

Memoire de these de doctorat 3eme cycle AMRAOUI Mounira .pdf

Bibliographie .pdf

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DES FRÈRES MENTOURI, CONSTANTINE**  
**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA TECHNOLOGIE**  
**Département d'électronique**

N° d'ordre : 117/D3C /2019

Série : 06 / Elec / 2019

**THÈSE**

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle  
en électronique

Option : Systèmes, procédés et dispositifs pour l'électronique médicale

Intitulé :

**ETUDE ET ELABORATION DE NANOPARTICULES**  
**METALLIQUES (Au /Ag) POUR LA PHOTOTHERAPIE**

Par :AMRAOUI Mounira

Soutenue le : 16 / 12 /2019 .

**Devant le jury :**

<b>President :</b>	<b>BELLEL Azzedine</b>	Prof. Univ. Frère Mentouri, Constantine1
<b>Rapporteur :</b>	<b>REMRAM Mohamed</b>	Prof. Univ. Frère Mentouri, Constantine1
<b>Examineurs :</b>	<b>BOUHEDJA Samia</b>	Prof. Univ. Salah Boubnider, Constantine3
	<b>BOUZID Samia</b>	Prof. Univ. Salah Boubnider, Constantine3
	<b>CHENNI Rachid</b>	Prof. Univ. Frère Mentouri, Constantine1

*DEDICACES*

À

*Mes très chers parents*

*Mon frère et ma sœur adorés*

*Toute ma famille*

*Et tous ceux qui me sont chers*

*Amraoui Mounira*

## **Remerciements**

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon directeur de thèse le professeur **Mohamed REMERAM**, pour son aide, ses encouragements et pour la qualité de ses conseils tout au long de cette thèse et surtout pour le sujet intéressant qu'il m'a proposé. Je le remercie également pour son suivi constant durant ces années de recherche. Ses connaissances scientifiques et pédagogiques m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie le professeur **Bellel Azzeddine**, au Département d'Électronique de l'Université des Frères Mentouri Constantine pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être le président du jury de cette thèse.

Je remercie très sincèrement Messieurs-dames les jurys: Le professeur **Rachid Cheni** à l'Université des Frères Mentouri Constantine, le professeur **Bouzid Samia** à l'Université de Constantine 3, le professeur **Bouhedja Samia** à l'Université de Constantine 3, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux en acceptant la tâche d'examiner mon travail de thèse.

J'exprime mes vifs remerciements au professeur **Anne-Marie Jurdyc**, directrice de l'Institut Lumière Matière unité mixte de recherche sous la double tutelle de l'Université Claude Bernard Lyon 1 et du CNRS ; au professeur **Ouchenane zelikha** chef d'unité de bactériologie du laboratoire central de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine. Je les remercie pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire, pour leur suivi et leur disponibilité durant mon stage.

Mes remerciements vont également vers tous mes collègues du Laboratoire d'Etude des matériaux électroniques pour des applications médicales *LEMEAMED*.

# Sommaire

---

<i>Résumé en français</i> .....	<i>i</i>
<i>Résumé en anglais</i> .....	<i>ii</i>
<i>Résumé en arabe</i> .....	<i>iii</i>
<i>Introduction générale</i> .....	<i>1</i>

## **I CHAPITRE : ETAT DE L'ART SUR LES PROPRIETES DES NANOPARTICULES DE METAUX NOBLES ET LEURS APPLICATIONS. .... 3**

1.1	INTRODUCTION .....	4
1.2	DEFINITION D'UNE NANOPARTICULE .....	4
1.3	LES NANOPARTICULES DE METAUX NOBLES ET LEURS PROPRIETES OPTIQUES .....	5
1.3.1	<i>La résonance plasmon de surface localisée (LSPR):</i> .....	6
1.3.2	<i>Facteurs influençant la résonance plasmon de surface :</i> .....	7
1.3.3	<i>Propriétés induites dans une nanoparticule :</i> .....	10
1.3.4	<i>Fonctionnalisation de surface des nanoparticules de métaux nobles :</i> .....	10
1.4	METHODES DE SYNTHESE DES NANOPARTICULES METALLIQUES .....	11
1.4.1	<i>Méthodes physiques</i> .....	11
1.4.2	<i>Méthodes biologiques</i> .....	12
1.4.3	<i>Méthodes organométalliques</i> .....	13
1.4.4	<i>Méthodes photochimiques</i> .....	13
1.4.5	<i>Méthodes électrochimiques</i> .....	14
1.4.6	<i>Méthodes chimiques</i> .....	15
1.4.6.1	<i>Colloïdes de nano sphères</i> .....	16
1.4.6.2	<i>Nano tiges métalliques</i> .....	16
1.4.6.3	<i>Nano coquilles métalliques</i> .....	17
1.4.6.4	<i>Autres particules et assemblages de nanoparticules de métaux nobles</i> .....	17
1.5	LES APPLICATIONS LIEES A L'ABSORPTION ET A LA DIFFUSION DES NANOPARTICULES DE METAUX NOBLES : .....	18
1.5.1	<i>Détection biomédicale et imagerie :</i> .....	18
1.5.2	<i>Thérapie photo thermique :</i> .....	19
1.6	EFFET ANTIMICROBIEN DES NANOPARTICULES D'ARGENT .....	20
1.7	CONCLUSION .....	21
1.8	REFERENCES .....	22

## **II CHAPITRE : TECHNIQUES DE CARACTERISATION ..... 31**

II.1	INTRODUCTION .....	32
II.2	LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION MET .....	32
II.2.1	<i>Principe de fonctionnement</i> .....	32
II.2.2	<i>Modes de fonctionnement d'un MET</i> .....	33
II.2.3	<i>Formation de l'image d'un objet</i> .....	35
II.2.4	<i>Formation du diagramme de diffraction</i> .....	35
II.2.5	<i>Composition du microscope électronique à transmission (MET)</i> .....	35
II.2.6	<i>La préparation des échantillons</i> .....	36
II.3	DIFFUSION DYNAMIQUE DE LA LUMIERE (DLS) .....	37
II.3.1	<i>Principes de base de la technique DLS :</i> .....	37
II.3.2	<i>Diffusion de la lumière par des particules</i> .....	38
II.3.3	<i>Instrumentation et aspect technique d'un système DLS</i> .....	39

II .3 .4	<i>Evaluation de la qualité de mesure DLS</i> .....	40
II .3 .5	<i>Techniques de séparation des nanoparticules métalliques</i> .....	40
II .3 .6	<i>Les filtres seringues à membrane en acétate de cellulose</i> .....	41
II .3 .1	<i>Préparation des échantillons pour la mesure DLS</i> .....	42
II .3 .2	<i>Comparaison entre la mesure de la distribution de taille des particules par TEM et DLS</i> .....	43
II .4	SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE .....	45
II .4 .1	<i>Principe de la spectroscopie d'absorption UV-visible</i> .....	45
II .4 .2	<i>Principe du spectrophotomètre</i> :.....	47
II .5	CONCLUSION .....	47
II .6	REFERENCES .....	48
<b>III</b>	<b>CHAPITRE : RESULTATS EXPERIMENTAUX</b> .....	<b>50</b>
III .1	INTRODUCTION .....	51
III .2	DESCRIPTION EXPERIMENTALE .....	51
III .2 .1	<i>Protocole de synthèse</i> .....	52
III .2 .2	<i>Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent</i> .....	53
III .3	RESULTATS ET DISCUSSION .....	54
III .3 .1	<i>Etude morphologique des nanoparticules d'argent par DLS et MET</i> .....	54
III .3 .1 .1	Le cas 0.0015M AgNO <sub>3</sub> :.....	55
III .3 .1 .2	Le cas 0.0025M AgNO <sub>3</sub> : .....	57
III .3 .1 .3	Le cas 0.0030M AgNO <sub>3</sub> .....	59
III .3 .1 .4	Le cas 0.0035M AgNO <sub>3</sub> : .....	61
III .3 .2	<i>Etude de l'absorption optique des nanoparticules d'argent dans deux milieux solvant différents : Ethanol et Méthanol</i> .....	64
III .3 .3	<i>Discussion</i> .....	65
III .4	CONCLUSION : .....	66
III .5	REFERENCES .....	68
<b>IV</b>	<b>CHAPITRE APPLICATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT</b> .....	<b>70</b>
IV .1	INTRODUCTION .....	71
IV .2	EVALUATION MICROBIOLOGIQUE : .....	71
IV .2 .1	<i>Contre S.aureus, Pseudomonans aeruginosa, Acenitobacter multi résistantes</i> .....	71
IV .2 .2	<i>Contre S.aureus et Staphylocoque à coagulase négatives multi- résistantes</i> .....	71
IV .2 .3	<i>Méthode de diffusion de disque (Méthode Kirby-Bauer and Stokes)</i> .....	72
IV .2 .3 .1	Milieu .....	72
IV .2 .3 .2	Inoculum.....	72
IV .2 .3 .3	Ensemencement.....	72
IV .2 .3 .4	Application des disques d'antibiotiques .....	72
IV .2 .3 .5	Incubation : .....	73
IV .2 .3 .6	Lecture.....	73
IV .3	RESULTATS ET DISCUSSION .....	73
IV .3 .1	<i>Effet antibactérien des nanoparticules d'argent seules contre différentes bactéries</i> .....	73
IV .3 .2	<i>Activité antibactérienne synergique des nanoparticules d'argent avec différents antibiotiques conventionnels</i> .....	76
IV .3 .3	<i>Discussion</i> :.....	80
IV .3 .4	<i>Mécanismes d'action antibactérienne des nanoparticules d'argent</i> :.....	80
IV .4	CONCLUSION.....	81
IV .5	REFERENCES .....	82
	<i>Conclusion générale</i> .....	86

<i>Annexes</i> .....	88
<i>Liste des figures</i> .....	88
<i>Liste des tableaux</i> .....	90

# Résumé :

---

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont connues comme des diffuseurs et des absorbeurs de lumière efficaces en raison de leurs fortes interactions avec la lumière visible par le biais du phénomène de résonance plasmon de surface (SPR). La fréquence locale LSPR dépend fortement de la taille, de la forme et du milieu diélectrique entourant les nanoparticules. Dans ce cas, notre travail est axé sur la synthèse de nanoparticules d'argent pour des applications médicales.

La synthèse de nanoparticules d'argent de différentes tailles a été réalisée en utilisant différentes concentrations molaires d'AgNO<sub>3</sub> (0,0015, 0,0025, 0,0030, 0,0035 mole). AgNO<sub>3</sub>, PVP, acide benzoïque, sont utilisés en tant que précurseur, stabilisant, agent réducteur, dans deux solvants différents (éthanol et méthanol). Les nanoparticules synthétisées ont été caractérisées par spectroscopie UV-Visible à différentes températures. Les résultats montrent la présence d'un pic d'absorption aux alentours de 440 nm.

De plus, nous avons prouvé que le phénomène d'agglomération est plus important, en milieu méthanol que dans l'éthanol.

Les nanoparticules synthétisées à température ambiante dans un milieu solvant éthanol avec les différentes concentrations du précurseurs AgNO<sub>3</sub> citée plus haut ont été caractérisées avec la microscopie électronique à transmission TEM et la technique de diffusion dynamique de la lumière DLS. Il a été constaté qu'en variant la valeur du rapport entre AgNO<sub>3</sub> et PVP mais en gardant la même quantité d'acide benzoïque, différentes formes de NP d'argent, telles que des formes sphériques, ellipsoïdales, triangulaires, hexagonales et octaédriques sont révélée par la microscopie TEM.

Les différentes formes de nanoparticules d'argent obtenues sur ces quatre solutions colloïdales ont un rapport d'aspect allant de 1 à 1.9 et une taille moyenne au alentour de 10 nm. Les résultats obtenus par la technique de diffusion dynamique de la lumière DLS ont confirmé les résultats obtenus par TEM où ils ont montré une distribution homogène des nanoparticules d'argent.

