Ag^+ avec une constante de vitesse apparente $k' = 0,016 \text{ s}^{-1}$.

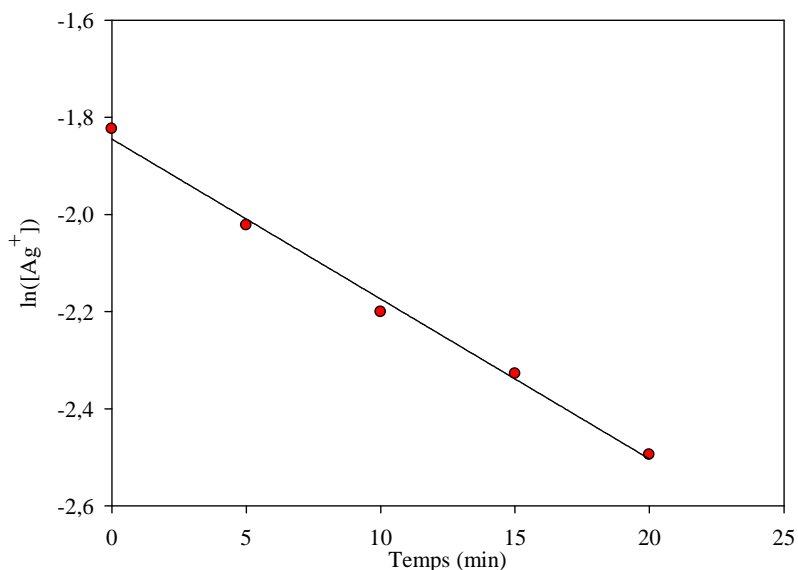


Figure 14 Détermination de l'ordre partiel par rapport aux ions Ag^+

II.2.3.2.6. Obtention d'une dispersion aqueuse

La préparation des dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent stabilisées par le PEG se fait par simple ajout d'eau.

III. Étude des propriétés antibactériennes des dispersions de nanoparticules d'argent

III.1 Choix des bactéries et des méthodes expérimentales

Notre choix s'est porté sur deux micro-organismes à Gram différents, respectivement le *P. aeruginosa* (Gram négatif) et l'*E. faecalis* (Gram positif), en raison de leur très large implication dans les phénomènes de contamination et d'infection rencontrés dans le domaine médical. A titre d'exemple, *E. faecalis* est responsable d'infections de la vessie, de la prostate ou de l'épididyme. *P. aeruginosa*, quant à elle, est impliquée dans des infections au niveau des lentilles de contact et est le principal pathogène rencontré dans les bronchites chroniques chez

les patients atteints de mucoviscidose. Et vue leurs fortes résistances envers les agents antibactériens.

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est l'indicateur le plus utilisé pour évaluer la sensibilité d'une bactérie à un agent antibactérien. Elle correspond à la plus petite concentration en agent antibactérien capable, *in vitro*, d'empêcher une suspension limpide de 10^5 Unités Formant Colonies par millilitre (UFC.mL⁻¹) de devenir trouble après 24h d'incubation à 37°C. L'apparition de cette turbidité correspond à une multiplication d'un facteur 10 environ de la concentration en bactéries [74]. Cette valeur est susceptible d'être influencée par des facteurs tels que le milieu, la taille de l'inoculum, la température ou le temps d'incubation, ce qui explique la nécessité de standardisation des méthodes quantitatives afin d'obtenir des résultats comparables [75].

Nous avons choisi deux méthodes de mesure :

- la méthode en suspension
- la méthode sur gélose.

III.2 Principe

III.2.1 Préparation des échantillons

Les souches bactériennes sont conservées au congélateur à -24°C. Les précultures sont réalisées en inoculant un aliquot de la souche bactérienne dans 40 mL de milieu Mueller Hinton Broth (MHB). Puis le mélange est incubé pendant 24h à 37°C. A l'issue de l'incubation, les bactéries sont centrifugées à 3500 trs/min pendant 15 minutes (centrifugeuse 3-16 k, rotor n°121561, Sigma). Le culot bactérien est repris dans 10 mL d'eau stérile.

Les dispersions de nanoparticules d'argent présentant un pH aux environs de 7,5-8, condition permettant d'envisager la culture bactérienne, elles sont directement introduites dans des tubes à essais contenant les différentes cultures de bactéries, à des concentrations allant de 10 à 200 µg d'Ag/mL.

Des tubes témoins contenant les cultures seules ou en présence des différents agents stabilisants (PVP, AG, PEG) aux concentrations présentes dans les dispersions de nanoparticules d'argent ont également été réalisés.

III.2.2 Méthode sur gélose

25 µL de chaque tube à essais sont étalées sur des boîtes de pétri contenant de la gélose (Mueller-Hinton). Le comptage du nombre d'UFC est réalisé après 24h d'incubation à 37°C. La méthode consiste à identifier la concentration en nanoparticules d'argent inhibant la croissance bactérienne. A noter que chaque expérience est reproduite 5 fois (ND = 5).

III.2.3 Méthode en suspension

Les cultures préparées dans les tubes à essais sont mises à l'étuve à 37°C pendant 24h.

La concentration bactérienne est alors déterminée par mesure de l'absorbance (A) à 550 nm (Spectrophotomètre Cary 100). L'absorbance est reliée à la concentration en Unité Formant Colonie par la relation suivante :

$$\text{UFC.mL}^{-1} = 1 \times 10^9 \times A$$

De même, chaque expérience est reproduite 5 fois (ND = 5).

III.3 Résultats et interprétation

L'effet de la présence des agents stabilisants utilisés lors de la synthèse des nanoparticules d'argent vis-à-vis des deux espèces bactériennes *E. faecalis* et *P. aeruginosa* a tout d'abord été étudié. Les observations menées révèlent que les tests sont tous négatifs (Tableau 6). Il n'y a aucune activité antibactérienne pour les trois produits, aux concentrations utilisées dans ce travail.

Agent stabilisant	Effet antibactérien	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>
PVP	(-)	(-)
AG	(-)	(-)
PEG	(-)	(-)

Tableau 6 Effet antibactérien des agents stabilisants vis-à-vis des deux souches bactériennes

La figure 15 montre les résultats obtenus sur gélose dans le cas des nanoparticules synthétisées selon le procédé à l'état fondu. On constate ainsi visuellement que, pour les deux

souches d'*E. faecalis* et *P. aeruginosa*, la croissance bactérienne est complètement inhibée par la présence de nanoparticules d'argent pour une concentration comprise entre 40 à 100 $\mu\text{g/mL}$.

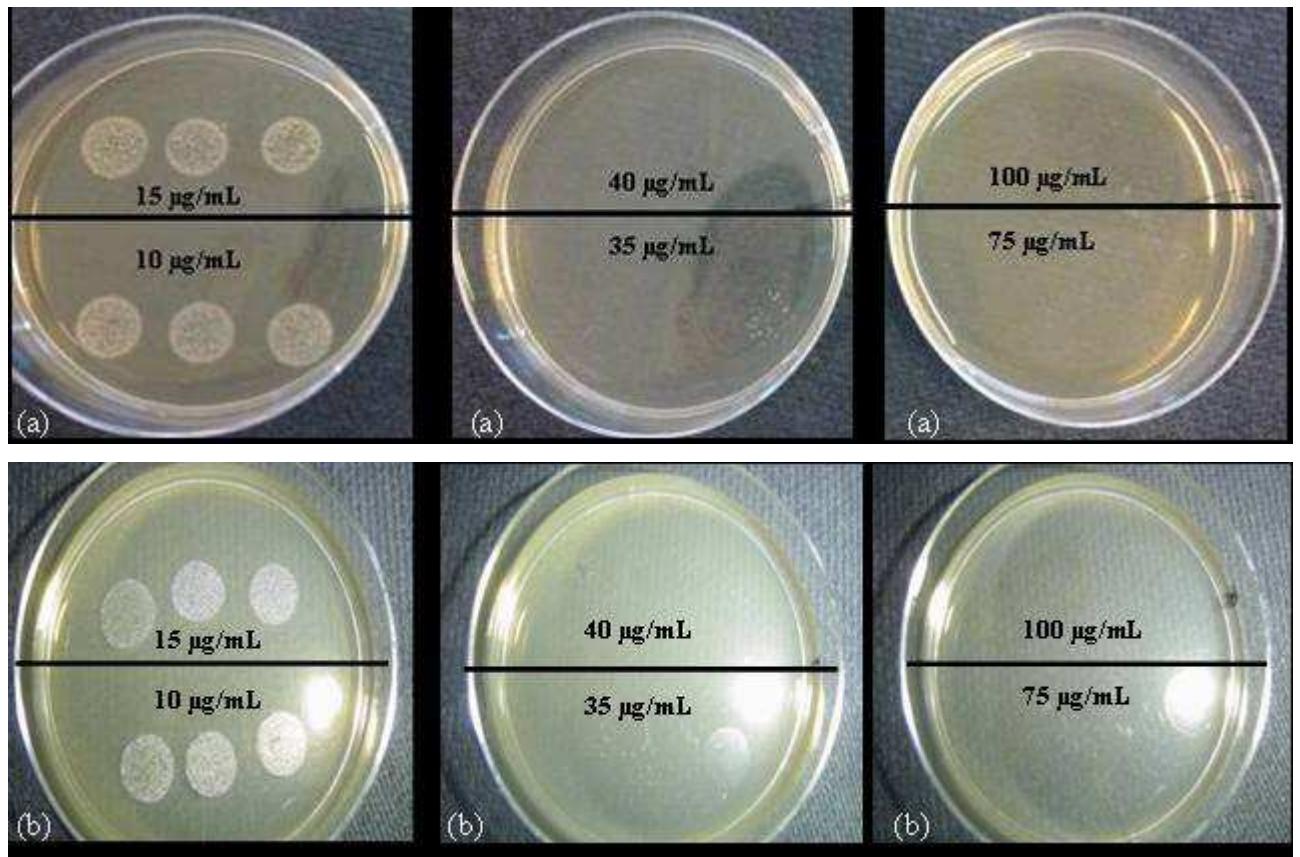


Figure 15 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des nanoparticules d'Ag(PEG) (mesurée après 24 h d'incubation à 37°C sur gélose Mueller-Hinton) (a) *E. faecalis* ; (b) *P. aeruginosa*

La figure 16 présente l'évolution du pourcentage d'inhibition bactérienne en fonction de la concentration en nanoparticules d'argent pour les trois types de dispersions. Les résultats montrent qu'à une concentration en argent de 35 $\mu\text{g/mL}$, 96% de la croissance bactérienne est inhibée, alors que l'inhibition n'est que de 4% pour 15 μg d'Ag/mL. Après 24 heures de culture, la CMI peut donc être estimée aux environs de 30-35 μg d'Ag/mL. Les mêmes résultats ont été obtenus pour les trois types de dispersions de nanoparticules d'argent.

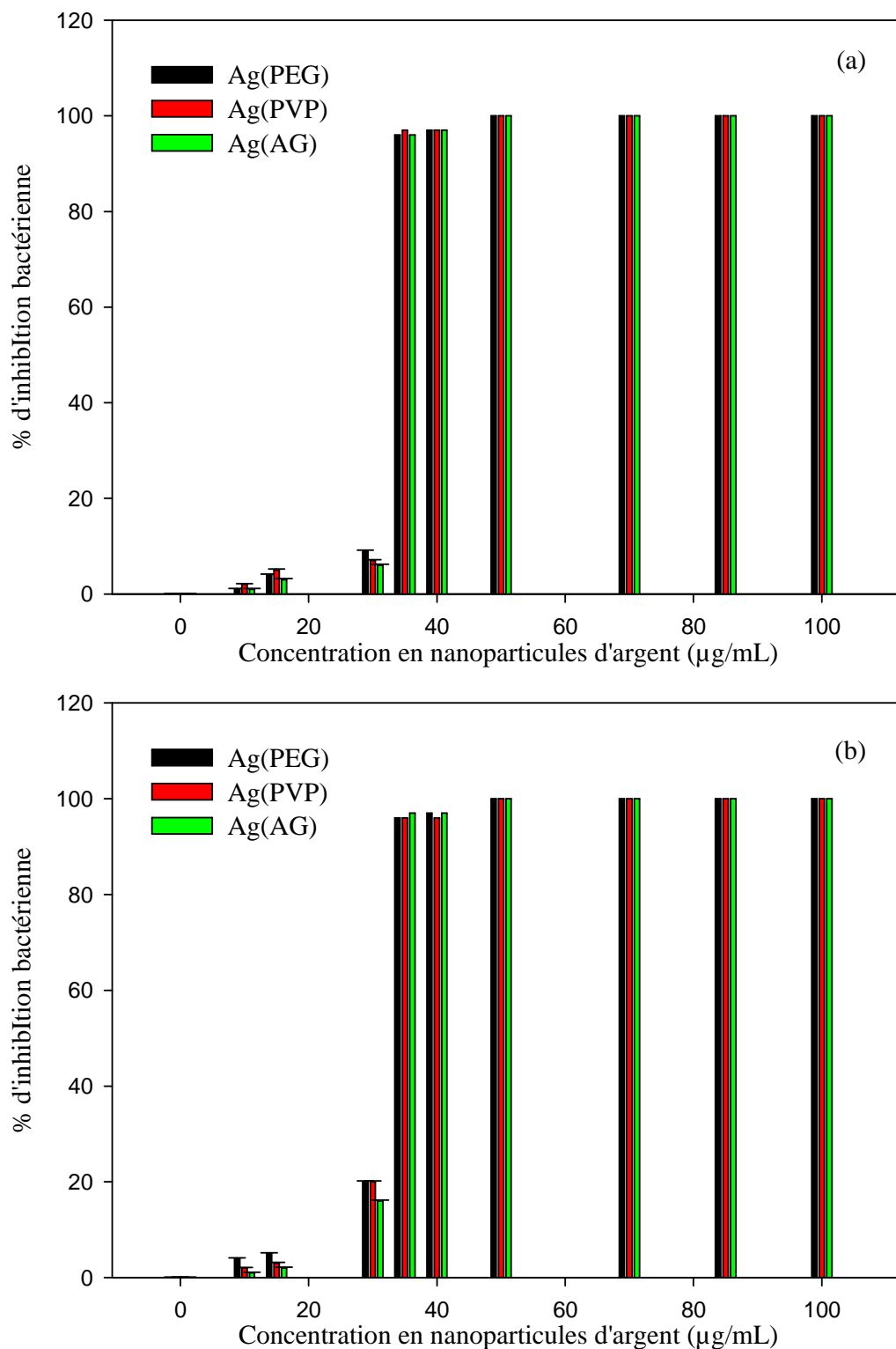


Figure 16 Pourcentage d'inhibition bactérienne après 24h d'incubation à 37°C sur gélose :
 (a) *E. faecalis* ; (b) de *P. aeruginosa* (ND = 5)

La figure 17 montre les résultats obtenus en suspension. On voit que les solutions sont turbides dans les cuves contenant jusqu'à 35 $\mu\text{g/mL}$ de nanoparticules d'argent. En revanche, la turbidité disparaît totalement pour une concentration de 40 μg d'Ag/mL, excepté bien

entendu pour l'échantillon de référence qui ne contient que le milieu de culture en présence des bactéries (Bact + MHB).

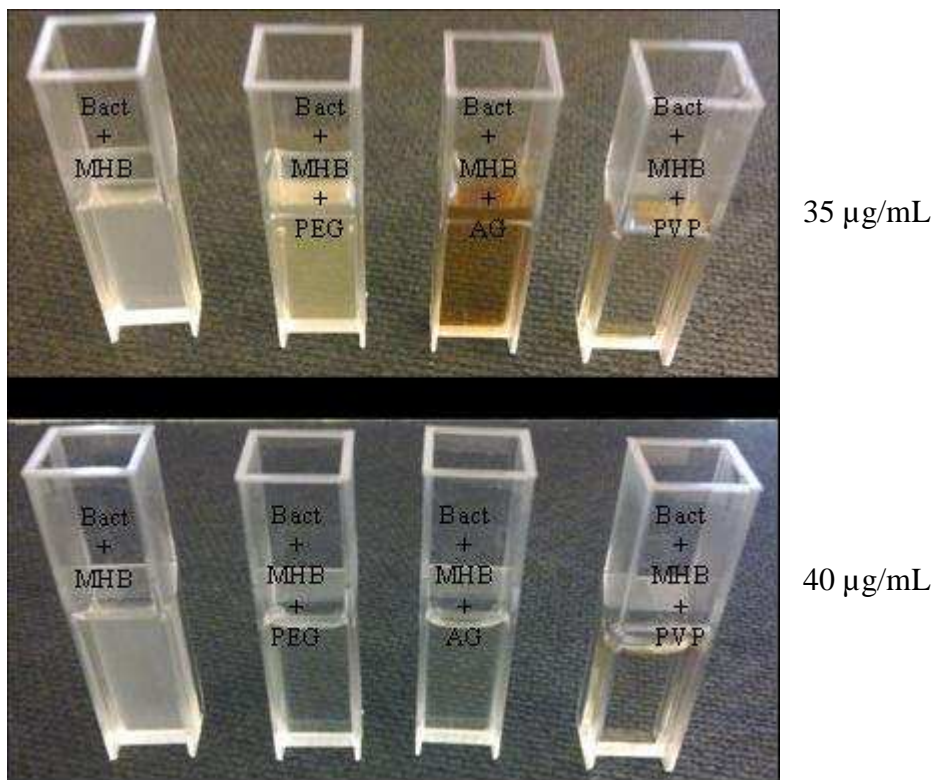


Figure 17 Détermination de la concentration minimale d'inhibition en nanoparticules d'Ag(PEG) par la méthode en suspension après 24h d'incubation à 37 °C en présence d'*E. faecalis*

L'évolution du nombre de bactéries cultivables en présence de différentes concentrations de nanoparticules d'argent est par ailleurs représentée sur la figure 18. La croissance bactérienne des deux souches est inhibée de façon spectaculaire pour une concentration de nanoparticules de 35 µg/mL et ce, quel que soit l'agent stabilisant des nanoparticules.

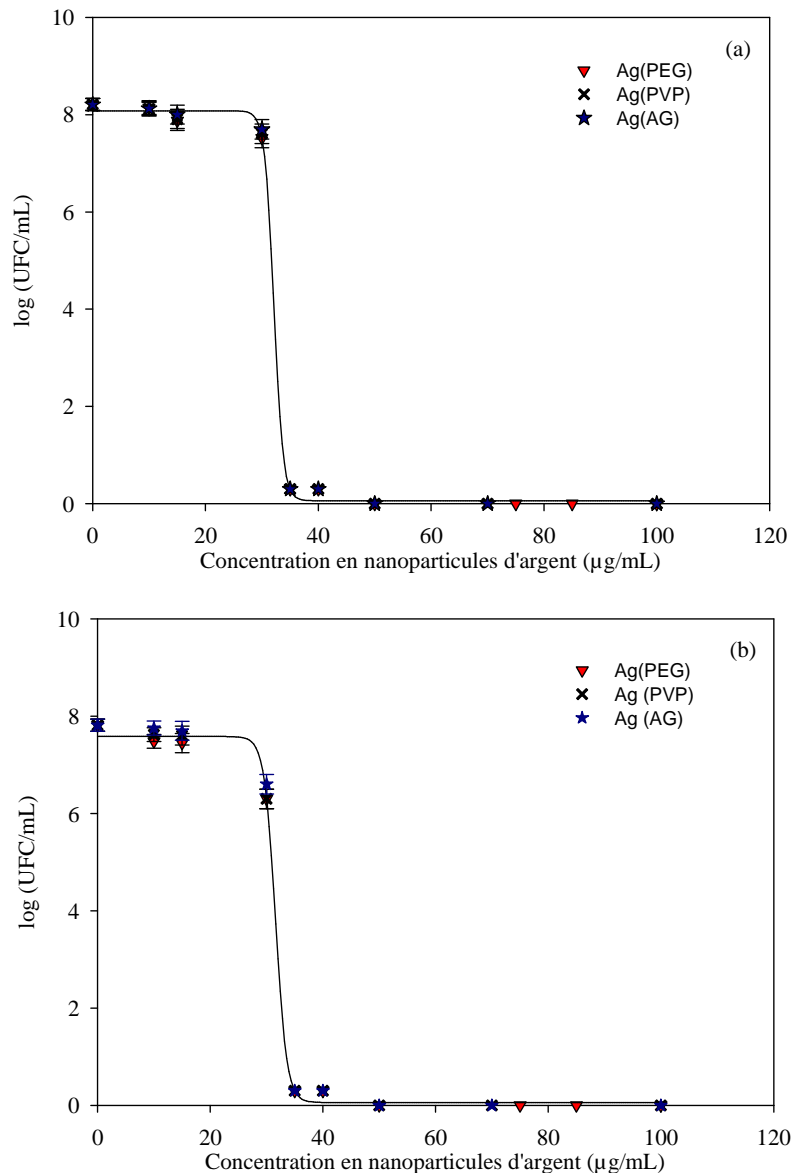


Figure 18 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des nanoparticules d'Ag après 24h d'incubation à 37°C par la méthode en suspension :
 (a) *E. faecalis* ; (b) de *P. aeruginosa* (ND = 5)

Dans la littérature, on peut relever des valeurs de CMI variant entre 6,75 μg d'Ag/mL pour des nanoparticules de 10 nm de diamètre synthétisées en présence d'éthylène glycol comme agent de stabilisation, et 54 μg d'Ag/mL pour des nanoparticules de 25 nm de diamètre stabilisées par du galactose [76,77]. La CMI que nous trouvons pour notre part est donc intermédiaire entre ces deux valeurs extrêmes.

Conclusion

Trois dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent ont été synthétisées au moyen de trois procédés simples, rapides et peu coûteux en énergie. Le tableau ci-dessous récapitule les caractéristiques physico-chimiques de ces dispersions obtenues selon des conditions de synthèse optimisées :

Dispersion	Procédé	Agent stabilisant	Taille moyenne de particules	Géométrie
1	En milieu organique	PVP	5 nm	sphérique
2	En milieu aqueux	AG	7 nm	sphérique
3	A l'état fondu	PEG	35 nm	sphérique

Le troisième procédé nous semble particulièrement intéressant pour plusieurs raisons :

- le PEG joue à la fois le rôle d'agent réducteur et d'agent stabilisant. Aucun autre additif de type solvant, tensioactif, ou autre réducteur, n'est nécessaire.

- le PEG offre l'avantage de la présence de groupes hydroxyle terminaux sur les chaînes. Cela rend possible son introduction dans les chaînes macromoléculaires lors de l'étape de synthèse des polymères.

Enfin, l'activité antibactérienne des dispersions aqueuses des nanoparticules d'argent ainsi obtenues a été analysée. Une valeur de CMI de 35 μg d'Ag/mL a été mesurée pour les trois types de dispersion de nanoparticules d'argent vis-à-vis de deux bactéries à Gram négatif (*P. aeruginosa*) et à Gram positif (*E. faecalis*). Cette inhibition est bien liée à la présence de l'argent et non aux agents stabilisants présents dans ces dispersions.

Références

- ¹ H.Q. Jiang, S. Manolache, A.C.L. Wong and F.S. Denes, Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. *J. Appl. Polym. Sci.* 93 (2004), 1411.
- ² S. Hirano, Y. Wakasa, A. Saka, S. Yoshizawa, Y. Oya-Seimiya, Y. Hishinuma, A. Nishimura, A. Matsumoto and H. Kumakura, Preparation of Bi-2223 bulk composed with silver-alloy wire. *Physica C Superconductivity* 392 (2003), 458.
- ³ X.L. Ren and F.Q. Tang, Enhancement Effect of Ag-Au Nanoparticles on Glucose Biosensor Sensitivity. *Acta Chim. Sinica* 60 (2002), 393.
- ⁴ S.Y. Yeo, H.J. Lee and S.H. Jeong, Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect. *J. Mater. Sci.* 38 (2003), 2143.
- ⁵ H.S. Wang, X.L. Qiao, J.G. Chen, X.J. Wang and S.Y. Ding, Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles. *Mater. Chem. Phys.* 94 (2005), 449.
- ⁶ J.P. Zhang, P. Chen, C.H. Sun and X.J. Hu, Sonochemical synthesis of colloidal silver catalysts for reduction of complexing silver in DTR system. *Appl. Catal. A: Gen.* 266 (2004), 49.
- ⁷ R.J. Chimentao, I. Kirm, F. Medina, X. Rodriguez, Y. Cesteros, P. Salagre and J.E. Sueiras, Different morphologies of silver nanoparticles as catalysts for the selective oxidation of styrene in the gas phase. *Chem. Commun.* 4 (2004), 846.
- ⁸ M.T. Reetz and W. Helbig, Size-Selective Synthesis of Nanostructured Transition Metal Clusters. *J. Am. Chem. Soc.*, 116 (1994), 7401.
- ⁹ Yamamoto T, Yuji W, Takao S, Hirotaro M, Masaki G, Shingo H, Shozo Y., Microwave-assisted Preparation of Silver Nanoparticles. *Chem. Let.*, 33 (2004), 158.
- ¹⁰ N. Leopold and B. Lendl, A New Method for Fast Preparation of Highly Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Active Silver Colloids at Room Temperature by Reduction of Silver Nitrate with Hydroxylamine Hydrochloride. *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 5723.
- ¹¹ K.K. Caswell, C.M. Bender and C.J. Murphy, Seedless, surfactantless wet chemical synthesis of silver nanowires. *Nano Letters* 3 (2003), 667.
- ¹² Z.S. Pillai and P.V. Kamat, What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method. *J. Phys. Chem. B* 108 (2004), 945.
- ¹³ Y.D. Yin, Z.Y. Li, Z.Y. Zhong, B. Gates, Y.N. Xia and S. Venkateswaran, Synthesis and characterization of stable aqueous dispersions of silver nanoparticles through the Tollens process. *J. Mater. Chem.* 12 (2002), 522.

- ¹⁴ Y.C. Zhu, M.R. Ji, H.G. Zheng, Y. Li, Z.P. Yang and Y.T. Qian, Seed-mediated synthesis of silver with skeleton structures. *Mater. Lett.* 58 (2004), 1121.
- ¹⁵ N.K. Chaki, J. Sharma, A.B. Mandle, I.S. Mulla, R. Pasricha and K. Vijayamohanan, Size dependent redox behavior of monolayer protected silver nanoparticles (2–7 nm) in aqueous medium. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004), 1304.
- ¹⁶ Y.G. Sun, B. Mayers, T. Herricks and Y.N. Xia, Polyol Synthesis of Uniform Silver Nanowires: A Plausible Growth Mechanism and the Supporting Evidence. *Nano Letters* 3 (2003), 955.
- ¹⁷ Y.G. Sun and Y.N. Xia, Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science* 298 (2002), 2176.
- ¹⁸ D.H. Chen and Y.W. Huang, Spontaneous formation of Ag nanoparticles in dimethylacetamide solution of poly(ethylene glycol). *J. Colloid Interface Sci.* 255 (2002), 299.
- ¹⁹ I. Pastoriza-Santos and L.M. Liz-Marzan, Synthesis of Silver Nanoprisms in DMF. *Nano Letters* 2 (2002), 903.
- ²⁰ X.Q. Wang, H. Itoh, K. Naka and Y. Chujo, Tetrathiafulvalene-assisted formation of silver dendritic nanostructures in acetonitrile. *Langmuir* 19 (2003), 6242.
- ²¹ C. Faure, A. Derre and W. Neri, Spontaneous formation of silver nanoparticles into multilamellar vesicles. *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 4738.
- ²² S.H. Chen and D.L. Carroll, Synthesis and Characterization of Truncated Triangular Silver Nanoplates. *Nano Letters* 2 (2002), 1003.
- ²³ S. Mandal, D. Rautaray and M. Sastry, Ag⁺-Keggin ion colloidal particles as novel templates for the growth of silver nanoparticle assemblies. *J. Mater. Chem.* 13 (2003), 3002.
- ²⁴ G. Malandrino, S.T. Finocchiaro and I.L. Fragala, Silver nanowires by a sonoself-reduction template process. *J. Mater. Chem.* 14 (2004), 2726
- ²⁵ C. Johans, J. Clohessy, S. Fantini, K. Kontturi and V.J. Cunnane, Electrosynthesis of polyphenylpyrrole coated silver particles at a liquid-liquid interface. *Electrochem. Commun.* 4 (2002), 227.
- ²⁶ Y.H. Zhang, F. Chen, J.H. Zhuang, Y. Tang, D.J. Wang, Y.J. Wang, A.G. Dong and N. Ren, Synthesis of silver nanoparticles *via* electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. *Chem. Commun.* (2002), 2814.

