

## Remerciements

On tient à remercier en premier Dieu le tout puissant de nous avoir aidés à réaliser ce travail en nous donnant la force, le courage, et la volonté.

On remercie chaleureusement notre promotrice, Madame GHEBACHE Z., Maître de conférences classe (B) à l'université USTHB d'Alger de nous avoir proposé ce travail et de n'avoir jamais lésiné à nous prodiguer conseils et assistance pour la bonne conception et l'achèvement de celui-ci.

On est très reconnaissantes à notre Co-promotrice Madame KHALDI N., Maître assistante classe (A) à l'université M. MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO) pour son précieux apport dans notre cursus et pour sa précieuse contribution à notre formation.

On adresse également notre reconnaissance à Madame BELMAHDI L., Maître assistante classe (A) à l'université M. MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO) pour nous avoir accordée de son temps, et l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury.

On tient à remercier Madame DERRIDJ F., Maître de Conférences classe (A) à l'université M. MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO) d'avoir accepté de siéger dans ce jury et d'avoir consacré une partie de son temps à examiner ce travail.

On tient à remercier également Madame TOUZOUIRT S., Maître de Conférences classe (B) à l'université M. MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO) pour son précieux apport dans notre cursus et d'avoir aimablement accepté d'être membre du jury.

On exprime nos vifs remerciements à Monsieur MATI A., et HOUALI K., pour leur collaboration.

Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire, Samia DERMECHE, Djouza SALMI, et en particulier Mme Nassima BOUADJLA pour son aide et son soutien. A Madame MAKHLOUFI pour son aide en spectroscopie UV-VISIBLE.

C'est une grande opportunité qui nous a été offerte ici afin de remercier nos familles pour avoir toujours été derrière nous. A nos papas et nos mamans pour leur compréhension, leur amour inconditionnel et leur support moral et intellectuel. A nos frères et sœurs qui nous ont toujours soutenus et encouragés. A nos Maris notre source de bonheur. On ne serait pas ce qu'on est sans ce que vous nous avez offert. On vous aime.

Au terme de ce travail, on tient à exprimer toute notre gratitude à ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à son élaboration.

ABED Lina et ISSELNANE Selma

## Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

**Introduction générale..... 1**

### **Chapitre I : Etude bibliographique**

I. Introduction.....	2
II. Nanocomposites.....	2
II. 1. Du composite au nanocomposite.....	2
II. 2. Classification des nanocomposites.....	3
II. 2. 1. Classification suivant la nature de la matrice.....	3
II. 2. 2. Classification suivant la forme de nanocharge (renfort).....	3
II. 3. Elaboration des nanocomposites à matrice polymérique.....	4
Polymérisation in situ.....	4
III. Les polymères conducteurs.....	5
III. 1. Généralités.....	5
III. 2. Types des polymères conducteurs.....	5
III. 2.1. Polymères conducteurs extrinsèques.....	5
III. 2.2. Polymères conducteurs ioniques.....	5
III. 2.3. Polymères conducteurs intrinsèques.....	5
III. 3. Matrice polymérique conductrice.....	7
III. 3.1. La polyaniline.....	7
III. 3.2. Dopage de la polyaniline par un acide solide « la zéolithe HY ».....	8
IV. Nano-oxydes.....	9
IV.1. Mécanisme antibactérien.....	9
IV.2. Applications des nano-oxydes dans le domaine microbiologique.....	10

### **Chapitre II : Partie expérimentale**

I. Introduction.....	11
II. Protocole expérimental et matériels utilisés.....	11
II.1. Protocole expérimental.....	11
II.2. Matériels Utilisés.....	11
II.3. Méthodes Utilisées.....	13
II.3.1. Synthèse de la poly (aniline) dopée par HCl.....	13
II.3.2. Synthèse de la poly (aniline) dopée par zéolithe HY.....	14
II.3.3. Synthèse de poly (aniline) dopée par HY et charge par la nanoparticule de ZnO à (5%, 10%, 20%).....	16

III. Techniques de caractérisations.....	17
III.1. Spectroscopie infrarouge IR.....	17
III.2. Spectroscopie UV-visible.....	17
IV. Etude microbiologique.....	17

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

I. Caractérisations.....	20
I.1.Caractérisation par spectroscopie infrarouge (FTIR) .....	20
I.1. Caractérisation par spectroscopie UV-visible.....	21
II. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	23
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>31</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>32</b>

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Désignation</b>
<b>%</b>	Pourcentage
<b>µg/ml</b>	Micro gramme par millilitre
<b>° C</b>	Degrés Celsius
<b>Al</b>	Aluminium
<b>APS</b>	Persulfate d'ammonium
<b>BHIB</b>	Brain-heart infusion broth
<b>DMF</b>	N, N-Diméthylformamide
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>E. coli</b>	Escherichia coli
<b>FTIR</b>	Fourier Transform Infrared spectroscopy
<b>G</b>	Gramme
<b>h</b>	Heure
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>HY</b>	Zéolithe acide solide
<b>IR</b>	Infrarouge
<b>M</b>	Mol par litre
<b>MH</b>	Muller Hinton
<b>ml</b>	Millilitre
<b>ml /s</b>	Millilitre par seconde
<b>MMC</b>	Metal matrix composites
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>NH<sub>4</sub></b>	Ammonium
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>NMP</b>	N-Méthyl-2-pyrrolidone
<b>O</b>	Oxygène
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>PANI</b>	Polyaniline
<b>PANI-EB</b>	Éméraldine base
<b>PANI-LEB</b>	Polyaniline leucoéméraldine
<b>PANIPNGB</b>	Polyaniline pernigraniline
<b>Pseudo</b>	Pseudomonas eruginosa

<b>S. aureus</b>	Staphylocoque doré
<b>S.cm<sup>-1</sup></b>	Siemens par centimètre
<b>Si</b>	Silicium
<b>SiO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de Silicium
<b>TiO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de Titane
<b>T-O-T</b>	Liaisons Ti-O-Ti et Si-O-Si
<b>UV-Vis</b>	Ultraviolet visible
<b>Zn<sup>2+</sup></b>	Ion de Zinc
<b>ZnO</b>	Oxyde de zinc

## Liste des figures

<i>Figures</i>	<i>Titre</i>	<i>Pages</i>
<b>Figure I. 1:</b>	Représentation schématique d'un matériau composite.....	2
<b>Figure I. 2:</b>	Classification des nanocomposites selon la géométrie du renfort.....	3
<b>Figure I. 3:</b>	Schéma de la formation du nanocomposites PANI-ZnO.....	4
<b>Figure I. 4:</b>	Processus du dopage chimique réversible.....	6
<b>Figure I. 5:</b>	Formulation générique des différentes formes de polyaniline .....	7
<b>Figure I. 6:</b>	Mécanisme de polymérisation de l'aniline.....	8
<b>Figure I. 7:</b>	Formation du sel d'éméraldine par dopage acide.....	9
<b>Figure II. 1:</b>	Protocole expérimental.....	11
<b>Figure II. 2:</b>	Schéma du montage de la synthèse de la PANI dopée par HCl.....	13
<b>Figure II. 3:</b>	Evolution de la couleur de la solution pendant la réaction de polymérisation.....	13
<b>Figure II. 4:</b>	Réaction de synthèse de la PANI dopée par HCl.....	14
<b>Figure II. 5:</b>	Organigramme de synthèse des PANI dopée par zéolithe HY.....	14
<b>Figure II. 6:</b>	Schéma de la désammonisation de la zéolithe NH <sub>4</sub> Y à température programmée.....	15
<b>Figure II. 7:</b>	Schéma d'un antibiogramme.....	19
<b>Figure III. 1:</b>	Superposition comparative des spectres de PANI/HCl, PANI / HY, PANI/ 5HY/5 ZnO, PANI/5HY /10 ZnO, PANI/5HY/20 ZnO et ZnO.....	20
<b>Figure III. 2:</b>	Spectre UV-visible de PANI/HY, PANI/HY/ZnO 5%, PANI/HY/ZnO 10 %, PANI/HY/ZnO 20% dans le NMP.....	22
<b>Figure III. 3:</b>	L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMF : (A) E. Coli, (B) Staphylococcus cereus, (C) Bacillus cereus, (D) Pseudomonas eruginosa.....	25
<b>Figure III. 4:</b>	L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le NMP : (A) E. Coli, (B) Staphylococcus cereus, (C) Bacillus cereus, (D) Pseudomonas eruginosa.....	25
<b>Figure III. 5:</b>	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions en (mm) dans le DMF.....	26
<b>Figure III. 6:</b>	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions en (mm) dans le NMP.....	26
<b>Figure III. 7:</b>	L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMSO : (A) E. Coli (B) Klebsiella pneumoniae (S197), (C) Klebsiella pneumoniae (1216), (D) Klebsiella pneumoniae (2042). [CN : Contrôle négatif, (S1) : PANI/DMSO, (S2) : PANI/HY/DMSO].....	29
<b>Figure III. 8:</b>	L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMSO et DMF: (A) E. Coli, (B) Klebsiella pneumoniae (S197), (C) Klebsiella pneumoniae (1216), (D) Klebsiella pneumoniae (2042). [CN : Contrôle négatif, (S3) : PANI/HY/ZnO 5%/DMSO, (S4) : PANI/DMF].....	29
<b>Figure III. 9:</b>	L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMF: (A) E. Coli, (B) Klebsiella pneumoniae (S197), (C) Klebsiella pneumoniae (1216), (D) Klebsiella pneumoniae (2042). [CN : Contrôle négatif, (S5) : PANI/HY/DMF, (S6) : PANI/HY/ZnO 5%/DMF].....	30

## Liste des tableaux

<i>Tableaux</i>	<i>Titre</i>	<i>Pages</i>
<b>Tableau II. 1:</b>	Produits chimiques et milieux de cultures utilisés.....	11
<b>Tableau II. 2:</b>	Souches bactériennes utilisées.....	12
<b>Tableau III. 1:</b>	Bandes caractéristiques obtenues par spectroscopie FTIR.....	21
<b>Tableau III. 2:</b>	Les différentes transitions d'absorptions de PANI/HY, PANI/HY/ZnO 5%, PANI/HY/ZnO 10 %, PANI/HY/ZnO 20% dans le NMP.....	22
<b>Tableau III. 3:</b>	Diamètre d'inhibition de la gentamycine sur les différentes souches bactériennes.....	23
<b>Tableau III. 4:</b>	Activité antibactérienne des composés dans le DMF.....	23
<b>Tableau III. 5:</b>	Activité antibactérienne des composés dans le NMP.....	24
<b>Tableau III. 6:</b>	Activité antibactérienne dans le DMSO.....	28
<b>Tableau III. 7:</b>	Activité antibactérienne dans le DMF.....	28



*Introduction générale*

Les nanotechnologies sont aujourd'hui un phénomène de société au niveau mondial. Diverses structures nanométriques sont apparues au cours des deux dernières décennies, parmi celles-ci on trouve principalement les nanocomposites basés sur l'association de polymères conducteurs et d'oxydes de métaux.

Afin d'améliorer leurs propriétés, ils sont généralement mélangés à d'autres matériaux pour former des composites constitués d'une matrice polymère chargée par des renforts, notamment les oxydes de métaux tel que l'oxyde de zinc et suscitent un formidable intérêt depuis peu dans le domaine microbiologique grâce aux mécanismes antibactériens conférés par les oxydes métalliques.

Ainsi, le travail de ce mémoire porte sur la synthèse des nanocomposites à base de polyaniline dopée par un acide solide (zéolithe HY) en utilisant différents pourcentages d'oxyde de zinc comme charge, et sur l'étude antibactérienne de ces nanocomposites.