Enfin , une nouvelle approche nano-thérapeutique efficace et peu couteuse alliant les nanoparticules d'argent aux antibiotiques conventionnels a été étudié contre différentes bactéries multi-résistantes à savoir : *Staphylococcus aureus* ,*Pseudomonas aeruginosa*,*Acinetobacter baumannii*, *Echerichia coli*, et staphylocoque à coagulase négative Les nanoparticules d'argent ont montré une activité antibactérienne efficace sur les souches testées ,ainsi qu'une activité antibactérienne synergétique avec différents antibiotiques qui se sont révélés inefficaces contre ces mêmes bactéries pathogènes. Nous avons donc constaté, que l'activité antibactérienne des différents antibiotiques a augmenté en présence de nanoparticules d'Argent. La taille, la forme, et la concentration des nanoparticules d'argent semble jouer un rôle important dans leurs mécanismes d'actions.

# Summary :

---

Silver nanoparticles (AgNPs) are known as effective diffusers and light absorbers because of their strong interactions with visible light through the surface plasmon resonance (SPR) phenomenon. The local frequency LSPR strongly depends on the size, shape and dielectric medium surrounding the nanoparticles. In this case, our work is focused on the synthesis of silver nanoparticles for medical applications.

The synthesis of silver nanoparticles of different sizes was performed using different molar concentrations of AgNO<sub>3</sub> (0.0015, 0.0025, 0.0030, 0.0035 moles). AgNO<sub>3</sub>, PVP, benzoic acid, are used as precursor, stabilizer, reducing agent, in two different solvents (ethanol and methanol). The synthesized nanoparticles have been characterized by UV-Visible spectroscopy at different temperatures. The results show the presence of an absorption peak around 440 nm.

In addition, we have shown that agglomeration is more important in methanol than in ethanol.

The nanoparticles synthesized at room temperature in an ethanol solvent medium with the different concentrations of the precursor AgNO<sub>3</sub> mentioned above were characterized with the transmission electron microscope TEM and dynamic light scattering technique DLS. It has been found that by varying the value of the ratio between AgNO<sub>3</sub> and PVP but keeping the same amount of benzoic acid, different forms of silver NP, such as spherical, ellipsoid, triangular, hexagonal and octahedral shapes are revealed. by TEM microscopy.

The different forms of silver nanoparticles obtained on these four colloidal solutions have an aspect ratio ranging from 1 to 1.9 and an average size around 10 nm. The results obtained by the DLS dynamic light scattering technique confirmed the results obtained by TEM where they showed a homogeneous distribution of silver nanoparticles.

Finally, a new, effective and inexpensive nano-therapeutic approach combining silver nanoparticles with conventional antibiotics has been studied against various multi-resistant bacteria namely: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Echerichia coli*, and coagulase-negative staphylococcus. The silver nanoparticles showed effective antibacterial activity on the tested strains, as well as synergistic antibacterial activity with different antibiotics which proved to be ineffective against these same pathogenic bacteria. We therefore found that the antibacterial activity of different antibiotics increased in the presence of silver nanoparticles. The size, shape, and concentration of silver nanoparticles seems to play an important role in their mechanisms of action.

## خلاصة القول:

تُعرف الجسيمات النانوية الفضية (AgNPs) بأنها ناشرات فعالة وممتصات للضوء بسبب تفاعلها القوي مع الضوء المرئي من خلال ظاهرة رنين البلازمون السطحي (SPR). يعتمد التردد المحلي LSPR بشدة على الحجم والشكل والوسط العازل المحيط بالجسيمات النانوية. في هذه الحالة ، يركز عملنا على تخليق الجسيمات النانوية الفضية للتطبيقات الطبية.

تم إجراء تخليق الجسيمات النانوية الفضية من أحجام مختلفة باستخدام تراكيزات المولي مختلفة من AgNO<sub>3</sub> (0.0015 ، 0.0025 ، 0.0030 ، 0.0035 الشمامات). يستخدم AgNO<sub>3</sub> ، PVP ، حمض البنزويك ، كسلائف ، عامل استقرار ، عامل اختزال ، في مذيبيين مختلفين (الإيثانول والميثانول). تتميز الجسيمات النانوية المركبة بواسطة التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية في درجات حرارة مختلفة. أظهرت النتائج وجود ذروة امتصاص حوالي 440 نانومتر.

بالإضافة إلى ذلك ، لقد أظهرنا أن التكتل أكثر أهمية في الميثانول منه في الإيثانول.

تميزت الجسيمات النانوية التي تم تصنيعها في درجة حرارة الغرفة في وسط مذيب للإيثانول بتركيزات مختلفة من السلائف AgNO<sub>3</sub> المذكورة أعلاه مع مجهر ناقل الحركة الإلكتروني TEM وتقنية تشتت الضوء الديناميكي DLS. لقد وجد أنه من خلال تغيير قيمة النسبة بين AgNO<sub>3</sub> و PVP مع الحفاظ على نفس الكمية من حمض البنزويك ، يتم الكشف عن أشكال مختلفة من الفضة NP ، مثل الأشكال الكروية والإهليلجية وثلاثية السداسية وثمانية السطوح. بواسطة TEM المجهرية.

الأشكال المختلفة من الجسيمات النانوية الفضية التي تم الحصول عليها على هذه المحاليل الغروية الأربعة لها نسبة عرض إلى ارتفاع تتراوح من 1 إلى 1.9 ومتوسط الحجم حوالي 10 نانومتر. أكدت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تقنية تشتت الضوء الديناميكي DLS النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة TEM حيث أظهرت توزيعاً متجانساً للجسيمات النانوية الفضية.

أخيراً ، تمت دراسة مقارنة جديدة وفعالة وغير مكلفة للعلاج النانوي تجمع بين الجسيمات النانوية الفضية والمضادات الحيوية التقليدية ضد البكتيريا المتعددة المقاومة ، وهي المكورات العنقودية الذهبية ، و *Pseudomonas aeruginosa* ، و *Acinetobacter baumannii* ، و *Echerichia coli* ، والمكورات العنقودية السلبية. أظهرت الجسيمات النانوية الفضية نشاطاً فعالاً مضاداً للبكتيريا على السلالات التي تم اختبارها ، بالإضافة إلى نشاط مضاد للجراثيم التآزري مع مضادات حيوية مختلفة أثبتت أنها غير فعالة ضد هذه البكتيريا المسببة للأمراض ذاتها. لذلك وجدنا أن نشاط مضاد للجراثيم من المضادات الحيوية المختلفة زاد في وجود جزيئات الفضة النانوية. يبدو أن حجم الجسيمات النانوية الفضية وشكلها وتركيزها تلعب دوراً مهماً في آليات عملها.

---

# INTRODUCTION GENERALE

---

En raison de leurs caractéristiques uniques et de leurs potentielles applications, les nanoparticules métalliques ont trouvé leur chemin dans de nombreuses industries. Les nanoparticules métalliques avec une géométrie spécifique, une taille, et des propriétés optiques trouvent leur intérêt dans de nombreuses applications biomédicales telles que la bio-imagerie, le diagnostic, et la thérapeutique.

En effet, les nanoparticules peuvent être fabriquées avec une grande précision dans une variété bien définie de structures telles que les sphères, les tiges et les fils. En outre les nanoparticules des métaux nobles présentent de fortes réponses optiques se situant dans le domaine visible, ou infrarouge proche, d'où leurs potentiels applications dans plusieurs domaines telles que le domaine médical (imagerie, photothérapie) ou les capteurs.

Les nanoparticules de métaux nobles présentent la particularité d'exalter les champs de surfaces lors de l'interaction avec une onde électromagnétique : C'est la résonance des plasmons de surface localisée (Localised Surface Plasmon Resonance LSPR) ; cette propriété est utilisée pour des applications médicales, en particulier pour augmenter l'efficacité des agents de contraste dans l'imagerie médicale ou bien en photo-thermie où l'exaltation du champ en présence de ces nanoparticules demande une puissance de laser faible, en particulier pour la destruction des cellules cancéreuses avec un ciblage pointu.

En outre, Les nanoparticules d'argent suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la lutte contre les bactéries multi résistantes aux antibiotiques. Les nanoparticules d'argent présentent un large spectre d'activité bactéricide.

Afin de satisfaire aux exigences des applications des nanoparticules d'argent AgNPs, diverses méthodes ont été adoptées pour la synthèse et la fabrication de ces dernières. En général, les méthodes physiques et chimiques classiques sont utilisées. D'autres méthodes de synthèse ont vu le jour ces dernières années, en particulier les méthodes biologiques ou par réduction chimique.

Après la synthèse, une caractérisation précise des particules est nécessaire car les propriétés physicochimiques d'une particule pourraient avoir un impact significatif sur leurs applications. Les caractéristiques des nanomatériaux, telles que la taille, la forme, la distribution

granulométrie, la surface, la forme, la solubilité, l'agrégation, etc..., doivent être évaluées avant d'évaluer la toxicité ou la biocompatibilité. Pour évaluer les nanomatériaux synthétisés, de nombreuses techniques analytiques ont été utilisées, notamment la spectroscopie visible ultraviolette (spectroscopie UV-vis), la diffusion dynamique de la lumière (DLS), la microscopie électronique à transmission (TEM).

C'est dans cette optique que s'est inscrit notre thèse. En effet nous avons en premier lieu élaboré des nanoparticules d'argent. Un protocole de synthèse de ces nanoparticules a été proposé. Les nanoparticules d'argent ont été préparées par réduction chimique dans deux milieux dispersifs différents : l'éthanol et le méthanol. Le nitrate d'argent a été utilisé comme précurseur et l'acide benzoïque comme agent réducteur. Deux paramètres ont été considérés : La variation de la concentration du précurseur ainsi que la température de synthèse des nanoparticules. La formation de nanoparticules d'argent a été suivie par spectroscopie d'absorption UV-Vis.

La microscopie TEM et DLS ont été utilisées pour obtenir des informations structurales et morphologiques.

En effet, notre travail se répartit sur quatre chapitre :

**Dans le premier chapitre,** nous présentons un état de l'art sur les nanoparticules, leurs propriétés, les méthodes de synthèse, et leurs applications.

**Dans le deuxième chapitre,** nous présentons les trois différentes techniques de caractérisation utilisées dans notre étude, à savoir : La microscopie électronique à transmission (MET), la technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) et enfin la spectroscopie d'absorption UV-visible

**Dans le troisième chapitre,** nous présentons notre protocole de synthèse des nanoparticules élaborées, ainsi que les résultats de caractérisation obtenus, pour l'évaluation des propriétés structurales et morphologiques des nanoparticules par les techniques de caractérisation TEM et DLS et les résultats de caractérisation optiques par spectroscopie UV-visible.

**Dans le dernier chapitre,** nous présentons les résultats de l'activité antibactérienne des solutions de nanoparticules d'argent sur différentes bactéries multi résistantes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Echerichia coli*, et staphylocoque à coagulase négative.

*I Chapitre : Etat de l'art sur les propriétés des nanoparticules de métaux nobles et leurs applications.*

## *1.1 Introduction*

Dans ce premier chapitre, nous avons présenté un état de l'art sur les nanoparticules de métaux nobles, leurs propriétés optiques, leurs différentes méthodes de synthèse telles que : Les méthodes physiques, biologiques, organométalliques, photochimiques et en particulier les méthodes de synthèse chimiques et enfin leurs applications biomédicales telles que: La détection biomédicale et l'imagerie ainsi que la photothérapie. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux potentiels antimicrobiens des nanoparticules d'argent et les facteurs qui les influencent.

## *1.2 Définition d'une nanoparticule*

La taille est un important facteur pour définir les nanoparticules. Un nanomatériau est défini par l'organisation internationale de normalisation en tant que terme recouvrant à la fois les nano-objets et les matériaux nanostructurés.

Un matériau nanostructuré a une **structure interne** ou de **surface** à l'échelle nanométrique.