- ²⁷ H.Y. Ma, B.S. Yin, S.Y. Wang, Y.L. Jiao, W. Pan, S.X. Huang, S.H. Chen and F.J. Meng, Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles by a Novel Electrochemical Method. *ChemPhysChem* 5 (2004), 68.
- ²⁸ B.S. Yin, H.Y. Ma, S.Y. Wang and S.H. Chen, Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles under Protection of Poly(*N*-vinylpyrrolidone). *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 8898.
- ²⁹ J.Q. Cheng and S.W. Yao, Synthesis and characterization of silver nanoparticles by sonoelectrode-position. *Rare Met.* 24 (2005), 376.
- ³⁰ Y. Socol, O. Abramson, A. Gedanken, Y. Meshorer, L. Berenstein and A. Zaban, Suspensive electrode formation in pulsed sonoelectrochemical synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir* 18 (2002), 4736.
- ³¹ J.P. Zhang, L.Q. Sheng and P. Chen, Synthesis of various types of silver nanoparticles used as physical developing nuclei in photographic science. *Chin. Chem. Lett.* 14 (2003), 645.
- ³² Q.F. Zhou and Z. Xu, The preparation of nano-scale plate silver powders by visible light induction method. *J. Mater. Sci.* 39 (2004), 2487.
- ³³ D.G. Shchukin, I.L. Radtchenko and G.B. Sukhorukov, Photoinduced Reduction of Silver Inside Micron-Scale Polyelectrolyte Capsules. *ChemPhysChem* 4 (2003), 1101.
- ³⁴ L.Z. Zhang, J.C. Yu, H.Y. Yip, Q. Li, K.W. Kwong, A.W. Xu and P.K. Wong, Ambient light reduction strategy to synthesize silver nanoparticles and silver-coated TiO₂ with enhanced photocatalytic and bactericidal activities. *Langmuir* 19 (2003), 10372.
- ³⁵ A.M. Junior, H.P.M. de Oliveira and M.H. Gehlen, Preparation of silver nanoprisms using poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) as a colloid stabilizing agent and the effect of silver nanoparticles on the photophysical properties of cationic dyes. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2 (2003), 921.
- ³⁶ R.C. Jin, Y.C. Cao, E.C. Hao, G.S. Metraux, G.C. Schatz and C.A. Mirkin, Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation. *Nature* 425 (2003), 487.
- ³⁷ K. Mallick, M.J. Witcomb and M.S. Scurrill, Polymer stabilized silver nanoparticles: A photochemical synthesis route. *J. Mater. Sci.* 39 (2004), 4459.
- ³⁸ A.I. Kryukov, N.N. Zin'chuk, A.V. Korzhak and S.Y. Kuchmii, The Effect of the Conditions of Catalytic Synthesis of Nanoparticles of Metallic Silver on Their Plasmon Resonance. *Theor. Exp. Chem.* 39 (2003), 9.
- ³⁹ P.D. Cozzoli, R. Comparelli, E. Fanizza, M.L. Curri, A. Agostiano and D. Laub, Photocatalytic Synthesis of Ag Nanoparticles Stabilized by TiO₂ Nanorods: a

Semiconductor/Metal Nanocomposite in Homogeneous Nonpolar Solution. *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), 3868.

⁴⁰ F.K. Liu, P.W. Huang, Y.C. Chang, F.H. Ko and T.C. Chu, Microwave-assisted synthesis of silver nanorods. *J. Mater. Res.* 19 (2004), 469.

⁴¹ T. Yamamoto, H.B. Yin, Y. Wada, T. Kitamura, T. Sakata, H. Mori and S. Yanagida, Morphology-Control in Microwave-Assisted Synthesis of Silver Particles in Aqueous Solutions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 77 (2004), 757.

⁴² S. Komarneni, D.S. Li, B. Newalkar, H. Katsuki and A.S. Bhalla, Microwave-Polyol Process for Pt and Ag Nanoparticles. *Langmuir* 18 (2002), 5959.

⁴³ H.B. Yin, T. Yamamoto, Y. Wada and S. Yanagida, Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. *Mater. Chem. Phys.* 83 (2004), 66.

⁴⁴ A.M. Qin, Z.L. Jiang, Q.Y. Liu, L. Liao and Y.M. Jiang, Preparation of silver nanoparticles in the presence of polyacrylamide by microwave high-pressure synthesis method and its spectral properties. *Chin. J. Anal. Chem.* 30 (2002), 1254.

⁴⁵ V. Hornebecq, M. Antonietti, T. Cardinal and M. Treguer-Delapierre, Stable Silver Nanoparticles Immobilized in Mesoporous Silica. *Chem. Mater.* 15 (2003), 1993.

⁴⁶ S.H. Choi, S.H. Lee, Y.M. Hwang, K.P. Lee and H.D. Kang, Interaction between the surface of the silver nanoparticles prepared by γ -irradiation and organic molecules containing thiolgroup. *Radiat. Phys. Chem.* 67 (2003), 517.

⁴⁷ L.H. Xin, R.M. Zhou, E.B. Gracien and A.O. Francis, Synthesis of silver nano-particles by EB irradiation. *J. Radiat. Res. Radiat. Process* 22 (2004), 69.

⁴⁸ T. Tsuji, T. Kakita and M. Tsuji, Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water. *Appl. Surf. Sci.* 206 (2003), 314.

⁴⁹ X.W. Zheng, L.Y. Zhu, X.J. Wang, A.H. Yan and Y. Xie, A simple mixed surfactant route for the preparation of noble metal dendrites. *J. Cryst. Growth* 260 (2004), 255.

⁵⁰ X.W. Zheng, L.Y. Zhu, A.H. Yan, X.J. Wang and Y. Xie, Controlling synthesis of silver nanowires and dendrites in mixed surfactant solutions. *J. Colloid Interface Sci.* 268 (2003), 357.

⁵¹ J.L. Zhang, B.X. Han, M.H. Liu, D.X. Liu, Z.X. Dong, J. Liu, D. Li, J. Wang, B.Z. Dong, H. Zhao and L.X. Rong, Ultrasonication-Induced Formation of Silver Nanofibers in Reverse Micelles and Small-Angle X-ray Scattering Studies. *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 3679.

- ⁵² M. Maillard, S. Giorgio and M.P. Pileni, Tuning the Size of Silver Nanodisks with Similar Aspect Ratios: Synthesis and Optical Properties. *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 2466.
- ⁵³ M. Maillard, S. Giorgio and M.P. Pileni, Silver nanodisks. *Adv. Mater.* 14 (2002), 1084.
- ⁵⁴ M.C. McLeod, R.S. McHenry, E.J. Beckman and C.B. Roberts, Synthesis and Stabilization of Silver Metallic Nanoparticles and Premetallic Intermediates in Perfluoropolyether/CO₂ Reverse Micelle Systems. *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), 2693.
- ⁵⁵ E.M. Egorova and A.A. Revina, Optical Properties and Sizes of Silver Nanoparticles in Micellar Solutions. *Colloid J.* 64 (2002), 301.
- ⁵⁶ R.R. Naik, S.J. Stringer, G. Agarwal, S.E. Jones and M.O. Stone, Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles. *Nat. Mater.* 1 (2002), 169.
- ⁵⁷ J.L. Gardea-Torresdey, E. Gomez, J.R. Peralta-Videa, J.G. Parsons, H. Troiani and M. Jose-Yacaman, Alfalfa sprouts: a natural 'source for the' synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir* 19 (2003), 1357.
- ⁵⁸ S.S. Shankar, A. Ahmad and M. Sastry, Geranium Leaf Assisted Biosynthesis of Silver Nanoparticles. *Biotechnol. Prog.* 19 (2003), 1627.
- ⁵⁹ M. Kowshik, S. Ashtaputre, S. Kharrazi, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni and K.M. Paknikar, Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology* 14 (2003), 95.
- ⁶⁰ A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar and M. Sastry, Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 28 (2003), 313.
- ⁶¹ K.C. Bhainsa and S.F. D'Souza, Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 47 (2006), 160.
- ⁶² S.S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad and M. Sastry, Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Interface Sci.* 275 (2004), 496.
- ⁶³ W. Zhang, X. Qiao, J. Chen, Synthesis of silver nanoparticles—Effects of concerned parameters in water/oil microemulsion. *Mat. Sci. and Engineering B*, 142 (2007), 1.
- ⁶⁴ S. May and A. Ben-Shaul, Molecular Theory of the Sphere-to-Rod Transition and the Second CMC in Aqueous Micellar Solutions. *J. Phys. Chem. B* 105 (2001), 630.
- ⁶⁵ N. Durán, P. D Marcato, O. L Alves, G. IH De Souza et E. Esposito, Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology* , 3 (2005), 1.

- ⁶⁶ L. Sintubin, W. De Windt, J. Dick, J. Mast, D. van der Ha, Willy Verstraete et N. Boon, Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol*, 84 (2009), 741.
- ⁶⁷ T. Klaus-Joerger, R. Joerger, E. Olsson and C.G. Granqvist, Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends Biotechnol.* 19 (2001), 15.
- ⁶⁸ R. Joerger, T. Klaus and C.G. Granqvist, Biologically Produced Silver–Carbon Composite Materials for Optically Functional Thin-Film Coatings. *Adv. Mater.* 12 (2000), 407.
- ⁶⁹ B. Nair and T. Pradeep, Coalescence of nanoclusters and the formation of sub-micron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains. *Cryst. Growth Design* 2 (2002), 293.
- ⁷⁰ C. Luo, Y. Zhang, X. Zeng, Y. Zeng, Y. Wang, The Role of Poly(ethylene glycol) in the Formation of Silver Nano-particles. *J. Coll. and Inter. Science* 288 (2005), 444.
- ⁷¹ Angshuman P, Sunil S, Surekha D., Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using ethanol as a reducing agent. *Materials Chemistry and Physics*, 114 (2009), 530.
- ⁷² G. A. Martinez-Castanon, N. Nino-Martinez, F. Martinez-Gutierrez, J. R. Martinez-Mendoza and F. Ruiz., Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *J. Nanopart. Res.*, 10 (2008), 1343.
- ⁷³ Wang W, Chen Q, Jiang C, Yang D, Liu X, Xu S., One-step synthesis of biocompatible gold nanoparticles using gallic acid in the presence of poly-(N-vinyl-2-pyrrolidone). *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 301 (2007), 73.
- ⁷⁴ Levison M.E., Pharmacodynamics of antimicrobial drugs. *Infect Dis Clin North Am.* 18 (2008), 451.
- ⁷⁵ Andrews J.M., Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*, 48 (2001), 5.
- ⁷⁶ A. Panáček, L. Kvítek, R. Prucek, M. Kolář, R. Večeřová, N. Pizúrová, VK. Sharma, N. Tat'jana, Z. Zbořil, Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B* 110 (2006), 16248.
- ⁷⁷ S. Kheybari, N. Samadi, S.V. Hosseini, A. Fazeli, M.R. Fazeli, Synthesis and antimicrobial effects of silver nanoparticles produced by chemical reduction method. *Daru* 18 (2010), 168.

CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE POLYURETHANES EN DISPERSION AQUEUSE

Introduction

Les PU conventionnels sont principalement des prépolymères à extrémités isocyanate que l'on réticule par ajout d'une diamine, en solution dans des solvants organiques. Mais, les normes environnementales sur les émissions de composés organiques volatils, de plus en plus contraignantes, ont favorisé le développement des dispersions aqueuses de polyuréthanes (PUD). On peut citer trois autres raisons importantes à l'origine de l'essor des PUD ces dix dernières années. La première est l'aspect économique puisque l'eau vient remplacer des solvants organiques assez chers. Deuxièmement, les groupements isocyanate résiduels étant rapidement consommés dans le milieu aqueux, les PUD sont beaucoup moins dangereux que leurs équivalents à base de solvant. La troisième concerne le fait que les nouveaux matériaux présentent des propriétés comparables sinon meilleures que les PU conventionnels dans bon nombre de domaines d'application [1-5].

Les PUD sont essentiellement des polyuréthanes/urées linéaires, de haute masse molaire, stabilisés dans l'eau en particules sphériques de diamètre inférieur à 1 μm . La dispersibilité du polyuréthane dans l'eau est facilitée par la présence de fonctions ioniques au sein des chaînes polymères.

L'apparence des PUD dépend principalement de la taille des particules, et donc de la composition macromoléculaire, du type de système de stabilisation et de la présence ou non de co-solvant [6]. Les produits finaux (polymères issus des dispersions) peuvent aller des polymères souples, extrêmement flexibles, à des polymères rigides, résistants à l'abrasion et aux chocs. Enfin, contrairement à d'autres polymères en dispersion aqueuse, les produits obtenus à partir des PUD ne se redissolvent pas après séchage en milieu aqueux.

Après une partie bibliographique sur les polyuréthanes en général, ce chapitre sera consacré à la synthèse d'un polyuréthane en dispersion aqueuse présentant des propriétés physicochimiques lui permettant d'être utilisé pour des applications bien spécifiques nécessitant du matériel souple (les cathéters, prothèses de dialyse, gants, conservation des aliments...). Le comportement de ces matériaux vis-à-vis des bactéries sera étudié.

I. Polyuréthanes

Entre 1937-1940, l'équipe de recherche d'Otto BAYER [7] a élaboré des polymères par un processus de polyaddition à partir de différents diisocyanates avec des glycols et/ou diamines. Depuis, les polyuréthanes se sont développés de manière fulgurante pour couvrir un grand nombre de secteurs industriels.

I.1. Catégories et domaines d'application des polyuréthanes

I.1.1. Peintures, vernis, liants, revêtements, adhésifs et autres matériaux

En raison de la faible consommation d'énergie de la réaction de polyaddition utilisant les isocyanates et de la facilité avec laquelle les conditions de mise en oeuvre et les propriétés du produit fini peuvent être ajustables, de nombreuses applications spécialisées des polyuréthanes ont été développées.

Ainsi, les polyuréthanes sont largement utilisés dans le domaine des adhésifs sous la forme de systèmes monocomposant ou bicomposants. De manière générale, ils sont utilisés :

- comme adhésifs laminés pour les matériaux flexibles tels que les textiles, les films plastiques, les feuilles d'aluminium, le papier et les planches
- pour coller les caoutchoucs, le cuir, le PVC plastifié et les polyuréthanes
- pour coller les métaux.

La dureté et la résistance à l'abrasion et à la détérioration des polyuréthanes sont précieuses dans le domaine des revêtements pour la protection et la décoration des surfaces. De ce fait, les polyuréthanes sont largement utilisés dans ce domaine sous forme de vernis, peintures ou revêtements cellulaires (tapis, moquettes) [8].

I.1.2. Les mousses

Elles couvrent la majeure partie de la production (90%). Elles sont souples ou rigides selon la valence des précurseurs. Leur cohésion est apportée par la structure tridimensionnelle. Elles sont élaborées par formation de bulles de gaz lors du processus de polymérisation. Elles sont utilisées dans plusieurs domaines tels que l'isolation thermique et phonique, la literie, l'ameublement, l'emballage.... [8].

Il existe trois types de mousses qui, en termes de quantité, sont particulièrement significatifs : les mousses flexibles à faible densité, les mousses rigides de faible densité et les mousses flexibles de haute densité [8,9].

Les mousses flexibles de faible densité sont des matériaux possédant des densités comprises entre 10-80 kg/m³, composées de cellules ouvertes légèrement réticulées. En d'autres termes, l'air peut circuler facilement à travers la structure. Considérées essentiellement comme matériaux de rembourrage souples et flexibles, les mousses flexibles sont produites sous forme de pavés, de coussins ou blocs. Les variantes semi-rigides possèdent également des structures à cellules ouvertes mais sont issues de formulations chimiques différentes [8].

Les mousses flexibles de haute densité sont définies comme celles possédant des densités supérieures à 100 kg/m³. Elles incluent les élastomères microcellulaires, et sont utilisées, de manière prépondérante, dans le domaine de la décoration, du rembourrage et des semelles de chaussures. Dans le domaine de la médecine, les mousses flexibles et semi-rigides sont utilisées comme oreillers stériles, matelas orthopédiques, attelles et pansements [8].

Les mousses rigides de faible densité sont des polymères hautement réticulés et présentent des structures avec des cellules fermées imperméables aux mouvements de l'air. Ces matériaux offrent une bonne solidité structurale et de bonnes propriétés d'isolation thermique. Un gaz, le chlorofluorométhane, est usuellement contenu dans les cellules, ce gaz présentant une conductance thermique inférieure à celle de l'air. Les mousses rigides utilisées dans le domaine de l'isolation possèdent au moins 90% de cellules fermées et des densités supérieures à 30 kg/m³. Dans le domaine médical, les mousses rigides sont utilisées notamment dans la constitution d'attelles [8].

I.1.3. Les polyuréthanes élastomères

Ils présentent une excellente résistance à l'abrasion, aux attaques chimiques des huiles et d'un bon nombre de solvants ordinaires non-polaires. De par leur faculté à être souples ou

durs, de faible ou de forte élasticité, solides ou cellulaires, ils peuvent être ajustés pour répondre aux besoins d'applications spécifiques [8].

Les polyuréthanes élastomères commercialement disponibles incluent les élastomères thermoplastiques (TPU), les élastomères moulés fabriqués par coulage de réactifs liquides dans un moule (CPU), les fibres et les revêtements élastomères pour le textile et pour d'autres matériaux flexibles, et les polyuréthanes à base de caoutchouc [8].

En général, presque tous les élastomères de polyuréthane ou de poly(uréthane-urée) sont des copolymères segmentés avec alternance de séquences rigides et souples. Les segments souples sont constitués de chaînes polyéther ou polyester flexibles à température ambiante, les segments rigides résultent de la réaction d'isocyanates polyfonctionnels (usuellement difonctionnels) avec des allongeurs de chaîne (diol ou diamine) de faible masse molaire.

Ils sont produits sous forme de profilés, en feuille, films, tubes, joncs... et sont utilisables dans toute application nécessitant à la fois déformabilité et contrainte à la rupture élevées : industrie du vitrage (adhésifs), du biomédical (les valves cardiaques, les membranes de dialyse, les cathéters et les prothèses vasculaires...), des fibres (fibres spandex) et des équipements électriques et électroniques.

I.2. Méthodes de synthèse des polyuréthanes

En raison de l'intérêt que revêtent les polyuréthanes dans de nombreuses applications courantes, plusieurs techniques de synthèse s'adaptant particulièrement bien aux impératifs industriels ont été développées. Par ailleurs, en marge de ces techniques impliquant l'utilisation d'agents toxiques tels que les catalyseurs à l'étain et les isocyanates, d'autres techniques ayant fait l'objet de travaux très récents ont été mises au point afin de parer à cette problématique. Mais malheureusement, ces nouvelles méthodes ne sont pas industrialisées à l'heure actuelle.

I.2.1. Méthodes classiques utilisant les isocyanates

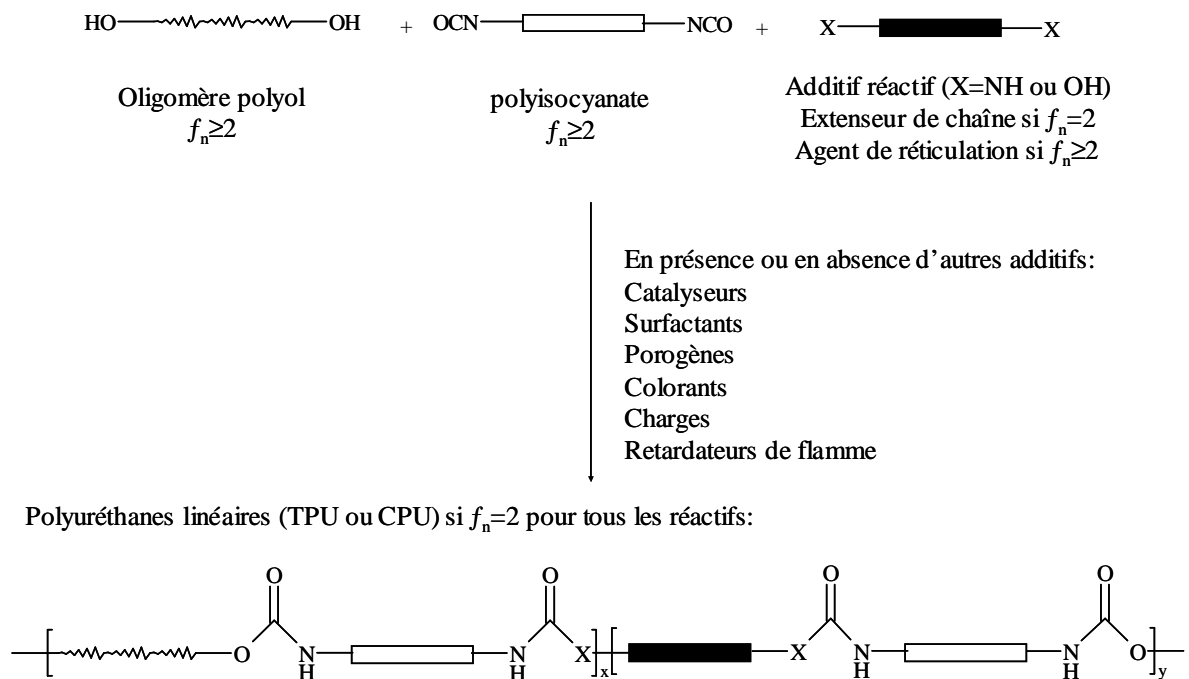
I.2.1.1. Principe général

Les polyuréthanes résultent de la réaction catalysée d'un polyol avec un polyisocyanate en présence ou en l'absence d'additifs. Des réseaux covalents tridimensionnels sont obtenus dès lors que l'un des réactifs a une fonctionnalité supérieure à 2.

Dans le cas des mousses, la réaction s'effectue en présence d'agents porogènes impliquant le dégagement de gaz à partir du mélange réactionnel simultané à la formation du réseau de polyuréthane, ce qui engendre le gonflement du polymère et la formation des pores.

De manière générale, la synthèse des polyuréthanes peut se faire soit en une seule étape, soit en deux étapes.

- Synthèse en une étape (procédé one shot)



Réseaux de polyuréthane si $f_n > 2$ pour au moins un des réactifs:

- Solides thermodurcissables
- Mousses si un porogène est utilisé comme additif

Figure 1 Synthèse des polyuréthanes par le procédé en une seule étape (one shot).

Ce procédé est actuellement réalisé en masse ou en solution, avec ou sans catalyseurs [10]. Les réactifs diol et diisocyanate sont mis en contact et les polymères sont obtenus directement (Figure 1).

- Synthèse en deux étapes (procédé two shot)

La première étape consiste à synthétiser un prépolymère à terminaisons isocyanate à partir d'un polyol et d'un large excès d'isocyanate [11,12]. L'avantage de ce prépolymère réside en ce qu'il peut être stocké plusieurs mois avant d'être réticulé. De plus, le passage par cet intermédiaire permet de diminuer la tension de vapeur de l'isocyanate utilisé et donc sa toxicité, ce qui a pour conséquence d'en faciliter la manipulation.

La seconde étape, appelée allongement de chaîne, permet la formation du polymère final par réaction de l'allongeur de chaîne (diol ou diamine) avec le prépolymère (Figure 2).

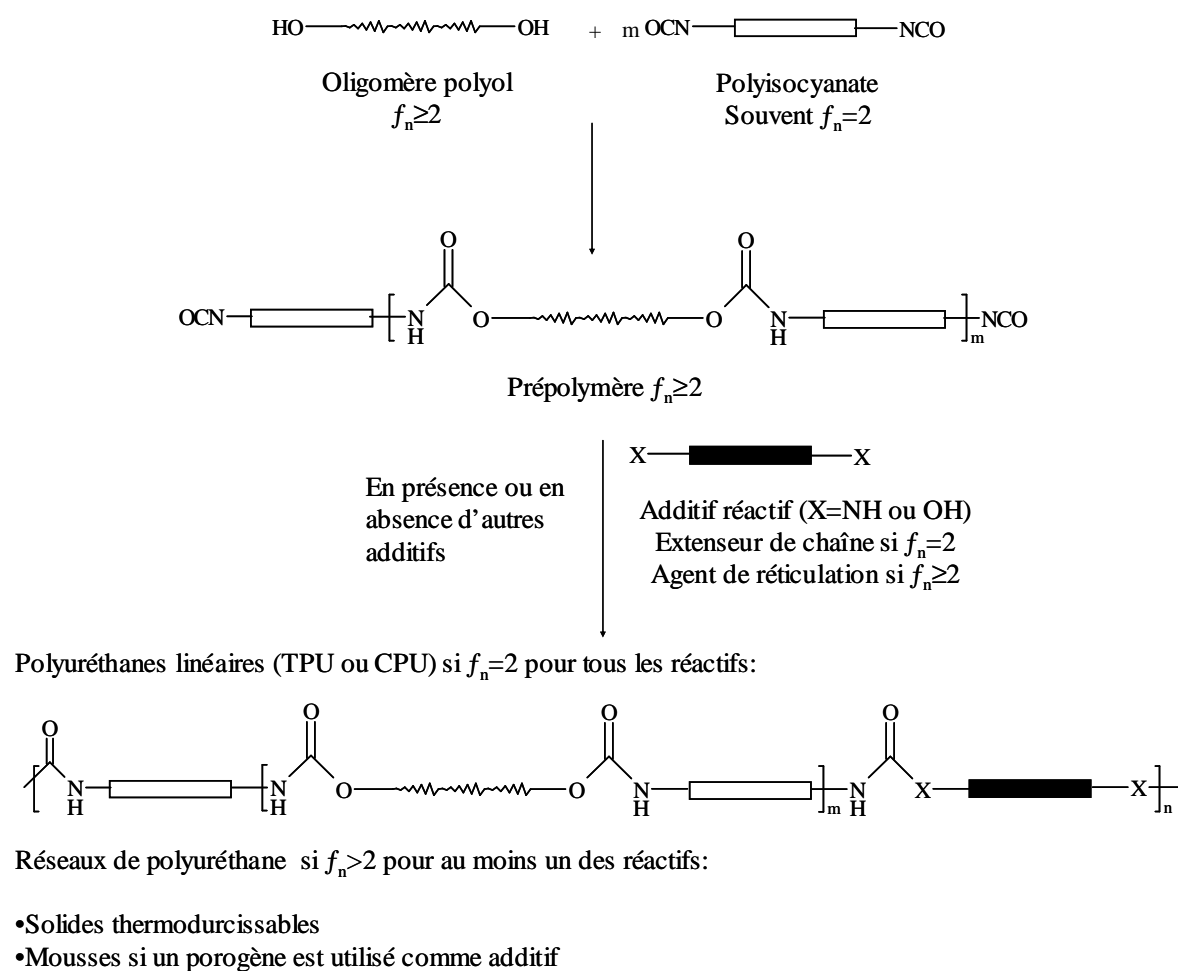


Figure 2 Synthèse des polyuréthanes par le procédé en deux étapes (two shot).