Le premier chapitre de ce travail est consacré à une étude bibliographique des nanocomposites, dans laquelle nous ferons un état de l'art sur les matériaux mis en jeux tels que les polymères conducteurs comme matrice polymérique, et les oxydes de métaux comme charge.

Le deuxième chapitre de ce travail est consacré aux protocoles utilisés pour la réalisation des synthèses, et de l'étude de l'activité antibactérienne ainsi que les différentes méthodes de caractérisations telles que la FTIR et l'UV-visible.

Le troisième chapitre sera consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à leur interprétation puis nous terminerons par une conclusion.



*Chapitre I : Etude bibliographique*

## I. Introduction

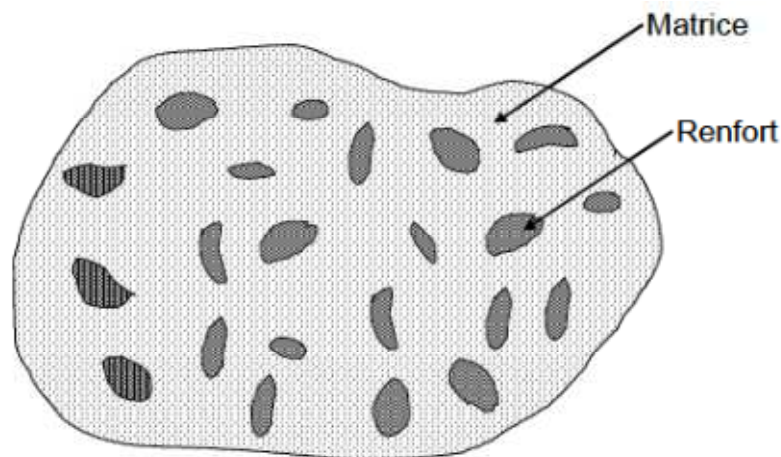
L'objectif de ce chapitre est de présenter les nanocomposites polymères conducteurs organiques–inorganiques.

La synergie entre les polymères conducteurs et les oxydes métalliques conduit à l'obtention de nanocomposites avec de nouvelles fonctionnalités permettant leur utilisation dans de nouvelles applications telle que la microbiologie.

## II. Nanocomposites

### II. 1. Du composite au nanocomposite

Un matériau composite est constitué dans le cas le plus général d'une ou plusieurs phases discontinues, appelées renforts réparties dans une phase continue appelée matrice. Dans le cas de plusieurs phases discontinues de natures différentes, le composite est dit hybride (Figure I.1) <sup>[1]</sup>.



**Figure I.1 :** Représentation schématique d'un matériau composite

Aujourd'hui, les enjeux économiques pour le développement des performances de ces matériaux sont multiples et touchent déjà de nombreux domaines d'applications comme celui de la construction, des transports, de l'emballage alimentaire, des articles de sport, du textile, et l'électronique (composants électrique, circuit électriques) ainsi que le domaine microbiologique <sup>[2]</sup>.

Un nanocomposite est défini comme un composite dont l'une des phases aura au moins une dimension de l'ordre du nanomètre (1-100 nm) <sup>[3]</sup>.

## II. 2. Classification des nanocomposites

Les nanocomposites peuvent être classés selon la nature de la matrice, et ou la taille du ou des renfort(s) dans la matrice :

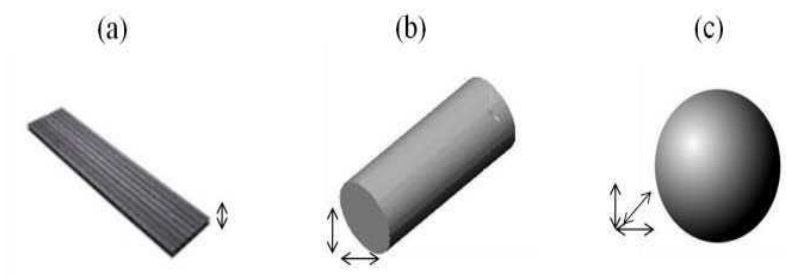
### II. 2. 1. Classification suivant la nature de la matrice

On peut appliquer la classification classique des nanocomposites suivant la nature de la matrice, dans l'ordre croissant de la température d'utilisation <sup>[4]</sup> :

- Composites à matrice organique ou polymérique (200 à 300 °C) ;
- Composites à matrice métallique (600°C) ;
- Composites à matrice céramique (1000°C).

### II. 2. 2. Classification suivant la forme de nanocharge (renfort)

Dans la définition admise des nanocomposites, les renforts doivent avoir au moins une de leurs dimensions morphologiques inférieure à 100 nm et donc peuvent être classés en fonction de leur géométrie (figure I.2) <sup>[5]</sup>.



**Figure I.2** : Classification des nanocomposites selon la géométrie du renfort.

**a. Nanocharge à une dimension nanométrique (feuillets) :** (Avec une dimension de l'ordre du nanomètre et deux autres de l'ordre du micromètre) <sup>[6]</sup> ;

**b. Nanocharge à deux dimensions nanométriques (nanofibres) :** (Avec deux dimensions de l'ordre du nanomètre et la troisième est très largement plus grande) <sup>[7]</sup> ;

**c. Nanocharge à trois dimensions nanométriques (nanoparticules) :** Ce sont des charges dont les trois dimensions sont de l'ordre du nanomètre.

### II. 3. Elaboration des nanocomposites à matrice polymérique

La préparation des nanocomposites est d'une importance considérable pour les propriétés visées ; parmi lesquelles on distingue la préparation à l'état fondu qui repose sur le mélange de la matrice polymérique à l'état fondu avec les charges<sup>[8]</sup>, en solution dont le principe repose sur la possibilité de disperser le renfort dans un solvant dans lequel le polymère est soluble<sup>[9]</sup>, et celle que nous avons utilisé dans notre étude la polymérisation in situ qui sera d'avantage développée.

#### Polymérisation in situ

Cette méthode consiste à synthétiser des nanocomposites par polymérisation du monomère après dispersion des charges dans celui-ci. Dans notre étude nous avons utilisé de l'aniline comme monomère (matrice) et l'oxyde de zinc comme charge (renfort). Cette méthode est communément considérée comme conduisant à des nanocomposites de qualité plus contrôlée (Figure I.3)<sup>[10]</sup>.



Figure I.3 : Schéma de la formation du nanocomposites PANI-ZnO

### **III. Les polymères conducteurs**

#### **III. 1. Généralités**

Depuis les travaux d'A.J. Heeger, A.G. MacDiarmid et H. Shirakawa<sup>[11]</sup> en 1977, lauréats du prix Nobel de chimie en 2000, les polymères organiques conjugués font l'objet de recherches intensives. Ils ont montré qu'il est possible après certaines modifications qu'un polymère puisse devenir conducteur.

Pour ce faire, le polymère doit être conjugué, c'est-à-dire que la chaîne principale du polymère doit comporter alternativement des liaisons simples et multiples de plus il doit être dopé.

Après leur recherche sur le polyacétylène, de nouveaux polymères ont été étudiés tels que le polythiophène, polypyrrole et la polyaniline qui sont les plus utilisés en raison de leur stabilité dans l'air<sup>[11]</sup>.

#### **III. 2. Types des polymères conducteurs**

Il existe trois principaux types de polymères conducteurs :

##### **III.2.1 Polymères conducteurs extrinsèques**

Les polymères conducteurs extrinsèques sont appelés également composites conducteurs, ils sont constitués d'une matrice composée d'un polymère isolant dans laquelle est dispersée une poudre conductrice constituée soit de particules métalliques finement divisées, soit des polymères conducteurs intrinsèques<sup>[12]</sup>.

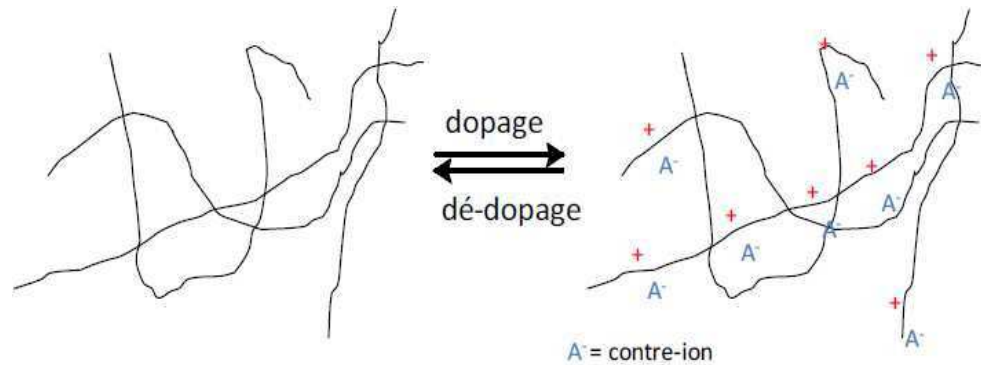
##### **III.2.2 Polymères conducteurs ioniques**

Les polymères conducteurs ioniques sont des polymères organiques, par ailleurs isolants électroniques, les charges sont transportées par des ions. Les oxydes de polyéthylène, dans lesquels est dissout un sel de lithium, ont été utilisés comme électrolytes solides pour la première fois par Michel Armand dès les années 80<sup>[13]</sup>.

##### **III.2.3 Polymères conducteurs intrinsèques**

Ils sont composés d'une conjugaison de liaison qui permet l'établissement d'un réseau  $\pi$  délocalisé, responsable de la conductivité électrique qui est causé principalement par l'ajout de charges.

Par analogie avec les semi-conducteurs inorganiques, on appelle dopage le processus qui consiste à introduire ces charges dans la chaîne polymérique pour obtenir un état conducteur. Le dopage des polymères  $\pi$ -conjugués peut se résumer en une réaction d'oxydation ou de réduction, et dans certains cas, en une réaction acido/basique. Le dopage redox peut alors être de type n ou de type p selon qu'on introduit des charges négatives ou positives (Figure I.4) [14].



**Figure I.4 :** Processus du dopage chimique réversible

### III.2.3.1 Principe du dopage

Les polymères conjugués ont un caractère isolant ou semi-conducteur, leur conductivité variant entre  $10^{-7}$  et  $10^{-11}$  S.cm<sup>-1</sup> lorsqu'ils ne sont pas dopés. Dopés, leur conductivité peut varier entre 1 et  $10^5$  S.cm<sup>-1</sup> et peuvent atteindre celle d'un conducteur métallique.

Il existe deux principales méthodes de dopage des polymères conducteurs :

#### a. Dopage chimique

Les polymères conjugués sont des isolants à l'état neutre, mais ils peuvent être dopés par l'ajout d'un réactif chimique qui oxyde ou réduit le système, le rendant ainsi conducteur de type p ou de type n par extraction ou injection d'électrons.

#### b. Dopage électrochimique

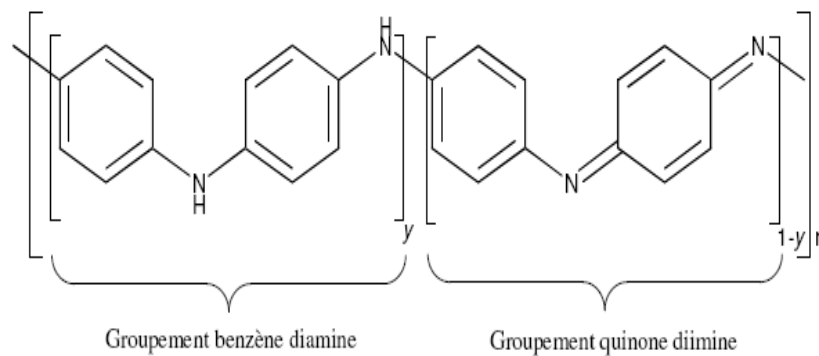
Le dopage électrochimique a été utilisé pour parvenir à doper partiellement et de manière homogène un polymère conducteur. Dans ce type de dopage, l'électrode injecte la charge redox dans le polymère conducteur, alors que les ions diffusent à travers la structure polymérique de l'électrolyte pour compenser la charge électronique.