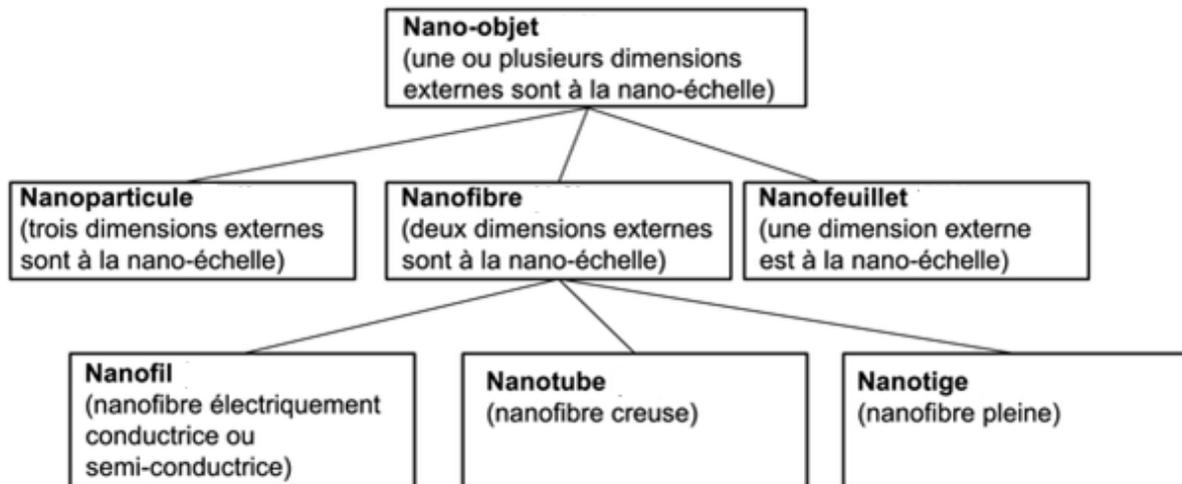
Parmi ces matériaux nanostructurés, on utilise le terme de nano-objet dans le cas où le matériau a une, deux ou trois dimensions externes à l'échelle nanométriques.

Si **1 dimension** externe est inférieure à 100 nm, ce sont les **nanoplaques** (nano feuille, nano couche, nano revêtement).

Si **2 dimensions** externes sont inférieures à 100 nm, ce sont des **nanofibres** (nanofibres creuses :nanotubes, nanofibres pleines :nanotiges, nanofibres électriquement conductrice ou semi-conductrice :ce sont les nanofils).

Si les **3 dimensions** externes de ce nano-objet sont inférieures à 100 nm : ce sont des **nanoparticules** (Voir figureI-1).

Ce seuil de taille largement populaire de 1-100 nm a été ensuite reconsidéré. Un matériau ayant aux moins une dimension externe inférieure à 100 nm est considéré comme nanomatériau. Aussi, un mélange de particules libres, sous forme d'agrégats ou sous forme d'agglomérat avec différentes tailles peut être considéré comme nanomatériau aussi longtemps qu'au moins 50% des particules (en nombre) présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm.

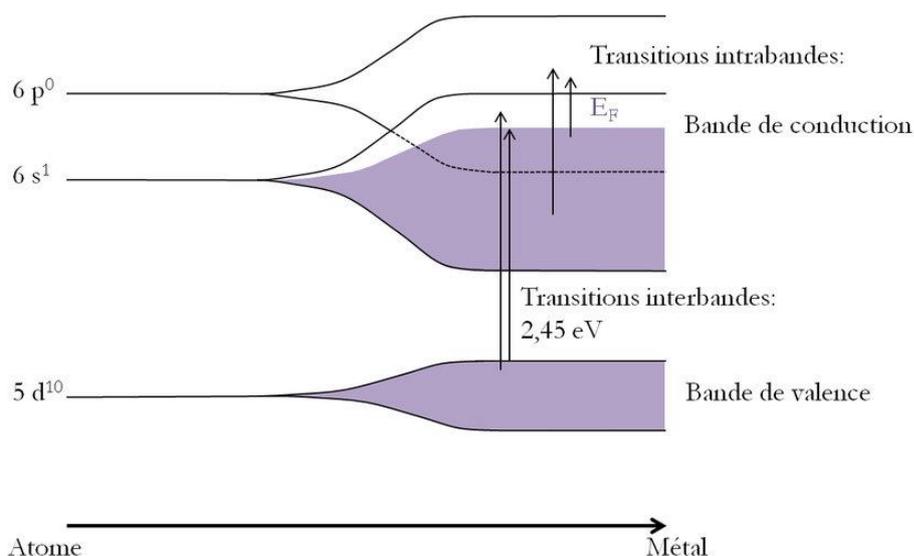


*Figure I-1 Hiérarchie des termes d'après le comité de normalisation des nanotechnologies [1]*

### *1.3 Les nanoparticules de métaux nobles et leurs propriétés optiques*

Les nanoparticules métalliques (MNP) se caractérisent par différentes propriétés, en fonction de leurs tailles et de leurs formes structurales typiques. Un rapport surface /volume élevé confère aux nanoparticules différentes propriétés par rapport aux mêmes matériaux à l'échelle macroscopique. Les changements sont dus aux effets quantiques : variation de la structure électronique, nombre d'atomes de surface élevé, l'augmentation des liaisons non saturées (liaisons pendantes) et variation de la bande interdite.

Un atome a des niveaux discrets et un métal massif des niveaux continus, c'est-à-dire des bandes (Voir figure I-2), principalement la bande de valence et la bande de conduction pour un métal tel que l'or. Les niveaux électroniques d'une nanoparticule se situent quant à eux entre ceux de l'atome et ceux du métal massif. Ils sont dégénérés par rapport à ceux de l'atome mais restent discrets.

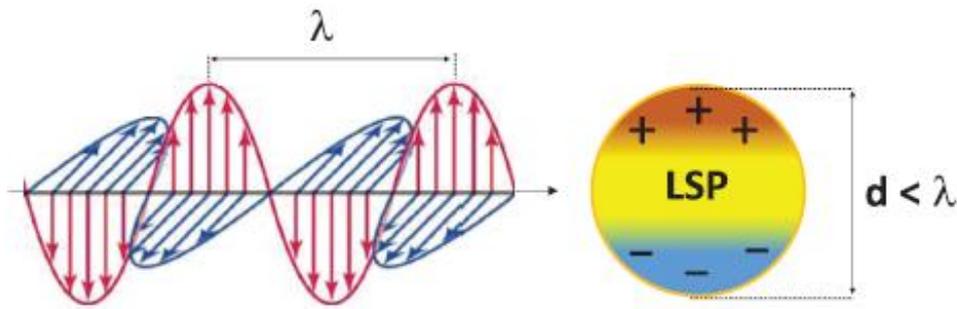


*Figure I-2 Schéma de l'évolution de la structure électronique de l'or [2].*

### *1.3.1 La résonance plasmon de surface localisée (LSPR):*

Les nanoparticules de métaux nobles sont des absorbeurs et diffuseurs de lumière très efficaces en raison du phénomène de résonance plasmon de surface localisée [3]. Lorsque les nanoparticules métalliques ont une taille très inférieure à la longueur d'onde de la lumière absorbée, elles agissent comme des dipôles en présence de la radiation électromagnétique. La composante électrique du champ électromagnétique va déplacer les électrons de conduction de leur position d'équilibre pour créer des charges non compensées qui vont produire une force de rappel qui est la polarisation de la surface de la nanoparticule métallique (Voir figure I-3).

L'excitation cohérente et collective des électrons de conduction libre produit une forte bande d'absorption et une diffusion de la lumière par les particules. Ces oscillations cohérentes sont appelées bande de résonance de plasmons (SPR band). La résonance de plasmons SPR conduit à un champ électrique local renforcé près de la surface des particules [4].



*Figure I-3 Origine de la résonance plasmonique de surface due à l'interaction cohérente des électrons dans la bande de conduction avec la lumière [5]*

### *I.3.2 Facteurs influençant la résonance plasmon de surface :*

La largeur de la bande d'absorption et la fréquence de résonance de plasmon de surface dépendent de plusieurs facteurs comme la taille, la forme (Voir figure I-6) [6] [7] ou la concentration [8] (Voir figure I-4), elle dépend aussi des constantes optiques de la nanoparticule et le milieu diélectrique environnant [9] [10] (Figure I-5).

Récemment, des nanoparticules d'argent de différentes formes ont été synthétisées. Sphères [11] [12], cubes [13] [14], triangles [15], bâtonnets [16] [17], hexagones [18], nano plaques [19], ellipsoïdes [20] [21], fils [22]. Chaque forme a différentes propriétés optiques allant de la région UV à la région infrarouge. Les nanoparticules sphériques exhibent des propriétés optiques dans la région visible, tandis que les nano bâtonnets et les nano cubes présentent des bandes d'absorption dans deux régions; visible (bande transversale) et infrarouge (bande longitudinale) (Voir figure I-7). Ces dernières attirent beaucoup l'attention des chercheurs car la couleur de la lumière diffusée peut être ajustable de la région visible à la région infrarouge en contrôlant simplement leur rapport d'aspect (La longueur / la largeur du nano bâtonnet).

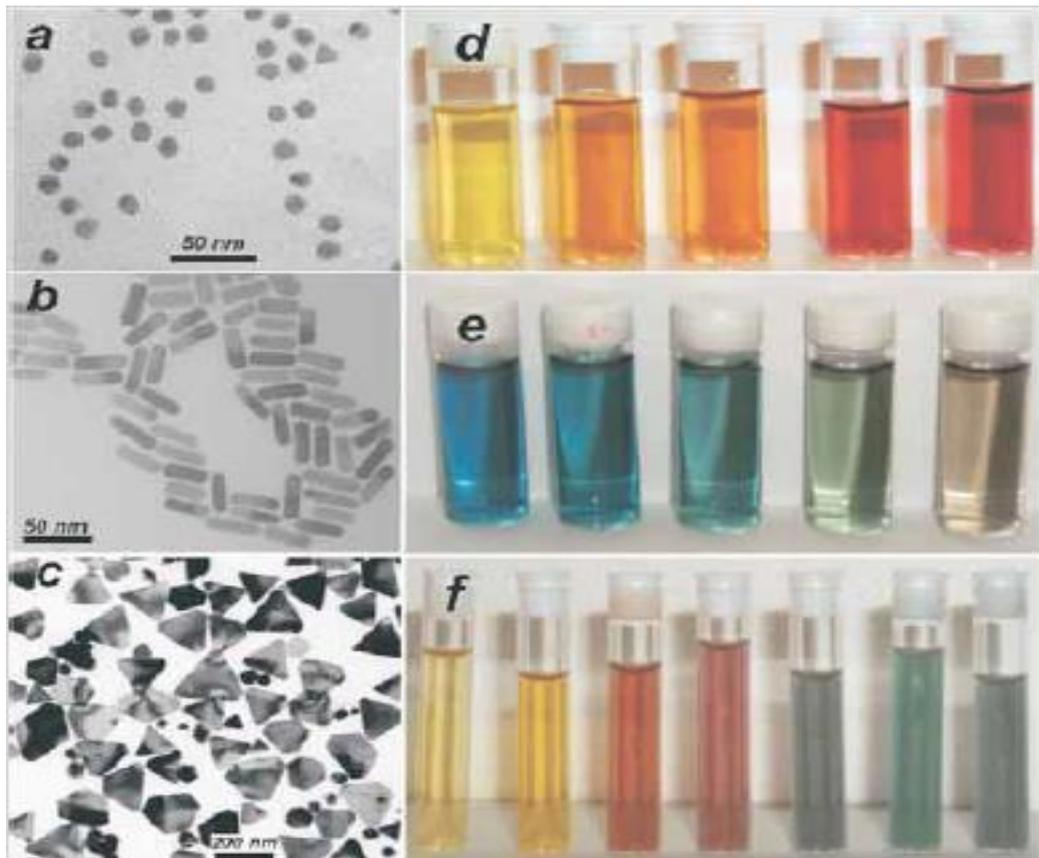


Figure I-4 À GAUCHE : Images TEM de nano sphères d'Or (a), de nano-tiges (b) et de nano-prisme d'Ag(c). À DROITE: Photographies de dispersions colloïdales de nanoparticules d'alliage Au Ag avec une concentration croissante en Au (d), des nano tiges d'Or de rapport d'aspect croissant (e) et des nano prismes d'Ag avec une taille latérale croissante (f).[8]