I.2.1.2. Réactifs utilisés

- Les isocyanates

Plusieurs isocyanates aromatiques ou aliphatiques sont disponibles dans le commerce. Toutefois, seulement deux isocyanates aromatiques, le diisocyanatotoluène (TDI) et le diisocyanatodiphénylèneméthane (MDI) et ses dérivés, sont abondamment utilisés en industrie ; ils sont à la base d'environ 95% de la production des polyuréthanes [8].

Les isocyanates aliphatiques les plus couramment utilisés sont le 4,4'-diisocyanatodicyclohexylméthane (H₁₂MDI), disponible exclusivement sous forme de mélange d'isomères (*cis-cis*, *trans-trans* et *cis-trans*), le diisocyanatoisophorone (IPDI) et le 1,6-diisocyanatohexane (HMDI).

- Les polyols

Une large gamme de polyols est utilisée en industrie des polyuréthanes. La plupart de ces polyols sont soit des polyéthers (environ 90%) soit des polyesters à terminaisons hydroxyle [8].

La structure du polyol joue un rôle très important dans la détermination des propriétés finales du polyuréthane. La masse molaire, la flexibilité de la chaîne et la fonctionnalité du polyol sont les paramètres les plus importants pour l'obtention des deux principales classes de polyuréthanes rigides et flexibles. Ainsi, la synthèse des mousses flexibles et des élastomères nécessite l'usage de polyols possédant des masses molaires allant de 1000 à 6500 et des fonctionnalités en hydroxyle comprises entre 2 et 3. D'autre part, les mousses, les solides (plastiques) et les revêtements rigides sont obtenus à partir de polyols possédant des masses molaires allant de 150 à 1600 et des fonctionnalités en hydroxyle comprises entre 3 et 8 [8].

Des polyols à structures polysiloxane, polydiène ou polyoléfine sont utilisés dans la synthèse de polyuréthanes à propriétés spécifiques. Les polysiloxanes hydroxytélchéliques sont utilisés dans la synthèse de polyuréthanes utilisables à basse température. Cette propriété est liée à la température de transition vitreuse des segments souples voisine de -120°C [13].

De plus, ces élastomères possèdent une très bonne résistance à l'oxydation, des propriétés isolantes et une faible toxicité [14,15].

D'autre part, comme évoqué précédemment, les polydiènes hydroxytéléchéliques sont utilisés dans la synthèse de polyuréthanes possédant des propriétés exceptionnelles à savoir souplesse, élasticité, transparence, inertie chimique, faible reprise d'eau, stabilité thermique et utilisation à basse température. De plus, ils possèdent la particularité de ne pas présenter d'interactions entre les segments durs et souples, ce qui leur confère de bonnes propriétés mécaniques.

Par ailleurs, l'utilisation des polydiènes hydroxytéléchéliques hydrogénés ou bien leurs analogues de polyoléfines apporte aux matériaux polyuréthanes une plus grande résistance à la lumière et une meilleure tenue thermique [16,17].

- Les allongeurs de chaîne

Ce sont des composés difonctionnels possédant des hydrogènes labiles leur permettant de réagir avec les fonctions isocyanate des prépolymères. Ils sont utilisés lors de l'étape d'extension de chaîne dans la synthèse, notamment, des élastomères de polyuréthanes. Les structures les plus utilisées sont les diols et les diamines, aliphatiques ou aromatiques.

Lorsque des diamines sont utilisées comme allongeurs de chaîne, les PUs (ou les poly(uréthane-urée)) obtenus présentent souvent de meilleures propriétés mécaniques et une solubilité inférieure dans les solvants organiques usuels. Ceci est dû en partie à une augmentation du nombre de liaisons hydrogènes intermoléculaires consécutive à la présence des fonctions urée [11].

La parité du nombre de carbone dans la structure de l'allongeur de chaîne est un paramètre qui influence les propriétés des PUs. En effet, un nombre de carbone pair engendre une amélioration de la cristallinité des segments rigides et l'obtention de meilleures propriétés mécaniques [18,19].

Les extenseurs de chaîne les plus utilisés appartiennent à quatre familles [16] :

- les diols : l'éthanediol, le diéthylèneglycol, le 1,3-propanediol, le 1,4-butanediol et le 1,6-hexanediol

- les diamines aliphatiques : l'éthylènediamine, la 1,3-propylènediamine, la 1,4-butanediamine et la 1,6-hexaméthylènediamine

- les diamines cycloaliphatiques : l'isophoronediamine et la 1,4-cyclohexanediamine

- les diamines aromatiques : la 4,4'-méthylène bis(2-chloroaniline), la 2,4-toluènediamine et la 1,4-phénylènediamine.

- Les agents de réticulation

Ce sont des composés de même nature que les allongeurs de chaîne mais qui possèdent une fonctionnalité globale en groupements hydroxyle et/ou amine supérieure à 2. Comme leur nom l'indique, ces agents sont utilisés pour apporter de la réticulation covalente aux matériaux polyuréthanes tels que les mousses rigides ou semi-rigides. Parmi les plus utilisés, on retrouve la diéthanolamine, la triéthanolamine et le glycérol [8].

- Les catalyseurs

Un grand nombre de catalyseurs peut être utilisé pour la réaction des isocyanates avec l'eau et les polyols. Ce sont en général les amines tertiaires aliphatiques et aromatiques, et les composés organométalliques à base d'étain (notamment), de cuivre et de plomb. Les sels de métaux alcalins, d'acides carboxyliques et de phénols, et les dérivés de triazines symétriques sont utilisés pour la polymérisation des isocyanates [8].

- Autres additifs

Les propriétés des polyuréthanes sont souvent modulées par l'ajout d'autres types d'additifs tels que les agents de soufflage qui permettent la formation des pores dans les mousses, les tensioactifs, les colorants, les charges, les retardateurs de flammes [8].

I.2.2. Méthodes n'utilisant pas les isocyanates

Les polyuréthanes peuvent être préparés selon des méthodes n'utilisant pas des isocyanates. Une première méthode repose sur la réaction d'une diamine avec des carbonates

cycliques. Des travaux présentent ainsi la synthèse d'un poly(hydroxyuréthane) par réaction entre un composé possédant des fonctions carbonate cyclique terminales à cinq chaînons et une polyméthylènediamine [20-22] (Figure 3).

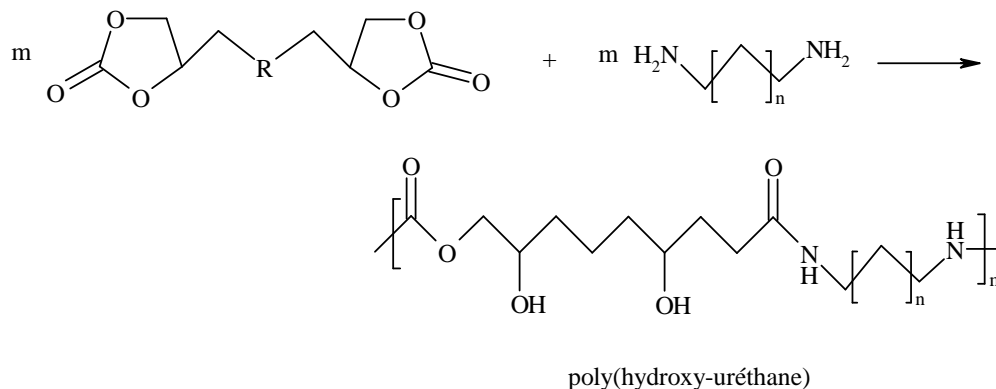


Figure 3 Synthèse d'un polyuréthane par réaction entre une diamine et un bis(carbonate cyclique)

Des polyuréthanes aliphatiques peuvent être élaborés par des réactions de polymérisation par ouverture de cycle d'uréthanes cycliques aliphatiques [23-32] utilisant des systèmes d'amorçage ou catalyseurs variés (Figure 4).

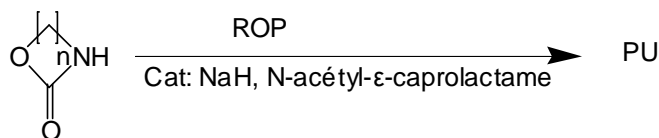


Figure 4 Synthèse de polyuréthane par ROP d'un uréthane cyclique

La synthèse de polyuréthanes peut également être réalisée à partir de bischloroformiates et de diamines avec, de préférence, une activation préalable de l'une des deux différentes fonctions. Ainsi, les fonctions amine peuvent être activées par une réaction de silylation donnant accès à des amines triméthylsilylées [23] (Figure 5). L'activation des fonctions chloroformiate, quant à elle, s'effectue à l'aide du N-hydroxysuccinimide [33, 34].

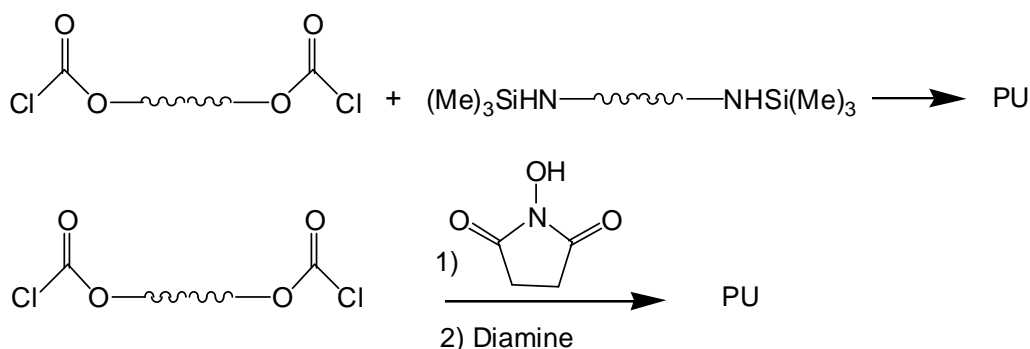


Figure 5 Synthèse d'un polyuréthane par réaction entre une diamine et un bis(chloroformiate)

Enfin, Cramail et al. [35] ont synthétisé des polyuréthanes par simple condensation entre un azoture d'acyle et une fonction hydroxyle, groupements fonctionnels portés par un monomère issu de la modification chimique d'un acide gras (Figure 6).

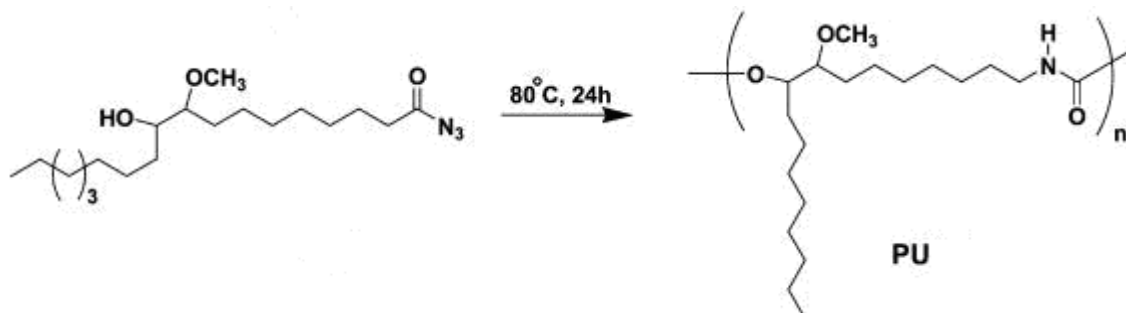


Figure 6 Synthèse d'un polyuréthane par condensation entre un azoture d'acyle et une fonction hydroxyle

II. Synthèse de polyuréthanes en dispersion aqueuse

II.1. Principe

Ce procédé consiste, dans un premier temps à synthétiser un prépolymère ionique à extrémités isocyanate par réaction entre un polyol et un polyisocyanate en présence d'un émulsifiant interne (Figure 7). La réaction de polyaddition se fait en milieu solvant organique, généralement une cétone (acétone, MEK), pour contrôler la viscosité de la solution pendant la formation du prépolymère [1].

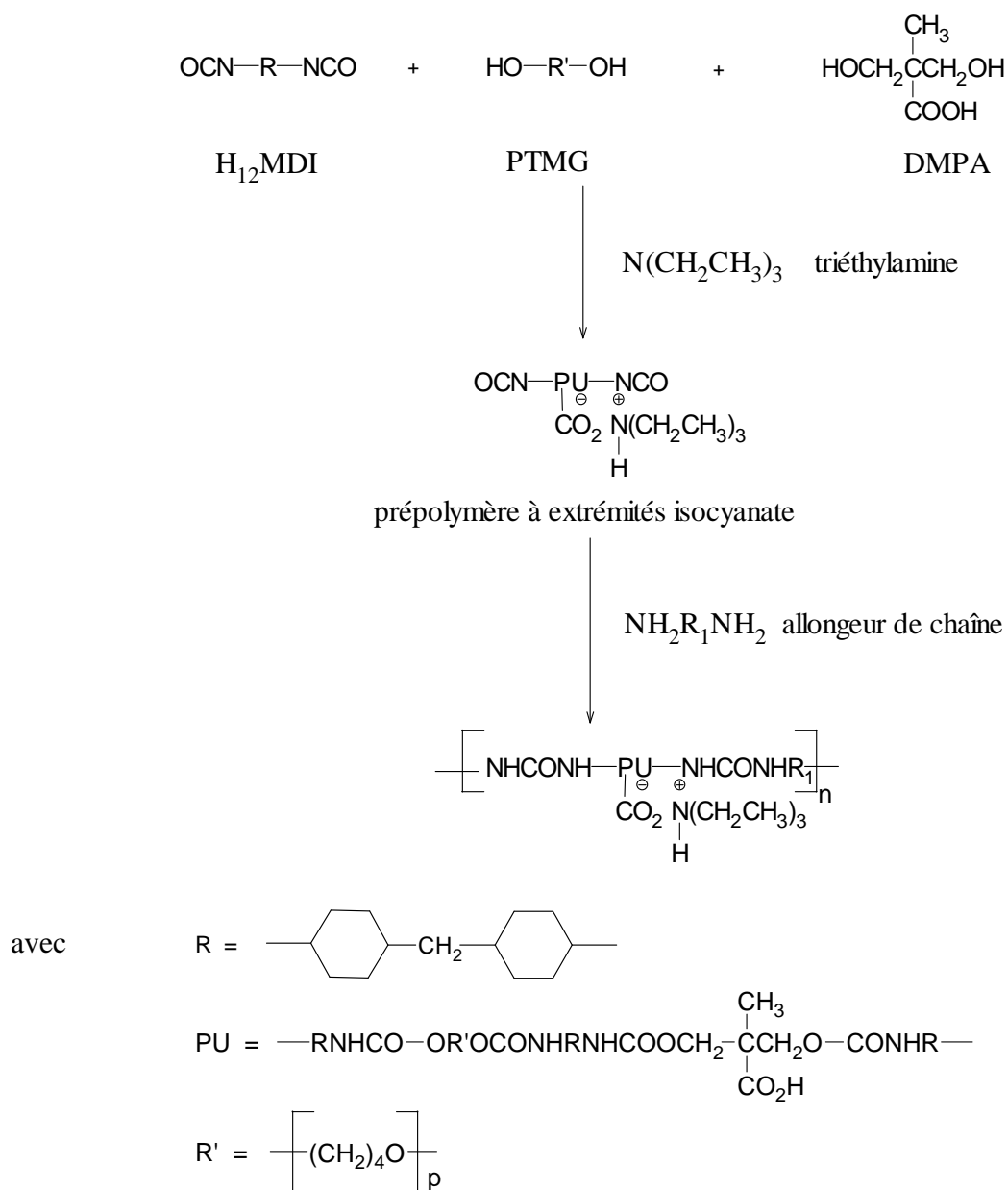


Figure 7 Schéma réactionnel de synthèse d'un PUD anionique [1-4]

Une fois le prépolymère polyuréthane ionique obtenu en milieu solvant organique, une addition d'eau est effectuée jusqu'à ce que l'eau devienne la phase continue. Il suffit alors d'évaporer le solvant organique pour obtenir la dispersion aqueuse à taux d'extrait sec voulu, généralement aux alentours de 30 à 40%, tout en s'assurant que sa viscosité soit faible.

Ce procédé est facile à mettre en œuvre et permet d'obtenir une bonne reproductibilité.

II.2. Présentation des principaux réactifs

Deux conditions sont nécessaires pour obtenir des dispersions de PU dans un milieu aqueux :

- d'une part, l'insertion de groupements ioniques au sein de la chaîne macromoléculaire
- d'autre part, le diisocyanate utilisé ne doit pas s'hydrolyser rapidement, permettant ainsi de conserver des extrémités réactives dans la dispersion pour l'étape de réticulation [6].

Les structures chimiques et les rôles des réactifs employés sont récapitulés dans le tableau 1.

L'émulsifiant interne choisi est l'acide diméthylol-propionique (DMPA). En étant inséré dans la chaîne macromoléculaire, ce diol acide apporte au prépolymère ses fonctions ionisables. Pour le solubiliser dans la MEK, il est nécessaire de le passer sous forme de sel de diméthylolpropionate de triéthylammonium par ajout de triéthylamine.

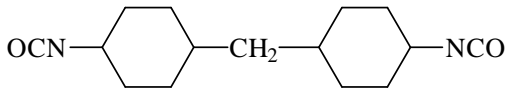
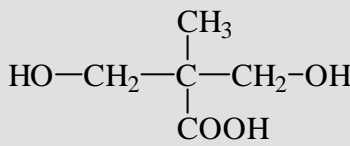
Abréviation	Structure chimique	Fonctions réactives	Rôle
PTMG (650)	$\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ $n = 8,8$	hydroxyle	squelette souple
H₁₂MDI		isocyanate	lien et extrémités réticulables
DMPA		hydroxyle acide carboxylique	fonction ionisable

Tableau 1 Réactifs utilisés dans la synthèse des prépolymères de PU

Nous avons retenu un diisocyanate aliphatique pour jouer le rôle de lien entre les polyols et pour apporter les extrémités réticulables du prépolymère. En effet, contrairement aux aromatiques, les polyisocyanates aliphatiques ont une réactivité faible vis-à-vis de l'eau, conduisent à des prépolymères de faible viscosité qui sont donc plus faciles à disperser dans l'eau et confèrent au matériau final une meilleure résistance à la lumière et au vieillissement [6].

La structure du PTMG que nous avons choisi a un rôle déterminant sur les propriétés finales du polyuréthane. Le PTMG 650 que nous avons utilisé permet, en effet, d'obtenir un polyuréthane très flexible.

II.3. Mise au point du procédé de synthèse du PUD

II.3.1. Synthèse de prépolymères à extrémités isocyanate

II.3.1.1. Mode opératoire

Suivant le taux NCO/OH et le pourcentage massique de DMPA désirés, on utilise X moles de PTMG, Y moles de DMPA, et Z moles de H₁₂MDI. Le PTMG solide est placé dans le réacteur à 60°C. Une fois fondu, il est dégazé pendant une heure à l'aide d'une pompe à palette (10⁻² mbar) à 60°C. Pendant le dégazage, Y moles de DMPA, Y moles de triéthylamine et une masse de MEK égale à 100 % de la masse totale des réactifs sont introduits dans un bécher. Ce mélange est laissé sous agitation pendant 15 minutes ; on obtient un liquide incolore. Après le dégazage, le PTMG est placé sous balayage d'azote et le réacteur est muni d'un réfrigérant et d'une agitation mécanique. Le mélange préparé précédemment est alors ajouté au PTMG et le tout est laissé sous agitation (450 trs/min) pendant 15 minutes. Z moles de H₁₂MDI sont ensuite introduites le plus rapidement possible et le mélange est laissé sous agitation pendant 15 minutes. Enfin, entre 20 et 50 µL de DBTL sont ajoutés. L'agitation est maintenue pendant 6 heures. En fin de réaction, le prépolymère obtenu est liquide et visqueux.

II.3.1.2. Méthode de suivi de la réaction de polyaddition

La cinétique de la réaction de polyaddition a été suivie par spectroscopie IRFT (Figure 8).

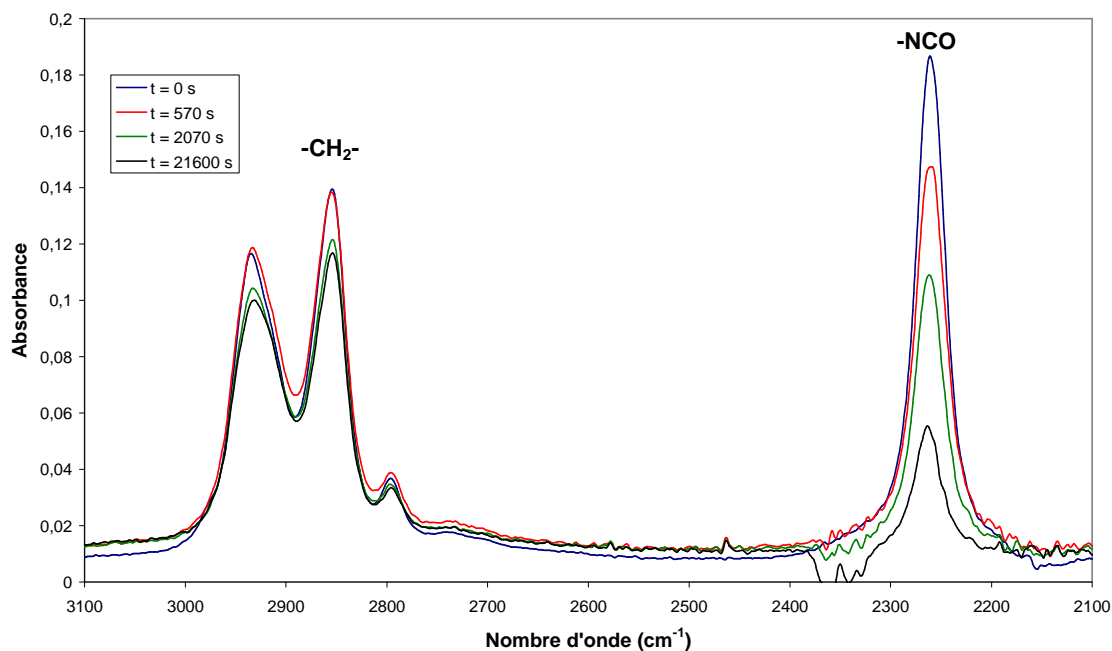


Figure 8 Suivi IR d'une synthèse de prépolymère

Le suivi de la disparition de la bande caractéristique de la fonction isocyanate à 2270 cm^{-1} permet de calculer le taux de conversion des fonctions NCO selon la formule donnée ci-dessous en prenant comme pic de référence celui des fonctions $-\text{CH}_2-$ à 2850 cm^{-1} qui, théoriquement, ne doit pas évoluer au cours de la synthèse.

$$\% \text{NCO} = \frac{\left(\frac{h_{\text{NCO}}}{h_{\text{réf}}} \right)_{t_0} - \left(\frac{h_{\text{NCO}}}{h_{\text{réf}}} \right)_t}{\left(\frac{h_{\text{NCO}}}{h_{\text{réf}}} \right)_{t_0}} \times 100$$

où h est la hauteur des pics

t_0 est le temps initial avant ajout de DBTL

t est le temps.

II.3.1.3. Optimisation de la quantité de catalyseur

En absence de catalyseur, la cinétique de la réaction de polyaddition étant lente, des réactions secondaires avec l'eau sont favorisées. Pour éviter cela, on utilise donc un catalyseur, le dilaurate de dibutyl étain (DBTL). Ce dérivé stannique possède, en outre, des propriétés biocides et son utilisation n'est donc pas sans conséquence sur les propriétés

antibactériennes des polyuréthanes synthétisés. Ainsi, Champ a montré que la présence du DBTL en quantités catalytiques (< 2% en masse) dans les matériaux ne leur prodigue pas de propriétés biocides [36]. Kebir et al. [37] ont, de leur côté, montré que plus la quantité de DBTL est faible, moins le matériau a d'effet antibactérien.

Nous avons donc fait varier la quantité de DBTL ajoutée dans la formulation de façon à minimiser au maximum cet effet biocide sans perdre en réactivité du système réactionnel.

Le meilleur compromis du point de vue cinétique de réaction est de travailler avec un volume de DBTL de 20 μL soit un % massique de 0,011%. L'utilisation d'une concentration inférieure ne permet pas d'obtenir un matériau exploitable.

II.3.2. Elaboration et caractérisation des dispersions aqueuses

Dans cette étape de mise en dispersion aqueuse, deux paramètres sont très importants :

- la température : il est nécessaire de travailler à une température qui limite la réaction des fonctions isocyanate avec l'eau additionnée (température ambiante avec les isocyanates aliphatiques)
- l'agitation : elle doit être suffisante pour pouvoir obtenir une dispersion de faible viscosité.

II.3.2.1. Mode opératoire

10 g de prépolymère en solution à 50 % en masse dans la MEK sont placés dans un ballon préalablement taré. 20 g d'eau sont ajoutés lentement de manière à obtenir une dispersion aqueuse à 20 % d'extrait sec. Le milieu est ensuite laissé sous agitation pendant 15 minutes, puis la MEK est évaporée à l'évaporateur rotatif à une température de 35°C.

II.3.2.2. Suivi de la mise en dispersion par conductimétrie

La conductimétrie est une méthode de choix pour déterminer le processus d'inversion de phase qui se réalise lors de l'ajout d'eau à la solution organique de prépolymère ionique.

La conductivité des solutions dépend :

- de la concentration en ions
- de la mobilité des ions.

L'étude conductimétrique de la mise en dispersion d'ionomères de polyuréthane peut, par conséquent, apporter des renseignements sur l'organisation du prépolymère (groupements ioniques) dans le milieu.

Une courbe typique d'inversion de phase obtenue à partir d'un de nos échantillons est présentée figure 9.

Pour caractériser les dispersions, on observe la variation de la conductance en fonction de la quantité d'eau ajoutée à la solution organique. Concrètement, lorsqu'il n'y a pas d'eau, on observe une conductance faible qui s'explique par le fait que les fonctions ioniques forment des agrégats dans le milieu majoritairement hydrophobe (MEK).