### III.3 Matrice polymérique conductrice

#### III.3.1. La poly(Aniline)

La poly (aniline) est l'un des polymères semi-conducteurs intrinsèques les plus intéressants vue sa stabilité environnementale, sa facilité de préparation et ses propriétés électriques, optiques et électrochimiques intéressantes. C'est un des rares polymères semi-conducteurs qui peut être dopé/dédopé par traitement acido-basique <sup>[15]</sup>.

La polyaniline existe sous trois différentes formes selon son degré d'oxydation (Figure I.5).



**Figure I.5 :** Formulation générique des différentes formes de polyaniline :  
 $y=1$  leucoéméraldine (PANI-LEB),  $y=0.5$  Emeraldine (PANI-EB),  $y=0$  pernigraniline (PANI-PNGB).

Le mécanisme de polymérisation de l'aniline est étudié par différents auteurs <sup>[16]</sup>. La polymérisation commence par l'oxydation du monomère en un cation-radical stabilisé par résonance.

Un couplage radical-radical ou radical-monomère conduit ensuite à la formation d'un dimère après une déprotonation (Figure I.6). Le processus se répète sur le dimère pour former des oligomères et des chaînes de poly (aniline) <sup>[17]</sup>.

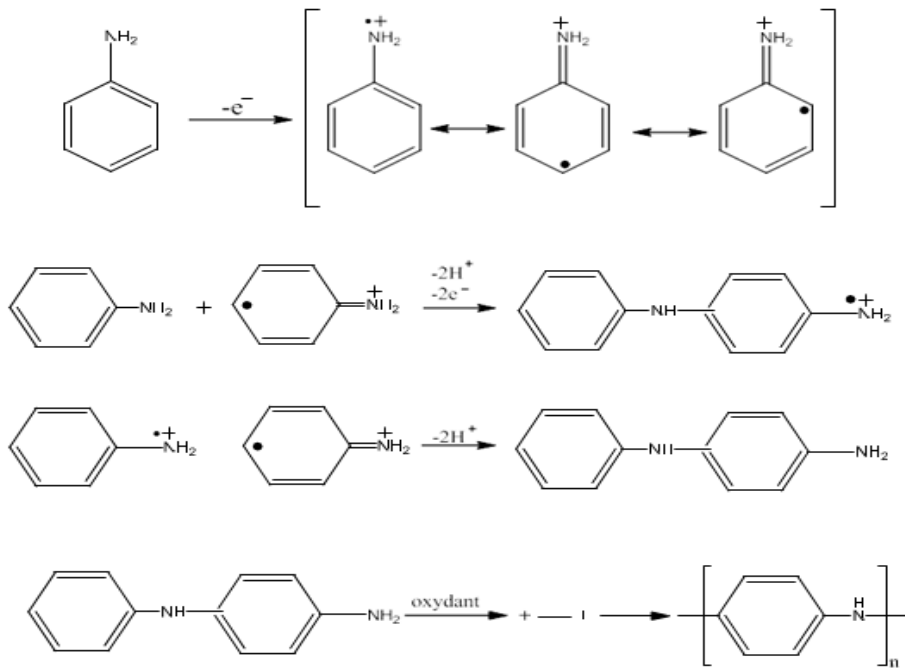


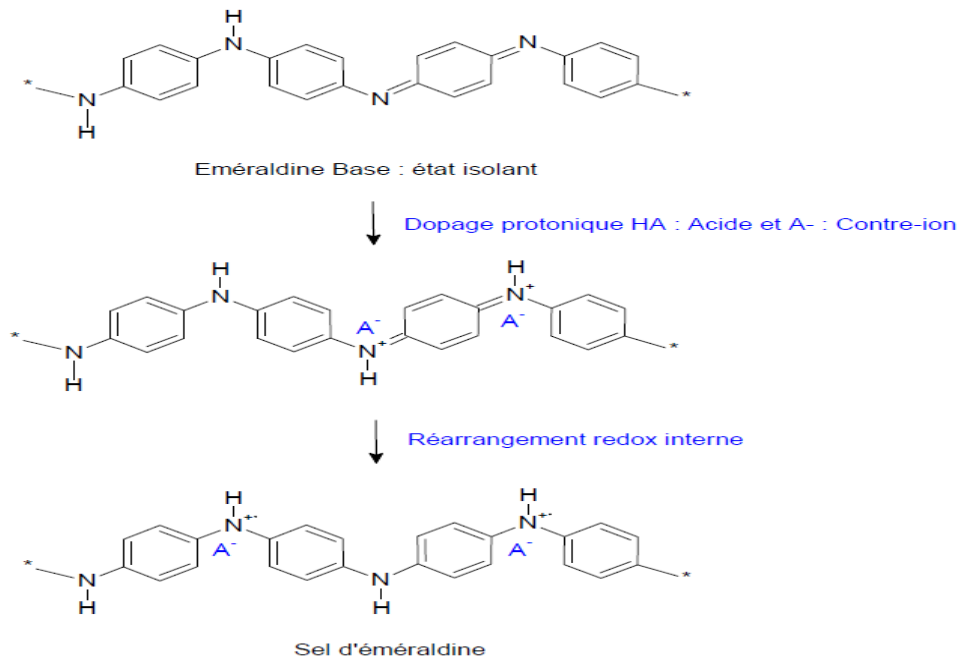
Figure I.6 : Mécanisme de polymérisation de l'aniline

### III.3.2. Dopage de la polyaniline par un acide solide « la zéolite HY »

Comme dans le cas des autres polymères conducteurs, le dopage de la PANI est généralement obtenu par des réactions d'oxydoréduction. Toutefois, la plus grande particularité de la PANI est qu'elle peut être également dopée par réaction avec certains acides de Lewis ou par simple protonation de la forme émeraude base par un acide de Brönsted.

Les zéolithes sont des aluminiums silicatés utilisés comme catalyseurs, diffuseurs de substrats, sédiments, régulateurs thermiques, réservoirs de stockages, filtres, échangeurs d'ions ainsi qu'agents dopants. En plus de ces propriétés énumérées, le facteur déterminant du choix des zéolithes est le facteur écologique, car elles sont une alternative plus propre et respectueuse de l'environnement.

Le dopage acide de la PANI peut être réalisé lors de sa synthèse. Le milieu étant acide, les deux processus se font simultanément. Ce dopage s'effectue sans modification du nombre d'électrons  $\pi$  ni de l'état d'oxydation de la chaîne, seules les orbitales de ces électrons sont modifiées. Le sel d'émeraude ainsi obtenu est le même que dans le cas du dopage redox (Figure I.7).



**Figure I.7 :** Formation du sel d'émeraldine par dopage acide

## IV. Nano-oxydes

L'incorporation de nanomatériaux dans les composites permet d'apporter de nouvelles fonctionnalités ou de modifier leurs propriétés. D'un point de vue chimique, il existe deux grandes catégories de nanoparticules qui diffèrent par leur composition : les nanoparticules organiques à base d'atomes de carbone, telles le noir de carbone, les nanoparticules de polymères ou les nanomicelles et les nanoparticules inorganiques de composition métallique comme les oxydes de métaux (TiO<sub>2</sub>, ZnO, SiO<sub>2</sub>) [18].

### IV.1. Mécanisme antibactérien

L'activité antibactérienne est un mécanisme qui fait intervenir des cellules vivantes. Ces dernières étant fonctionnelles et en constante évolution, le mode d'action des agents antibactériens reste difficile à déterminer. Particulièrement, le mécanisme antibactérien du ZnO soulève de vives discussions dans la littérature.

Les principales hypothèses énoncées sont données ci-dessous :

- **Actions des forces interactives entre les bactéries et les oxydes métalliques (ZnO)**

Dans la littérature, on retrouve que les forces électrostatiques sont impliquées dans l'attraction entre les bactéries et les oxydes métalliques <sup>[19]</sup> <sup>[20]</sup>. Stoimenov et al. <sup>[21]</sup> ont proposé qu'une adhésion électrostatique entre les nanoparticules d'oxydes métalliques et les bactéries induise la mort directe de ces dernières par rupture de la membrane cytoplasmique.

- **Action abrasive des nanoparticules de ZnO**

Padmavathy et al. <sup>[22]</sup> ont rapporté que le caractère abrasif de la surface des nanoparticules de ZnO est responsable de la désorganisation de la paroi bactérienne et de la membrane cytoplasmique de *Escherichia coli*.

- **Action des ions dissous (Zn<sup>2+</sup>)**

Raghupathi et al. <sup>[23]</sup> ont trouvé qu'il y avait une très faible quantité de Zn<sup>2+</sup> dans la suspension aqueuse de ZnO, et l'activité antibactérienne était également plus importante dans la suspension contenant les nanoparticules que dans celle filtrée. Ainsi, ils ont déduit que l'activité antibactérienne du ZnO était principalement due aux nanoparticules de ZnO.

### **IV.2. Applications des nano-oxydes dans le domaine microbiologique <sup>[24]</sup> :**

- ✓ Utilisés comme agents antibactériens dans les produits de cosmétique, ou dans les emballages et additifs alimentaires ;
- ✓ Utilisés comme pansements anti bactériens par exemple : Acticoat®, Actisorb Silver® et Silverlon® ;
- ✓ Masques chirurgicaux contenant des nanoparticules d'argent ont été fabriqués et testés et 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 ;
- ✓ Gel bactéricide pour les mains, dentifrice, Déodorants (Shiseido), savon (Nanogist – Nanover™) et Spray pour chaussures (Simplicity).



*Chapitre II : Partie expérimentale*

## I. Introduction

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire des masters chimie pharmaceutiques ainsi qu'au laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou.