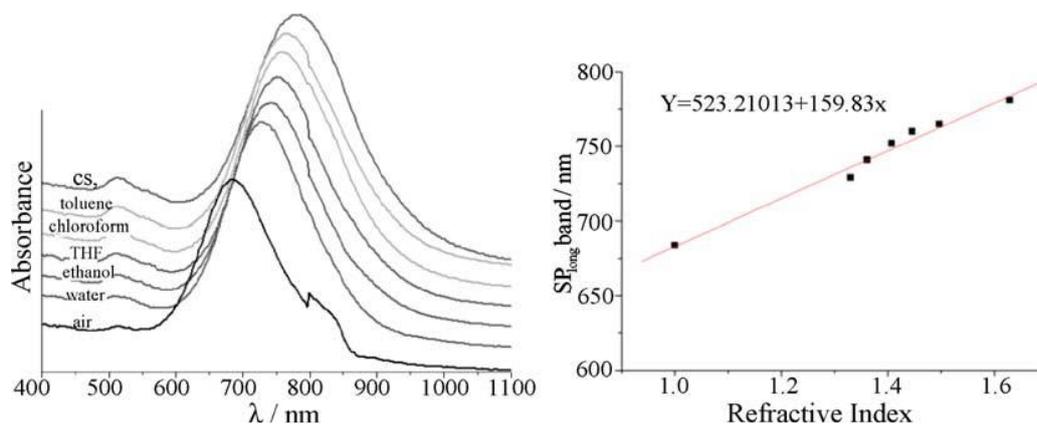


Figure I-5 Spectres expérimentaux de nano-bâtonnets d'or dans différents solvants (à gauche) et modification de la position longitudinale de la bande de plasmon avec indice de réfraction (à droite)[9]

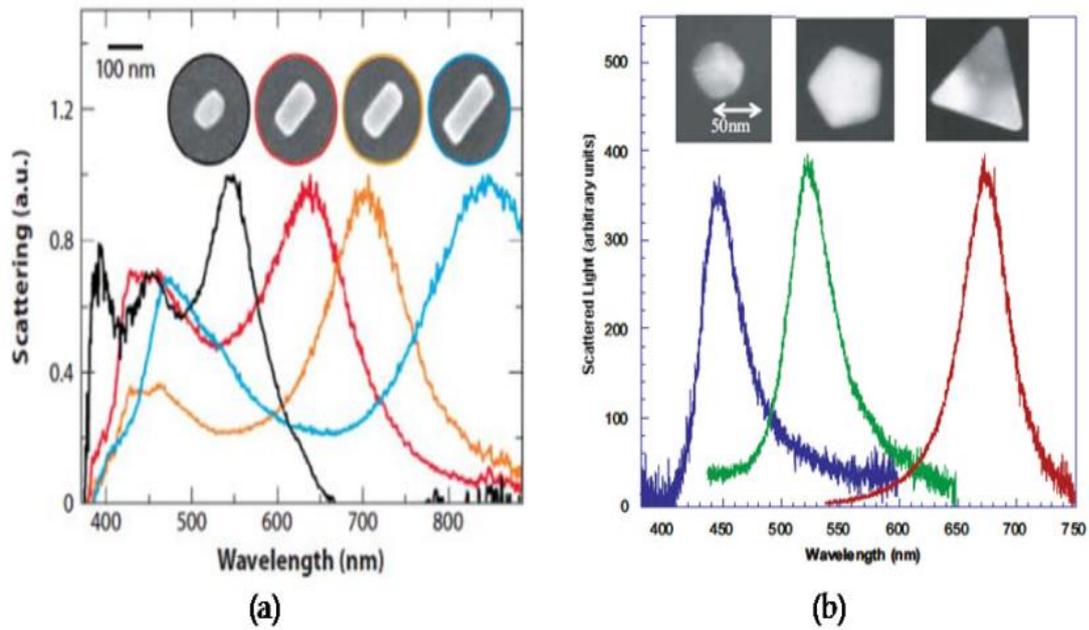


Figure I-6 Diffusion intense de la lumière par les nanoparticules de différentes formes allant de la région visible pour les nanoparticules sphériques (b)[6] à la région infrarouge pour les nano-bâtonnets (a) [7].

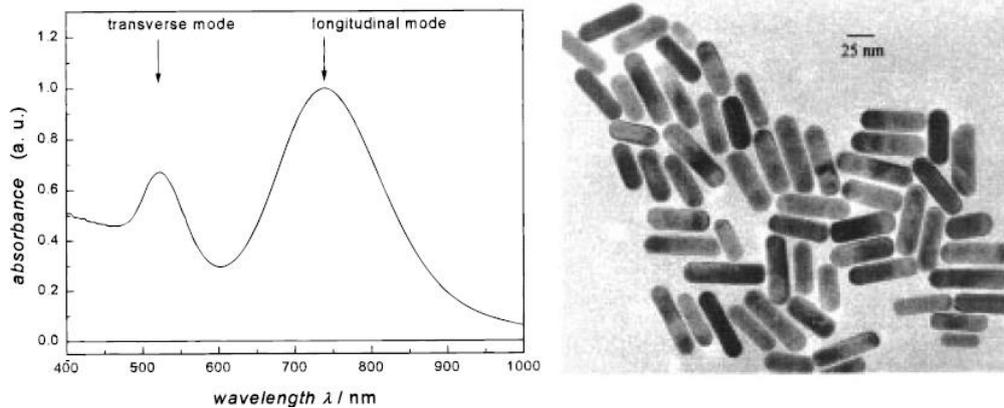


Figure I-7 Gauche: Spectre d'absorption UV-vis expérimental d'un échantillon de nano-bâtonnets d'or avec un facteur de forme moyen de 3,3. La bande à 525 nm est appelée résonance plasmonique transversale, tandis que celle centrée à 740 nm est appelée absorption longitudinale [23]

### *1.3.3 Propriétés induites dans une nanoparticule :*

L'excitation SPR des nanoparticules de métaux nobles induit un champ électrique local qui améliore fortement le rendement quantique de photoluminescence (PL) des nanoparticules. Cette dernière devient possible grâce à la recombinaison inter bande électron-trou dans les nanoparticules d'argent [24], les nanoparticules d'Or [25] et cuivre [26].

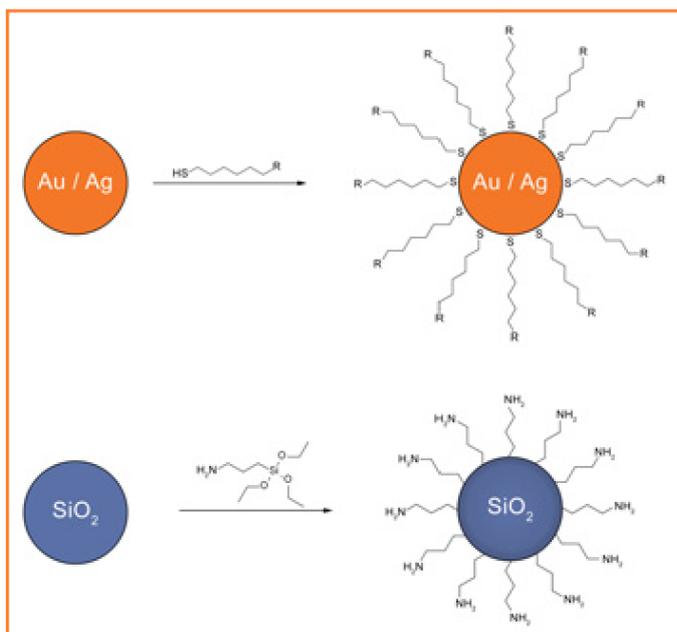
La diminution de la taille des nanoparticules augmente l'intensité des spectres de PL indiquant une amélioration de l'efficacité PL [24]. Par exemple les nano bâtonnets ont une efficacité PL de l'ordre de  $10^{-4}$  [27] qui est une grande amélioration en comparaison avec la valeur de l'efficacité PL de  $10^{-10}$  obtenue sur un film d'or lisse [25]. La PL des nanoparticules de métaux nobles peut être fortement améliorée par différentes stratégies telles que la modification de la surface du noyau métallique avec différents types de ligands [28], en modifiant la taille ou en dopant le noyau métallique avec d'autres atomes métalliques [29], et aussi en exploitant les émissions induite par l'agrégation [30].

### *1.3.4 Fonctionnalisation de surface des nanoparticules de métaux nobles :*

La fonctionnalisation c'est la fixation de bio-macromolécules à la surface d'une nanoparticule, comme par exemple des anticorps, des peptides, des glucides, des oligonucléotides à brin unique etc... Dans ces cas là on parle de nanostructures

bio-conjuguées où la molécule conjuguée à une sonde est utilisée uniquement pour le couplage avec une cible tandis que le noyau métallique sert de marqueur optique.

Les nanoparticules de métaux nobles peuvent être fonctionnalisées par des groupes Hydroxyles (-OH), Carboxylate (-COOH), Amines (-NH<sub>2</sub>) qui sont particulièrement importants, pour des applications de bio détection. Plus important encore, les nanoparticules de métaux nobles ont l'avantage d'avoir une forte affinité avec les groupes thiols (-SH) et disulfures (-S-S-) [31] [32]. L'efficacité des méthodes de modification repose sur l'adsorption physique, l'immobilisation non covalente et covalente [33] [34]. La fonctionnalisation de nanoparticules magnétiques par des particules métalliques inorganiques telles que l'argent ou l'or est devenu récemment particulièrement populaire, [35].



*Figure I-8 Possibilités de fonctionnalisation de la surface externe des nanoparticules métalliques (en haut) ou de nanoparticules de silice (en bas) à l'aide de ligands [36]*

#### *1.4 Méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques*

##### *1.4.1 Méthodes physiques*

La synthèse des nanoparticules métalliques par des méthodes physiques utilise habituellement les énergies physiques pour produire des nanoparticules avec une distribution presque étroite. L'approche physique permet de produire de grandes quantités d'échantillons en un seul procédé.

Dans les méthodes physiques, les nanoparticules sont préparées par évaporation-condensation à l'aide d'un four tubulaire à la pression atmosphérique. Des nanoparticules de divers matériaux, comme Ag, Au, PbS et fullerène, ont déjà été produites à l'aide de la technique d'évaporation/condensation [37], [38]. Des méthodes physiques conventionnelles, notamment la décharge d'étincelles et la pyrolyse, ont été utilisées pour la synthèse d'AgNPs [39], [40]. Les avantages des méthodes physiques sont la rapidité, l'utilisation de radiations en tant qu'agents réducteurs et l'absence de produits chimiques dangereux, mais les inconvénients sont un faible rendement et une consommation d'énergie élevée, une contamination par les solvants et un manque de distribution uniforme [41]–[45].

Le processus physique de synthèse des nanoparticules métalliques par condensation-évaporation, pourrait être effectué au moyen d'un four à tube à la pression atmosphérique. Le matériau de la source est centré au four tubulaire et vaporisé dans un gaz porteur.

Cependant, la production de nanoparticules métalliques à l'aide d'un four à tube comporte plusieurs inconvénients, ce dernier occupe un grand espace, consomme beaucoup d'énergie tout en augmentant la température ambiante autour du matériau source et exige beaucoup de temps pour atteindre la stabilité thermique. Un four à tube type nécessite une consommation d'énergie de plus de plusieurs kilowatts et un temps de préchauffage de plusieurs dizaines de minutes pour atteindre une température de fonctionnement stable.

Des nanoparticules d'argent ont été synthétisées avec une ablation laser de matériaux en vrac métalliques en solution [46], [47]. L'un des avantages de l'ablation laser par rapport à d'autres méthodes conventionnelles de préparation des colloïdes métalliques est l'absence de réactifs chimiques dans les solutions. Par conséquent, les colloïdes purs, utiles pour d'autres applications, peuvent être produits par cette méthode.