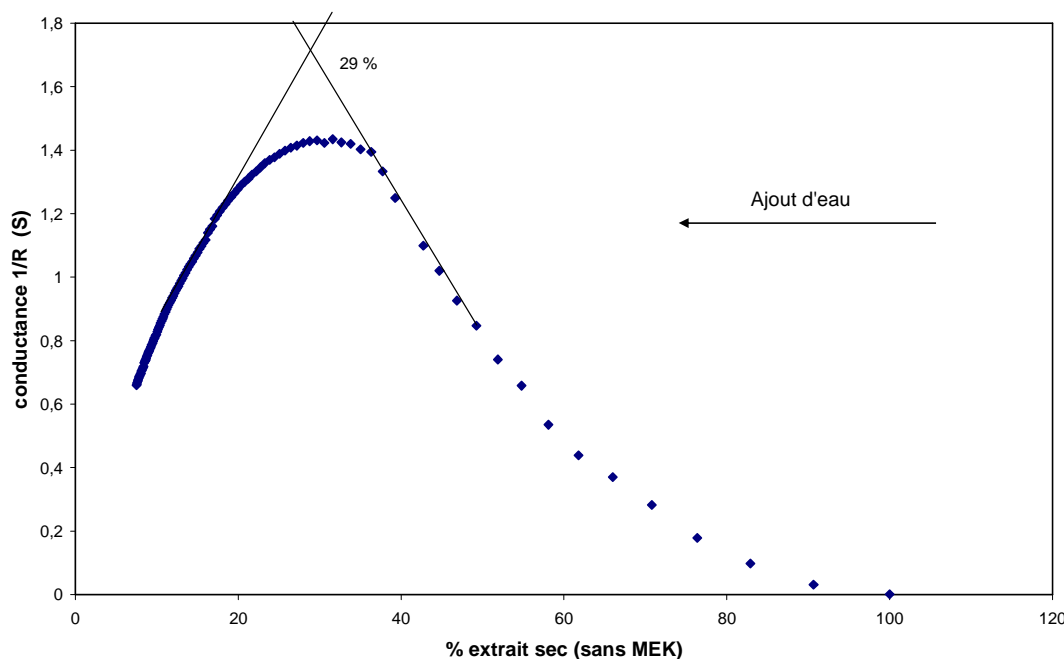


Figure 9 Détermination de l'inversion de phase par conductimétrie

Au cours de l'addition d'eau, la conductance augmente. Les micro-domaines ioniques sont pénétrés par l'eau et ainsi désagrégés. Les fonctions ioniques sont alors libérées dans un milieu hydro-organique. La conductance passe par une valeur maximale qui correspond à l'inversion de phase.

Enfin, après l'inversion de phase, les segments hydrophobes forment des particules dispersées à la surface desquelles se trouvent les charges ioniques. Au final, la conductance diminue par simple effet de dilution des fonctions ioniques dans le milieu.

L'idéal est d'avoir l'inversion de phase pour un taux d'extrait sec le plus grand possible afin de faciliter l'élimination de l'eau (plus rapide).

II.3.3. Allongement de chaîne

II.3.3.1. Choix de l'allongeur de chaîne

L'étape d'extension de chaîne a lieu juste après la dispersion du prépolymère dans la phase aqueuse. L'allongeur de chaîne peut être soit un diol (on obtient dans ce cas un polyuréthane), soit une diamine (qui mène à un poly(uréthane-urée)) [1,2].

Toutefois, dans le cas des diols, se pose le problème de la compétitivité de réactivité des fonctions NCO avec les OH des polyols et les OH de l'eau, puisque l'extension de chaîne se fait en phase aqueuse. Nous avons donc choisi de travailler avec l'éthylènediamine dont la réactivité avec les isocyanates est largement supérieure à celle de l'eau. Il n'y a donc aucun risque de consommation des fonctions NCO par l'eau.

II.3.3.2. Mode opératoire

Après évaporation de la MEK, on ajoute l'éthylènediamine lentement (quelques gouttes suffisent pour 10 g de prépolymère) et on laisse sous agitation 30 minutes. On suit la consommation des fonctions NCO par IRTF. Le principe est le même que précédemment, et on considère que l'allongement de chaîne est terminé lorsque le pic des fonctions NCO a complètement disparu.

II.3.4. Caractérisation des dispersions

Trois types de dispersion différents par la valeur du rapport $[NCO]/[OH]$ et le pourcentage massique de DMPA ont été réalisées (Tableau 2).

	[NCO]/[OH]	Pourcentage massique de DMPA	Diamètre moyen des particules	Aspect visuel des dispersions
PUD 1	1,5	8,5	(86 ± 10) nm	Claire
PUD 2	1,5	4	(105 ± 10) nm	Claire
PUD 3	1,5	2	(241 ± 10) nm	Laitieuse
PUD 4	1,3	5,3	(65 ± 15) nm	Claire
PUD 5	1,3	4	(178 ± 10) nm	Laitieuse
PUD 6	1,3	2	(245 ± 20) nm	Laitieuse

Tableau 2 Taille des particules de PUD

La taille des particules obtenues a été caractérisée par diffusion quasi-élastique de la lumière (SEMATECH) (cf. annexe).

On peut remarquer que, pour le même rapport [NCO]/[OH], la taille des particules diminue lorsque la quantité de groupements ioniques augmente (% DMPA augmente). Ceci confirme le fait que, dans les polyuréthanes ionomères, les fonctions ioniques se situent à la surface des particules dispersées et que les segments de chaînes hydrophobes forment l'intérieur des particules.

De plus, pour une même proportion massique de DMPA, la taille des particules diminue lorsque le rapport [NCO]/[OH] augmente. Ce rapport est non seulement un indicateur de la proportion de groupes uréthane (formés lors de la formation du prépolymère) par rapport aux fonctions urée (formées lors de l'étape d'allongement de chaîne) mais également de la masse molaire du prépolymère. Une augmentation de ce rapport entraîne une forte densité des groupements urée qui apportent une certaine hydrophilie. Ceci pourrait expliquer la diminution de la taille moyenne des particules. Plus la densité des sites hydrophiles est élevée, plus les particules sont petites, les sites hydrophobes formant l'intérieur.

III. Elaboration et caractérisation des matériaux PU obtenus

III.1. Mode opératoire

Après l'étape d'allongement de chaîne, la dispersion est coulée dans un moule en téflon qui est placé par la suite dans une étuve à 50°C. Au bout de 48 heures, le matériau est sec et prêt à être démoulé.

Les matériaux PU obtenus à partir des dispersions (PUD) ont été caractérisés du point de vue thermique, mécanique et de résistance au gonflement dans l'eau.

III.2. Etude de la stabilité thermique par ATG

La stabilité thermique a été étudiée par ATG sous azote en utilisant une vitesse de chauffage de 10°C/min. La figure 10 montre que la dégradation des polymères se fait en deux temps : la première dégradation observée vers 330°C correspond à celle des segments durs et la deuxième à 422°C correspond à celle des segments souples [37].

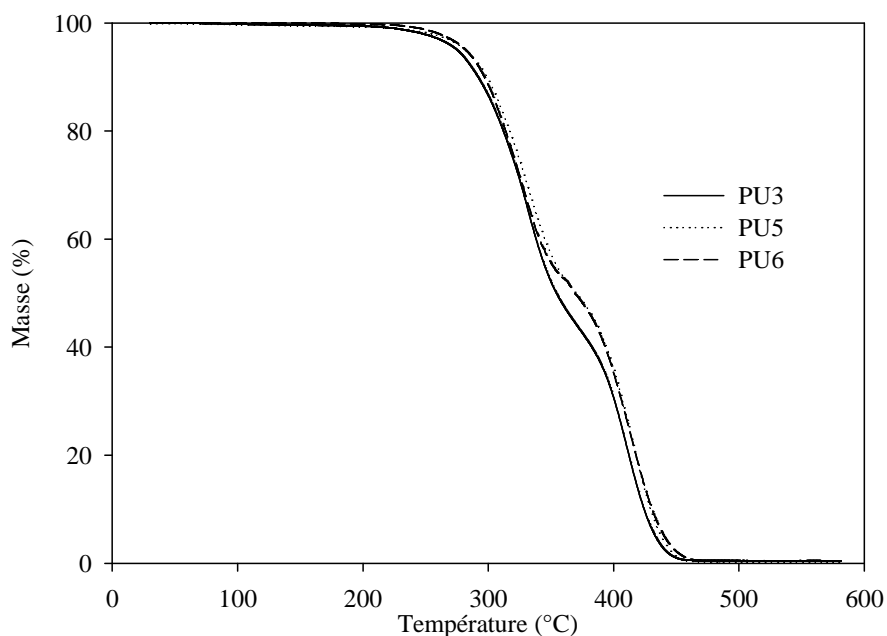


Figure 10 Dégradation thermique sous azote des polyuréthanes

III.3. Etude des propriétés thermiques par DSC

L'analyse enthalpique différentielle des matériaux synthétisés ne révèle qu'une seule réponse thermique correspondant à la transition vitreuse des segments souples. La valeur de température de transition vitreuse mesurée est quasi-constante et se situe entre -31 et -26°C (tableau 3).

	[NCO]/[OH]	% DMPA	T _g (°C)
PU 1	1,5	8,5	-31
PU 2	1,5	4	-29
PU 3	1,5	2	-27
PU 4	1,3	5,3	-30
PU 5	1,3	4	-29
PU 6	1,3	2	-26

Tableau 3 Comportement thermique des polyuréthanes

III.4. Résistance à la traction

Les tests de traction ont été effectués sur des éprouvettes normalisées à une vitesse constante de 2 mm/min. Les taux d'élongation à la rupture pour les différents matériaux obtenus sont présentés dans le tableau 4.

	[NCO]/[OH]	% DMPA	Taux d'élongation (%)
PU 1	1,5	8,5	10
PU 2	1,5	4	200 ± 10
PU 3	1,5	2	350 ± 15
PU 4	1,3	5,3	485 ± 20
PU 5	1,3	4	600 ± 25
PU 6	1,3	2	760 ± 30

Tableau 4 Résistance à la traction pour différents matériaux

On peut ainsi remarquer que, pour un même rapport $[NCO]/[OH]$, le taux d'élongation augmente lorsque la proportion massique de DMPA diminue. Ceci peut s'expliquer par le fait que le DMPA est intégré dans les segments durs des chaînes de PU constitués par le diisocyanate. Par conséquent, plus il y a de DMPA et de diisocyanate dans les chaînes de PU, plus le matériau résultant sera rigide. Par ailleurs, lorsque la proportion massique de DMPA augmente il y'a augmentation des fonctions uréthane qui a pour effet d'augmenter les interactions intermoléculaires de type liaison hydrogène et contribue à obtenir un matériau plus rigide (PU 1).

De même, on peut noter que, pour une proportion massique fixée de DMPA, le taux d'élongation augmente lorsque le rapport $[NCO]/[OH]$ diminue. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une diminution du rapport $[NCO]/[OH]$ implique une diminution de la proportion de fonctions uréthane dans la chaîne polymère ; on obtient alors un matériau plus souple (PU 6).

En jouant sur ces deux paramètres, nous arrivons à obtenir un matériau qui présente de très bonnes propriétés élastomères (760 % d'élongation).

III.5. Résistance au gonflement à l'eau

Des échantillons d'environ $10 \times 10 \text{ mm}^2$ sont découpés et plongés dans 20 mL d'eau à température ambiante. Après des temps variables d'immersion dans l'eau, ces échantillons sont prélevés, séchés en surface, puis pesés (m_h). Les échantillons sont ensuite mis à sécher à l'étuve à 40°C et pesés jusqu'à ne plus noter d'évolution de la masse (m_s). Au bout de 24 heures de séchage, les échantillons retrouvent leur masse initiale, et ce quel que soit le temps d'immersion dans l'eau.

Le gonflement Q (en %) est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$Q = \frac{m_h - m_s}{m_s} \times 100$$

Les résultats obtenus pour les différents PU réalisés sont présentés dans le tableau 5 et sur la figure 11.

	[NCO]/[OH]	% DMPA	Q (24 h)	Q (72 h)	Q (7 jours)	Q (15 jours)
PU 1	1,5	8,5	14 %	18 %	19 %	19 %
PU 2	1,5	4	11 %	12 %	12 %	12 %
PU 3	1,5	2	4 %	4,5 %	4,5 %	4,5 %
PU 4	1,3	5,3	12 %	14 %	14 %	14 %
PU 5	1,3	4	10 %	13 %	13 %	13 %
PU 6	1,3	2	2 %	3 %	3 %	3 %

Tableau 5 Evolution du taux de gonflement des matériaux en fonction du temps

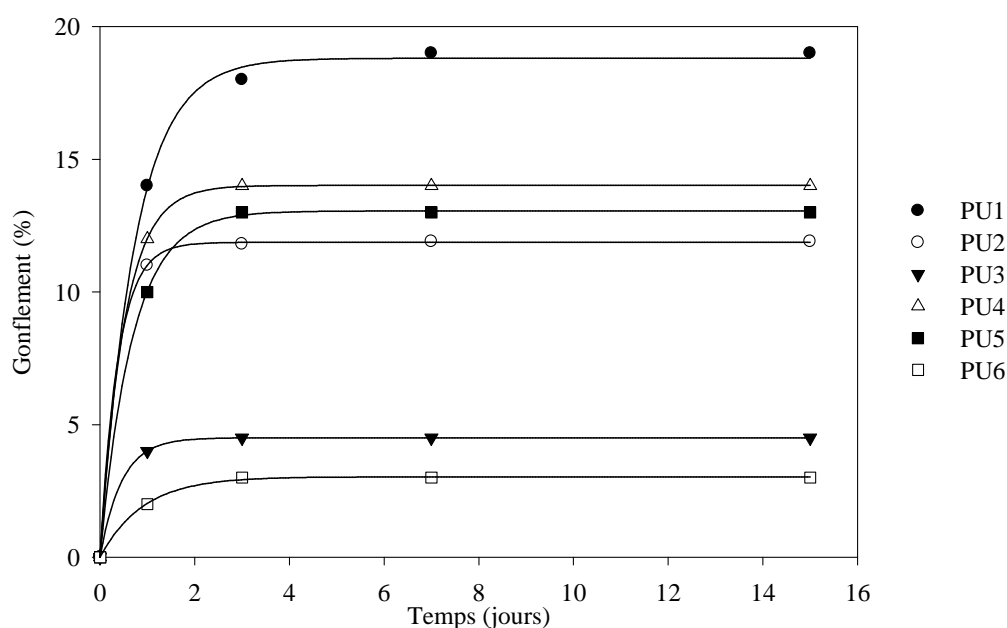


Figure 11 Evolution du gonflement des matériaux en fonction du temps

On remarque que pour un même rapport [NCO]/[OH], le gonflement est lié au taux de DMPA dans le PU. Les groupements ioniques apportés par le DMPA, présentant un caractère hydrophile, influent donc sur le comportement du matériau vis-à-vis de l'eau.

IV. Etude des propriétés antibactériennes des matériaux

Les tests ont été effectués uniquement sur le PU6.

IV.1. Choix de la méthode expérimentale

Il existe diverses méthodes de comptage des bactéries adhérentes à la surface d'un matériau après les avoir décrochées de leur support. La méthode dite de numération bactérienne a été retenue dans le cadre de notre travail pour étudier l'adhésion bactérienne sur les polyuréthanes, ainsi que la cultivabilité des bactéries ensemencées en présence ou en l'absence du polyuréthane.

IV.2. Préparation des échantillons

Les échantillons de PUs sont découpés en carrés de 7 mm de côté. L'épaisseur est mesurée pour quantifier la surface totale en contact avec le milieu planctonique. Ils sont ensuite stérilisés sous une lampe UV pendant 30 min.

Les cultures de bactéries *P. aeruginosa* et *E. faecalis* préparées dans le chapitre II sont de nouveau utilisées. On injecte, dans des pots à prélèvement contenant 25 mL d'eau stérile et plusieurs échantillons du matériau étudié, des volumes de ces cultures de bactéries de façon à obtenir une concentration finale en bactéries de 10^7 UFC.mL⁻¹. Les solutions sont ensuite incubées à 37°C. Les échantillons de polyuréthane sont prélevés à différents temps d'incubation avec une pince stérile, rincés dans de l'eau stérile afin d'enlever les bactéries non adhérentes puis déposés dans un flacon contenant 3 mL d'eau stérile. Les bactéries adhérentes sont décrochées par passage sur vortex (1 min), par sonication (3 min) puis de nouveau par vortex (1 min). Des prélèvements de cette solution sont effectués pour réaliser des dilutions aux 1/10^{ème} et 1/100^{ème}. Parallèlement pour contrôler l'étude de croissance, des prélèvements sont également effectués à partir des 25 mL de suspension bactérienne où était immergé l'échantillon, et des dilutions aux 1/10^{ème}, 1/100^{ème} et 1/1000^{ème}. De ces différentes dilutions, on prélève 50 µL que l'on étale sur la gélose Mueller-Hinton. Les boîtes sont ensuite placées à l'étuve à 37°C pendant 24 h avant de procéder au comptage des unités formant colonies (UFC). Les expériences sont répétées trois fois avec des cultures différentes pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. Le nombre de bactéries adhérentes est calculé en tenant compte du nombre d'UFC, du volume déposé et de la dilution, en effectuant une moyenne des comptages.

IV.3. Influence du DBTL sur la culturabilité des bactéries en présence de polyuréthane

Des matériaux PU6 obtenus en utilisant des volumes variables de DBTL ont été élaborés. Les courbes de suivi de l'adhésion bactérienne des deux souches et de leur culturabilité en présence de ces matériaux sont présentées en Figure 12. Ces courbes montrent une chute du nombre de bactéries adhérentes quant la concentration de DBTL augmente ainsi qu'un effet biocide après environ 180min de contact pour 50 μ L de DBTL.

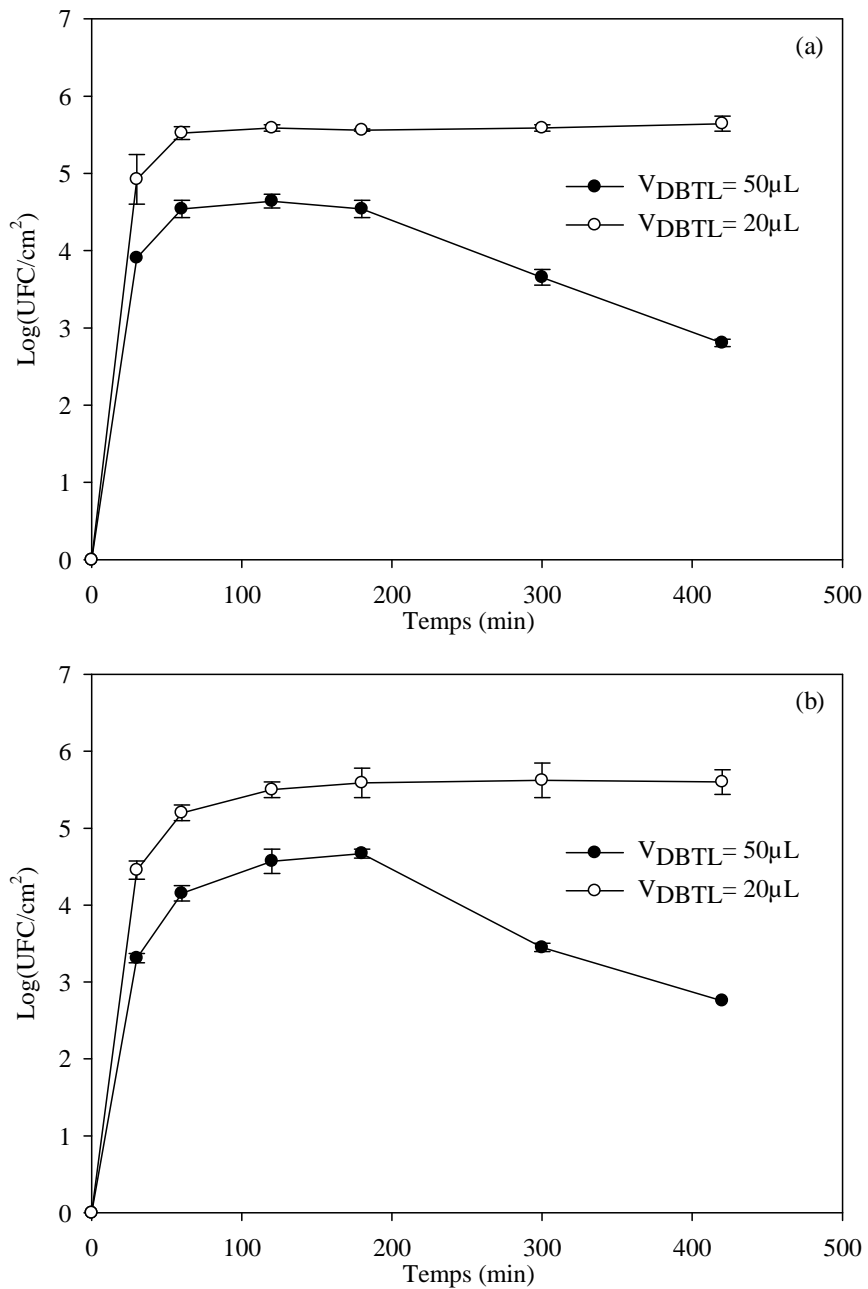


Figure 12 Cinétique d'adhésion et de la culturabilité des bactéries sur un polyuréthane renfermant différentes quantités de DBTL : (a) *P. aeruginosa* ; (b) *E. Faecalis* ; Barres : SE (n=5)

Conclusion

Après avoir mis au point le mode opératoire de synthèse et le suivi analytique des différentes étapes de synthèse et de mise en dispersion, nous nous sommes intéressés à l'influence du rapport $[NCO]/[OH]$ et des pourcentages massiques de DMPA (l'émulsifiant interne) sur les propriétés des dispersions et des matériaux obtenus.

Ainsi, nous avons pu, observer que, pour un rapport $[NCO]/[OH]$ fixé, la taille des particules des dispersions et le taux d'élongation des films obtenus augmentent lorsque la proportion massique de DMPA diminue et que le matériau présente une meilleure résistance à l'humidité.

De plus les tests d'effet antibactérien ont révélé que la quantité optimale de DBTL à utiliser pour avoir une cinétique raisonnable avec un effet antibactérien du polymère limité est de $20\mu\text{L}$.

Les nanocomposites élaborés dans la suite de ce travail seront donc constitués d'une matrice obtenue dans les conditions suivantes : $[NCO]/[OH]=1,3$, 2% de DMPA et $20\mu\text{L}$ de DBTL.

Références

- ¹ J.P. Couvercelle, V. Bailleul, C. Bunel., Synthesis, dispersion and properties of hydroxy polybutadiene-based anionic polyurethane-urea. *Macromol. Symp.* (2000) 151, 347-352.
- ² Y-S. Kwak, S-W. Park, H-D. Kim., Preparation and properties of waterborne polyurethane-urea anionomers—influences of the type of neutralizing agent and chain extender. *Colloid Polym. Sci.*, (2003) 10, 957-963.
- ³ F.M.B Coutinho, M.C. Delpech., Waterborne Anionic Polyurethanes and Poly(urethane-urea)s: Influence of the Chain Extender on Mechanical and Adhesive Properties. *Polym.Test.*, (2000) 19, 939-952.
- ⁴ J-E. Yang, J-S. Kong, S-W. Park, D-J. Lee, H-Do Kim., Preparation and Properties of Waterborne Polyurethane-Urea Anionomers. I. The Influence of the Degree of Neutralization and Counterion. *J. Appl. Polym. Sci.*, (2002) 86, 2375-2383.
- ⁵ Y-S. Kwak, S-W. Park, Y-H. Lee, H-D. Kim., Preparation and properties of waterborne polyurethanes for watervapor- permeable coating materials. *J. Appl. Polym. Sci.*, (2003) 89, 123-129.
- ⁶ V. Durrieu, A. Gandini, M.N. Belgacem, A. Blayo, G. Eiselé, J-L., Preparation of aqueous anionic poly-(urethane-urea) dispersions: Influence of the nature and proportion of the urethane groups on the dispersion and polymer properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, (2004) 94, 700-710.
- ⁷ O. Bayer, Das Diisocyanate-Polyadditions Verfahren (Polyurethane) *Angew. Chem*, A59, 257, 1947.
- ⁸ G. Woods, *The ICI Polyurethanes book*, 2nd ed.; ICI polyurethane and John Wiley and Sons: Netherlands, 1990.
- ⁹ B.A. Dombrow, *Polyurethanes*, 2nd ed.; Chapman and Hall: London, 1965.
- ¹⁰ D. Anderheiden, O. Brenner, D. klee, R. Kaufmann, H. A. Richter, C. Mittermayer, H. Hoker, Development and characterization of a biocompatible hydroxy-modified copolymer based on polyurethane. *Angew, Makromol. Chem.*, 109, 1991.
- ¹¹ L. Pinchuk, A review of the biostability and carcinogenicity of polyurethanes in medicine and the new generation of 'biostable polyurethanes. *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.* 6, 225, 1994.
- ¹² A. Kaji, M. Murano, Sequence distribution of segmented polyurethane-urea. *Polym. J.*, 22, 1065, 1990.
- ¹³ M.D. Lelah, S.L. Cooper, *Polyuréthanes in Medecine*, CRC Press Inc., Boca Raton, 1986.

- ¹⁴ Y.C. Chun, K.S. Kim, J.S. Shim, K. H. Kim, Synthesis and characterization of poly(siloxane-urethane)s. *Polym. Intern.* 27, 177, 1992.
- ¹⁵ T. Ho, K.J. Wynne, R.A. Nissan, Polydimethylsiloxane-urea-urethane copolymers with 1,4 benzenedimethanol as chain extender. *Macromolecules* 26, 7029, 1993.
- ¹⁶ S. Gogolewski, Selected topics in biomedical polyurethanes. *Colloid polym. Sci.* 267, 757, 1989.
- ¹⁷ C. Chang, J.P. Kennedy, Gas permeability, water absorption, hydrolytic stability and air-oven aging of polyisobutylene-based polyurethane networks. *Polym. Bull.* 8, 69, 1982.
- ¹⁸ R. Bonart, L. Morbitzer, E.H. Muller, X-ray investigations concerning the physical structure of crosslinking in urethane elastomers. III. Common structure principles for extensions with aliphatic diamines and diols *J. Macromol. Sci. Phys.* B9, 447, 1974.
- ¹⁹ D. Cohn, A. Penhasi, Poly(ether urethane amide)s: a new family of biomedical elastomers. *Clin. Mater.* 8, 105, 1991.
- ²⁰ H. Tomita, F. Sanda, T. Endo, Structural Analysis of Polyhydroxyurethane Obtained by Polyaddition of Bifunctional Five-Membered Cyclic Carbonate and Diamine Based on the Model Reaction. *J Polym Sci, Part A, Polym Chem*, 39, 851, 2001.
- ²¹ H. Tomita, F. Sanda, T. Endo, Polyaddition behavior of bis(five- and six-membered cyclic carbonate)s with diamine. *J Polym Sci, Part A, Polym Chem*, 39, 860, 2001.
- ²² G. Rokicki, A. Piotrowska, A New Route to Polyurethanes from Ethylene Carbonate, Diamines and Diols. *Polymer*, 43, 2927-2935, 2002.
- ²³ S. Randrasana, G. Daude, B. Delmond, C. Baquey, A new route to polyurethanes from ethylene carbonate, diamines and diols. *Innov. Tech. Biol. Med.*, 15(6), 707, 1994.
- ²⁴ S. Zalipsky, R. Seltzer, S. Menon-Rudolph, Evaluation of a new reagent for covalent attachment of polyethylene glycol to proteins. *Biotechnol Appl Biochem*, 15, 100, 1992.
- ²⁵ A. Nathan, D. Bolika, N. Vyavahare, S. Zalipsky, J. Kohn, Hydrogels based on water-soluble poly(ether urethanes) derived from L-lysine and poly(ethylene glycol). *Macromolecules*, 25, 4476, 1992.
- ²⁶ G. Rokicki, R. Lazinski, Polyamines containing β -hydroxyurethane linkages as curing agents for epoxy resin. *Angew Makromol Chem*, 170, 211, 1989.
- ²⁷ N. Kihara, Y. Kushida, T. Endo, Optically active poly(hydroxyurethane)s derived from cyclic carbonate and L-lysine derivatives. *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 34, 2173, 1996.
- ²⁸ N. Kihara, T. Endo, Synthesis and properties of poly(hydroxyurethane)s. *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 31, 2765, 1993.