## II. Protocole expérimentale et matériels utilisés

### II.1. Protocole expérimental

Le protocole expérimental a été élaboré comme suit (Figure II.1) :

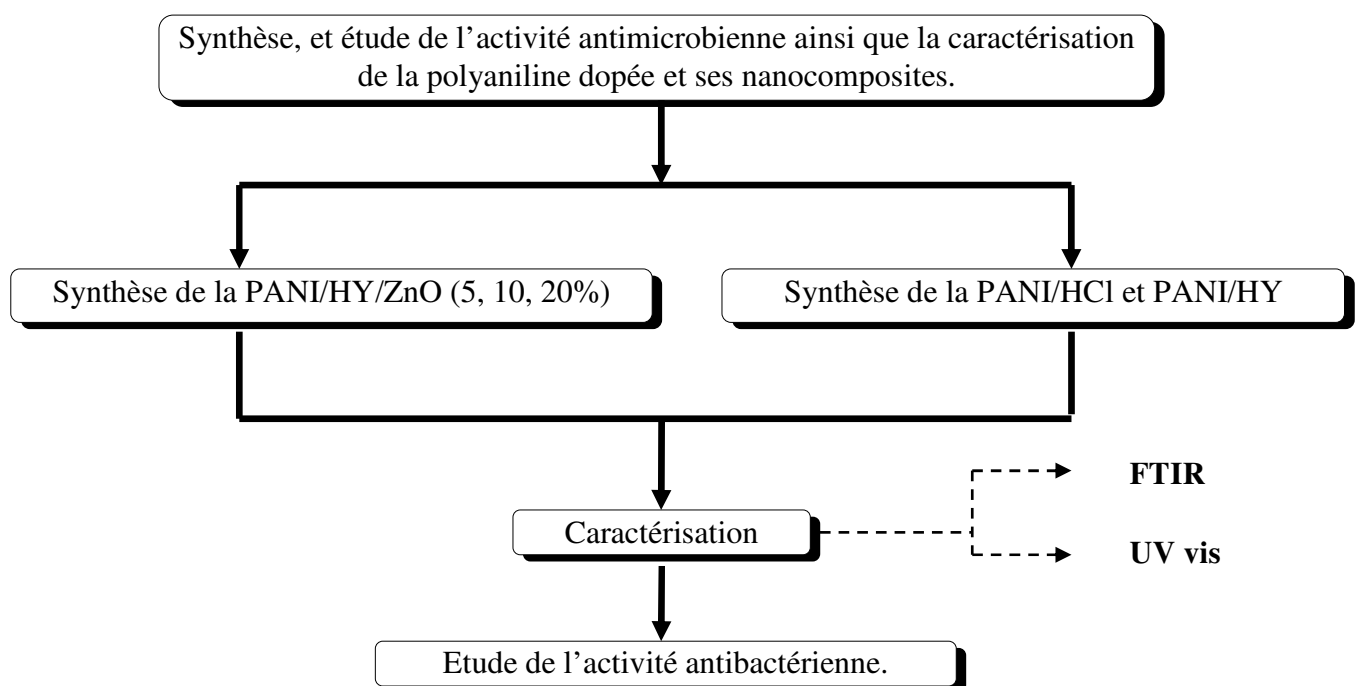


Figure II.1 : Protocole expérimental

### II.2. Matériels Utilisés

#### 1) Produits chimiques et milieux de cultures utilisés :

Produits	Formule chimique/ utilisation	Aspect
Zéolithe NH <sub>4</sub> Y	Na <sub>1</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>52,33</sub> Al <sub>53,33</sub> Si <sub>138, 67</sub> O <sub>384</sub>	Solide
Aniline	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N	Liquide
Acide chlorhydrique	HCl	Liquide
Persulfate d'ammonium	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Solide

Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Liquide
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	Liquide
Oxyde de Zinc	ZnO	Solide
Le diméthyl sulfoxyde	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS	Liquide
Le N, N-diméthyl formamide	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO	Liquide
La N-méthyl-2-pyrrolidone	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	Liquide
Milieu Mueller-Hinton (MH)	Repiquage des souches et Antibiogramme	Solide
Brain-heart infusion broth	Milieu de revivification	Liquide

**Tableau II.1 : Produits chimiques et milieux de cultures utilisés**

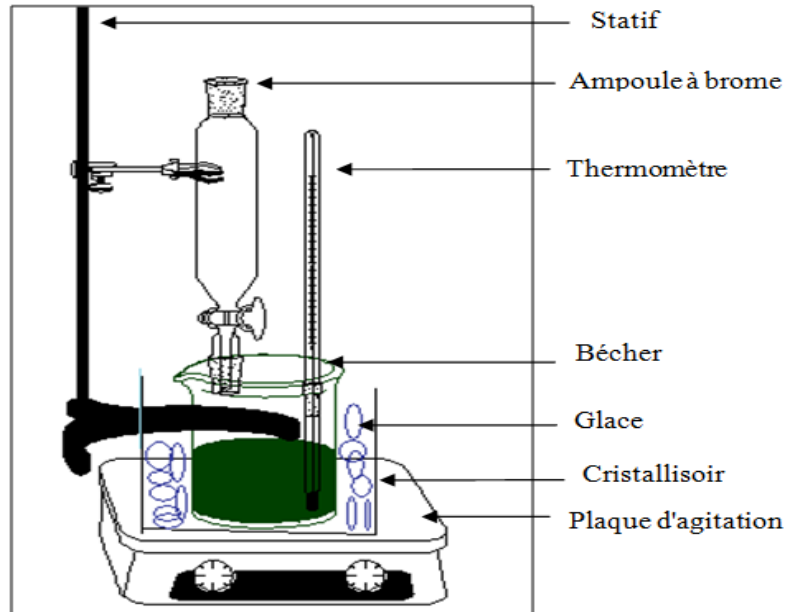
- 2) **Souches bactériennes utilisées :** Les souches bactériennes utilisées sont des espèces Gram négatives ou Gram positives, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme :

Nom de la bactérie	Espèce	Provenance
Escherichia coli (ATCC190522)	Gram négatif	FSBSA Tizi-Ouzou
Staphylococcus aureus (ATCC43300)	Gram positif	FSBSA Tizi-Ouzou
Pseudomonas eruginosa (ATCC27853)	Gram négatif	FSBSA Tizi-Ouzou
Bacillus cereus	Gram positif	FSBSA Tizi-Ouzou
Klebsiella pneumoniae (S197)	Gram négatif	CHU Tizi-Ouzou
Klebsiella pneumoniae (1216)	Gram négatif	CHU Tizi-Ouzou
Klebsiella pneumoniae (2042)	Gram négatif	CHU Tizi-Ouzou

**Tableau II.2 : Souches bactériennes utilisées**

### II.3. Méthodes Utilisées

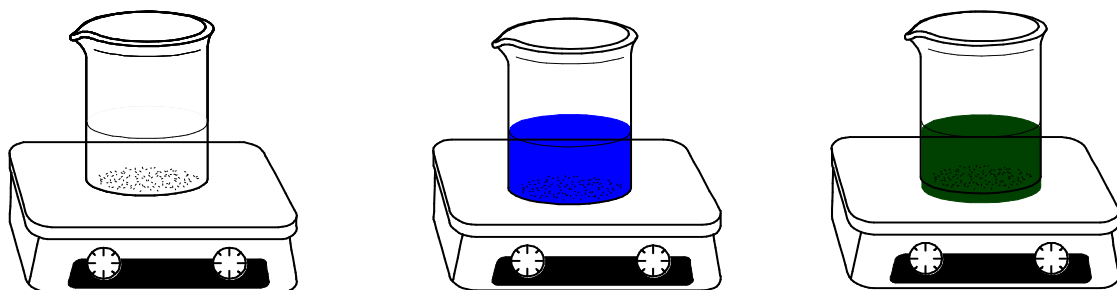
#### II.3.1. Synthèse de la poly (aniline) dopée par HCl



**Figure II.2 :** Schéma du montage de la synthèse de la PANI dopée par HCl

Dans un béccher on mélange 0,05 mole (4,65g) d'aniline dans 100 ml de HCl à 0,1M et on laisse la solution sous agitation mécanique à température ambiante pendant 30 minutes.

On baisse la température à  $-10^{\circ}\text{C}$  et on ajoute, goutte à goutte, la solution oxydante préparée dans un rapport de concentration  $[\text{oxydant}]/[\text{Aniline}] = 1,15$ . Le pH de la solution est aux alentours de 1. Après 1h20 d'agitation, on constate un changement de couleur de la solution vers le bleu puis la formation d'une solution colloïdale d'un précipité vert foncé.

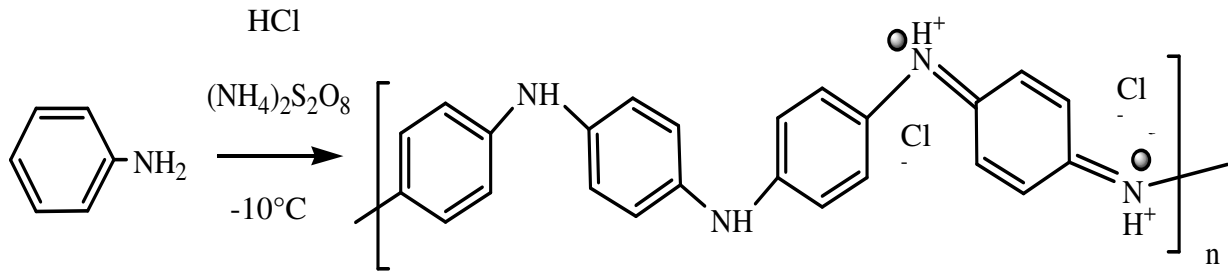


**Figure II.3:** Evolution de la couleur de la solution pendant la réaction de polymérisation

Après 4 heures d'agitation, on laisse la solution précipiter pendant 24 h dans un réfrigérateur. La poudre de PANI-HCl (éméraldine sel) est récupérée par filtration sous vide

et le filtras est par la suite lavé avec HCl 1M, puis au méthanol et enfin avec de l'eau distillée jusqu'à ce que l'eau de lavage atteigne le PH = 7 afin d'éliminer les oligomères pouvant être présents, puis on sèche la poudre obtenue dans une étuve à 80°C pendant 3 jours. Le rendement R de la réaction est alors de l'ordre de 99 %.

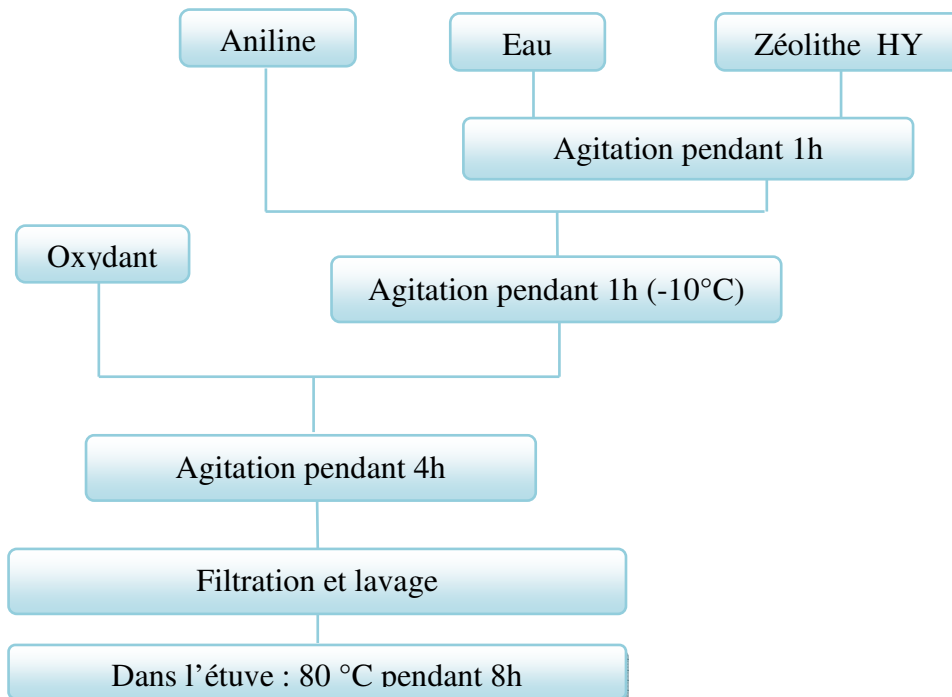
La réaction générale de cette synthèse est représentée dans la Figure II .4 <sup>[25]</sup>.