Le procédé de dépôt chimique en phase vapeur (CVD) nécessite le dépôt d'un film de catalyseur métallique (par exemple, du nickel, du cobalt ou du fer) sur un substrat. Après la nucléation du catalyseur par attaque chimique ou recuit thermique, un mélange gazeux contenant le carbone est injecté dans la chambre de réaction. Cette technique permet de préparer différents types de colloïdes métalliques, ceci dit elle a certaines limites qui empêchent d'obtenir des nanoparticules dispersées.

#### *1.4.2 Méthodes biologiques*

Les méthodes de synthèses biologiques fournissent un large éventail de ressources pour la synthèse des nanoparticules métalliques[48]–[51], Ces méthodes ont une approche plus respectueuse de l'environnement ainsi qu'une technique à faible coût. Cependant, il n'est pas facile d'obtenir une grande quantité de nanoparticules en utilisant la synthèse biologique.

Les méthodes de synthèse biologiques utilisent des agents réducteurs naturels tels que les polysaccharides [52], les micro-organismes biologiques comme les bactéries et les champignons ,ou aussi des extraits de feuilles de plantes [53]. Cette « chimie verte » est apparues comme une solution de rechange simple et viable aux procédures synthétiques chimiques plus complexes pour obtenir des nanoparticules métalliques . On sait que les bactéries produisent des matières inorganiques, qu'elles soient intracellulaires ou extracellulaires[54]. Cela en fait des bio-usines potentielles pour la synthèse de nanoparticules

comme l'or et l'argent. En particulier, l'argent qui est bien connu pour ses propriétés biologiques [55].

#### *1.4.3 Méthodes organométalliques*

L'utilisation de précurseurs organométalliques permet la synthèse de nanoparticules métalliques dans des conditions très douces de température et de pression [56]–[58]. La taille, la forme et la surface des particules peuvent ainsi être contrôlées. Cette méthode peut être étendue à la synthèse de nanoparticules bimétalliques, par exemple d'anisotropie magnétique contrôlée, ou de nanoparticules d'oxydes semi-conducteurs

La procédure de synthèse consiste à éliminer les ligands d'un complexe organométallique dans les conditions les plus douces possibles (température ambiante ou inférieure, pression de gaz faible) et avec le minimum de réactifs potentiellement polluants. Le cas idéal est la réaction d'un précurseur oléfinique avec du dihydrogène qui conduit à la production d'un alcane incapable dans ces conditions de produire des liaisons fortes avec la surface métallique en croissance. Les atomes «nus» produits dans ces conditions se condenseront pour produire des nanoparticules. Lorsque le stabilisant est un polymère, il n'existera que peu d'interactions électroniques entre le polymère et la particule, ce qui peut donc présenter des propriétés physiques similaires à celles observées sous vide ou même en phase gazeuse.

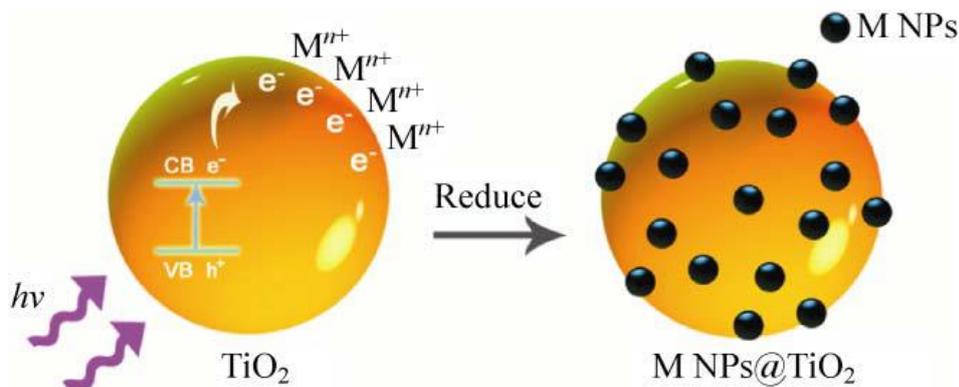
Une autre approche peut être le déplacement des ligands de surface par un gaz réactif tel que le CO, conduisant à des intermédiaires instables qui finissent par se condenser en particules. Dans ce dernier cas cependant, le CO sera toujours présent à la surface des grappes en croissance, ce qui modifiera leur composition chimiques. Les conditions de réaction (température, pression de gaz, concentration de précurseurs et de stabilisants) auront une forte influence sur la nature des particules formées et d'abord sur leur taille.

#### *1.4.4 Méthodes photochimiques*

Les stratégies de synthèse photo-induites ont également été développées par exemple pour la synthèse de nano tiges d'Or [59], des nanoparticules d'argent de formes decaédriques [60] ou hautement fluorescente [61], [62] ont synthétisé des nanoparticules d'argent par photo réduction d'AgNO<sub>3</sub> dans des suspensions d'argile inorganique en couches, qui servent d'agent stabilisateur qui empêche les nanoparticules d'agréger. L'irradiation a désintégré les

AgNPs en tranches plus petites avec une distribution à mode unique jusqu'à ce qu'une distribution de taille et de diamètre relativement stables soit atteinte. Cependant, cette méthode exige des équipements à coût élevé et un environnement expérimental.

La voie photochimique est un moyen prometteur pour former in situ un nano composite de métaux nobles à semi-conducteurs en réduisant les ions de métaux nobles adsorbés à la surface d'un semi-conducteur [63]. Il est bien connu qu'un semi-conducteur peut être excité puis générer des électrons ( $e^-$ ) et des trous ( $h^+$ ) dans la bande de conduction (CB) et la bande de valence (VB) si l'énergie des photons de la lumière incidente est supérieure à celle de la bande interdite du semi-conducteur (figure1). Dans cette étude, les nanoparticules de  $TiO_2$  ont une taille 200-400nm .et les nanoparticules de Pt, Au et Pd à sa surface mesurent 1 nm, 5 nm et 5 nm, respectivement, et le diamètre des nanoparticules d'Ag est compris entre 2 à 20 nm.



**Figure I-9** Voie photochimique pour la formation de nano composite  $M @ TiO_2$ . CB: bande de conduction; VB: bande de valence; M: Ag, Pd, Au, Pt;  $e^-$ : électrons photo excités;  $h^+$ : trous photo excités; NPs: nanoparticules [63].

#### 1.4.5 Méthodes électrochimiques

Les nanoparticules peuvent être préparées par la méthode de déposition électrochimique développée par Reetz en 1994. Cette méthode permet par exemple de produire des nano tiges d'Or avec un haut rendement et un rapport d'aspect de 4 [64].

La synthèse électrochimique consiste à utiliser de l'énergie électrique pour induire un changement chimique. Utiliser de l'électricité pour remplacer des réactifs chimiques toxiques et coûteux. Cela permet des synthèses plus propres et moins chères avec une plus grande efficacité de production et un coût réduit. Cette méthode se déroule en 6 étapes élémentaires :

- Dissolution oxydative d'anode en métal

- Migration de l'ion métallique vers la cathode
- Réduction et formation d'atomes métalliques à la cathode
- Nucléation et croissance des particules métalliques en solution
- Stabilisation des nanoparticules métalliques par des agents protecteurs colloïdaux

Cette méthode de synthèse présente un avantage par rapport à la réduction chimique qui est l'absence de polluants secondaires générés durant la réaction. Aussi, les différents paramètres tels que la densité de courant, le temps, température ; distance entre électrodes et la polarité du solvant peuvent être contrôlés durant la réaction, résultant à un grand contrôle de la taille des particules.

#### *1.4.6 Méthodes chimiques*

La méthode chimique est une méthode dans laquelle on part d'un précurseur moléculaire pour le faire ensuite nucléer, se condenser et éventuellement s'agréger, l'idée étant d'inhiber sa croissance une fois ses caractéristiques jugées satisfaisantes. Cette dernière méthode permet un bien meilleur contrôle de la taille de l'objet final.

En général, le processus de synthèse chimique des nanoparticules métalliques en solution utilise habituellement trois principaux composants : (i) les précurseurs métalliques, (ii) les agents réducteurs et (iii) les agents stabilisateurs.

La formation de solutions colloïdales à partir de la réduction des sels d'argent comporte deux étapes de nucléarisation et de croissance subséquente. Il est également révélé que la taille et la forme des nanoparticules synthétisées dépend fortement de ces étapes [65]. Le processus de formation peut se décomposer en deux étapes qui sont la nucléation, c'est-à-dire la formation d'un nucléi à partir d'un précurseur du métal, puis la croissance du germe. C'est à ce stade que va intervenir ce que l'on appelle l'agent stabilisant, qui va servir à limiter cette croissance. Il est possible de contrôler la nucléation initiale et la croissance subséquente des noyaux initiaux en ajustant les paramètres de réaction comme la température de réaction, le pH, les précurseurs, les agents de réduction (par exemple NaBH<sub>4</sub>, éthylène glycol, glucose) et les agents de stabilisation (PVA, PVP, oléate de sodium). Récemment, il a été découvert que le polyvinylpyrrolidone (PVP) un stabilisant populaire dans les synthèses de nanoparticules possède une capacité réductrice pour Ag + [66].

#### *1.4.6.1 Colloïdes de nano sphères*

À l'heure actuelle, les protocoles de synthèse de nanoparticules colloïdales les plus populaires impliquent la réduction de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> (acide tétrachloroaurique, TCAC) par divers agents réducteurs. En 1951, Turkevich et al. ont introduit cette méthode très pratique du citrate, qui a été développée par [67] pour produire des particules relativement mono-dispersées d'un diamètre moyen contrôlé de 10 à 60 nm. On peut fabriquer des particules plus petites en utilisant du borohydrure de sodium, un mélange de borohydrure avec EDTA (5 nm) [68] ou du thiocyanate de sodium ou de potassium [69] (1 à 2 nm). Pour les particules de plus de 20 nm, la méthode du citrate donne des particules allongées [70]. Pour améliorer la forme des particules de grande taille, plusieurs approches ont été suggérées [71]. Les différents progrès et défis de la fabrication de nanoparticules d'argent ont été examinés dans [72].

#### *1.4.6.2 Nano tiges métalliques*

La résonance plasmon (RP) des nano tiges d'or ou nanorods en anglais (NRs) peut facilement être ajustée sur 650 à 1500 nm par variation simple de la longueur ou du rapport d'aspect des NRs. Historiquement, la première fabrication de NRs d'or a été effectuée en utilisant la méthode de dépôt électrochimique dans une membrane poreuse [73]. Peut-être, [64] ont été les premiers à introduire une combinaison d'additifs surfactants et une procédure d'oxydation/réduction électrochimique pour préparer des NR d'or colloïdales avec une épaisseur moyenne d'environ 10 nm et un rapport d'aspect variant de 1,5 à 11. À l'heure actuelle, le protocole le plus populaire est un protocole assisté par la CTAB en deux étapes, qui a fait l'objet d'un processus de lancement et qui a été suggéré par les groupes Murphy [74] et El-Sayed [75] (CTAB, 188; bromure de cetyltriméthylammonium). À l'étape 1, les particules d'or de semence sont formées par l'ajout de borohydrure de sodium aqueux à une solution aqueuse mixte CTAB et TCAA. À l'étape 2, les NRs d'or sont cultivées en ajoutant les graines d'or à une solution de croissance contenant CTAB, nitrate d'argent, TCAA et acide ascorbique. En général, les NRs peuvent pousser pendant la nuit sans remuer.

Pour améliorer la qualité des échantillons préparés, on peut utiliser la séparation dans un gradient de concentration de glycérol décrit par [76]. [77] ont décrit l'utilisation d'une approche de centrifugation simple pour la séparation efficace des nano barres d'or colloïdales d'un mélange de nano barres et de nano sphères. En ce qui concerne les particules à rapport élevé, [78] ont décrit une autre approche qui repose sur la dissolution partielle des particules

de dérivation du complexe Au(III)/CTAB. En raison de la réduction de la taille, les impuretés deviennent entièrement solubles dans l'eau et peuvent être séparées des NRs. Un résumé des avantages de la synthèse des NRs d'or se trouvent dans les revues [9], [78], [79] et l'article [80].