- ²⁹ S. Neffgen, H. Keul, H. Höker, Ring-opening polymerization of cyclic urethanes and ring-closing depolymerization of the respective polyurethanes. *Macromol Rapid Commun*, 17(6), 373-382, 1996.
- ³⁰ S. Neffgen, H. Keul, H. Höker, Cationic Ring-Opening Polymerization of Trimethylene Urethane: A Mechanistic Study. *Macromolecules*, 30, 1289-1297, 1997.
- ³¹ J. Kusan, H. Keul, H. Höker, Cationic Ring-Opening Polymerization of Tetramethylene Urethane. *Macromolecules*, 34, 389-395, 2001.
- ³² S. Neffgen, H. Keul, H. Höker, Polymerization of 2,2-dimethyltrimethylene urethane; a disfavoured process <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/%28SICI%291521-3935%2819980201%29199:2%3C197::AID-MACP197%3E3.0.CO;2-U/abstract> - fn1. *Macromol. Chem. Phys.*, 199(2), 197-206, 1998.
- ³³ S. Zalipsky, R. Seltzer, S. Menon-Rudolph, Evaluation of a new reagent for covalent attachment of polyethylene glycol to proteins. *Biotechnol Appl Biochem*, 15, 100, 1992.
- ³⁴ A. Nathan, D. Bolika, N. Vyavahare, S. Zalipsky, J. Kohn, Microstructural Characterization of Hydrogen Peroxide Initiated Hydroxytelechelic Polyisoprene. *Macromolecules*, 25, 4476, 1992.
- ³⁵ D. V. Palaskar, A. Boyer, E. Cloutet, C. Alfos and H. Cramail. Synthesis of Biobased Polyurethane from Oleic and Ricinoleic Acids as the Renewable Resources via the AB-Type Self-Condensation Approach, *Biomacromol.*, 11 (2010), 1202.
- ³⁶ M.A. Champ, *The Science of the Total Environment*, 258 (2000), 21.
- ³⁷ N. Kébir, I. Campistron, A. Laguerre, J.-F. Pilard, C. Bunel, T. Jouenne, Use of telechelic cis-1,4-polyisoprene cationomers in the synthesis of antibacterial ionic polyurethanes and copolyurethanes bearing ammonium groups, *Biomater.* 28 (2007), 4200.

**CHAPITRE 4 : SYNTHÈSE ET
CARACTÉRISATION DE NANOCOMPOSITES
POLYURETHANE-ARGENT**

Introduction

La première partie de ce chapitre est consacrée à l'élaboration des nanocomposites polyuréthane-argent selon deux procédés : un procédé ex situ consistant à introduire les dispersions de nanoparticules d'argent précédemment synthétisées dans la dispersion aqueuse de polyuréthane, et un procédé inédit de synthèse in situ de nanoparticules d'argent dans une matrice polyuréthane par irradiation sous UV.

Dans une deuxième partie, les propriétés physicochimiques des matériaux nanocomposites obtenus seront ensuite caractérisées. Enfin, dans une troisième partie, nous nous intéresserons aux propriétés antibactériennes de ces matériaux.

I. Elaboration des nanocomposites PU-Ag

I.1. Par un procédé ex situ

Les dispersions de nanoparticules d'argent précédemment préparées ont été introduites au cours du procédé de synthèse du PUD. Cette introduction s'est faite à deux moments différents du procédé :

- voie 1 : lors de la mise en dispersion aqueuse du prépolymère à extrémités isocyanate. Dans ce cas, les dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent sont introduites en même temps que le volume d'eau ajouté habituellement pour atteindre le taux d'extrait sec voulu.

- voie 2 : au début du procédé avec les réactifs H₁₂MDI, PTMG et le sel de DMPA, dans le cas de la dispersion aqueuse de nanoparticules dans le PEG obtenue par le procédé à l'état fondu. Cette dispersion a été introduite en proportion telle que le rapport [NCO]/[OH] = 1,3 soit conservé. La solubilisation de la dispersion solide dans le milieu réactionnel doit permettre l'incorporation des molécules de PEG au sein des chaînes macromoléculaires de polyuréthane.

La taille des particules des PUD a été à nouveau caractérisée par diffusion élastique de la lumière après introduction des dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent. Les analyses ne montrent pas de différence de taille par rapport aux PUD non chargées.

Plusieurs matériaux polyuréthanes renfermant des concentrations de nanoparticules d'argent variant de 15 à 60 ppm ont été élaborés. Un matériau polyuréthane renfermant du PEG dans des proportions identiques à celles présentes dans le composite obtenu selon la voie 2 a également été réalisé et servira de témoin.

I.2. Par un procédé in situ

I.2.1. Rappels bibliographiques

Les méthodes de synthèse in-situ de nanocomposites présentent l'avantage de produire en une seule étape les matériaux souhaités. Un certain nombre de travaux fait, en particulier, état de l'utilisation d'une irradiation UV pour produire in situ des nanoparticules d'argent au sein d'une matrice polymère, selon une technique simple à mettre en œuvre, rapide et efficace.

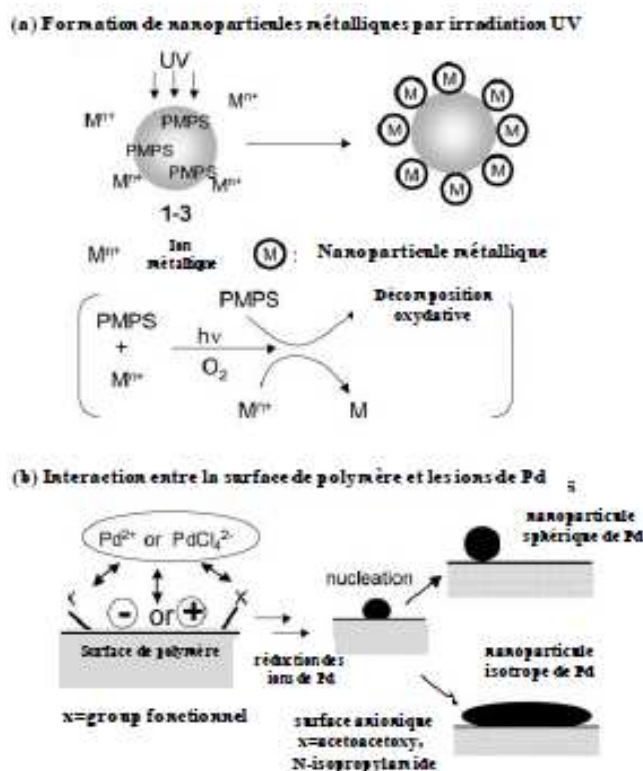


Figure 1 Mécanisme de formation par irradiation UV de nanoparticules métalliques à la surface de nanoparticules de polymères [1]

C'est ainsi que Tamai et al. ont travaillé sur la formation in situ de nanoparticules métalliques par irradiation UV des ions argent présents dans une solution aqueuse de

particules de polystyrène incorporant le polyméthylphénylsilane (PS / PMPS) [1]. La réduction des ions métalliques s'accompagne de la photo-oxydation induite du PMPS, de sorte que ces nanoparticules sont formées à la surface du polymère (figure 1). Ils ont également constaté que l'interaction entre la surface du polymère et les ions métalliques est susceptible d'affecter la formation et la croissance des nanoparticules métalliques.

Yagci et al. ont synthétisé in situ et sous UV des nanocomposites époxy-argent [2]. Le photoamorceur utilisé est la camphorquinone (CQ) qui génère des radicaux donneurs d'électrons lors de la photolyse. L'oxydation de ces radicaux en présence d'hexafluoroantimonate d'argent (AgSbF_6) conduit simultanément à la formation de nanoparticules d'argent et à l'amorçage de la polymérisation cationique de la résine époxy présente dans la formulation (figure 2).

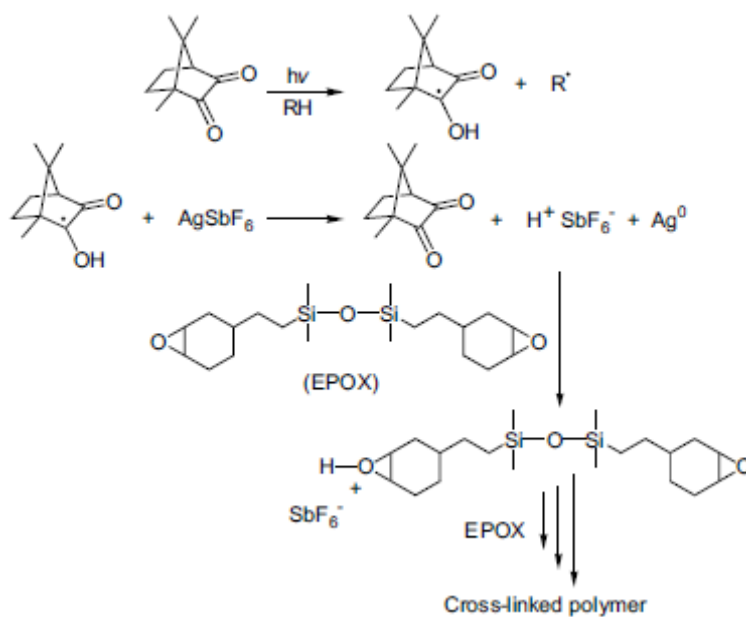


Figure 2 Synthèse de nanocomposite époxy-argent sous UV

Selon le même principe, Tyurin et al. [3] ont synthétisé un nanocomposite polyacrylonitrile-argent par polymérisation d'acrylonitrile et réduction simultanée des ions argent sous UV à l'aide d'un photoamorceur radicalaire (2,2'-diméthoxy-2-phényl acétophénone).

Uygun et al. ont préparé des hydrogels contenant des nanoparticules d'argent par réduction in situ de nitrate d'argent en présence de molécules de citrate de sodium comme

agent stabilisant au cours de la copolymérisation photoinduite d'acrylamide et de N,N'-méthylènebisacrylamide [4].

Enfin, Cocca et al. ont travaillé de leur côté sur la réduction photochimique du nitrate d'argent dans un polyuréthane préalablement solubilisé dans le diméthylformamide pour obtenir des nanocomposites PU-Ag [5].

I.2.2. Mise au point du procédé in situ sous UV

I.2.2.1. Principe

Les ions argent sont connus pour se réduire simplement en présence de photons. Cette propriété a été exploitée par Hong et al. [6] lors de la synthèse de nanofibres polyalcool vinylique-argent pour achever la réduction des ions argent qui avait été amorcée thermiquement lors de la réticulation du PVA. Pour notre part, nous avons choisi de réaliser la réduction des ions argent uniquement par voie photochimique, sans utilisation de photosensibilisateur, de solvant organique, d'agent stabilisant ou d'agent réducteur. Le protocole de synthèse du PUD est le même que celui présenté dans le chapitre III. Un volume défini d'une solution aqueuse de nitrate d'argent à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ est simplement ajouté dans la formulation au moment de la dispersion du prépolymère dans l'eau.

Après l'étape d'allongement de chaîne, le PUD est coulé dans un moule et séché à une température de 25°C pendant 72h. Le séchage est réalisé à température ambiante afin d'éviter la réduction des ions argent par voie thermique. On obtient un film de 0,2 mm d'épaisseur. Ce film est alors irradié alternativement sur ses deux faces sous un rayonnement polychromatique (lampe Hg-Xe, 200W) d'intensité $I_0 = 15 \text{ mW/cm}^2$ à $\lambda = 365 \text{ nm}$.

La couleur des films évolue au cours du temps du jaune clair, au jaune foncé, indiquant la formation des nanoparticules d'Ag dans la matrice PU (Figure 3).

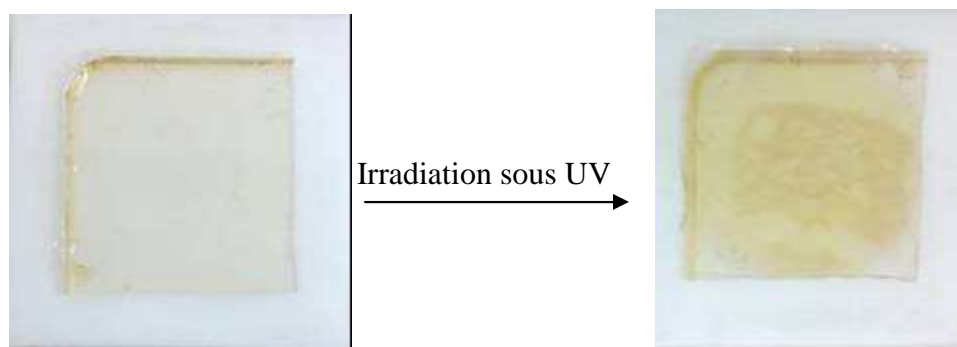


Figure 3 Films de polyuréthane renfermant du nitrate d'argent avant (photo de gauche) et après (photo de droite) exposition à un rayonnement UV

Il est à noter que l'irradiation de films de polyuréthane ne renfermant pas de nitrate d'argent n'engendre pas de changement de couleur ni de dégradation photochimique du polymère (mêmes propriétés physicochimiques que le PU non irradié).



Figure 3 Film de polyuréthane irradié sous UV pendant 60 min

I.2.2.2. Suivi de la réaction de réduction par spectroscopie UV-visible

Comme lors de la synthèse des nanoparticules d'argent réalisée dans le chapitre II, la réaction de réduction a été suivie par mesure du spectre d'absorption UV-visible des films irradiés durant des temps variables. La figure 4 montre, tout d'abord, la présence d'un saut brutal d'absorbance à environ 330 nm. Cette variation a déjà été remarquée par Shameli et al. [7] qui ont attribué cela à l'apparition de nanoparticules d'argent de taille inférieure à 10 nm. Un maximum d'absorption apparaît, par ailleurs, progressivement aux environs de 400 nm, indiquant la formation de nanoparticules d'argent sphériques de faible taille.

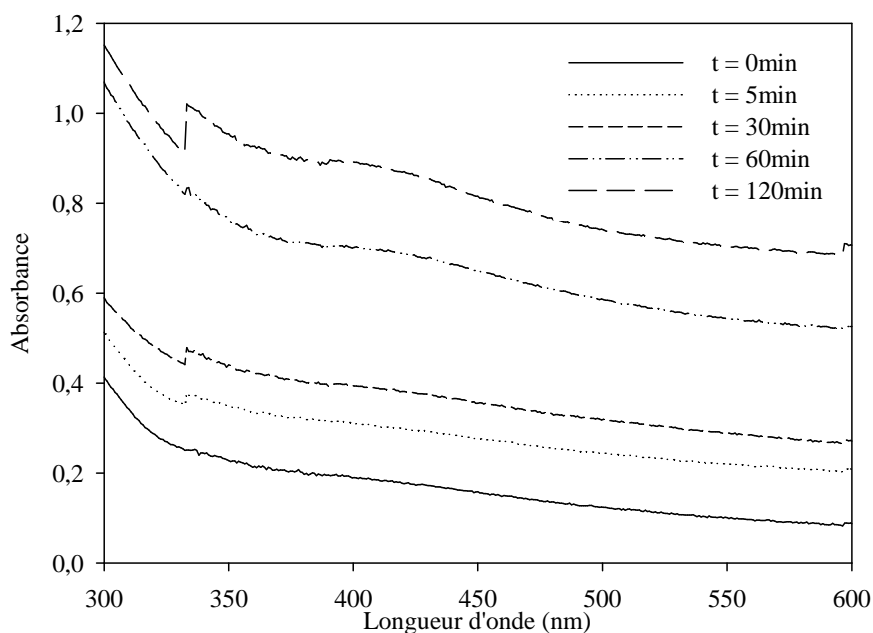


Figure 4 Evolution des spectres d'absorption UV-Visible des films de polyuréthane renfermant du nitrate d'argent et exposés au rayonnement UV

La taille des particules obtenues sous UV a pu être déterminée par analyse au Nanosizer après dissolution du nanocomposite dans l'éthanol. La figure 5 montre l'évolution de la taille moyenne des nanoparticules d'argent en fonction du temps d'irradiation sous UV. Celle-ci reste inférieure à 10 nm pour des temps d'irradiation allant jusqu'à 2h et plafonne à une valeur maximale de 6 nm à partir d'1h d'irradiation.

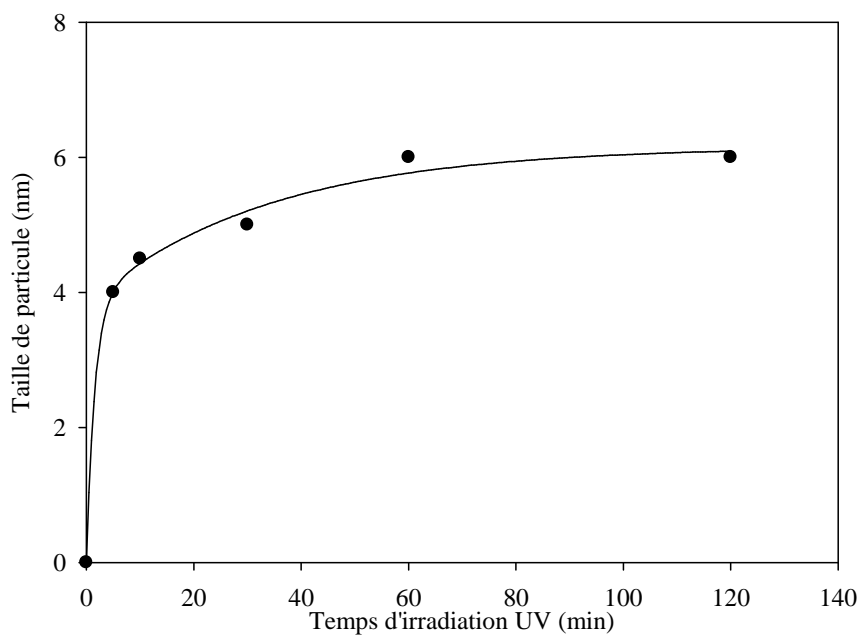


Figure 5 Influence du temps d'irradiation UV sur la taille moyenne des particules

Plus précisément, la figure 6 montre une forte population de particules de diamètre centré sur 5 nm et une distribution en taille très fine.

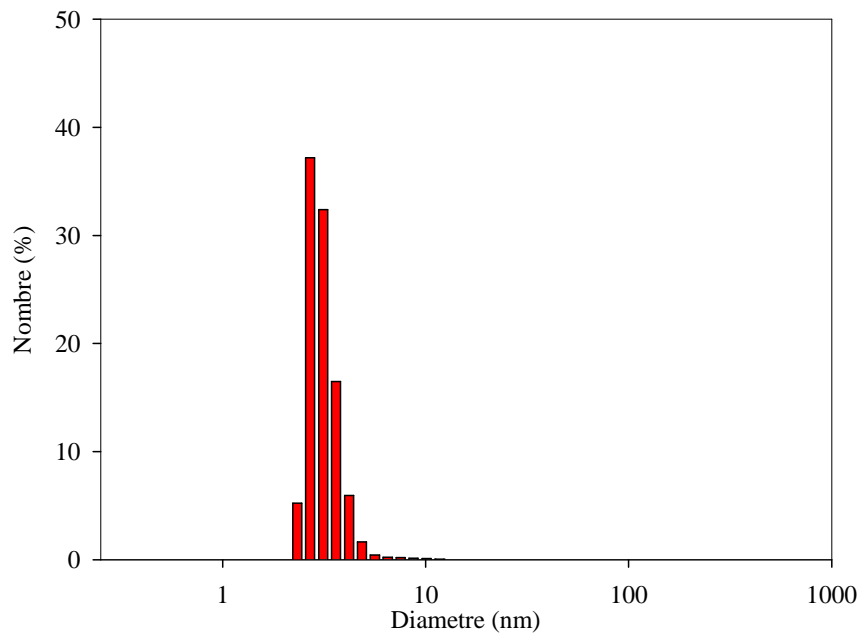


Figure 6 Distribution de taille de particules pour t = 60 min

Les études suivantes seront menées sur des films irradiés pendant 60 min (matériau 7).

I.3. Conclusion

Les matériaux de référence et nanocomposites PU-Ag synthétisés sont référencés dans le tableau suivant :

	Procédé de synthèse	Voie d'introduction	Composé introduit	
Matériau 1 (référence 1)	----	----	----	
Matériau 2 (référence 2)	----	----	PEG seul	
Matériau 3	Ex situ	1	Dispersion aqueuse de nanoparticules d'Ag stabilisées par la PVP	
Matériau 4		1	Dispersion aqueuse de nanoparticules d'Ag stabilisées par l'AG	
Matériau 5		1	Dispersion aqueuse de nanoparticules d'Ag stabilisées par le PEG	
Matériau 6		2	Dispersion aqueuse de nanoparticules d'Ag stabilisées par PEG	
Matériau 7		In situ par irradiation sous UV	----	AgNO ₃

Tableau 1 Récapitulatif des matériaux synthétisés

Les propriétés physico-chimiques de ces matériaux vont maintenant être caractérisées.

II. Caractérisation physicochimique des nanocomposites PU-Ag

II.1. Analyse de surface des matériaux par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) couplé à la Spectroscopie Dispersive en Energie des rayons X (EDX)

Afin de visualiser l'état de surface des nanocomposites synthétisés, des photographies en Microscopie Electronique à Balayage ont été réalisées sur les cinq matériaux renfermant 35 ppm d'argent (matériaux 3, 4, 5, 6 et 7), au sein du Centre Technologique des Microstructures de l'Université de Lyon (CTμ), sur le microscope MEB Hitachi S800 FEG (figure 7).

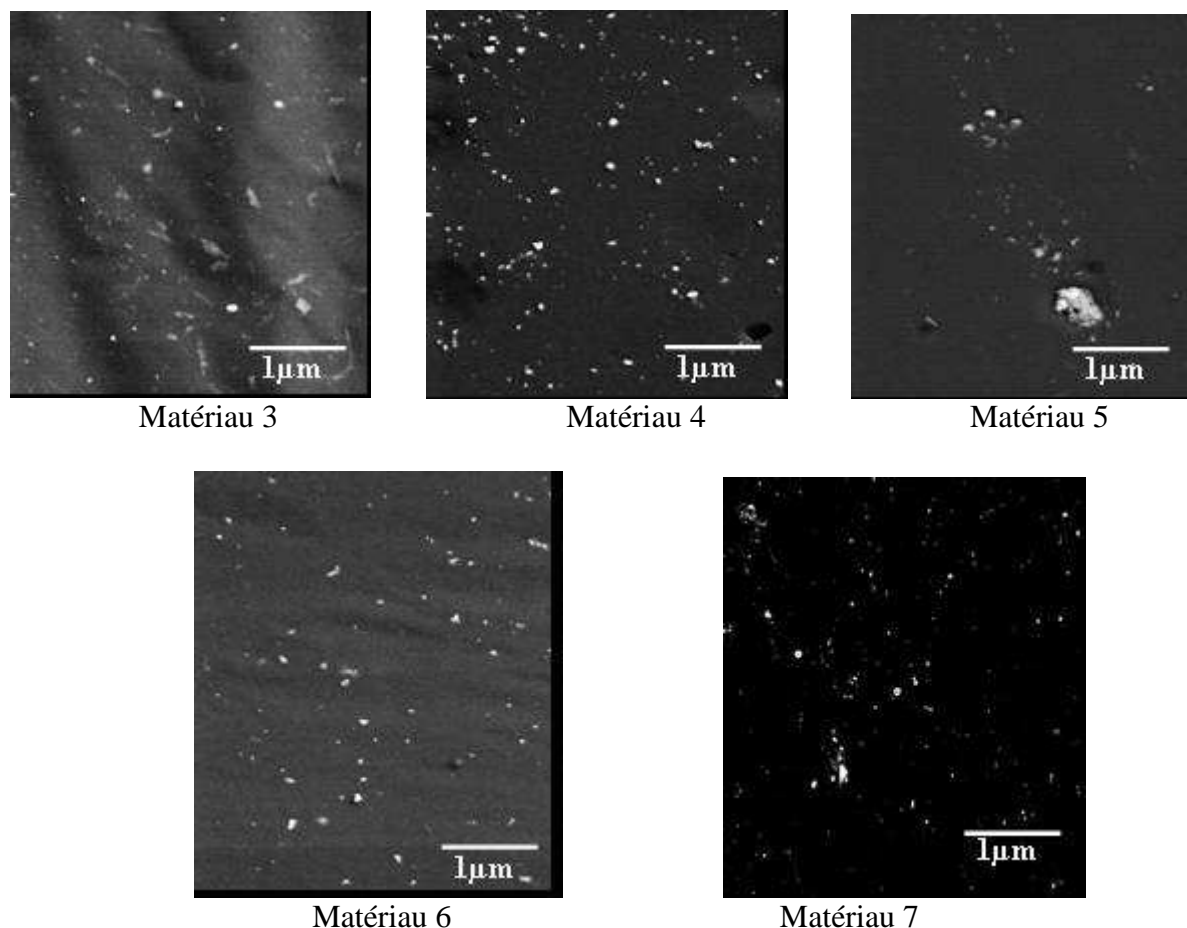


Figure 7 Photographies en Microscopie Electronique à Balayage de la surface des matériaux 3, 4, 5, 6 et 7

La technique EDX a été mise en œuvre simultanément à l'observation en MEB. Elle repose sur l'étude des rayonnements X, émis par les atomes de l'échantillon lorsqu'ils retombent dans leur état fondamental, après avoir été excités par le faisceau électronique envoyé sur l'échantillon pour l'observation MEB.

L'énergie des rayons X étant caractéristique de l'atome émetteur, il est possible d'identifier les éléments présents dans l'échantillon. L'analyse par EDX permet ainsi de décrire qualitativement la composition de l'échantillon observé sur une épaisseur de 1 μm . La matrice étant composée d'une quantité importante de carbone et d'oxygène nous avons choisi de focaliser l'analyse EDX sur les éléments carbone, oxygène et argent (Figure 8). Ces analyses confirment bien la présence d'argent à la surface des matériaux.