**Figure II.4 :** Réaction de synthèse de la PANI dopée par HCl

### II.3.2. Synthèse de la poly (aniline) dopée par zéolithe HY

L'enchaînement des différentes étapes de la polymérisation de PANI/HY est représenté par l'organigramme suivant (Figure II.5):



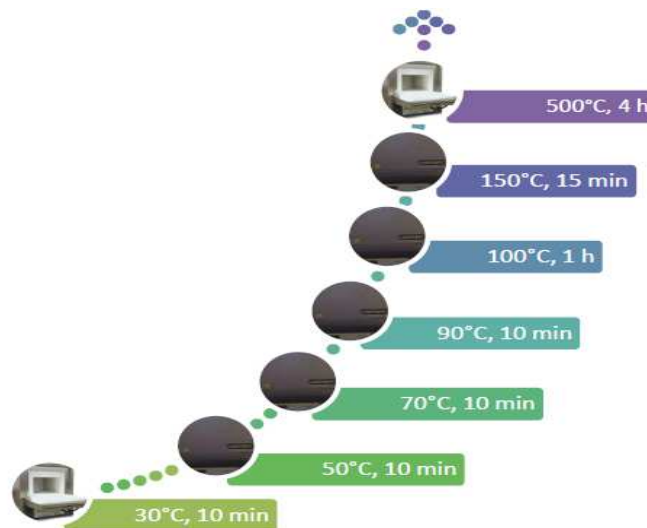
**Figure II.5 :** Organigramme de synthèse des PANI dopée par zéolithe HY

Tout d’abord la zéolithe HY est préparée à partir de la zéolithe de base CBV 500 (NH<sub>4</sub>Y), fournie sous forme ammoniacale.

La formule chimique a été établie sur la base des données du fournisseur (SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,2 ; Na<sub>2</sub>O = 0,2 %) et sur l’hypothèse que le nombre de silicium et d’aluminium par maille est de 192. La formule chimique de la maille, ayant un rapport Si/Al de 2,6 ; est la suivante :



Afin d’éliminer toute la quantité d’ammoniac présente dans la zéolithe une désammonisation en four à moufle de type Heraeus est mise au point. Pour cela, de 2 g de zéolithe NH<sub>4</sub>Y sont chauffés jusqu’à 500 °C, par paliers, avec une vitesse de 2 °C/min, sous un débit d’azote de 1 ml/s. Un temps de maintien de 1 heure à 100 °C est nécessaire pour permettre une élimination maximale de l’eau sans risque de désalumination. Le traitement de NH<sub>4</sub>Y par paliers de température est le suivant (Figure II.6) :



**Figure II.6 :** Schéma de la désammonisation de la zéolithe NH<sub>4</sub>Y à température programmée

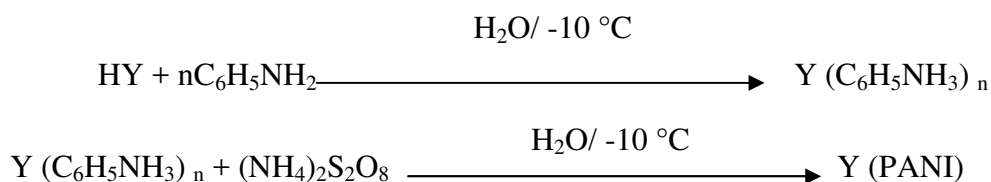
Ce profil de température est choisi d’après les travaux antérieurs effectués dans le laboratoire des systèmes pyrotechniques de l’EMP <sup>[26]</sup> La réaction globale de désammonisation est la suivante :



Après refroidissement total du four, l’échantillon d’aspect visuel semblable à celui de NH<sub>4</sub>Y est retiré. La polymérisation est initiée par l’injection, goutte à goutte, de la solution

oxydante préparée en utilisant un rapport molaire [oxydant] / [monomère] =1,15. Les rendements des réactions étant compris entre 97 % et 99 %.

La réaction générale de synthèse de la PANI dopée par zéolithe HY est la suivante <sup>[27]</sup>.



### **II.3.3. Synthèse de poly (aniline) dopée par HY et chargé par la nanoparticule de ZnO à (5%, 10%, 20%)**

Nous avons synthétisé la PANI/ HY/ ZnO par polymérisation in-situ, à partir d'une solution contenant l'aniline, la zéolithe et le persulfate d'ammonium (oxydant), en utilisant un rapport molaire [oxydant] / [monomère] =1,15. La polymérisation est faite d'après les étapes suivantes :

- 1- Dissolution de l'aniline, zéolithe HY et ZnO séparément dans l'eau distillée pendant 1h.
- 2- Mélange en suspension de la zéolithe HY avec la solution d'aniline pendant 30 min.
- 3- Mélange en suspension de la solution de ZnO avec la solution d'aniline et la solution de HY pendant 30 min.
- 4- Ajout de la solution APS goutte à goutte à la solution aniline + HY+ ZnO avec agitation pendant 4h.
- 5- Après 4h d'agitation, on laisse la solution pendant une nuit dans un endroit sombre.
- 6- La solution obtenue est filtrée, après lavage par le méthanol et l'eau distillée puis nous avons séché les poudres pendant 48h dans l'étuve.

Les différents pourcentages de ZnO sont calculés par rapport à la masse de l'aniline :

- Pour 5% de ZnO :  $m_{\text{anilines}} * 5/100 = 4.65 \text{ g} * 5/100 = 0.23\text{g}$  de ZnO ;
- Pour 10 % de ZnO :  $m_{\text{anilines}} * 10/100 = 4.65 \text{ g} * 10/100 = 0.46\text{g}$  de ZnO ;
- Pour 20% de ZnO :  $m_{\text{anilines}} * 20/100 = 4.65 \text{ g} * 20/100 = 0.93\text{g}$  de ZnO.

### **III. Techniques de caractérisations**

#### **III.1. Spectroscopie infrarouge IR**

Cette méthode de caractérisation fournit des informations sur les liaisons en surface, les impuretés, les porteurs de charges libres et la qualité des interfaces.

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau <sup>[28]</sup>.

#### **III.2. Spectroscopie UV-visible**

La spectroscopie UV-Vis fait intervenir dans sa gamme les transitions entre état d'énergie électronique. Les molécules d'un groupe peuvent occuper plusieurs niveaux vibrationnels, qui ne sont séparés que par de faibles variations énergétiques, un tel groupe de molécules subit la même transition électronique, il se produit des variations simultanées d'état vibrationnel entraînant des absorptions énergétiques diverses produisant une raie spectrale. L'ensemble de ces raies donnent naissance à une bande d'absorption. Les analyses ont été enregistrées en solution dans le NMP au moyen d'un spectromètre UV-vis thermo scientifique 64606/SDMM/12 au sein du LPCM de l'UMMTO.

### **IV. Etude microbiologique**

#### **1. Préparation des milieux de cultures**

Pour préparer ce milieu il faudra peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau distillée. La gélose obtenue sera homogénéisée par chauffage sous agitation mécanique, jusqu'à dissolution totale. Enfin une stérilisation à l'autoclave est nécessaire avant utilisation.

#### **2. Préparations des solutions**

Des solutions de 150 µg/ml ont été préparées par dilution des solutions mères des différents composés : PANI/HCl, PANI/HY, PANI/HY/ZnO 5%, PANI/HY/ZnO 10% et PANI/HY/ZnO 20% dans différents solvants DMSO, DMF et NMP par la méthode des dilutions régi par la loi :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

**Où:**

$C_1$  : représente la concentration de la solution initiale

$V_1$  : représente le volume de la solution initiale

$C_2$  : représente la concentration de la solution finale

$V_2$  : représente le volume de la solution final

### **3. Evaluation de l'activité antibactérienne**

#### **a. Repiquage des espèces bactériennes sur milieu nutritif**

Le repiquage des espèces bactériennes consiste à une revivification des cellules préalablement conservées dans un état latent à  $-18^\circ\text{C}$ . Cette méthodes consiste à incuber les bactéries dans un bouillon nutritif (BHIB) à  $37^\circ\text{C}$  pendent 18h.

#### **b. Préparation des milieux de culture Mueller-Hinton**

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose. Des boîtes de Pétri contenant 15 ml du milieu gélosé Mueller-Hinton en surfusion sont laissées solidifiées et séchées à une température de  $37^\circ\text{C}$  pendent 24h. Cela nous indique aussi l'absence de contamination sur le milieu gélosé.

#### **c. Repiquage des espèces bactériennes sur gélose Mueller-Hinton**

Une fois que les bactéries sont revivifiées, après 18h d'incubation à  $37^\circ\text{C}$ , nous allons les ensemençer à l'aide d'une anse en platine dans les boites de pétri contenant le milieu gélosé Mueller-Hinton, afin d'avoir une culture jeune de 18h à 24h en phase exponentielle de croissance.

#### **d. Préparation et standardisation de l'inoculum**

Après incubation, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique stérile, bien homogénéisées, leur opacité doit être équivalente à une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à une concentration de  $10^6$  à  $10^7$  germes/ml.

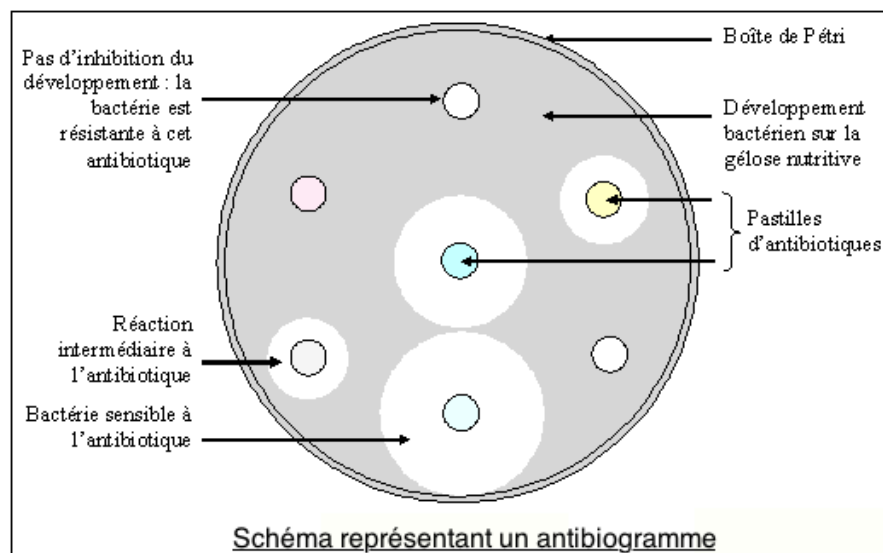
L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

**e. Antibiogramme**

100 µl de la suspension bactérienne standardisée ont été étalées uniformément avec un râtelier à la surface du milieu gélosé MH. Des disques stériles en papier Wattman (6mm de diamètre) ont été imprégnés respectivement avec 10 µl de différentes solutions préparées puis déposés délicatement au centre de la gélose MH. Chaque essai a été répété trois fois :

- Le témoin négatif est représenté par les différents solvants utilisés ;
- Le témoin positif est représenté par l'antibiotique utilisé.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C/24heures :