Les NRs d'or peuvent être utilisées comme modèles pour le dépôt d'une mince couche d'argent[81] par la réduction du nitrate d'argent par l'acide ascorbique en présence de CTAB, de polyvinyle pyrrolidone et de NaOH pour augmenter le pH [82], [83].

#### *1.4.6.3 Nano coquilles métalliques*

Les particules de silice (noyau) / or (coquille) constituent un exemple de NP avec une résonance plasmon (RP) pouvant être réglée entre 600 et 1 500 nm par variation de la structure des particules, c'est-à-dire dans leur épaisseur de coquille/rayon de cœur. En 1998, Halas et al.[84] ont développé un protocole en deux étapes impliquant la fabrication de nano sphère de silice suivies par leur amination, la fixation de graines d'or fines (2 à 4 nm) et la formation d'une coquille d'or complète en réduisant la TCCA sur les graines. Un résumé de l'élaboration de cette approche sur 10 ans est présenté dans la réf. [85]. Phonthammachai et al. ont suggéré la modification d'une étape de la méthode Halas [86], tandis que Prasad et al. ont décrit une méthode de synthèse de la sphère de polystyrène/Nano coquilles d'or [87]. La fabrication de Nano coquilles d'alliage d'argent et d'or sur des noyaux de silice a été décrite dans plusieurs publications [88], [89]. En utilisant des nano coquilles silice/or ou de l'or/silice/or comme précurseurs ,[90] ont développé une méthode polyvalente pour fabriquer des nano boules d'or creuses et des nano boules complexes (avec un noyau d'or) basés sur une ionisation et une technique de gravure de vapeur HF. De tel NPs assemblées sur un substrat peuvent être considéré comme une plateforme SERS prometteuse pour la détection biomoléculaire. Xia et al ont introduit un nouveau protocole basé sur le remplacement galvanique des ions d'argent en réduisant les atomes d'or [90], [91]. Cette approche permet de produire une variété de formes et de structures de particules, à partir des cubes d'argent par processus de polyol [92] et jusqu'aux nano cages [91]. La formation de ces particules est accompagnée d'un déplacement rouge de la PR de 400 à 1000 nm.

#### *1.4.6.4 Autres particules et assemblages de nanoparticules de métaux nobles*

À ce jour, on peut trouver beaucoup de protocoles publiés pour la fabrication de NPs ayant diverses formes et structures. En particulier, la réduction de TCCA sur 10 à 15 nm de graines

d'or mène à la formation de nano étoiles d'Or, tandis que l'utilisation de multiples graines jumelées ont produit des bipyramides d'or [93]. Il a été démontré qu'une combinaison d'éthylène glycol avec un surfactant cationique PDDA est un chemin de polyol efficace pour la synthèse contrôlable de l'octahedral d'or de haute qualité[94].

Outre la fabrication De NPs isolées, il est également très important de les assembler en structures 1D, 2D et 3D. L'objectif ultime de cette approche est d'explorer les propriétés physiques collectives des assemblages, qui sont différentes de celles des NPs isolées. À cette fin, diverses stratégies (évaporation par solvant, traction électrostatique, liaison par hydrogène, assemblage par ADN et réticulation induite par une interaction bispécifique comme l'anticorps-antigène et ainsi de suite) ont été mises au point pour former des assemblages de NPs et les utiliser dans la fabrication de dispositifs nano structuraux [95].

### *1.5 Les applications liées à l'absorption et à la diffusion des nanoparticules de métaux nobles :*

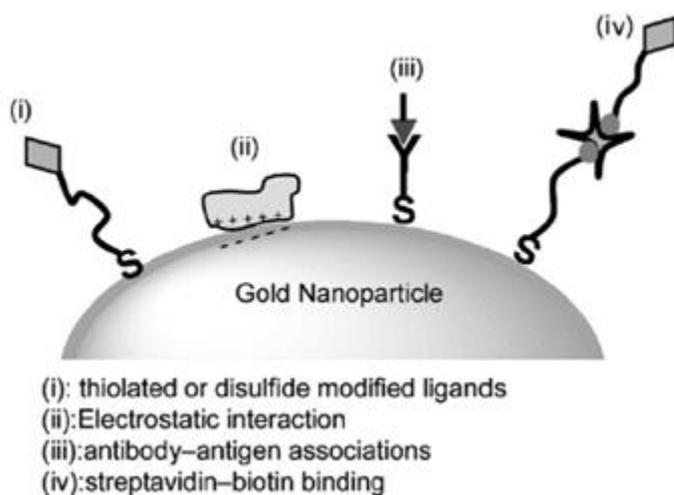
Les applications liées à l'absorption et à la diffusion des nanoparticules de métaux nobles sont nombreuses, allant de la détection [96] au effets photo thermiques [97] à l'imagerie cellulaire [98]

#### *1.5.1 Détection biomédicale et imagerie :*

Dans la plupart des applications de détections par des nanoparticules de métaux nobles, le cœur métallique sert d'étiquette optique tandis que la sonde moléculaire adsorbé à sa surface est utilisée uniquement pour le couplage avec la cible.

A cause de la sensibilité de la résonance plasmon à l'environnement diélectrique local, les nanoparticules plasmoniques peuvent agir comme des transducteurs qui convertissent les petits changements dans l'indice de réfraction local ; en décalage spectral dans le spectre d'extinction et de diffusion. Ce décalage est vers le rouge lorsque l'indice de réfraction locale augmente, indiquant que la molécule cible s'est liée à la surface des nanoparticules.

Avec ce principe, la liaison moléculaire peut être surveillée en temps réel avec une sensibilité élevée en utilisant la spectrométrie de diffusion ou de transmission par résonance [99] [100].

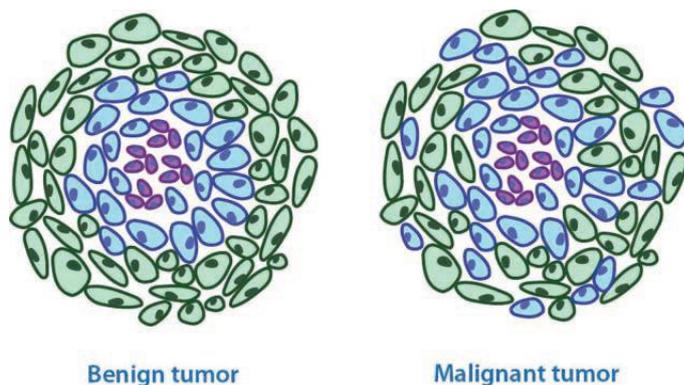


*Figure I-10 Schéma représentatif de la formation d'une sonde à nanoparticule d'or [34]*

### *1.5.2 Thérapie photo thermique :*

La conversion de la lumière en chaleur est extrêmement efficace dans les nanoparticules d'Or grâce à l'absorption efficace de plasmon dans les régions visible et proche infrarouge [101] ; l'excellente photo stabilité par rapport aux composés organiques; [102] [97], faible rendement de luminescence ainsi que le relâchement rapide de la RPS [103] [104]

La thérapie plasmonique photo thermique (PPTT) permet de cibler les cellules cancéreuses grâce à la fonctionnalisation des nanoparticules plasmoniques avec un anticorps spécifique [97]. L'hyperthermie des cellules cancéreuses devient alors possible en exposant les NPs métalliques à un rayonnement laser proche de leur bande d'absorption résonante, produisant un chauffage local des cellules cancéreuses sans nuire aux tissus sains environnants et cela en accordant la résonance plasmon des nanoparticules avec la fenêtre optique thérapeutique allant de 700 nm-950 et 1000-1350nm [105]



*Figure I-11 Types de tumeurs. Dans une tumeur bénigne, les cellules mutées (bleu) restent contenues dans un seul groupe, avec une frontière claire les séparant des cellules normales. Dans une tumeur maligne, des cellules mutées sont mélangées à des cellules normales, tentant d'envahir le tissu environnant.[106]*

### *1.6 Effet antimicrobien des nanoparticules d'argent*

En raison de leur taille nanométrique, les nanoparticules de métaux nobles ont un rapport surface sur volume très important qui leur confère d'énormes quantités de surfaces actives qui leur permettent une grande distribution et une réactivité importante avec les cellules et organismes vivants. Par exemple une nanoparticule sphérique de 2 nm de diamètre a 60% d'atomes de surface tandis qu'une sphère de 20 nm a 5 % d'atomes de surface seulement. Il a été démontré qu'à des concentrations très faibles, les nanoparticules métalliques chimiquement stables ne sont pas toxiques pour les cellules humaines [107]. Cela dit, les nanoparticules d'argent de taille allant de 1 -100 nm ont montré des propriétés bactéricides sur différents micro-organismes (Martinez-Castanon et al., 2008; Mirzajani et al., 2011; Pal et al., 2007; Zhang et al., 2003) [113]. Les interactions directes des nanoparticules avec les bactéries ont de préférence un diamètre d'environ 1-15 nm [114] [115] [116]. Plus la taille des nanoparticules diminue, plus leur action antimicrobienne n'augmente.

Cependant, les nanoparticules d'Ag ayant les mêmes surfaces (tailles) mais avec différentes formes montrent une activité bactéricide de différentes formes, ce qui peut être attribué aux variations dans les surfaces efficaces et les facettes actives des AgNPs. Différentes chimies de surface, telles que le carbone moussu, le poly (N-vinyle) La 2- pyrrolidone) (PVP) et l'albumine de sérum bovin (BSA) peuvent également influencer sur l'interaction des NPs d'Ag avec des virus, tels que le virus VIH-1, et provoquer leur inhibition [117].

L'effet antibactérien dépend également de la concentration, mais cet effet est indépendant de l'acquisition de la résistance aux médicaments par la bactérie. Ayala-Nunez et al. (2009) [118] a

signalé une activité antimicrobienne des NPs d'Ag qui est dépendante de la dose vis-à-vis des SARM et des non-SARM et a révélé que les SARM et non SARM sont découragés dans l'inoculum de culture (conc.  $10^5$  CFU par ml) à des concentrations supérieures à  $1,35 \times 10^{-3}$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ . Les études sur l'activité antibactérienne des NPs d'Ag contre *E. coli* à Gram positif et *E. coli* à Gram négatif ont montré que l'inhibition de la croissance dans le cas de *S. aureus* est moins remarquable, alors que *E. coli* est inhibé à de faibles concentrations en nanoparticules d'argent [119]. Fait intéressant, les bactéries à Gram positif, telles que *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *V.cholérique*, sont moins sensibles que les bactéries à Gram négatif, telles que *E. coli* et *S.typhi*; toutefois, les deux classes de bactéries présentent une inhibition complète de la croissance à des concentrations plus élevées en nanoparticules d'argent ( $> 75 \mu\text{g} / \text{ml}$ )[120].

### 1.7 Conclusion

Les nanoparticules de métaux nobles ont des propriétés optiques uniques allant de la région visible à la région infrarouge et qui sont ajustables selon la taille et la forme des nanoparticules. On peut les synthétiser avec différentes méthodes (physiques, biologiques, chimiques), les méthodes de synthèse chimiques sont très avantageuses pour la fabrication de nanoparticules stables de taille et forme différentes avec un haut rendement et à moindre coût.

Le rapport surface sur volume élevé des nanoparticules de métaux nobles, leurs propriétés optiques uniques ainsi que leur fonctionnalisation, font des nanoparticules des métaux nobles une nouvelle nano plateforme idéale pour le theranostic, mais également des agents antimicrobiens redoutables.