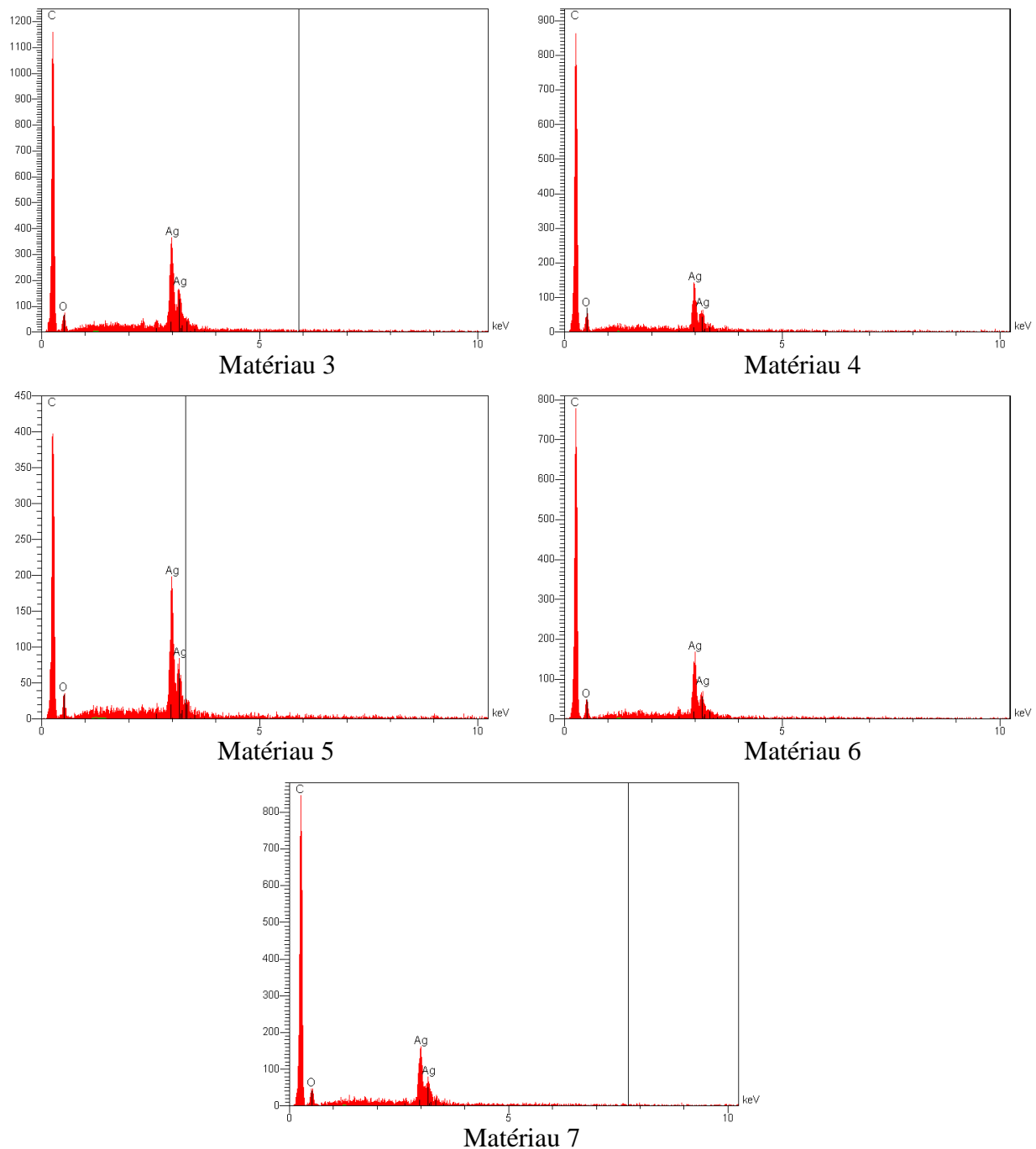


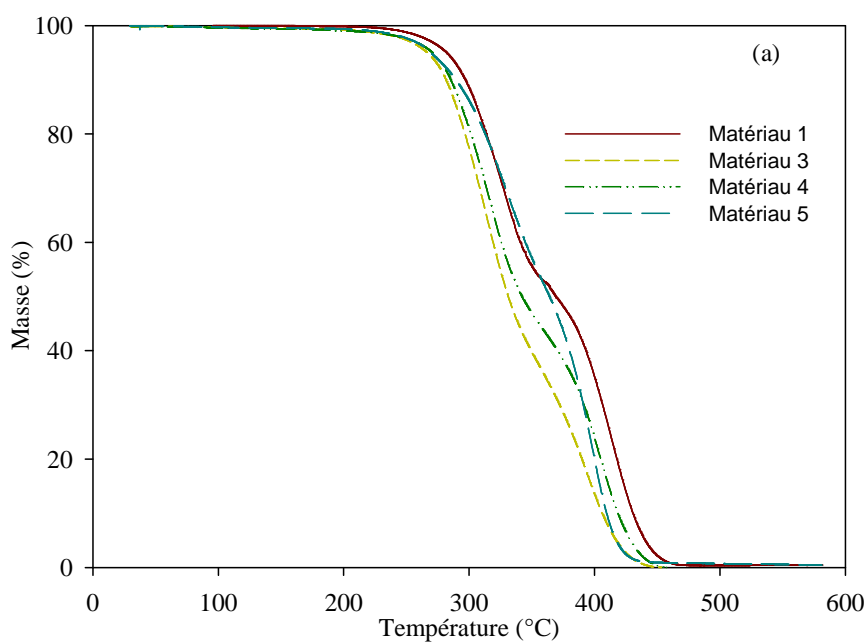
Figure 8 Analyse par Spectroscopie Dispersive en Energie des rayons X (EDX) des matériaux 3, 4, 5, 6 et 7 réalisée simultanément à l'observation en MEB

Les images MEB présentées sur la figure 7 montrent la présence de taches gris clair correspondant à des nanoparticules d'argent qui se distinguent nettement de la matrice organique (gris plus foncé). Les matériaux 3, 4, 6 et 7 présentent une répartition homogène des nanoparticules d'argent dont le diamètre est compris entre 5 et 50 nm (diamètre moyen de 10 nm). Le matériau 5, quant à lui, présente de nombreux amas non sphériques formés de

nanoparticules d'argent agrégées. Ces amas de taille submicronique (0,1-0,2 μm) sont superposés les uns aux autres et séparés par de minces filaments de matrice polymérique. Les deux dispersions aqueuses de PU et de nanoparticules d'argent stabilisées dans le PEG présentant des viscosités très différentes, l'obtention difficile d'un mélange homogène avant évaporation de l'eau pourrait être la cause de la formation de ces agrégats.

II.2. Etude de la dégradation thermique des nanocomposites PU-Ag

La dégradation des nanocomposites PU-Ag a été suivie par ATG et comparée à celle des PU de référence (matériaux 1 et 2). Les figures 9-a, 9-b et 9-c montrent les résultats obtenus pour des composites renfermant 35 ppm de nanoparticules d'argent. Ces résultats sont identiques pour 15 et 60 ppm d'argent.



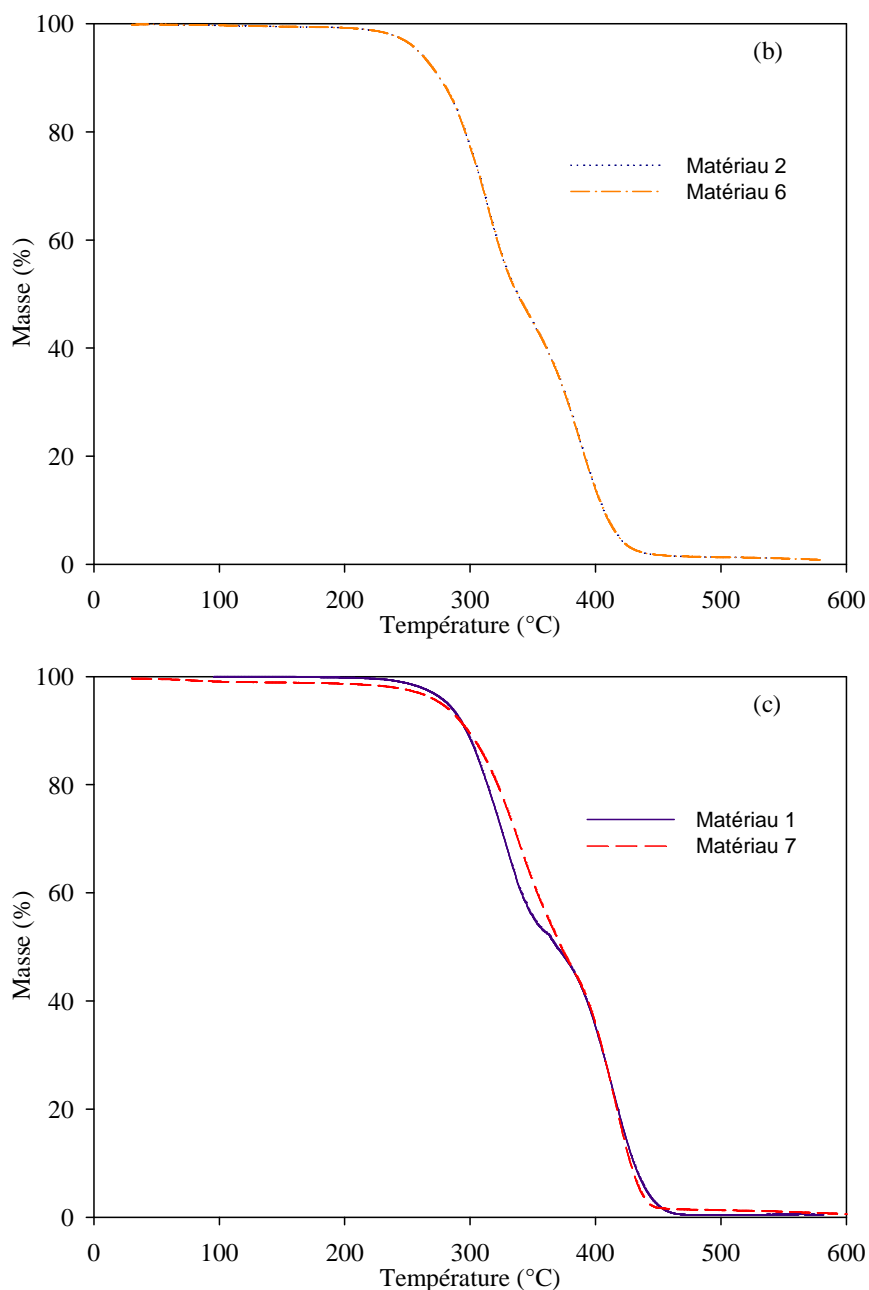


Figure 9 Stabilité thermique sous azote des matériaux
(a) 1, 3, 4 et 5 ; (b) 2 et 6 ; (c) 1 et 7

On peut tout d'abord noter que, quel que soit le matériau considéré, la dégradation du polyuréthane se fait toujours en deux étapes. Dans le cas des composites 3, 4 et 5, on peut observer un décalage de la dégradation thermique vers des températures légèrement inférieures (de 30°C) comparé au matériau de référence 1 (Figure 9-a), décalage plus prononcé sur l'étape correspondant à la dégradation des segments souples. Ceci pourrait signifier une prédominance des nanoparticules d'argent dans la phase souple du polymère, comme cela a déjà été mentionné dans la littérature [5].

La Figure 9-b montre par ailleurs un comportement thermique parfaitement identique des matériaux 2 et 6, indiquant une parfaite incorporation de la dispersion de PEG au sein des chaînes de polyuréthane.

Enfin, dans le cas du nanocomposite 7 (figure 9-c), la dégradation thermique du matériau ne semble pas être affectée par la présence des nanoparticules d'argent.

II.3. Etude des propriétés thermiques des nanocomposites PU-Ag

Comme pour le matériau de référence 1 qui présente une température de transition vitreuse de -26°C , l'analyse enthalpique différentielle des nanocomposites 3, 4, 6 et 7 renfermant 35 ppm d'argent ne révèle qu'une seule réponse thermique vers -31°C correspondant à la transition vitreuse des segments souples. La présence de nanoparticules d'argent n'influe donc pas sur les propriétés thermiques des composites pour les matériaux 3, 4, 6 et 7, et ce quelle que soit la concentration en argent dans le composite.

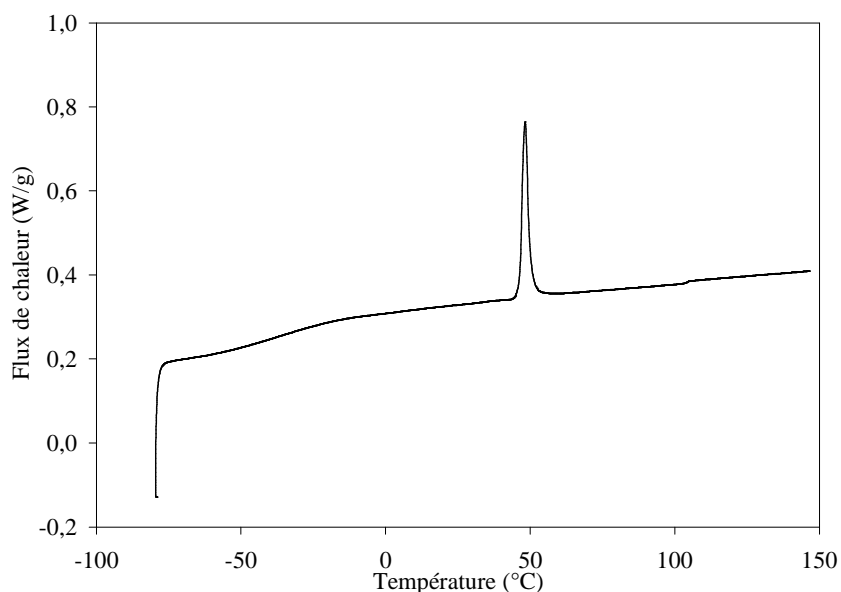


Figure 10 Analyse DSC du matériau 5

En revanche, l'analyse DSC du matériau 5 (Figure 10) montre la présence d'un pic de fusion à 50°C qui a été attribué au PEG. Le PEG n'est donc pas bien dispersé dans la matrice polyuréthane, ce qui est en accord avec l'observation d'agrégats mentionnée dans le paragraphe II.1.

II.4. Résistance à la traction des nanocomposites PU-Ag

L'élongation à la rupture des nanocomposites a été déterminée à l'aide de tests de traction réalisés dans les mêmes conditions que celles décrites dans le chapitre III. Les résultats n'ont montré aucune influence de la quantité de nanoparticules d'argent sur le taux d'élongation. Le tableau 3 présente donc uniquement les résultats obtenus sur les nanocomposites renfermant 35 ppm d'Ag.

	Module d'Young (MPa)	Taux d'élongation (%)
Matériau 1	7,4 ± 1,0	760 ± 30
Matériau 2	5,0 ± 0,1	830 ± 25
Matériau 3	8,2 ± 2,4	890 ± 70
Matériau 4	8,5 ± 4,0	890 ± 40
Matériau 5	9,7 ± 5,0	715 ± 55
Matériau 6	5,4 ± 0,3	930 ± 20
Matériau 7	6,8 ± 1,5	950 ± 20

Tableau 3 Résistance à la traction des différents matériaux renfermant 35 ppm d'Ag

La quantité de nanoparticules d'argent incorporées dans les matériaux n'est pas suffisante pour observer des variations significatives des propriétés mécaniques.

II.5. Etude du gonflement à l'eau

Le mode opératoire adopté pour les mesures de gonflement a été décrit dans le chapitre précédent. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

L'ajout des dispersions d'argent n'a pas d'effet sur le comportement du matériau vis-à-vis de l'eau. Néanmoins, le matériau 5 présente une affinité légèrement plus grande à l'eau.

	Q (24 h)	Q (72 h)	Q (7 jrs)	Q (15 jrs)
Matériau 1	2 %	3 %	3 %	3 %
Matériau 2	5 %	6 %	9 %	12 %
Matériau 3	4 %	4,5 %	8 %	8,5 %
Matériau 4	4 %	4 %	8 %	10 %
Matériau 5	6 %	8 %	11 %	14 %
Matériau 6	5 %	6 %	9 %	11 %
Matériau 7	4 %	5 %	7 %	9 %

Tableau 4 Taux de gonflement à l'eau des différents matériaux

II.6. Propriétés de surface des nanocomposites PU-Ag

Les angles de contact ont été mesurés en utilisant un goniomètre Digidrop ASE de la société GBX. Trois liquides (eau, glycérol, diméthylformamide) de paramètres surfaciques connus (Tableau 5) sont déposés sous forme de gouttes de 3 μL sur les faces des matériaux à gradients. L'angle de contact θ_i est mesuré après stabilisation de l'étalement de la goutte (soit après 3 secondes) grâce à une caméra reliée à un logiciel d'analyse d'images (Logiciel Windrop ++, goniomètre GBX Digidrop ASE). Les énergies de surface du matériau ont été calculées en utilisant la méthode d'Owens-Wendt à 2 composantes.

Liquide	Tension superficielle γ_i (mN.m^{-1})	Composante polaire γ_i^p (mN.m^{-1})	Composante dispersive γ_i^d (mN.m^{-1})
Eau	72,8	51	21,8
Glycérol	64	30	34
DMF	37,1	8,1	29

Tableau 5 Tensions superficielles, composantes polaire et dispersive des liquides utilisés

Dans ce modèle, on considère que l'énergie de surface du solide s'exprime sous la forme $\gamma_s = \gamma_s^p + \gamma_s^d$, avec γ_s^d la composante dispersive et γ_s^p la composante polaire du matériau étudié. L'équation reliant les composantes à l'angle de contact s'écrit alors :

$$\frac{(1 + \cos \theta_i) \gamma_i}{2\sqrt{\gamma_i^d}} = \sqrt{\gamma_s^p} \times \sqrt{\frac{\gamma_i^p}{\gamma_i^d}} + \sqrt{\gamma_s^d}$$

où γ_i , γ_i^d et γ_i^p sont les paramètres de tension superficielle des liquides utilisés.

Il suffit alors de tracer $\frac{(1 + \cos \theta_i) \gamma_i}{2\sqrt{\gamma_i^d}}$ en fonction de $\sqrt{\frac{\gamma_i^p}{\gamma_i^d}}$, une régression linéaire

donnant les composantes polaire et dispersive du matériau.

Enfin, la polarité (P) du matériau peut être calculée grâce à la relation :

$$P = \frac{\gamma_s^p}{\gamma_s} \times 100$$

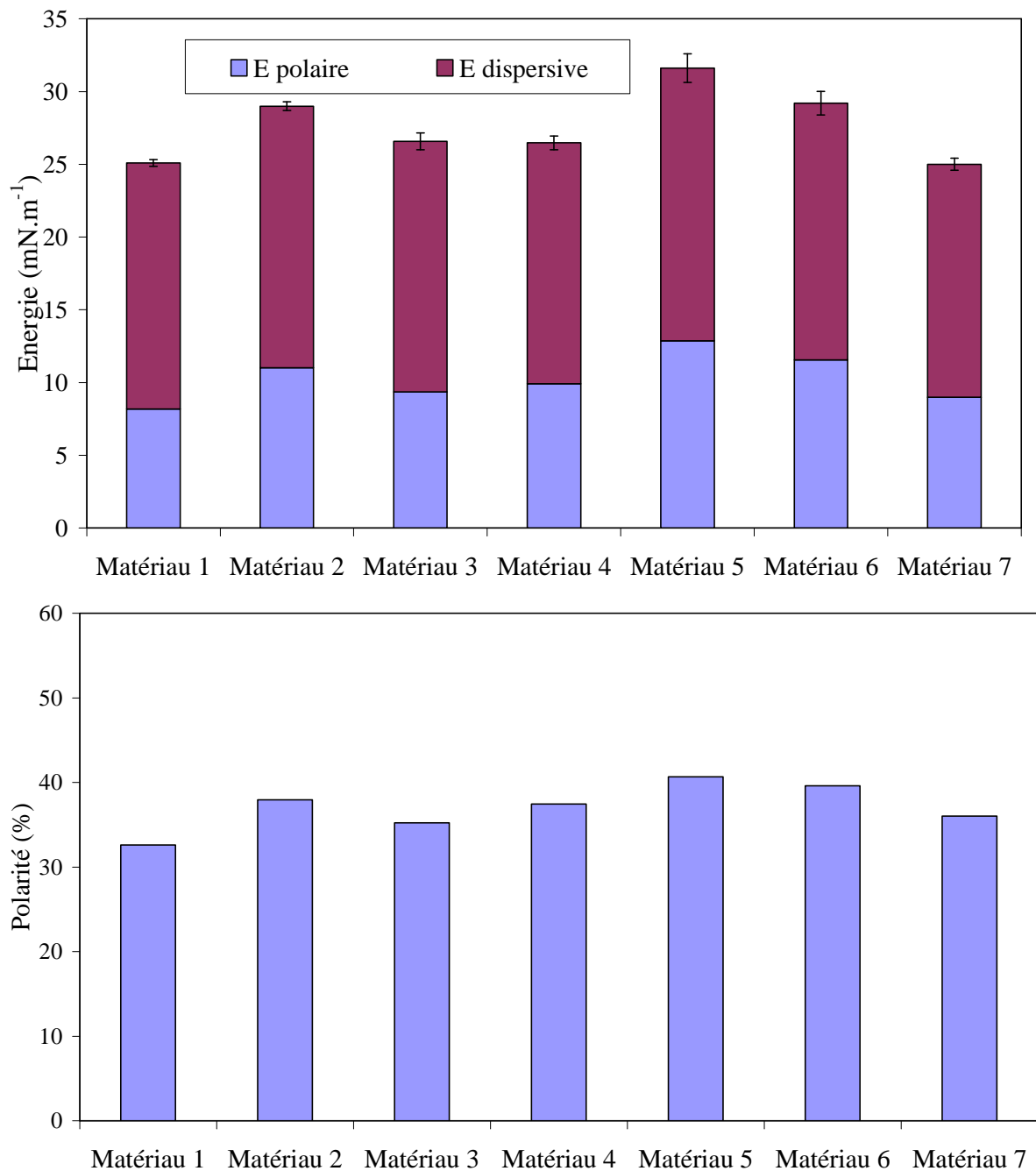


Figure 10 Energies et polarités surfaciques des différents matériaux

Les résultats ne montrent pas de variation notable des propriétés de surface des matériaux renfermant de l'argent, excepté à nouveau pour le matériau 5. Néanmoins, le fait que les polarités surfaciques soient toutes inférieures à 50% implique un caractère hydrophobe de tous les matériaux et sont en accord avec les résultats des tests de gonflement dans l'eau.

II.7. Conclusion

Les différentes analyses physicochimiques effectuées sur les nanocomposites PU-Ag synthétisés ont montré une mauvaise dispersion des nanoparticules d'argent synthétisées dans le PEG à l'état fondu lorsque celles-ci ont été introduites lors de la mise en dispersion aqueuse du polyuréthane (matériau 5). Celui-ci ne sera donc pas retenu dans la suite de l'étude.

Pour les autres nanocomposites (matériaux 3, 4, 6 et 7), l'incorporation des nanoparticules d'argent dans le polymère à des concentrations comprises entre 15 et 60 ppm n'a globalement pas d'effet très marqué sur les propriétés physicochimiques intrinsèques du polyuréthane.

III. Etude des propriétés antibactériennes des matériaux

III.1. Méthodes expérimentales

Trois méthodes expérimentales d'étude des propriétés antibactériennes des nanocomposites polyuréthane-argent ont été utilisées :

- la numération bactérienne
- la mesure des zones d'inhibition
- les tests Live/Dead.

III.1.1. Numération bactérienne

Cette méthode a déjà été décrite dans les chapitres précédents. Nous rappellerons simplement qu'elle permet d'étudier la culturabilité des bactéries en présence ou en l'absence

des matériaux par comptage des colonies formées sur milieu nutritif à partir des bactéries décrochées du matériau.

III.1.2. Mesure des zones d'inhibition

Cette méthode consiste à déposer des échantillons de nanocomposites sur un milieu nutritif dans lequel une souche bactérienne a été inoculée. Elle permet de voir directement l'effet antibactérien du matériau soit par l'apparition d'un halo d'inhibition autour de l'échantillon si celui-ci diffuse, soit par l'absence de la croissance bactérienne dans la zone ayant été en contact avec le matériau si celui-ci est inhibiteur mais ne diffuse pas.

La préparation des cultures bactériennes de *P. aeruginosa* et *E. faecalis* a déjà été décrite dans le chapitre II. Ces cultures bactériennes sont inoculées dans 500 mL de gélose Mueller-Hinton Agar (MHA) l'ensemencement initial est de 10^6 UFC.mL⁻¹. La gélose ensemencée est ensuite coulée dans des boîtes de pétri. Les échantillons de matériaux composites (de même taille que celle utilisée dans le chapitre III) stérilisés aux UV sont alors déposés sur la gélose et incubés à 37°C pendant 24 à 48 h. L'évolution des cultures est enregistrée au moyen d'un appareil photo numérique.

III.1.3. Méthode du test Live/Dead

La méthode Live/Dead consiste à marquer, à l'aide de sondes fluorophores, les bactéries décrochées des matériaux. Le test permet de distinguer les bactéries mortes des bactéries vivantes en fonction de leur intégrité membranaire.

Le kit Live/Dead[®] BacLight[™] a été utilisé suivant la notice fournie par le constructeur (Invitrogen Limited (2011)). Le contenu des pastilles d'iodure de propidium et de SYTO[®]9 est introduit dans un eppendorf[®] contenant 5 mL d'eau stérilisée et recouvert d'aluminium (pour protéger les fluorophores de la lumière). Cela constitue la solution de travail qui peut être conservée quelques jours.

Une goutte de 40 µL de solution de bactéries à $(3,7.10^8$ UFC/mL) est déposée sur les matériaux et étalée grâce à une lamelle de verre. Après 10 minutes de contact, les surfaces sont lavées avec de l'eau osmosée pour évacuer les bactéries non adhérentes. Une goutte de 40

μL d'eau est alors déposée sur chaque surface. Au bout de 35 minutes de pose, on élimine la gouttelette et on dépose une goutte de 40 μL du mélange SYTO 9 et iodure de propyidium. Les observations au microscope confocal sont réalisées 15 minutes après le marquage afin de laisser le temps aux fluorophores de marquer les bactéries.

Les cellules vivantes, qui ont leurs membranes cellulaires intactes, sont colorées avec Syto9 et émettent une fluorescence verte. Cette sonde pouvant diffuser à travers les membranes cellulaires intactes. Les cellules avec des membranes endommagées sont, quant à celle, colorées à l'iodure de propyidium et ont une fluorescence rouge, l'iodure de propyidium ne pouvant diffuser qu'à travers des membranes endommagées.

III.2. Résultats expérimentaux

III.2.1. Numération bactérienne

III.2.1.1. Mise en évidence de l'effet antiadhésif du PEG

Les cinétiques d'adhésion du *P. aeruginosa* et *E. faecalis* sur les matériaux 1 et 2 sont représentées sur les Figures 11-a et 11-b. Ces cinétiques ont été réalisées sur un intervalle de temps de contact, entre les deux souches de bactéries et nos échantillons, compris entre 0 et 8 heures. Les résultats montrent une adhésion très rapide des bactéries sur les surfaces de PU puisque le nombre de bactéries adhérentes atteint un plateau au bout de 30 min. Par ailleurs, nous constatons un écart d'une demi-décade de log entre les plateaux d'adhésion des matériaux 1 et 2. La diminution du nombre de bactéries adhérentes sur le matériau 2 pourrait s'expliquer par l'effet antiadhésif du PEG [8]. Ce polymère hydrophile et non chargé n'est ni toxique ni immunogène mais peut former des brosses moléculaires flexibles en surface limitant l'adhésion.