**Figure II.7 :** Schéma d'un antibiogramme <sup>[29]</sup>

**f. Lecture des résultats**

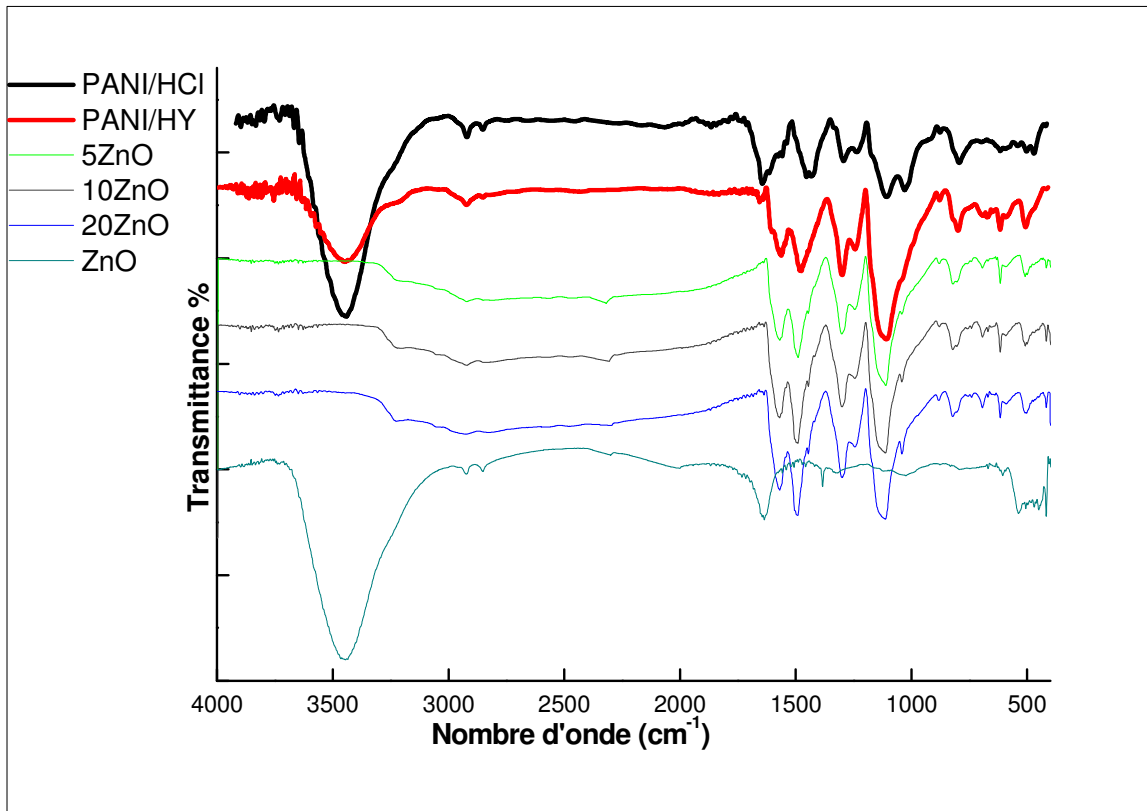
L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des disques. Le diamètre de ces zones d'inhibitions inclut le diamètre du disque.

*Chapitre III : Résultats et  
discussion*

## I. Caractérisation

### I.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

L'analyse par spectroscopie FTIR des nanocomposites est effectuée sur des pastilles KBr (1 mg/100 mg de KBr). La figure III.1 nous montre les spectres obtenus :



**Figure III.1:** Superposition comparative des spectres de PANI/HCl, PANI / HY, PANI/5HY/5 ZnO, PANI/5HY /10 ZnO, PANI/5HY/20 ZnO et ZnO

Nous avons constaté l'apparition de tous les pics caractéristiques des groupements fonctionnels de la PANI, de la zéolithe et du ZnO.

À partir de l'incorporation de la HY, il y a apparition des bandes caractéristiques de la zéolithe ainsi que l'augmentation des bandes caractéristiques de ZnO avec l'augmentation du pourcentage de ZnO. Par ailleurs, les bandes caractéristiques sont relevées dans le tableau III.1 :

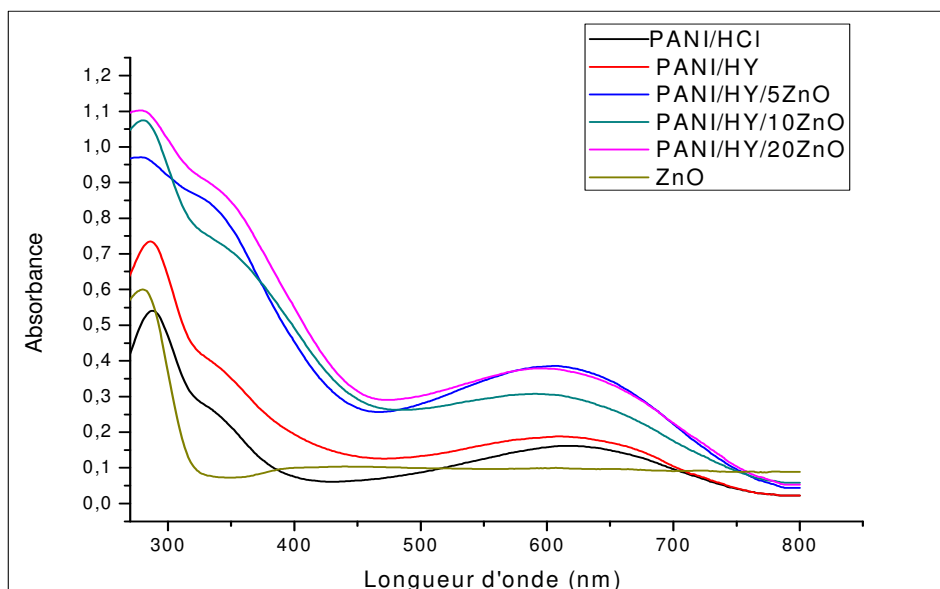
<b>Longueur d'ondes (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Attributions</b>
3447	Elongation de la liaison N-H <sup>[30]</sup> .
3470	Interactions entre les nanoparticules de ZnO et la PANI et cela par formation des liaisons hydrogènes entre l'oxygène qui se trouve dans le ZnO et N-H qui se trouve dans la PANI <sup>[10]</sup>
2924-2852	Vibrations d'élongation des liaisons C-H.
1581 et 1508	Vibrations des liaisons C=C des cycles quinoïdes du système (N=Q=N) et des liaisons C-C des cycles benzénoïdes du système (N-B-N) respectivement <sup>[31]</sup> .
1298 et 1146	Vibrations de la liaison C-N du système (N-B-N) et de la liaison C=N du système (N=Q=N) <sup>[32]</sup> .
1237	Elongation du groupement O-T-O <sup>[33]</sup>
695	Déformation C-H hors plan, sa présence est liée aux noyaux aromatiques <sup>[34]</sup>
626	L'élongation symétrique du groupement T-O-T <sup>[33]</sup>
506	Vibration du cycle aromatique <sup>[34]</sup>
492	L'élongation de la liaison Zn-O <sup>[10]</sup>

**Tableau III.1** : Bandes caractéristiques obtenues par spectroscopie FTIR

### **I.2. Caractérisation par spectroscopie UV-visible**

Le spectre UV-Visible des nanocomposites PANI, PANI/HY, PANI/HY/ZnO 5%, PANI/HY/ZnO 10 %, PANI/HY/ZnO 20% et ZnO dans le NMP sont présentés dans la Figure III.2.

Nous remarquons que les formes des spectres UV-vis des nanocomposites sont similaires à ceux de la PANI et un certain décalage dans les bandes est remarqué.



**Figure III.2 :** Spectre UV-visible de PANI/HY, PANI/HY/ZnO 5%, PANI/HY/ZnO 10 %, PANI/HY/ZnO 20% dans le NMP

La PANI montre deux bandes d'absorption dans le NMP, la transition électronique  $\pi-\pi^*$  des groupements benzénoïdes est caractérisée par la présence du maximum d'absorption situé à 289 nm et la bande observée à 620 nm est caractéristique des cycles quinoïdes [35-36] la PANI/HY montre elle aussi deux bandes maximums situées à 287 et 635 nm.

Dans le tableau III.2 nous avons résumé les différentes transitions électroniques des composés.

Composés	transition électronique $\pi-\pi^*$	transition électronique $n \rightarrow \pi^*$
PANI/HCl	289 nm	620 nm
PANI/HY	287 nm	635 nm
PANI/HY/ZnO 5 %	279 nm	613 nm
PANI/HY/ZnO 10%	281 nm	608 nm
PANI/HY/ZnO 20%	284 nm	602 nm

**Tableau III.2 :** les différentes transitions électroniques des composés synthétisés

## II. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Ce travail vise à montrer la présence ou l'absence d'une activité antimicrobienne des nanocomposites utilisés à une concentration de 150 µg/ml dans différents solvants, avec des bactéries Gram<sup>(+)</sup> et Gram<sup>(-)</sup> très résistantes, tout en utilisant un antibiotique standard à un diamètre d'inhibition connu, qui nous indique le bon déroulement de la manipulation.

Microorganismes	ATB : Gentamycine
Escherichia coli (ATCC 25922)	20
Staphylococcus aureus	10
Klebsiella 1216	20

**Tableau III. 3 :** Antibiogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques (diamètre de la zone d'inhibition en mm).

Les diamètres des zones d'inhibitions des bactéries testées sont mesurés et résumés dans les tableaux ci dessous (diamètre de la zone d'inhibition en mm):

Sachons que : CN : Contrôle négatif, (I) : PANI, (II) : PANI/HY, (III) : PANI/HY/ZnO 5%, (IV) : PANI/HY/ZnO 10%, (V) : PANI/HY/ZnO 20%.

Microorganismes	CN	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
Escherichia coli ATCC 25922	8 ± 00	9 ± 00	8 ± 0,6	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00
Staphylococcus aureus	8 ± 0,6	9 ± 00	8 ± 0,6	9 ± 0,6	9 ± 0,6	10 ± 00
Bacillus cereus	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	12 ± 0,6	12 ± 0,6	13 ± 00
Pseudomonas eruginosa (ATCC27853)	9 ± 00	9 ± 0,6	9 ± 0,3	12 ± 0,6	12 ± 0,6	12 ± 0,6

**Tableau III.4 :** Activité antibactérienne des composés dans le DMF

Microorganismes	CN	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
Escherichia coli ATCC 25922	8 ± 00	9 ± 0,6	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	11 ± 00
Staphylococcus cereus	8 ± 0,3	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00
Bacillus cereus	8 ± 00	9 ± 00	9 ± 00	12 ± 0,6	13 ± 00	13 ± 00
Pseudomonas eruginosa (ATCC27853)	8 ± 00	9 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00	10 ± 00

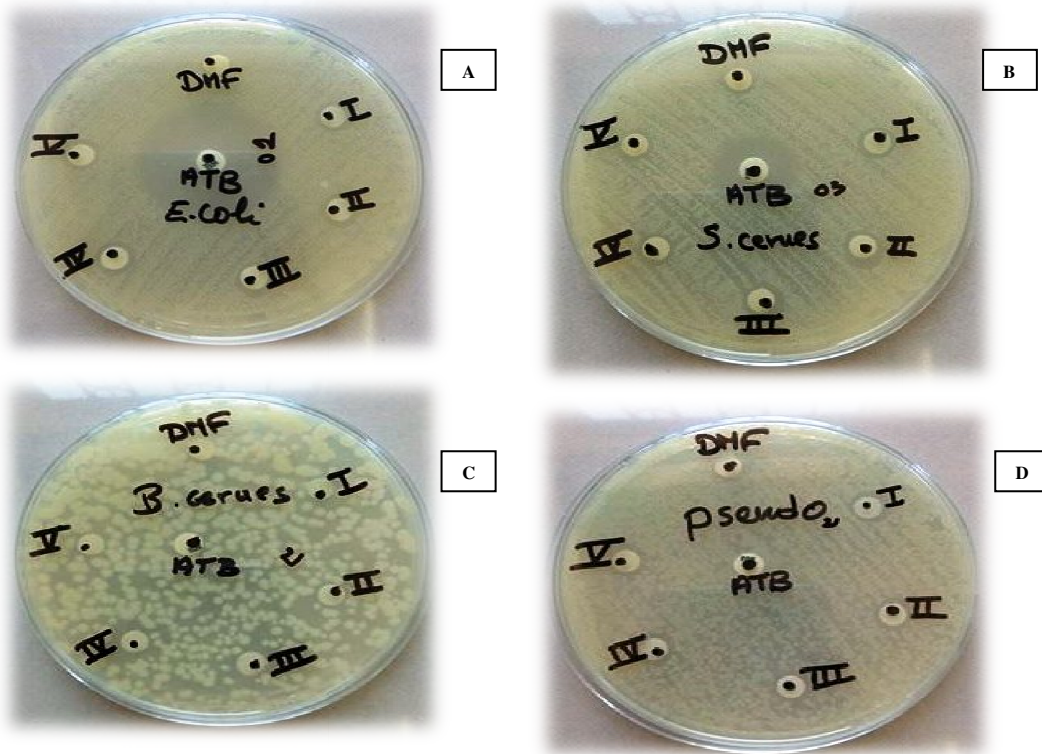
**Tableau III.5 :** Activité antibactérienne des composés dans le NMP