## *1.8 Références*

- [1] “ISO/TS 27687:2008(fr), Nanotechnologies — Terminologie et définitions relatives aux nano-objets — Nanoparticule, nanofibre et nanofeuillet.” [Online]. Available: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:27687:ed-1:v1:fr>. [Accessed: 05-Jan-2020].
- [2] D. Coursault, “Decoration of linear networks of smectic defects with gold nanoparticles,” 2013.
- [3] C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. John Wiley & Sons, 2008.
- [4] U. Kreibig and M. Vollmer, “Theoretical Considerations,” in *Optical Properties of Metal Clusters*, U. Kreibig and M. Vollmer, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995, pp. 13–201.
- [5] V. Amendola, R. Pilot, M. Frascioni, O. M. Maragò, and M. A. Iati, “Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 29, no. 20, p. 203002, Apr. 2017, doi: 10.1088/1361-648X/aa60f3.
- [6] J. J. Mock, M. Barbic, D. R. Smith, D. A. Schultz, and S. Schultz, “Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles,” *J. Chem. Phys.*, vol. 116, no. 15, pp. 6755–6759, Apr. 2002, doi: 10.1063/1.1462610.
- [7] X. Lu, M. Rycenga, S. E. Skrabalak, B. Wiley, and Y. Xia, “Chemical Synthesis of Novel Plasmonic Nanoparticles,” *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 60, no. 1, pp. 167–192, 2009, doi: 10.1146/annurev.physchem.040808.090434.
- [8] L. Liz-Marzán, “Nanometals,” *Mater. Today - MATER TODAY*, vol. 7, pp. 26–31, Feb. 2004, doi: 10.1016/S1369-7021(04)00080-X.
- [9] J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, and P. Mulvaney, “Gold nanorods: synthesis, characterization and applications,” *Coord. Chem. Rev.*, vol. 249, no. 17–18, pp. 1870–1901, 2005.
- [10] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, “The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, no. 3, pp. 668–677, Jan. 2003, doi: 10.1021/jp026731y.
- [11] M. Chen, Y.-G. Feng, X. Wang, T.-C. Li, J.-Y. Zhang, and D.-J. Qian, “Silver Nanoparticles Capped by Oleylamine: Formation, Growth, and Self-Organization,” *Langmuir*, vol. 23, no. 10, pp. 5296–5304, May 2007, doi: 10.1021/la700553d.
- [12] E. Filippo, A. Serra, and D. Manno, “Poly(vinyl alcohol) capped silver nanoparticles as localized surface plasmon resonance-based hydrogen peroxide sensor,” *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 138, no. 2, pp. 625–630, May 2009, doi: 10.1016/j.snb.2009.02.056.
- [13] Y. Sun and Y. Xia, “Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles,” vol. 298, p. 5, 2002.
- [14] B. J. Wiley et al., “Synthesis and optical properties of silver nanobars and nanorice,” *Nano Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 1032–1036, 2007.

- [15] R. Jin, Y. C. Cao, E. Hao, G. S. Métraux, G. C. Schatz, and C. A. Mirkin, “Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation,” *Nature*, vol. 425, no. 6957, p. 487, 2003.
- [16] S. Link, C. Burda, B. Nikoobakht, and M. A. El-Sayed, “How long does it take to melt a gold nanorod?: A femtosecond pump–probe absorption spectroscopic study,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 315, no. 1–2, pp. 12–18, 1999.
- [17] S. K. Kang, S. Chah, C. Y. Yun, and J. Yi, “Aspect ratio controlled synthesis of gold nanorods,” *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 20, no. 6, pp. 1145–1148, 2003.
- [18] M. Liu, M. Leng, C. Yu, X. Wang, and C. Wang, “Selective synthesis of hexagonal Ag nanoplates in a solution-phase chemical reduction process,” *Nano Res.*, vol. 3, no. 12, pp. 843–851, Dec. 2010, doi: 10.1007/s12274-010-0055-z.
- [19] I. Pastoriza-Santos and L. M. Liz-Marzán, “Colloidal silver nanoplates. State of the art and future challenges,” *J. Mater. Chem.*, vol. 18, no. 15, pp. 1724–1737, Apr. 2008, doi: 10.1039/B716538B.
- [20] J. Li, Y. Lin, and B. Zhao, “Spontaneous agglomeration of silver nanoparticles deposited on carbon film surface,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 4, no. 4, pp. 345–349, 2002.
- [21] Z. Li, A. Gu, and Q. Zhou, “Growth of spindle-shaped silver nanoparticles in SDS solutions,” *Cryst. Res. Technol. J. Exp. Ind. Crystallogr.*, vol. 44, no. 8, pp. 841–844, 2009.
- [22] A. Graff, D. Wagner, H. Ditlbacher, and U. Kreibig, “Silver nanowires,” *Eur. Phys. J. -At. Mol. Opt. Plasma Phys.*, vol. 34, no. 1–3, pp. 263–269, 2005.
- [23] S. Link, M. B. Mohamed, and M. A. El-Sayed, “Simulation of the optical absorption spectra of gold nanorods as a function of their aspect ratio and the effect of the medium dielectric constant,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 103, no. 16, pp. 3073–3077, 1999.
- [24] O. A. Yeshchenko, I. M. Dmitruk, A. A. Alexeenko, M. Yu. Losytsky, A. V. Kotko, and A. O. Pinchuk, “Size-dependent surface-plasmon-enhanced photoluminescence from silver nanoparticles embedded in silica,” *Phys. Rev. B*, vol. 79, no. 23, p. 235438, Jun. 2009, doi: 10.1103/PhysRevB.79.235438.
- [25] E. Dulkeith et al., “Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles,” *Phys. Rev. B*, vol. 70, no. 20, p. 205424, Nov. 2004, doi: 10.1103/PhysRevB.70.205424.
- [26] A. Mooradian, “Photoluminescence of Metals,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 22, no. 5, pp. 185–187, Feb. 1969, doi: 10.1103/PhysRevLett.22.185.
- [27] M. B. Mohamed, V. Volkov, S. Link, and M. A. El-Sayed, “The ‘lightning’ gold nanorods: fluorescence enhancement of over a million compared to the gold metal,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 317, no. 6, pp. 517–523, Feb. 2000, doi: 10.1016/S0009-2614(99)01414-1.
- [28] Z. Wu and R. Jin, “On the Ligand’s Role in the Fluorescence of Gold Nanoclusters,” *Nano Lett.*, vol. 10, no. 7, pp. 2568–2573, Jul. 2010, doi: 10.1021/nl101225f.
- [29] S. Wang et al., “A 200-fold quantum yield boost in the photoluminescence of silver-doped Ag(x)Au(25-x) nanoclusters: the 13th silver atom matters,” *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 53, no. 9, pp. 2376–2380, Feb. 2014, doi: 10.1002/anie.201307480.

- [30] N. Goswami, Q. Yao, Z. Luo, J. Li, T. Chen, and J. Xie, "Luminescent Metal Nanoclusters with Aggregation-Induced Emission," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 7, no. 6, pp. 962–975, Mar. 2016, doi: 10.1021/acs.jpcclett.5b02765.
- [31] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, and R. Whyman, "Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid–Liquid system," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 7, pp. 801–802, Jan. 1994, doi: 10.1039/C39940000801.
- [32] I. Vargas-Baca et al., "Linear and nonlinear optical responses of a dye anchored to gold nanoparticles dispersed in liquid and polymeric matrixes," *Can. J. Chem.*, vol. 80, no. 11, pp. 1625–1633, Nov. 2002, doi: 10.1139/v02-147.
- [33] N. Barić, M. Rapp, H. Sigrist, and H. J. Ache, "Covalent photolinker-mediated immobilization of an intermediate dextran layer to polymer-coated surfaces for biosensing applications," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 13, no. 7, pp. 855–860, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0956-5663(98)00052-9.
- [34] Z. Wang and L. Ma, "Gold nanoparticle probes," *Coord. Chem. Rev.*, vol. 253, no. 11–12, pp. 1607–1618, 2009.
- [35] B. Kalska-Szostko, M. Rogowska, A. Dubis, and K. Szymański, "Enzymes immobilization on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–gold nanoparticles," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, no. 7, pp. 2783–2787, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.apsusc.2011.10.132.
- [36] M.-A. Neouze and U. Schubert, "Surface modification and functionalization of metal and metal oxide nanoparticles by organic ligands," *Monatshefte Für Chem.-Chem. Mon.*, vol. 139, no. 3, pp. 183–195, 2008.
- [37] A. S. Gurav, T. T. Kodas, L.-M. Wang, E. I. Kauppinen, and J. Joutsensaari, "Generation of nanometer-size fullerene particles via vapor condensation," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 218, no. 4, pp. 304–308, Feb. 1994, doi: 10.1016/0009-2614(93)E1491-X.
- [38] F. E. Kruis, H. Fissan, and B. Rellinghaus, "Sintering and evaporation characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 69, pp. 329–334, 2000.
- [39] T. C. Pluym et al., "Solid silver particle production by spray pyrolysis," *J. Aerosol Sci.*, vol. 24, no. 3, pp. 383–392, 1993.
- [40] D. C. Tien et al., "Novel technique for preparing a nano-silver water suspension by the arc-discharge method," *Rev Adv Mater Sci*, vol. 18, pp. 750–756, 2008.
- [41] R. F. Elsupikhe, K. Shameli, M. B. Ahmad, N. A. Ibrahim, and N. Zainudin, "Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of  $\kappa$ -carrageenan," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 10, no. 1, p. 302, 2015.
- [42] K. Shameli, M. B. Ahmad, W. M. Z. W. Yunus, N. A. Ibrahim, Y. Gharayebi, and S. Sedaghat, "Synthesis of silver/montmorillonite nanocomposites using  $\gamma$ -irradiation," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, p. 1067, 2010.
- [43] K. Shameli et al., "Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, p. 875, 2010.

- [44] K. M. A. El-Nour, A. Eftaiha, A. Al-Warthan, and R. A. Ammar, "Synthesis and applications of silver nanoparticles," *Arab. J. Chem.*, vol. 3, no. 3, pp. 135–140, 2010.
- [45] M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, M. Kubokawa, and T. Tsuji, "Microwave-assisted synthesis of metallic nanostructures in solution," *Chem. Eur. J.*, vol. 11, no. 2, pp. 440–452, 2005.
- [46] S. I. Dolgaev, A. V. Simakin, V. V. Voronov, G. A. Shafeev, and F. Bozon-Verduraz, "Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 186, no. 1–4, pp. 546–551, 2002.
- [47] M. Tajdidzadeh et al., "Synthesis of silver nanoparticles dispersed in various aqueous media using laser ablation," *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014.
- [48] K. Kalimuthu, R. S. Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, and S. Gurunathan, "Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*," *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 65, no. 1, pp. 150–153, 2008.
- [49] N. Kannan, S. Selvaraj, and R. V. Murty, "Microbial production of silver nanoparticles," *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, vol. 5, no. 1, pp. 135–140, 2010.
- [50] I. Maliszewska, K. Szewczyk, and K. Waszak, "Biological synthesis of silver nanoparticles," in *Journal of Physics: Conference Series*, 2009, vol. 146, p. 012025.
- [51] A. Saxena, R. M. Tripathi, and R. P. Singh, "Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity," *Dig J Nanomater Bios*, vol. 5, no. 2, pp. 427–432, 2010.
- [52] H. Huang and X. Yang, "Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method," *Carbohydr. Res.*, vol. 339, no. 15, pp. 2627–2631, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.carres.2004.08.005.
- [53] J. Y. Song and B. S. Kim, "Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 32, no. 1, p. 79, 2009.
- [54] K. Kalishwaralal et al., "Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*," *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 77, no. 2, pp. 257–262, 2010.
- [55] G. Gnanajobitha, G. Annadurai, and C. Kannan, "Green synthesis of silver nanoparticle using *Elettaria cardamomom* and assesment of its antimicrobial activity," *Int J Pharma Sci Res IJPSR*, vol. 3, pp. 323–330, 2012.
- [56] K. Esumi, S. Sarashina, and T. Yoshimura, "Synthesis of gold nanoparticles from an organometallic compound in supercritical carbon dioxide," *Langmuir*, vol. 20, no. 13, pp. 5189–5191, 2004.
- [57] E. J. Fernandez, J. Garcia-Barrasa, A. Laguna, J. M. Lopez-de-Luzuriaga, M. Monge, and C. Torres, "The preparation of highly active antimicrobial silver nanoparticles by an organometallic approach," *Nanotechnology*, vol. 19, no. 18, p. 185602, 2008.
- [58] I.-K. Shim, Y. I. Lee, K. J. Lee, and J. Joung, "An organometallic route to highly monodispersed silver nanoparticles and their application to ink-jet printing," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 110, no. 2–3, pp. 316–321, 2008.