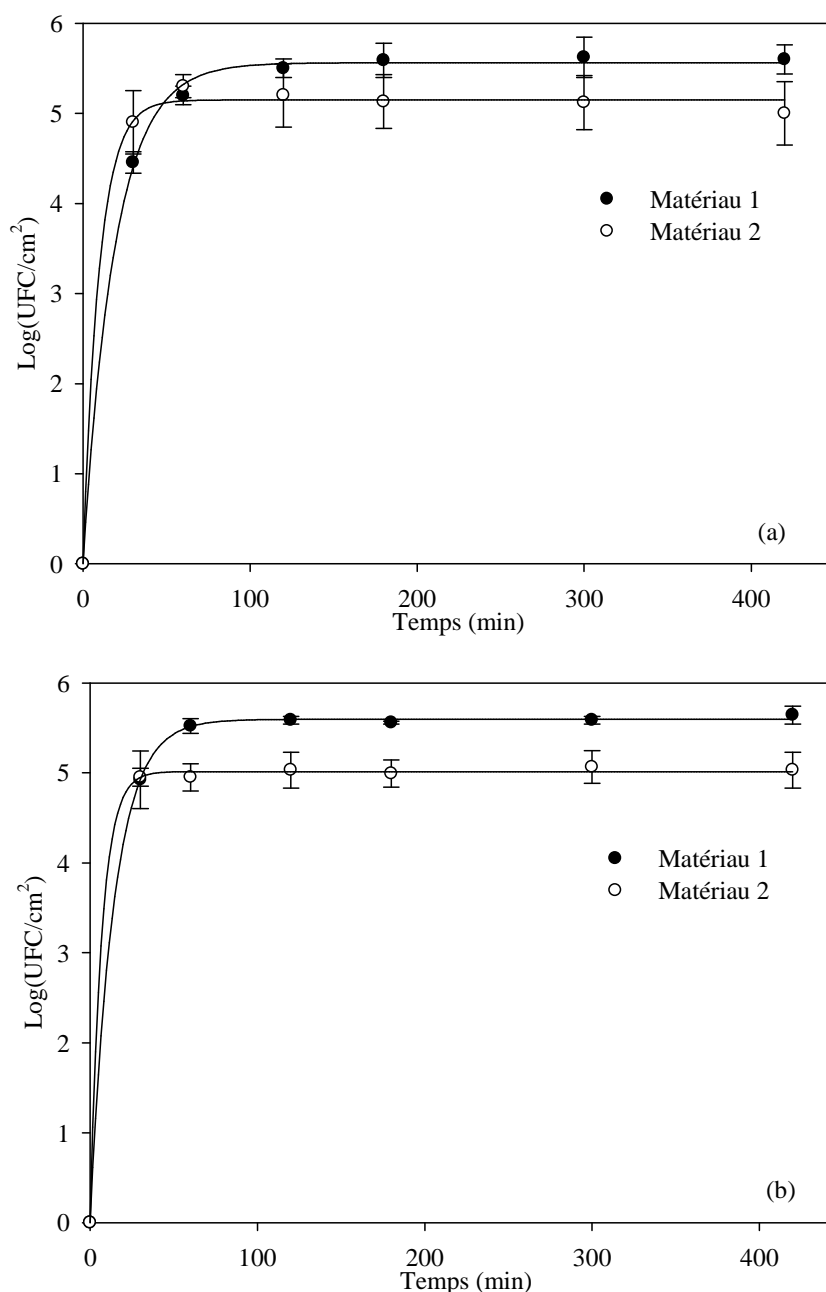


Figure 11 Cinétique d'adhésion des souches bactériennes
 (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis* sur les matériaux de référence 1 et 2
 Barres : SE (n=5)

III.2.1.2. Influence de la concentration en nanoparticules d'argent

Le suivi de la culturabilité de *P. aeruginosa* et *E. faecalis* mis en contact avec des matériaux polyuréthane renfermant ou non des nanoparticules d'argent à différentes concentrations a ensuite été réalisé. Les figures 12-a et 12-b montrent les résultats obtenus dans le cas du matériau 6. Nous observons une diminution des bactéries cultivables en présence d'argent et l'existence d'une concentration optimale en nanoparticules d'argent pour

laquelle l'effet antibactérien est le plus intense. Cette concentration optimale est de 35 ppm pour les deux souches bactériennes. Rappelons que le faible effet antibactérien observé sur les matériaux 1 et 2 est dû à la présence de DBTL utilisé lors de la synthèse du polyuréthane. Les mêmes résultats sont obtenus pour les autres matériaux 3, 4, 5 et 7.

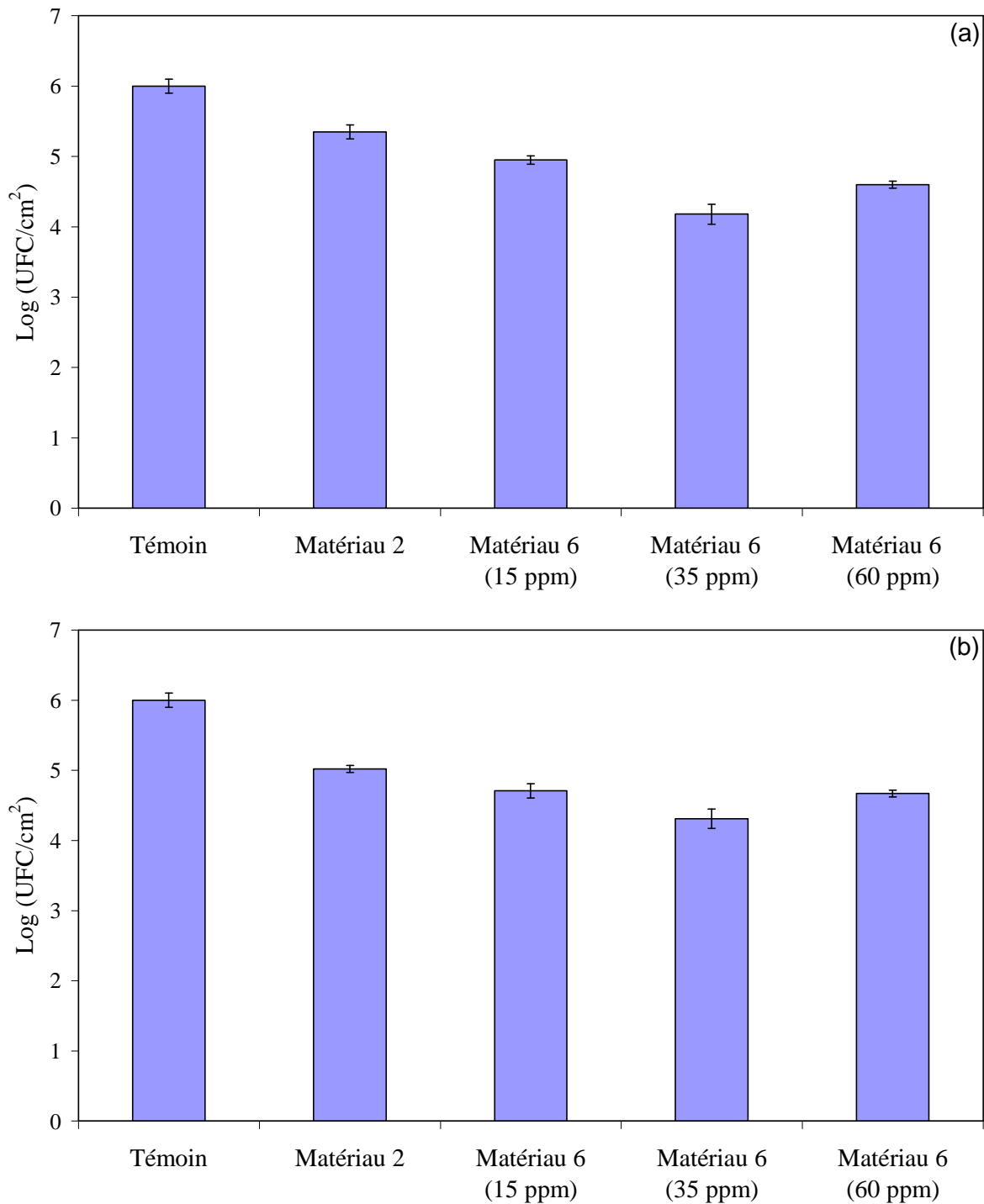


Figure 12 Suivi de la culturabilité de (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis* sur le matériau 6 renfermant différentes concentrations d'argent
Barres : SE (n=5)

Dans la suite, nous allons travailler avec les nanocomposites PU-Ag à 35 ppm d'Ag.

III.2.1.3. Influence de la taille des nanoparticules d'argent

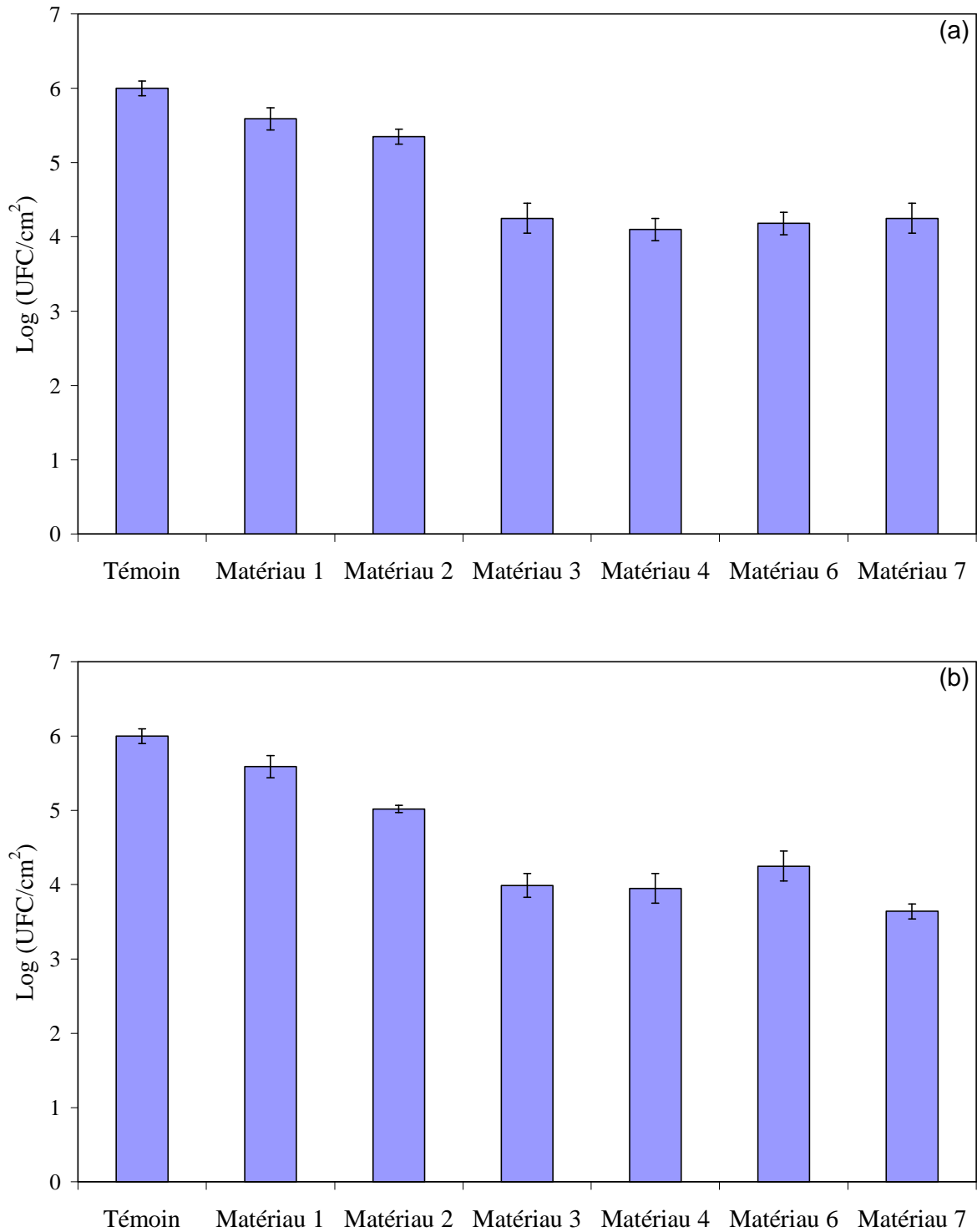


Figure 13 Suivi de la culturabilité de (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis* sur les matériaux 3, 4, 6 et 7
Barres : SE (n=5)

A concentration en nanoparticules d'argent identique, l'effet antibactérien vis-à-vis de *P. aeruginosa* est sensiblement le même quels que soient les matériaux étudiés. En revanche, pour la souche d'*E. faecalis*, on peut constater un effet un peu plus marqué pour les matériaux 3 et 4 par rapport au 6^{ème} matériau. Ceci pourrait s'expliquer par la faible taille des nanoparticules d'argent (10 ± 5 nm) pour les matériaux 3 et 4 alors qu'elle est de 35 nm pour le matériau 6. En effet, plus la taille des nanoparticules est petite, plus l'effet antibactérien est important [9].

III.2.1.4. Influence du degré d'oxydation de l'argent

L'effet antibactérien apporté par 35 ppm d'argent sous forme métal (matériau 6) ou ionique (PU + AgNO₃) a été comparé après 8h de contact avec les bactéries. La figure 14 montre un effet antibactérien équivalent, voire légèrement amélioré, dans le cas d'*E. faecalis*, de l'argent métallique. Ceci conforte l'intérêt de l'utilisation du métal argent par rapport aux ions Ag⁺, et ce d'autant que cet effet antibactérien sera durable dans le temps, les nanoparticules constituant une réserve d'ions Ag⁺ [10].

Par ailleurs, nous avons montré, dans le chapitre II, que le rendement de réduction des ions Ag⁺ était en moyenne de 80%, ce qui signifie qu'un matériau renfermant une dispersion de nanoparticules d'argent à 35 ppm renferme également des ions Ag⁺ à hauteur de 7 ppm. La figure 14 montre également l'effet antibactérien apporté par un matériau polyuréthane renfermant 7 ppm d'ions Ag⁺. La présence de cette faible quantité d'ions argent n'a pas d'effet antibactérien marqué. Ceci prouve que l'effet antibactérien constaté provient bien de la présence des 35 ppm de nanoparticules d'argent.

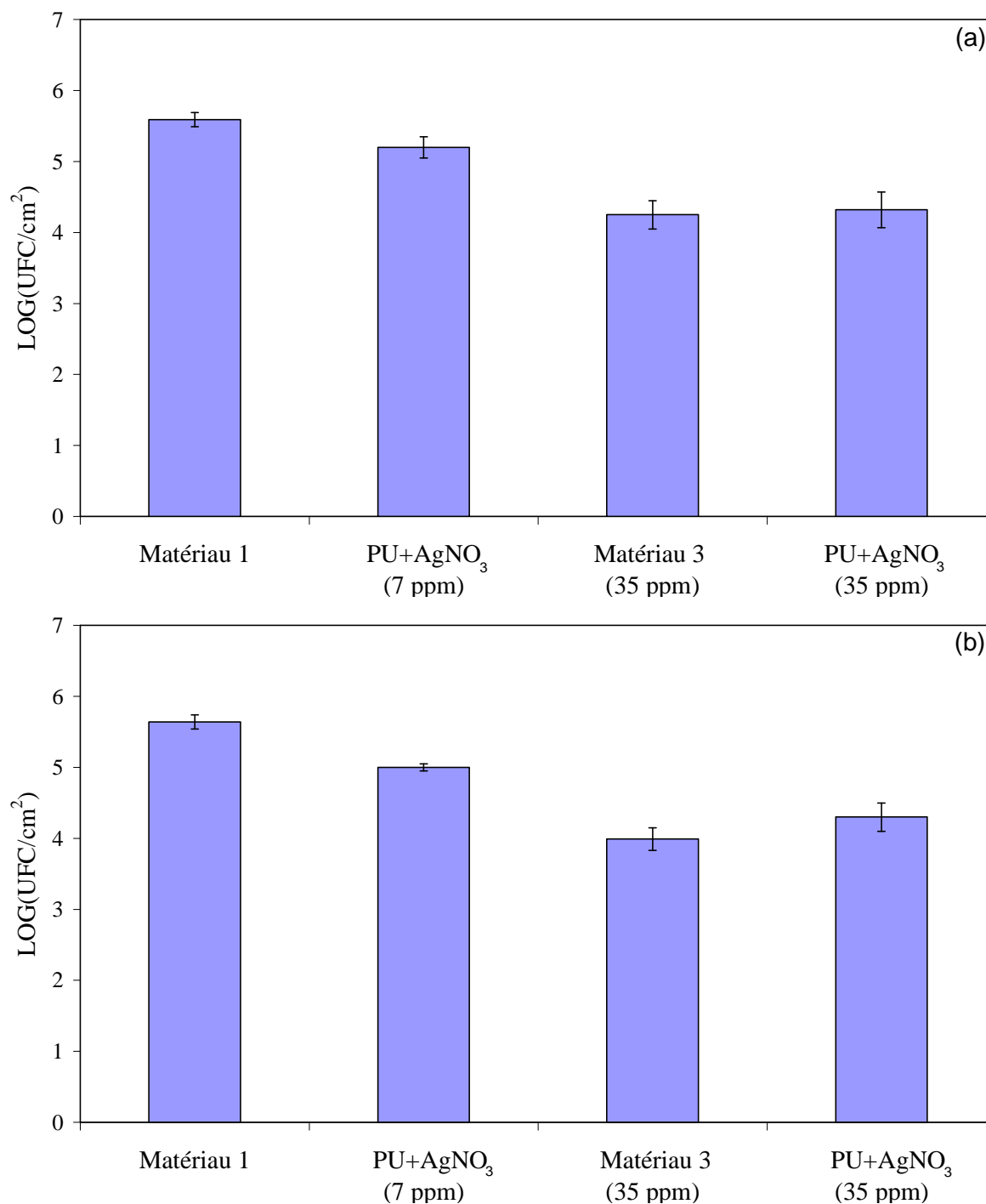


Figure 14 Suivi de la culturabilité de (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis* en fonction de la nature métallique ou ionique de l'argent
Barres : SE (n=5)

III.2.2. Mesure des zones d'inhibition

La figure 15 montre les photos des boîtes de Pétri contenant les géloses dans lesquelles ont été incubées les deux souches bactériennes *P. aeruginosa* et *E. faecalis*. Les matériaux 1,

3, 4 et 6 ont été déposés sur les géloses initialement transparentes. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les géloses deviennent opaques et colorées en raison de la croissance bactérienne qui est accompagnée par la sécrétion d'un pigment vert dans le cas de *P. aeruginosa* et d'un pigment blanc dans le cas d'*E. faecalis*. Les mêmes résultats ont été obtenus avec les matériaux 2 et 7.

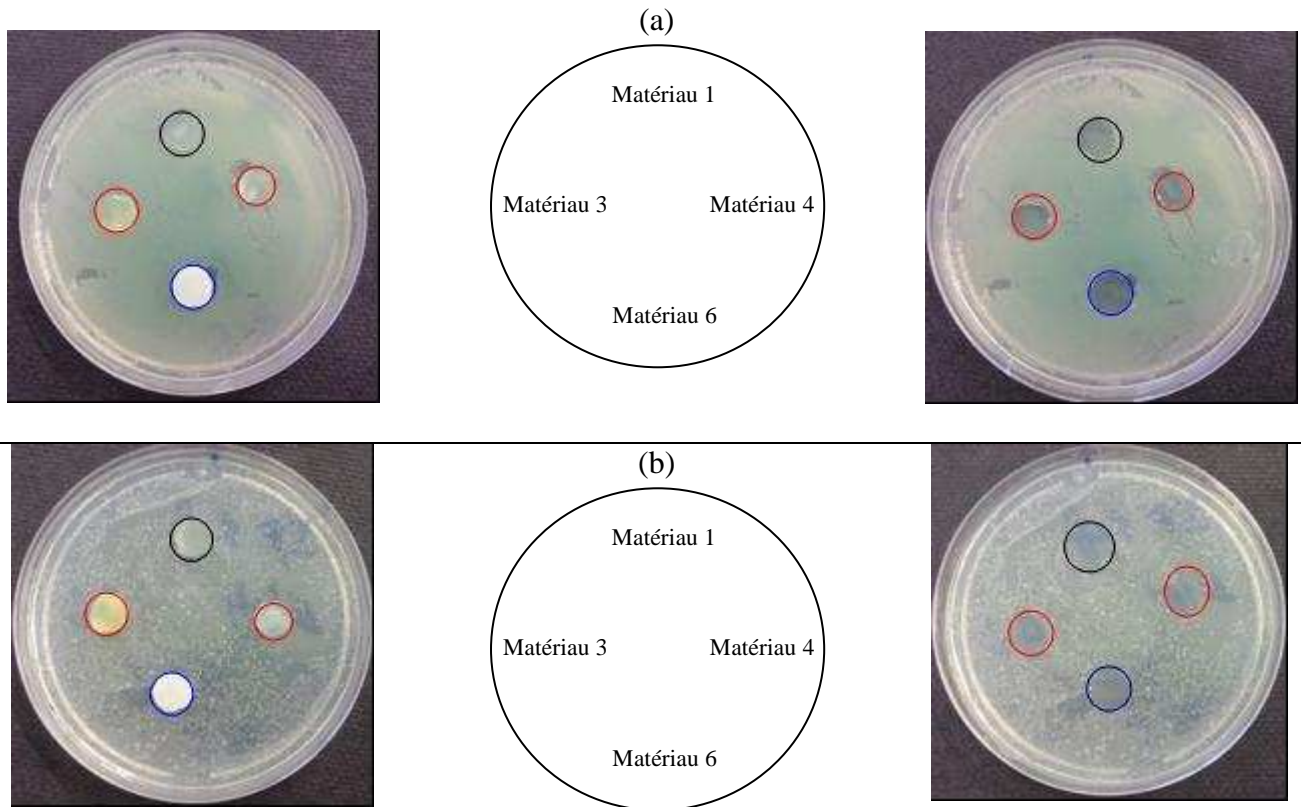


Figure 15 Mesure des zones d'inhibition réalisée sur (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis* après 24h d'incubation

Quelle que soit la bactérie utilisée, on n'observe pas d'halo d'inhibition autour des matériaux, ce qui signifie qu'il n'y a pas de phénomène de diffusion de l'agent antibactérien. De plus, lorsque les films sont enlevés de la gélose, la zone avec laquelle ils étaient en contact est transparente preuve d'une absence de croissance bactérienne. Après 48h d'incubation dans les mêmes conditions que précédemment, la plaque de gélose contenant *E. faecalis* montre une forte reprise de croissance sous le matériau 1 alors qu'elle est moindre pour les autres matériaux (Figure 16), indiquant que tous les matériaux présentent un effet inhibiteur de la croissance bactérienne, aussi appelé effet bactériostatique. Pour la plaque de gélose contenant *P. aeruginosa*, on n'observe pas de reprise de croissance après 48h d'incubation.

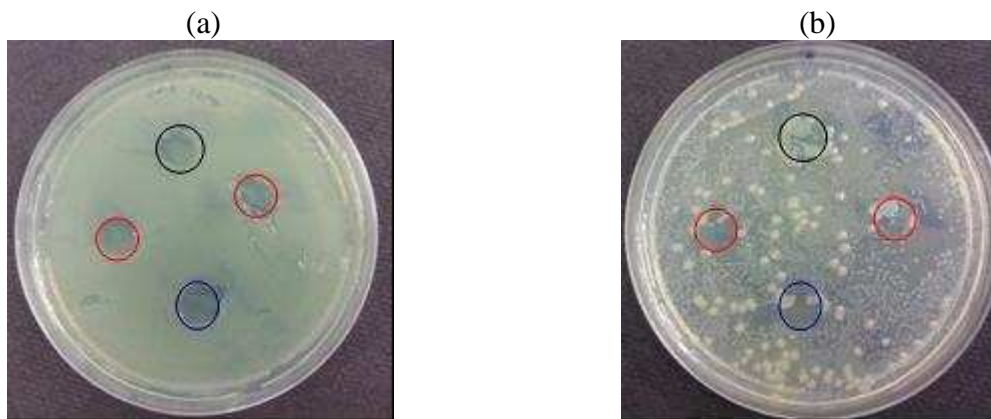
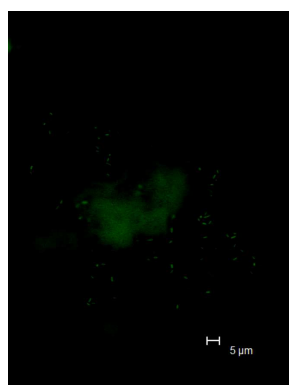


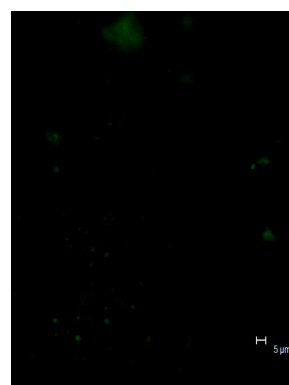
Figure 16 Observation après 48h d'incubation des boîtes sur lesquelles avaient été déposés les matériaux (a) *P. aeruginosa* et (b) *E. faecalis*

III.2.3. Test Live/Dead

La figure 17 présente les spectres d'émission des biofilms formés sur les matériaux PU avec ou sans Ag en contact avec *E. faecalis*, et marqués par les deux fluorophores du kit bacLight™. Comme le montrent les images, une coloration verte apparaît sur les polyuréthanes de référence (matériaux 1 et 2 non chargés). Dans le cas des matériaux 3, 4, 6 et 7, les bactéries sont majoritairement rouges, ce qui signifie que les nanoparticules d'argent ont endommagé l'intégrité des membranes cellulaires. Les mêmes résultats ont été obtenus avec *P. aeruginosa*.



Matériau 1



Matériau 2

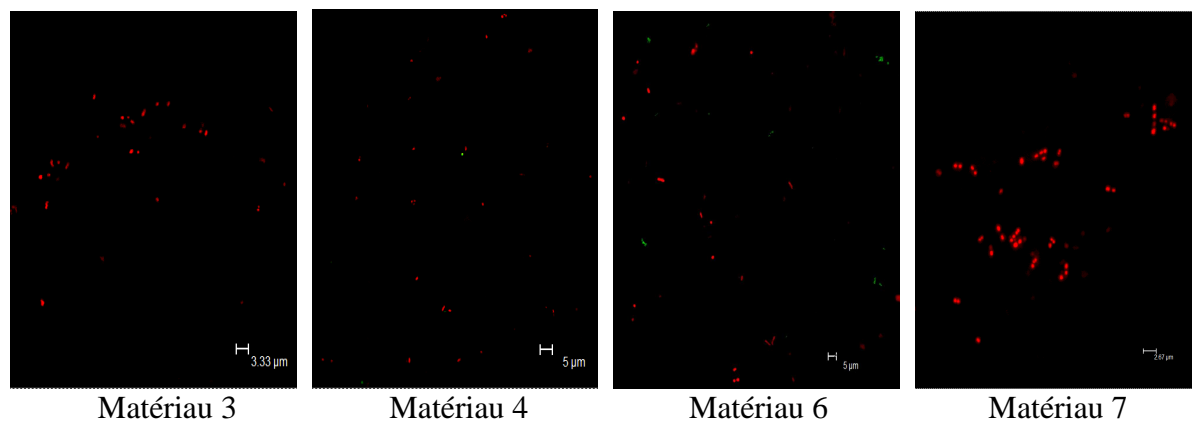


Figure 17 Photographies prises en Microscopie confocale de la surface des matériaux 1, 2, 3, 4, 6 et 7 vis-à-vis d'*E. faecalis*

Conclusion

Les travaux relatés au travers de ce chapitre ont permis d'élaborer cinq matériaux contenant des nanoparticules d'argent soit par une méthode ex situ d'introduction de nanoparticules d'argent au cours du procédé de synthèse d'un polyuréthane en dispersion aqueuse (matériaux 3, 4, 5 et 6), soit par réduction sous UV et in situ d'ions Ag^+ inclus dans une matrice polyuréthane (matériau 7).

La caractérisation physicochimique des composites formés a permis d'exclure la voie de synthèse ex situ consistant à incorporer la dispersion aqueuse de nanoparticules dans le PEG lors de la mise en dispersion du polyuréthane. En effet, la mauvaise dispersion du PEG conduit à la formation d'agrégats. En revanche, les autres matériaux montrent une bonne dispersion des particules d'argent à la surface des matériaux sans modification notable des propriétés intrinsèques de la matrice polyuréthane.