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

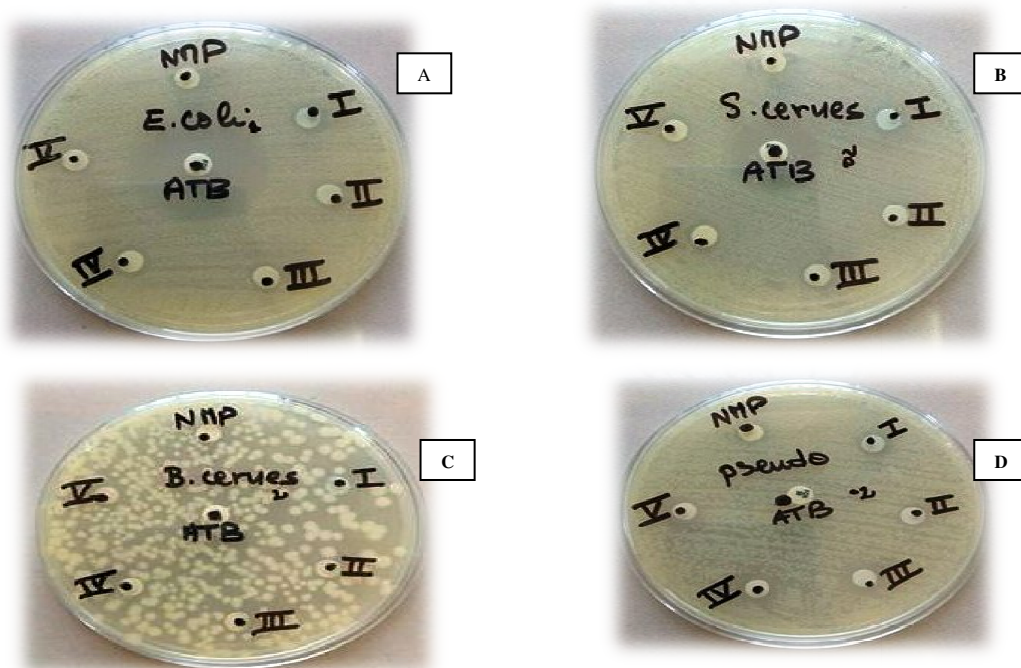
Les mesures des halos d'inhibitions (diamètre du disque inclu) nous ont permis de classer les microorganismes suivant leur degré de sensibilité aux différents composés <sup>[37]</sup> :

- ✓  $\emptyset < 8$  mm : bactérie non sensible ;
- ✓  $9 < \emptyset < 14$  mm : bactérie sensible ;
- ✓  $15 < \emptyset < 19$  mm : bactérie très sensible ;
- ✓  $\emptyset > 20$  mm : bactérie extrêmement sensible.

La PANI/HCl, PANI/HY et les 03 nanocomposites sont testés sur quatre souches bactériennes Gram (+) et Gram (-), nous avons observé que les différentes souches réagissent différemment aux composés étudiés (figure III.3 et figure III.4) :



**Figure III.3 :** L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMF : (A) *E. Coli*, (B) *Staphylococcus aureus*, (C) *Bacillus cereus*, (D) *Pseudomonas eruginosa*. [CN : Contrôle négatif, (I) : PANI, (II) : PANI/HY, (III) : PANI/HY/ZnO 5%, (IV) : PANI/HY/ZnO 10%, (V) : PANI/HY/ZnO 20%].



**Figure III.4 :** L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le NMP : (A) *E. Coli*, (B) *Staphylococcus cereus*, (C) *Bacillus cereus*, (D) *Pseudomonas eruginosa*. [CN : Contrôle négatif, (I) : PANI, (II) : PANI/HY, (III) : PANI/HY/ZnO 5%, (IV) : PANI/HY/ZnO 10%, (V) : PANI/HY/ZnO 20%].

Les (Figure III.5) et (Figure III.6) illustrent les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus avec PANI/HCl, PANI/HY et les 03 nanocomposites utilisés (150 µg/ml) dans le DMF et NMP respectivement dans les différentes souches bactériennes testées.

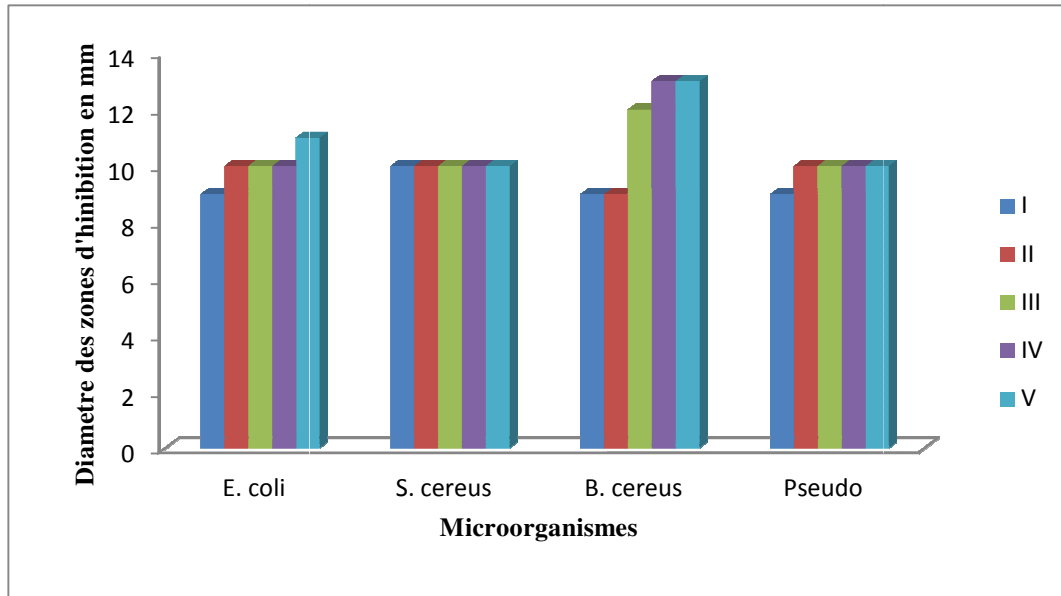


Figure III.5 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions en (mm) avec les différents composés utilisés dans le DMF

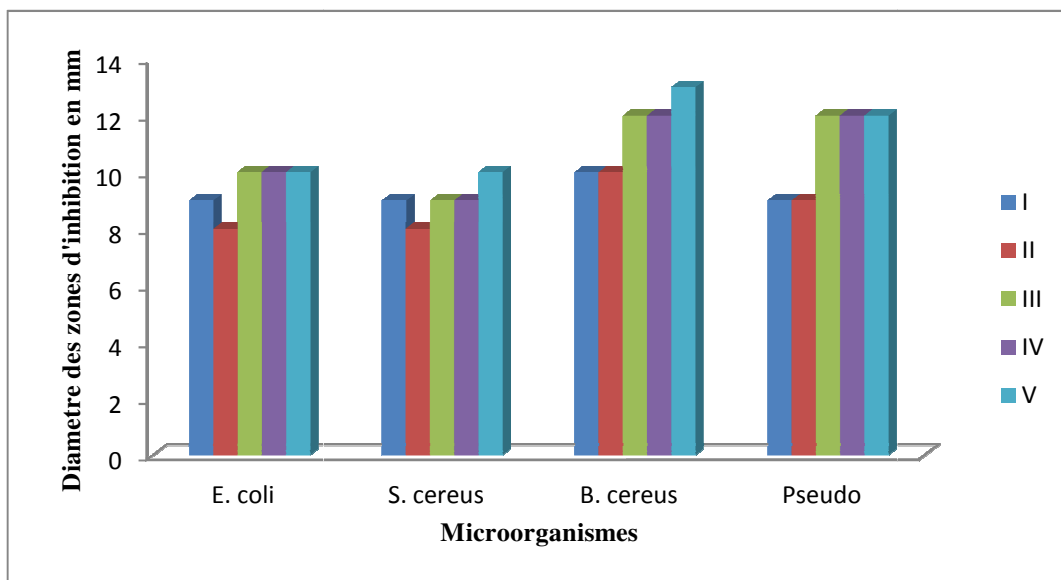


Figure III.6 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibitions en (mm) avec les différents composés utilisés dans le NMP

Il ressort à travers l'observation des zones d'inhibitions répertoriées dans les (Figure III.5) et (Figure III.6), que la plupart des microorganismes testés (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus*, Pseudo ATCC27853, *B. cereus*) s'avèrent assez résistants aux composés utilisés à une concentration de 150 µg/ml.

Nous avons noté une sensibilité modérée des bactéries Gram(+), Commençant par la *B. cereus* avec un diamètre d'inhibition élevé par rapport aux autres souches et dans les deux solvants utilisés, 13 mm de diamètre est noté avec le nanocomposites (V) qui est la PANI/HY/ZNO 20%. Cette bactérie était résistante à l'antibiotique standard testé  $\emptyset = 0$  mm, les contrôles négatifs sont de 8 et 10 mm dans le DMF et NMP respectivement.

Et pour la *Pseudomonas eruginosa* nous avons remarqué une sensibilité assez modérée en utilisant le NMP comme solvant, un diamètre d'inhibition de 12 mm est observé avec les nanocomposites (III) PANI/HY/ZnO 5%, (IV) PANI/HY/ZnO 10% ET (V) PANI/HY/ZnO 20%, mais ce diamètre a diminué de 2 mm quant on a utilisé le DMF comme solvant. Cette bactérie était aussi résistante à l'antibiotique standard testé  $\emptyset = 0$  mm, les contrôle négatifs sont de 8 et 9 mm dans le DMF et le NMP respectivement.

Par rapport aux bactéries Gram(-) *E. coli* et *S. aureus* le diamètre d'inhibition noté n'a pas dépassé 11 mm dans les deux solvants utilisés. On remarque que dans le DMF *E. coli* a donné un diamètre de 11 mm avec le nanocomposite (V), cela a diminué d'1 mm en présence d'NMP, le contrôles négatif est de 8 mm pour le NMP et le DMF dans les deux souches.

Dans le but d'élargir notre étude nous avons réalisé d'autres tests, avec des souches Gram(-) issus de malades de l'hôpital CHU Tizi-Ouzou qui sont respectivement *Klebsiella pneumoniae* (S197, 1216, 2042), ainsi qu'une souche de référence *Escherichia coli* (ATCC190522).

Lors de ce test nous avons testé uniquement la PANI/HCl, PANI/HY, et PANI/HY/ZnO 5% en raison de la faible variation de la zone d'inhibition observée entre PANI/HY/ZnO 5% , PANI/HY/ZnO 10% et 20%, mais aussi dans un but comparatif tout en utilisant un nouveau solvant qui est le DMSO et s'assurer que les solvants utilisés auparavant ne sont pas la cause de la faible sensibilité des Gram (-).

❖ Dans le DMSO

Microorganismes	CN	(I)	(II)	(III)
Escherichia coli ATCC 25922	8 ± 00	8 ± 00	9 ± 0,6	10 ± 00
Klebsiella pneumoniae (S197)	8 ± 00	10 ± 00	10 ± 0,6	10 ± 0,6
Klebsiella pneumoniae (1216)	8 ± 00	8 ± 00	9 ± 0,6	9 ± 0,6
Klebsiella pneumoniae (2042)	8 ± 00	10 ± 0,6	8 ± 0,3	11 ± 0,6

**Tableau III.6:** Activité antibactérienne des composés dans le DMSO.

❖ Dans le DMF

Microorganismes	CN	(I)	(II)	(III)
Escherichia coli ATCC 25922	00	7 ± 0,6	8 ± 00	8 ± 00
Klebsiella pneumoniae (S197)	00	7 ± 00	8 ± 00	8 ± 00
Klebsiella pneumoniae (1216)	00	7 ± 00	8 ± 00	6 ± 0,6
Klebsiella pneumoniae (2042)	00	7 ± 00	7 ± 00	6 ± 00

**Tableau III.7:** Activité antibactérienne des composés dans le DMF

PANI/HCl, PANI/HY et PANI/HY/ZnO 5% sont testés sur quatre souches bactériennes Gram (-), nous avons observé que les différentes souches réagissent différemment aux antibiotiques étudiés :



Figure III.7: L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMSO : (A) *E. Coli*, (B) *Klebsiella pneumoniae* (S197), (C) *Klebsiella pneumoniae* (1216), (D) *Klebsiella pneumoniae* (2042). [CN : Contrôle négatif, (S1) : PANI/DMSO, (S2) : PANI/HY/DMSO].



Figure III.8: L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMSO et DMF: (A) *E. Coli*, (B) *Klebsiella pneumoniae* (S197), (C) *Klebsiella pneumoniae* (1216), (D) *Klebsiella pneumoniae* (2042). [CN : Contrôle négatif, (S3) : PANI/HY/ZnO 5%/DMSO, (S4) : PANI/DMF].



**Figure III.9: L'activité antibactérienne sur souches pathogènes dans le DMF: (A) *E. Coli*, (B) *Klebsiella pneumoniae* (S197), (C) *Klebsiella pneumoniae* (1216), (D) *Klebsiella pneumoniae* (2042). [CN : Contrôle négatif, (S5) : PANI/HY/DMF, (S6) : PANI/HY/ZnO 5%/DMF].**

Nous remarquons que : dans le DMSO le diamètre du contrôle négatif est de 0 mm et que les composés testés ont donnés de très faibles diamètres d'inhibition vis-à-vis des souches, tandis que le diamètre du contrôle négatif du DMF est de 8 mm et l'inhibition des souches est assez modérée.

Par cette remarque nous pouvons déduire que le choix du solvant influe sur l'inhibition des bactéries.



*Conclusion générale*

Au terme de ce mémoire, le but que nous nous sommes fixé, à savoir la synthèse des nanocomposites polymères conducteurs et l'étude de l'activité antibactérienne de ces derniers, a été atteint.

Dans un premier temps nous avons présenté la synthèse chimique de la PANI dopée une fois par HCl et une autre fois par zéolithe HY et cela dans un but comparatif, puis nous avons présenté la synthèse des nanocomposites par polymérisation in-situ de la PANI dopée par HY et chargée par différents pourcentages de ZnO choisis pour leurs propriétés antibactériennes.

Les résultats caractéristiques des méthodes spectroscopiques tels que l'Infra Rouge à transformée de Fourier et l'UV visible indiquent que la synthèse de ces nanocomposites a été réalisée avec succès dans ce travail.

En outre, la synthèse a été complétée par l'étude de l'activité antibactérienne des nanocomposites et les résultats ont montré que les bactéries Gram <sup>(-)</sup> s'avèrent plus résistantes que les bactéries Gram <sup>(+)</sup>: La *Bacillus cereus* a montré une bonne zone d'inhibition 13 millimètres de diamètre. La nanoparticule d'oxyde de zinc présente une activité antibactérienne en utilisant le NMP et le DMF comme solvants, tandis que dans le DMSO les souches bactériennes s'avèrent assez résistantes ce qui prouve que le choix du solvant influe sur l'inhibition. Le pourcentage de ZnO ajouté n'a aucune influence sur l'inhibition des souches bactériennes.

Enfin nous avons aussi constaté que les diamètres d'inhibitions entre PANI/HCl et PANI/HY sont pratiquement identiques ce qui confirme que le choix de l'acide n'a aucune influence sur l'activité antibactérienne, mais l'utilisation de HY est préférable car il est moins polluant.



*Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- [1] : **J.M. BERTHELOT.** «Mécanique et structure des matériaux composites». 5<sup>ème</sup> éd. France : Le Mans; **2010.**
- [2]: **N.W.Duffy, J.M.Pringle, Y.Cheng.** « Conducting polymer and titanium carbide-based nanocomposites as efficient counter electrodes for dye-sensitized solar cells» *Electrochimica Acta*, Vol. 105, p. 275 – 281. (**2013**).
- [3]: **M. Wautelet.** « Les nanotechnologies », Edition Dunod, Paris, **2003.**
- [4]:**M. Fernandez-Garcia, A. Martinez-Arias, J. C. Hanson, J. A. Rodriguez.** «Nanostructured Oxides in Chemistry: Characterization and Properties». *Chem. Rev*, 104 (9), 4063-4104, **2004.**
- [5] : **D. M. Marquis, E. Guillaume, C. Chivas-Joly.** «Properties of nano-fillers in polymer» Rijeka, Croatia, InTech, p 261-284. **2011.**
- [6]: **N. ANDRES PEREZ.** Thèse doctorat, « Etude calorimétrique et diélectrique de nanocomposites silicones ». Grenoble: INPG. France, **2008.**
- [7] :**M. AMBID.** Thèse doctorat, «Evaluation de nanocomposites polypropylène/silicate pour l'isolation électrique : Etude des phénomènes de polarisation, de conduction et des propriétés optiques». Toulouse: Université de Toulouse III, **2007.**
- [8] : **S. Bourbigot, R. Delobel et S. Duquesne.** «Comportement au feu des composites. Techniques de l'Ingénieur. AM5». p. 330 - 1-10.**2006.**
- [9] : **S. Senani.** Thèse doctorat «Interaction organosilane/silice de précipitation. Du milieu hydro-alcoolique au milieu aqueux». Paris : Université de paris VI. **2004.**
- [10]: **A. Mostafaei, A. Zolriasatein.** « Synthesis and characterization of conducting polyaniline nanocomposites containing ZnO nanorods.» Tabriz,Iran.**2012.**
- [11]: **H. Shirakawa, E. J. Louis, A. G. MacDiarmid, C. K. Chiang, and A. J. Heeger.** «Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene». *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 578. **1977.**
- [12] : **S. Etienne et L. David.** « Introduction à la physique des polymères». Dunod, Paris. **2002.**
- [13]: **P. Da Silva, M.L.A. Tempirini, S.I. Cordoba De Torresi.** *Electrochimica Acta*. \_Vol 44, Iss 12.**1999.**
- [14]: **O. Stéphane, J. C. Vial Tomisse et S. Panzo.** « Physico-chimie des polymères semi conducteurs: application à l'élaboration de dispositifs organiques électroluminescents» *Vie Scientifique*, Grenoble.**2005.**

- [15]: **P.S. Rao, D.N. Sathyanarayana.** « Self-Doped Conducting Polymers » Indian Journal of Chemistry, 43, 1377.2004.
- [16]: **K. Bienkowski, I. Kulszewicz-Bajer, F. Genoud, J.L. Oddou et A.** «Pron, Conjugated polymers doped with Lewis acids». Synthetic Metals 135-136 .p.159-160. (2003).
- [17]: **G. Zotti, S. Cattarin, N. Comisso. J.** Electroanal. Chem. 239, 387. 1988.
- [18]: **M. Breitenbachand, K.-H. Heckner. J.** Electroanal. Chem.43, 267.1973.
- [19]: **M.J. McWhiter, A.J. McQuillan, P.J. Bremer.** « Colloids and Surfaces ». B. Biointerfaces, 26, p. 365-371. 2002.
- [20]: **S.J. Parikh, J. Chorover.** « ATR-FTIR spectroscopy reveals bond formation during bacterial adhesion to iron oxide ».Langmuir, 22, p.8492-8500. 2006.
- [21]: **P.K. Stoimenov, R. Klinger, G.L. Marchin, K.J. Klabunde.** « Nano particules as a bacterial agent». Langmuir, 18, p. 6679-6686.2002.
- [22]: **N. Padmavathy, R. Vijayaraghavan.** « Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study ». Science of Technology Advanced Materials, 9, Article n°035004.2008.
- [23]: **K.R. Raghupathi, R.T. Koodali, A.C. Manna.** « Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles» Langmuir, 27, p.4020-4028. 2011.
- [24]: **M. Issam MTIMET.** Thèse doctorat, «Élaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent». INSA de Rouen, 2011.
- [25]:**S. Zeghina.** Mémoire magister, « Synthèse et élaboration des mélanges composites conducteurs du système :Poly (styrène -co- acide acrylique) / Polyaniline », EMP, Algerie. 2006.
- [26]: **A. Khadraoui.** Mémoire magister, « Application de la zéolithe Y échangée à la séparation des oléfines », EMP, Algerie. 2006.
- [27]: **E. Patricia, T. Bein.** « Inclusion polymerization and doping in zeolite channels ». vol. 181, 315-324, 1989.
- [28]: **P. Rannou, A. Gawlicka, D. Berner, A. Pron, M. Nechtschein, D. Djurado,** « Spectroscopic,Structural and Transport Properties of Conductive Polyaniline Processed from Fluorinated Alcohols ». Macromolecules, 31, 1998.
- [29]: Janssen. Les problématiques de résistance aux antibiotiques. En ligne.disponible sur : <http://antibiotiques-tpe.e-monsite.com>.2012.
- [30]: **P. Liu,** synthetic Metals, 159, 148-152, 2009.

- [31]: **J. P. Bonnet**. Thèse doctorat , « Synthèse et mise en oeuvre de polyaniline conductrice à stabilité thermique améliorée », Université Joseph Fourier-Grenoble, **2004**.
- [32]: **Y. Wang, Y. Shi, X. Xu, F. Liu, H. Yao, G. Zhai**, « Preparation of PANI-coated poly(styrene-co-styrene sulfonate) nanoparticles in microemulsion media, Colloids and Surfaces ». Physicochemical and Engineering Aspects, **2009**.
- [33]: **E. Gachard**, thèses de doctorat, « Synthèse sous rayonnement Gamma et caractérisation d'agrégat d'agent dans la zéolithe Y », Université Bordeaux, **1996**.
- [34]: **J. Prokes, J. Stejskal**, polymere degradation and stability, 86,187-195, **2004**.
- [35]: **G.P. Song, J. Han, J. Bo, R. Guo**, J. Mater. Sci. 44, 715-720, **2009**.
- [36]: **N. V. Bhat, D. T. Seshadri, R. S. Phadke**, Synthetic Metals130, 185-192, **2002**.
- [37]: **M.R. MOREIRA, A.G. PONCE, C.E. DEL VALLE, S.I. ROURA**. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT- Food Science and Technology.*, 38: 565-570. **2005**.