L'évaluation des propriétés antibactériennes des nanocomposites PU-Ag vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* a été réalisée. L'effet antibactérien des nanoparticules d'argent présentes dans le polymère a été confirmé et est d'autant plus marqué que la taille des nanoparticules est faible. Une concentration optimale de 35 ppm a par ailleurs été déterminée.

Références

- ¹ T. Tamai, M. Watanabe, T. Teramura, N. Nishioka, K. Matsukawa, Metal Nanoparticle/Polymer Hybrid Particles: The Catalytic Activity of Metal Nanoparticles Formed on the Surface of Polymer Particles by UV-Irradiation. *Macromol. Symp.* (2009), 282, 199.
- ² Y. Yagci, M. Sangermano, G. Rizza, A visible light photochemical route to silver–epoxy nanocomposites by simultaneous polymerization–reduction approach. *Polymer* (2008), 49, 5195.
- ³ A. Tyurin, G. De Filpo, D. Cupelli, F. P. Nicoletta, A. Mashin, G. Chidichimo. Particle size tuning in silver-polyacrylonitrile nanocomposites, *eXPRESS Poly. Let.*, 4 (2010), 71.
- ⁴ M. Uygun, M.U. Kahveci, D. Odaci, S. Timur, Y. Yagci, Antibacterial Acrylamide Hydrogels Containing Silver Nanoparticles by Simultaneous Photoinduced Free Radical Polymerization and Electron Transfer Processes. *Macromol. Chem. Phys.* 210 (2009), 1867.
- ⁵ M. Cocca et L. D'Orazio. Novel Silver/Polyurethane Nanocomposite by In Situ Reduction: Effects of the Silver Nanoparticles on Phase and Viscoelastic Behavior, *J. Poly. Sci. Part B: Poly. Phy.*, 46 (2008), 344.
- ⁶ K. H. Hong, J. L. Park, I. H. Sul, J. Youk, T. J. Kang. Preparation of Antimicrobial Poly(vinyl alcohol) Nanofibers Containing Silver Nanoparticles, *J. Poly. Sci.: Part B: Poly. Phy.*, 44 (2006), 2468.
- ⁷ K. Shameli, M. B. Ahmad, W. M. Zin Wan Yunus, A. Rustaiyan, N. A. Ibrahim, M. Zargar et Y. Abdollahi, Green synthesis of silver/montmorillonite/ chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity, 5 (2010), 875.
- ⁸ M. Humphries, J.F. Jaworzyn, J. B. Cantwell, A. Eakin. The use of non-ionic ethoxylated and propoxylated surfactants to prevent the adhesion of bacteria to solid surfaces, 42 (1987) 91.
- ⁹ H. Hung et S. Hsu, Biological performances of poly(ether)urethane–silver nanocomposites, *Nanotech.* 18 (2007), 475101.
- ¹⁰ Sardella E., P. Favia, R. Gristina, M. Nardulli, R. d'Agostino. Plasma-aided micro- and nanopatterning processes for biomedical applications, *Plasma Process. Polym.*, 3 (2006), 456.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse avait pour but d'élaborer des matériaux polyuréthanes à surfaces biocides par utilisation de nanoparticules d'argent en mettant en œuvre des procédés simples et respectueux de l'environnement et du manipulateur. Dans ce contexte, des procédés de synthèse en dispersion aqueuse ont été visés.

Ainsi, trois procédés d'obtention de dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent ont été développés dans un premier temps. Ils consistent en la réduction chimique d'ions Ag^+ en présence d'un agent stabilisant en milieu organique sous micro-ondes ou directement en milieu aqueux par contrôle du pH de la dispersion. Après transfert en phase aqueuse, nous avons ainsi obtenu des nanoparticules stabilisées par la PVP, l'acide gallique ou le PEG. Ces trois procédés simples et rapides ont conduit à des dispersions stables de nanoparticules sphériques de faible taille (5 à 35 nm) qui présentent un effet biocide avéré vis-à-vis des deux souches bactériennes étudiées : *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*. La concentration minimale inhibitrice de croissance bactérienne a été estimée à 35 μg d'Ag/mL.

Dans un deuxième temps, un polyuréthane en dispersion aqueuse (PUD) a été synthétisé. L'influence de la stœchiométrie des fonctions isocyanate et hydroxyle et de la quantité d'émulsifiant interne et de catalyseur sur les propriétés finales du polyuréthane a été caractérisée. Le matériau présentant les meilleures propriétés mécaniques a été retenu comme matériau de référence et son pouvoir bactéricide vis-à-vis des deux mêmes souches bactériennes a été caractérisé pour servir de témoin.

Des composites polyuréthane-argent ont ensuite été élaborés *via* deux procédés. Le premier procédé de synthèse, dit *ex situ*, a consisté à incorporer les dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent au cours du procédé de synthèse du PUD, soit lors de la phase de mise en dispersion du prépolymère à extrémités isocyanate, soit dès le début du procédé lors du mélange des monomères. Dans le second procédé, les nanoparticules d'argent ont été obtenues *in situ* par réduction sous UV d'ions Ag^+ préalablement introduits dans la matrice polyuréthane. Cette technique nous a permis d'obtenir des matériaux avec des nanoparticules d'argent de faible taille de l'ordre de 5 nm sans avoir besoin d'introduire un agent stabilisant.

L'évaluation des propriétés physicochimiques et biocides des matériaux obtenus par le procédé *ex situ* a permis d'en déduire les faits suivants :

- l'incorporation de la dispersion aqueuse de nanoparticules d'argent stabilisées par le

PEG se fait parfaitement si celle-ci est réalisée dès le début du procédé de synthèse du PUD. En effet, la présence des fonctions hydroxyle en extrémités de chaînes de PEG permet leur incorporation chimique dans les chaînes de polyuréthane lors de la réaction de polyaddition. En revanche, l'introduction de la dispersion de nanoparticules d'argent lors de la mise en dispersion du polyuréthane se traduit par la formation d'agrégats de taille micrométrique.

- pour les autres types de dispersions de nanoparticules d'argent, leur introduction peut parfaitement se faire lors de la mise en dispersion aqueuse du PU.

Par ailleurs, la comparaison des propriétés des matériaux obtenus selon les deux procédés ex situ et in situ révèle :

- une dispersion homogène de l'argent et l'absence de phénomène d'agrégation
- l'absence de variation notable des propriétés intrinsèques du PU pour des concentrations d'argent comprises entre 15 et 60 ppm. Les matériaux obtenus sont hydrophobes, présentent une Tg voisine de -30°C, une dégradation thermique qui débute vers 260°C et un faible gonflement dans l'eau. On peut, tout au plus, observer un léger effet bénéfique de la présence d'argent sur leur résistance à la traction
- un effet bactéricide comparable avec une concentration optimale en argent de 35 ppm.

Ces résultats nous permettent de faire ressortir les deux procédés d'élaboration de nanocomposites polyuréthane-argent les plus intéressants :

- le procédé ex situ dans lequel le PEG, utilisé comme agent réducteur et stabilisant des particules d'argent synthétisées sous micro-ondes, peut être incorporé dans les chaînes macromoléculaires de la matrice polyuréthane
- le procédé in situ qui offre l'avantage d'être extrêmement simple à mettre en œuvre et évite l'utilisation de tout composé chimique n'entrant pas dans la composition du polyuréthane autre que le nitrate d'argent.

De façon plus générale, l'utilisation de ces dispersions aqueuses de nanoparticules d'argent pourrait s'avérer particulièrement intéressante pour prévenir la colonisation bactérienne de matériaux obtenus, par exemple, à partir de latex de caoutchouc naturel.

ANNEXES

**ANNEXES : DESCRIPTION DES APPAREILLAGES ET TECHNIQUES
D'ANALYSE UTILISEES**

1. MESURE DES TAILLES DES PARTICULES
2. SPECTROSCOPIE INFRAROUGE
3. TESTS DE TRACTION
4. SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE
5. DIFFUSION DE LA LUMIERE QUASI-ELASTIQUE
6. ANALYSE ENTHALPIQUE DIFFERENTIELLE (DSC)
7. ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE (TGA)
8. ANGLE DE CONTACT
9. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE
10. MICROSCOPIE CONFOCALE

1. Mesure des tailles des particules

Cette mesure est réalisée à l'aide d'un corrélateur de photons (SEMATECH). L'appareil utilisé permet de faire de la diffusion quasi-élastique de la lumière, cela dans le but de déterminer le rayon des particules et leur distribution en taille dans un échantillon.

Le montage comprend un faisceau laser monochromatique polarisé verticalement ($\lambda = 532$ nm), un photomultiplicateur monté sur un goniomètre et un corrélateur.

Différents paramètres doivent être réglés afin d'obtenir une mesure correcte de la taille des particules :

- la concentration en particules
- le volume diffusant observé. Il faut jouer sur l'ouverture de la fenêtre du photomultiplicateur afin d'obtenir un bon rapport signal/bruit.

Un bon indicateur de la qualité de la mesure est la valeur du G_2 (coefficient d'autocorrélation numérique de l'intensité de diffusion). De bonnes mesures sont réalisées pour des valeurs comprises entre 1,4 et 2 (valeurs maximales données par la théorie d'autocorrélation). Une valeur supérieure peut traduire le passage d'une poussière dans l'échantillon.

Le temps d'échantillonnage est en général de :

- 3 μ s pour les petites particules (30 nm)
- 5 μ s lorsque le diamètre des particules est de l'ordre de 100 nm.

$F(\lim)$ et $F(t)$, respectivement valeur limite de la fonction d'autocorrélation et ordonnée de la fonction d'autocorrélation au temps t choisi, doivent être de l'ordre de 10^6 à 10^7 .

2. Spectroscopie infrarouge

Les spectres IRTF ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier Perkin Elmer Spectrum 2000 muni d'un système ATR (Attenuated Total Reflection) monoréflexion (type MKII, Specac).

Les produits sont placés sur une platine comportant une cellule carrée en diamant de 2 mm de côté. Une vis réglable en hauteur permet de maintenir la poudre contre la cellule de mesure.

Une mesure à blanc de l'air est effectuée avant chaque analyse. Une dizaine de scans est réalisée de 4000 à 600 cm^{-1} pour chaque spectre IRTF.

3. Tests de traction

Les tests de traction sont effectués sur des éprouvettes normalisées (longueur = 30mm, largeur = 10mm et épaisseur = 0,7mm) à l'aide d'une machine de traction Instron model 5543 composée de 2 traverses : l'une fixe et l'autre mobile. Lors des essais, la traverse mobile se déplace à vitesse constante (2 mm/min) et mesure la charge (en Newton) nécessaire pour conserver cette vitesse de déformation constante. Les données ainsi relevées sont envoyées vers le logiciel qui peut ainsi tracer les courbes de force / déformation.

Force et allongement dépendent à la fois des dimensions de l'éprouvette et du comportement intrinsèque du matériau. Il convient, pour éliminer les effets dimensionnels, de rapporter la charge F à la section initiale et l'allongement résultant, à la longueur initiale. On peut ainsi tracer la courbe traction : contrainte = $f(\text{déformation})$.

Détermination des paramètres mécaniques :

En pratique la charge de traction (F) appliquée à l'éprouvette est enregistrée en fonction du déplacement (Δl) de la traverse. De ces éléments sont déduits :

- les contraintes en traction (σ) : rapport de l'effort de traction sur l'unité de surface de la section transversale initiale de l'éprouvette (S_0),

$$\sigma = \frac{F}{S_0}$$

- les déformations (ou allongements) (ε) : rapport adimensionnel de l'allongement sur la longueur de référence de l'éprouvette (l_0).

$$\varepsilon\% = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100$$

La représentation de la contrainte σ en fonction de la déformation donne accès aux trois caractéristiques mécaniques principales :

- le module élastique en traction ou module d'Young E (exprimée en GPa) : valeur du module fournie par la pente à l'origine de la courbe contrainte – déformation :

$$E = \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{\Delta\sigma}{\Delta\epsilon}$$

- la contrainte à la rupture σ_{rupture} (exprimée en MPa) : contrainte en traction au moment de la rupture de l'échantillon,
- la déformation à la rupture $\epsilon_{\text{rupture}}$ (exprimée en %) : déformation correspondante à la valeur de σ_{rupture} .

4. Spectroscopie UV-Visible

Le spectrophotomètre UV-Visible utilisé est un Lambda 16 de Perkin Elmer double faisceau équipé d'une lampe deutérium et d'une lampe tungstène.

Les spectres d'absorption ont été réalisés entre 300 et 600 nm sur les dispersions de nanoparticules d'argent solubilisées dans l'acétonitrile pour des trajets optiques de 1 mm. La vitesse de balayage en longueur d'onde est de $60 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ et la référence est une cuve remplie d'acétonitrile.

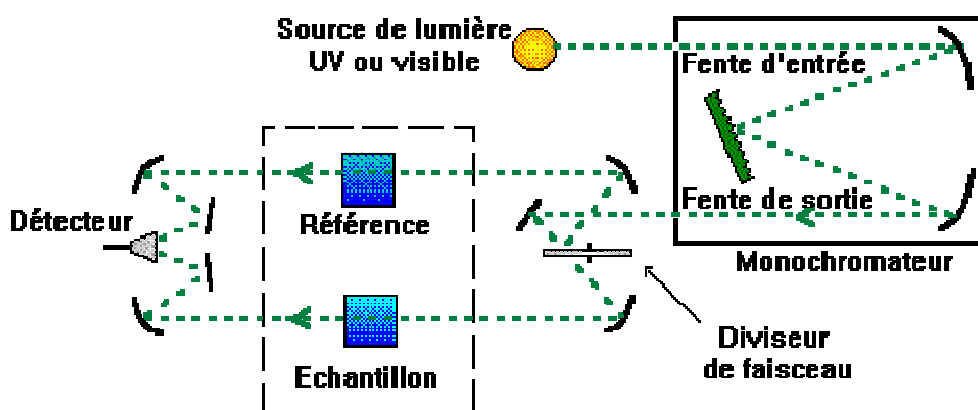


Figure 3 Principe de fonctionnement d'un spectromètre UV-visible

5. Diffusion de la lumière quasi-élastique

Pour une solution diluée de polymère soumise au rayonnement d'une lumière incidente, la diffusion quasi-élastique de la lumière correspond à une lumière diffusée de fréquence légèrement différente de la lumière incidente. Ce petit déplacement de la fréquence (effet Doppler) est dû à de légères variations locales de la concentration, elles-mêmes dues aux mouvements browniens des macromolécules.

Pour des solutions suffisamment diluées de molécules de dimensions négligeables devant la longueur d'onde, il n'y a pas de phénomènes coopératifs et les molécules peuvent être considérées comme indépendantes les unes des autres. L'intensité diffusée ne résulte alors que de la fonction d'autocorrélation qui lie les positions successives d'une même molécule soumise aux mouvements browniens.

L'information extraite à partir du photocourant (mesure de l'intensité diffusée) permet d'obtenir, grâce à un corrélateur, la fonction d'autocorrélation normalisée ($g^{(2)}(q, \tau)$) de l'intensité diffusée ($I(q, \tau)$) :

$$g^{(2)}(q, \tau) = \frac{\langle I(q, 0)I(q, \tau) \rangle}{\langle I(q, 0)^2 \rangle}$$

Lorsque la lumière est diffusée par un grand nombre de fluctuations indépendantes, le champ électrique obéit à une gaussienne, ainsi :

$$g^{(2)} = 1 + \alpha |g^{(1)}(\tau)|^2$$

où α est appelé mérite et traduit l'écart à une détection optimale ($\alpha=1$, surface de détection infiniment petite).

En solution diluée, pour un système de particules sphériques indépendantes et de petite taille, animées d'un mouvement aléatoire, la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée à un angle donné (θ), peut s'écrire sous la forme d'une exponentielle décroissante simple du temps :

$$g^{(1)}(q, \tau) = e^{-\tau/\tau_r}$$

avec $g^{(1)}(q, \tau)$: fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée

q : fonction d'angle telle que

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda_0} \sin \frac{\theta}{2}$$

τ : temps

τ_r : temps de relaxation caractéristique.

Le temps de relaxation est inversement proportionnel au coefficient de diffusion de translation (D_t) : $\frac{1}{\tau_r} = D_t q^2$.

Le coefficient de diffusion de translation dans le cas de particules dispersées dans un solvant homogène est alors donné par la relation de Stokes-Einstein :

$$D_t = \frac{k_b T}{3\pi \eta D_h}$$

avec k_b : constante de Boltzmann

T : température (K)

η : viscosité

D_h : diamètre hydrodynamique de la particule.

Ainsi la mesure de $g^{(2)}(q, \tau)$ permet de remonter au rayon hydrodynamique des particules en solution.

Caractéristiques de l'appareil utilisé :

Appareil : zétasizer nano zs (malvern instruments ltd united kingdom)

Longueur d onde : 632 nm

Solutions filtrées 0,45 μ m

Cuve de 1 mL en polystyrène

Méthode de calcul: les cumulants

Mesures exploitées en intensité

Dix mesures pour avoir l'écart type moyen

6. Analyse enthalpique différentielle (DSC)

L'appareil utilisé est un appareil TA Instruments DSC Q2000 (Figure 5). Le schéma du système est donné Figure 6. Le principe de mesure de la DSC à flux de chaleur est basé sur la mesure de différence des flux de chaleur échangés entre l'échantillon et la référence.



Figure 5 Appareil DSC Q2000

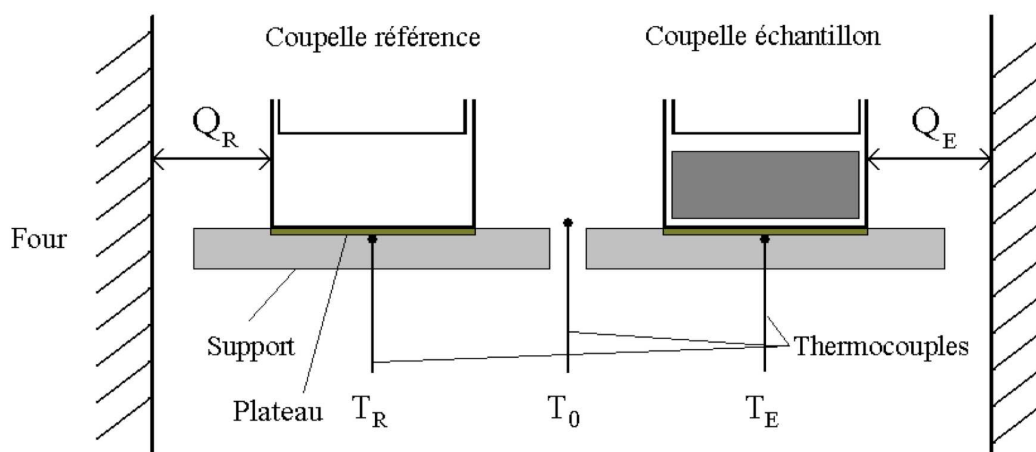


Figure 6 Principe de l'appareil DSC utilisé

Lorsque le four subit une rampe linéaire ascendante ou descendante en température, les températures T_E de l'échantillon et T_R de la référence sont mesurées grâce à des thermocouples fixés en dessous des plateaux supportant les coupelles. La température T_0 du four est mesurée grâce à un thermocouple placé entre les deux coupelles. Les flux de chaleur Q_R et Q_E échangés entre le four et respectivement la référence et l'échantillon sont ainsi calculés. Le signal tracé en sortie est obtenu par la différence des flux de chaleur Q_R et Q_E entre l'échantillon et la référence.

Le refroidissement du bloc est assuré par un système permettant d'atteindre -90°C . L'étalonnage en température et en énergie a été effectué avec pour standard l'indium ($T_f = 156,6^\circ\text{C}$ et $\Delta H_f = 28,45 \text{ J.g}^{-1}$).

Toutes les analyses ont été réalisées sous azote ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) avec des prises d'essai variant de 6 à 15 mg.

7. Analyse thermogravimétrique (TGA)

Un appareil TA Instrument Q500 a été utilisé (Figure 7). Il est composé de deux éléments principaux : une microbalance très sensible couplée à un four régulé en température. La microbalance est capable de détecter une variation de $0,1 \mu\text{g}$ pour une capacité maximale de 1,3 g. L'échantillon est placé dans une coupelle en platine et le fléau maintient le plateau en équilibre via un courant proportionnel à la masse supportée.

La température est régulée entre 30°C et 1000°C avec des montées en température jusqu'à $200^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Un thermocouple à proximité de l'échantillon assure un suivi de la température et régule la puissance de chauffage. L'étalonnage a été effectué avec de l'Alumel et du Nickel dont les points de Curie sont respectivement de 163°C et 358°C .

Toutes les analyses ont été réalisées entre 30 et 600°C avec une vitesse de montée en température fixée à $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sous azote ($20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), avec des prises d'essai variant de 5 à 15 mg.



Figure 7 Appareil TGA Q500

8. Angle de contact

Les mesures d'angle de contact ont été effectuées à l'aide d'un appareil Digidrop de GBX Instruments. La mesure repose sur les principes suivants.

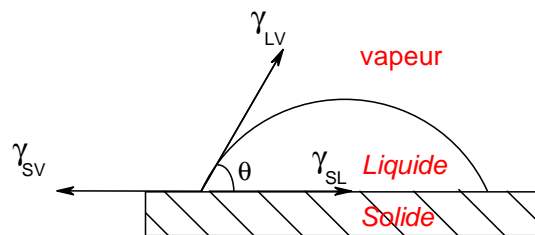
Lorsqu'une goutte d'un liquide est déposée sur une surface, celle-ci tend à prendre la forme la plus condensée, c'est-à-dire sphérique. Toutes les molécules liquides exercent sur la surface une force verticale dirigée vers l'intérieur du matériau. Ainsi, le liquide est en équilibre avec la surface.

Cette force est appelée tension superficielle et est définie comme la variation d'enthalpie libre (G) mise en jeu pour accroître la surface d'une unité de surface (S) :

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial S} \right)_{T,P} \text{ et est exprimée en } \text{N.m}^{-1} \text{ ou } \text{mJ.m}^{-2}$$

Pour une surface parfaitement plane, la relation fondamentale décrivant la forme de la goutte est décrite par la relation d'Young. Ainsi, en considérant l'équilibre thermodynamique d'une goutte de liquide sur un solide parfaitement lisse, homogène, non déformable et horizontal en présence de vapeur saturée du liquide, on obtient :

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} - \gamma_{LV} \cos \theta$$



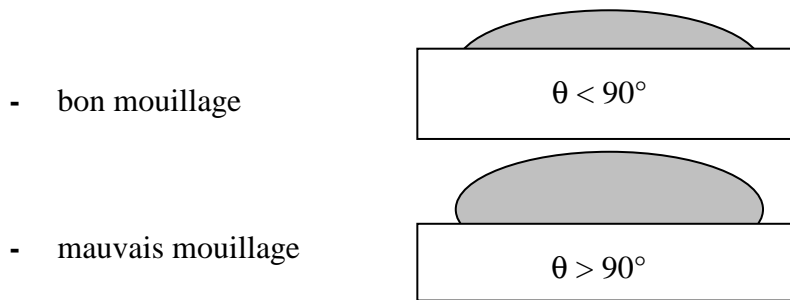
avec :

- γ_{SV} : énergie de surface du solide en présence de la vapeur du liquide,
- γ_{LV} : énergie libre de surface du liquide ($\gamma_{LV} = \gamma_L$ car liquide toujours entouré de sa propre vapeur)
- γ_{SL} : énergie interfaciale solide-liquide.

Ainsi, selon la tension superficielle de la surface, on pourra observer trois cas :

- mouillage total (cas idéal)

$\theta = 0^\circ$



Par cette méthode, on peut déterminer la tension superficielle des différentes plaques métalliques. Pour cela, on dépose sur ces plaques des liquides de polarités différentes :

- l'eau, d'énergie totale $\gamma_L = 72,8 \text{ mJ/m}^2$ et qui se décompose en la somme de deux énergies, $\gamma_L^d = 21,8 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma_L^{nd} = 51 \text{ mJ/m}^2$,
- l'éthylène glycol, d'énergie totale $\gamma_L = 48,3 \text{ mJ/m}^2$ et qui se décompose en la somme des deux énergies $\gamma_L^d = 29,3 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma_L^{nd} = 19 \text{ mJ/m}^2$,
- le diiodométhane, d'énergie totale $\gamma_L = 49,8 \text{ mJ/m}^2$ et qui se décompose en la somme des deux énergies $\gamma_L^d = 48,5 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma_L^{nd} = 1,3 \text{ mJ/m}^2$.

Puis à l'aide de la méthode de Kaelble, Owens, Wendt, il est possible de connaître les composantes polaire et dispersive des différentes plaques étudiées (formule ci-après).

$$\frac{\gamma_L (1 + \cos \theta)}{2\sqrt{\gamma_L^d}} = \sqrt{\gamma_S^d} + \sqrt{\gamma_S^{nd}} \times \sqrt{\frac{\gamma_L^{nd}}{\gamma_L^d}} \quad \text{OU} \quad \begin{array}{l} \text{nd : non dispersif, polaire} \\ \text{d : dispersif, apolaire} \end{array}$$

9. Microscope électronique à balayage (MEB)

L'appareil utilisé est un Hitachi S800 FEG. Il permet de travailler avec une résolution de 2 nm à 30 kV pour une distance de travail de 5 mm, des tensions d'accélération possibles de 1 à 30 kV. Les électrons rétrodiffusés sont détectés avec un détecteur Robinson.

Le MEB est couplé avec un système de microanalyse EDX exploité par les logiciels IDFix et MaxView de SamX. Détection de tous les éléments à partir du bore.



Figure 8 MEB Hitachi S800 FEG

10. Microscopie confocale

L'appareil utilisé est un microscope confocal droit TCS SP2 AOBS avec un statif DM RXA-2UV et une lampe Hg 50W.

Caractéristiques techniques :

- Objectifs: x63(oil)
- Raies laser: 405, 458, 476, 488, 514, 543, 594 et 633 nm.
- Modules de post-acquisition: Multicolor, Materials Package, Physiology et 3D visualization.

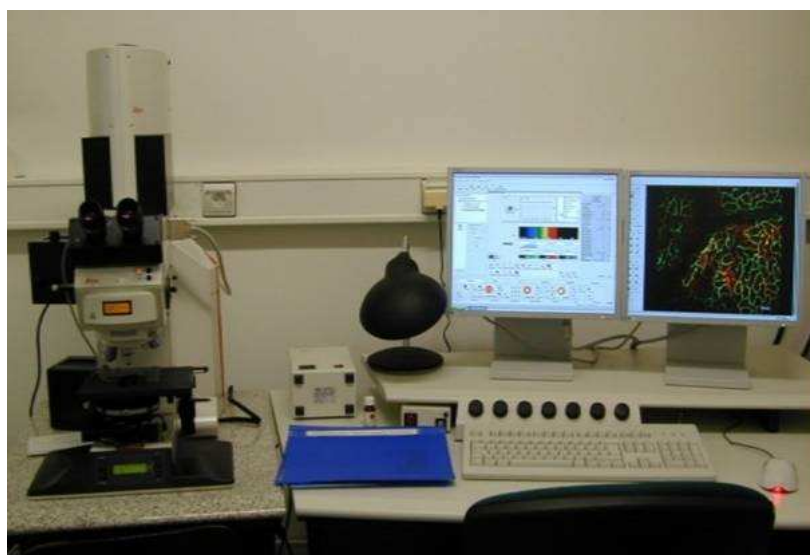


Figure 9 Microscope confocal droit TCS SP2 AOBS