- [59] F. Kim, J. H. Song, and P. Yang, "Photochemical synthesis of gold nanorods," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no. 48, pp. 14316–14317, 2002.
- [60] B. Pietrobon and V. Kitaev, "Photochemical synthesis of monodisperse size-controlled silver decahedral nanoparticles and their remarkable optical properties," *Chem. Mater.*, vol. 20, no. 16, pp. 5186–5190, 2008.
- [61] L. Maretti, P. S. Billone, Y. Liu, and J. C. Scaiano, "Facile photochemical synthesis and characterization of highly fluorescent silver nanoparticles," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, no. 39, pp. 13972–13980, 2009.
- [62] H. Huang and Y. Yang, "Preparation of silver nanoparticles in inorganic clay suspensions," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 68, no. 14, pp. 2948–2953, Nov. 2008, doi: 10.1016/j.compscitech.2007.10.003.
- [63] S. F. Chen et al., "Large scale photochemical synthesis of M@TiO<sub>2</sub> nanocomposites (M= Ag, Pd, Au, Pt) and their optical properties, CO oxidation performance, and antibacterial effect," *Nano Res.*, vol. 3, no. 4, pp. 244–255, 2010.
- [64] Yu, S.-S. Chang, C.-L. Lee, and C. R. C. Wang, "Gold Nanorods: Electrochemical Synthesis and Optical Properties," *J. Phys. Chem. B*, vol. 101, no. 34, pp. 6661–6664, Aug. 1997, doi: 10.1021/jp971656q.
- [65] J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold," *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 11, p. 55, 1951, doi: 10.1039/df9511100055.
- [66] C. Wu, B. P. Mosher, K. Lyons, and T. Zeng, "Reducing Ability and Mechanism for Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Silver Nanoparticles Synthesis," Apr-2010. [Online]. Available: <https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jnn/2010/00000010/00000004/art00010>. [Accessed: 21-Oct-2019].
- [67] G. Frens, "Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions," *Nat. Phys. Sci.*, vol. 241, no. 105, p. 20, 1973.
- [68] N. G. Khlebtsov, V. A. Bogatyrev, L. A. Dykman, and A. G. Melnikov, "Spectral Extinction of Colloidal Gold and Its Biospecific Conjugates," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 180, no. 2, pp. 436–445, Jun. 1996, doi: 10.1006/jcis.1996.0323.
- [69] W. Baschong, J. M. Lucocq, and J. Roth, "Thiocyanate gold?: small (273 nm) colloidal gold for affinity cytochemical labeling in electron microscopy," *Histochemistry*, vol. 83, no. 5, pp. 409–411, 1985, doi: 10.1007/BF00509201.
- [70] K. R. Brown, D. G. Walter, and M. J. Natan, "Seeding of colloidal Au nanoparticle solutions. 2. Improved control of particle size and shape," *Chem. Mater.*, vol. 12, no. 2, pp. 306–313, 2000.
- [71] D. Goia and E. Matijević, "Tailoring the particle size of monodispersed colloidal gold," *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 146, no. 1–3, pp. 139–152, 1999.
- [72] S. T. Gentry, S. J. Fredericks, and R. Krchnavek, "Controlled Particle Growth of Silver Sols through the Use of Hydroquinone as a Selective Reducing Agent," *Langmuir*, vol. 25, no. 5, pp. 2613–2621, Mar. 2009, doi: 10.1021/la803680h.

- [73] C. R. Martin, "Nanomaterials: a membrane-based synthetic approach," *Science*, vol. 266, no. 5193, pp. 1961–1966, 1994.
- [74] N. R. Jana, L. Gearheart, and C. J. Murphy, "Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 19, pp. 4065–4067, May 2001, doi: 10.1021/jp0107964.
- [75] B. Nikoobakht and M. A. El-Sayed, "Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method," *Chem. Mater.*, vol. 15, no. 10, pp. 1957–1962, 2003.
- [76] A. V. Alekseeva et al., "Preparation and optical scattering characterization of gold nanorods and their application to a dot-immunogold assay," *Appl. Opt.*, vol. 44, no. 29, pp. 6285–6295, 2005.
- [77] V. Sharma, K. Park, and M. Srinivasarao, "Shape separation of gold nanorods using centrifugation," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 106, no. 13, pp. 4981–4985, 2009.
- [78] B. P. Khanal and E. R. Zubarev, "Purification of high aspect ratio gold nanorods: complete removal of platelets," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 38, pp. 12634–12635, 2008.
- [79] C. J. Murphy et al., *Anisotropic metal nanoparticles: synthesis, assembly, and optical applications*. ACS Publications, 2005.
- [80] A. V. Alekseeva, V. A. Bogatyrev, B. N. Khlebtsov, A. G. Mel'nikov, L. A. Dykman, and N. G. Khlebtsov, "Gold nanorods: synthesis and optical properties," *Colloid J.*, vol. 68, no. 6, pp. 661–678, 2006.
- [81] B. Pietrobon, M. McEachran, and V. Kitaev, "Synthesis of size-controlled faceted pentagonal silver nanorods with tunable plasmonic properties and self-assembly of these nanorods," *ACS Nano*, vol. 3, no. 1, pp. 21–26, 2008.
- [82] M. Liu and P. Guyot-Sionnest, "Synthesis and optical characterization of Au/Ag core/shell nanorods," *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 19, pp. 5882–5888, 2004.
- [83] C. S. Ah, S. D. Hong, and D.-J. Jang, "Preparation of Au@Ag shell nanorods and characterization of their surface plasmon resonances," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 33, pp. 7871–7873, 2001.
- [84] J. Becker, I. Zins, A. Jakab, Y. Khalavka, O. Schubert, and C. Sönnichsen, "Plasmonic focusing reduces ensemble linewidth of silver-coated gold nanorods," *Nano Lett.*, vol. 8, no. 6, pp. 1719–1723, 2008.
- [85] S. J. Oldenburg, R. D. Averitt, S. L. Westcott, and N. J. Halas, "Nanoengineering of optical resonances," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 288, no. 2–4, pp. 243–247, 1998.
- [86] B. E. Brinson, J. B. Lassiter, C. S. Levin, R. Bardhan, N. Mirin, and N. J. Halas, "Nanoshells made easy: improving Au layer growth on nanoparticle surfaces," *Langmuir*, vol. 24, no. 24, pp. 14166–14171, 2008.
- [87] N. Phonthammachai et al., "Synthesis of Contiguous Silica- Gold Core- Shell Structures: Critical Parameters and Processes," *Langmuir*, vol. 24, no. 9, pp. 5109–5112, 2008.

- [88] W. Shi, Y. Sahoo, M. T. Swihart, and P. N. Prasad, "Gold nanoshells on polystyrene cores for control of surface plasmon resonance," *Langmuir*, vol. 21, no. 4, pp. 1610–1617, 2005.
- [89] J.-H. Kim, W. W. Bryan, and T. Randall Lee, "Preparation, characterization, and optical properties of gold, silver, and gold-silver alloy nanoshells having silica cores," *Langmuir*, vol. 24, no. 19, pp. 11147–11152, 2008.
- [90] J. Ye, P. Van Dorpe, W. Van Roy, G. Borghs, and G. Maes, "Fabrication, characterization, and optical properties of gold nanobowl submonolayer structures," *Langmuir*, vol. 25, no. 3, pp. 1822–1827, 2009.
- [91] Y. Sun and Y. Xia, "Alloying and dealloying processes involved in the preparation of metal nanoshells through a galvanic replacement reaction," *Nano Lett.*, vol. 3, no. 11, pp. 1569–1572, 2003.
- [92] P.-Y. Silvert, R. Herrera-Urbina, N. Duvauchelle, V. Vijayakrishnan, and K. T. Elhsissen, "Preparation of colloidal silver dispersions by the polyol process. Part 1-Synthesis and characterization," *J. Mater. Chem.*, vol. 6, no. 4, pp. 573–577, 1996.
- [93] J. Chen, J. M. McLellan, A. Siekkinen, Y. Xiong, Z.-Y. Li, and Y. Xia, "Facile synthesis of gold-silver nanocages with controllable pores on the surface," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no. 46, pp. 14776–14777, 2006.
- [94] M. Liu and P. Guyot-Sionnest, "Mechanism of silver (I)-assisted growth of gold nanorods and bipyramids," *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 47, pp. 22192–22200, 2005.
- [95] C. Li, K. L. Shuford, M. Chen, E. J. Lee, and S. O. Cho, "A facile polyol route to uniform gold octahedra with tailorable size and their optical properties," *ACS Nano*, vol. 2, no. 9, pp. 1760–1769, 2008.
- [96] P. Bharadwaj and L. Novotny, "Plasmon-enhanced photoemission from a single Y3N@ C80 fullerene," *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, no. 16, pp. 7444–7447, 2010.
- [97] X. Huang, I. H. El-Sayed, W. Qian, and M. A. El-Sayed, "Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no. 6, pp. 2115–2120, 2006.
- [98] S. Kawata, Y. Inouye, and P. Verma, "Plasmonics for near-field nano-imaging and superlensing," *Nat. Photonics*, vol. 3, no. 7, p. 388, 2009.
- [99] X. Zhu and T. Gao, "Chapter 10 - Spectrometry," in *Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications*, G. Li, Ed. Elsevier, 2019, pp. 237–264.
- [100] P. Debbage and W. Jaschke, "Molecular imaging with nanoparticles: giant roles for dwarf actors," *Histochem. Cell Biol.*, vol. 130, no. 5, pp. 845–875, Nov. 2008, doi: 10.1007/s00418-008-0511-y.
- [101] B. Khlebtsov, V. Zharov, A. Melnikov, V. Tuchin, and N. Khlebtsov, "Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters," *Nanotechnology*, vol. 17, no. 20, pp. 5167–5179, Oct. 2006, doi: 10.1088/0957-4484/17/20/022.

- [102] N. S. Abadeer and C. J. Murphy, "Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles," *J. Phys. Chem. C*, vol. 120, no. 9, pp. 4691–4716, Mar. 2016, doi: 10.1021/acs.jpcc.5b11232.
- [103] A. O. Govorov and H. H. Richardson, "Metal nanoparticles may induce phase transformations when they are in thermal contact with a polymer or a solid matrix, such as ice. This suggests new possibilities for measuring heat release at the nanoscale," 2007.
- [104] M. Hu et al., "Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 35, no. 11, pp. 1084–1094, Oct. 2006, doi: 10.1039/B517615H.
- [105] P. Vijayaraghavan, C.-H. Liu, R. Vankayala, C.-S. Chiang, and K. C. Hwang, "Designing multi-branched gold nanoechinus for NIR light activated dual modal photodynamic and photothermal therapy in the second biological window," *Adv. Mater. Deerfield Beach Fla*, vol. 26, no. 39, pp. 6689–6695, Oct. 2014, doi: 10.1002/adma.201400703.
- [106] J. A. Barreto, W. O'Malley, M. Kubeil, B. Graham, H. Stephan, and L. Spiccia, "Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy," *Adv. Mater.*, vol. 23, no. 12, pp. H18–H40, 2011.
- [107] M. Auffan, J. Rose, M. R. Wiesner, and J.-Y. Bottero, "Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro," *Environ. Pollut.*, vol. 157, no. 4, pp. 1127–1133, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.envpol.2008.10.002.
- [108] I. V. Anambiga, V. Suganthan, and N. A. N. Raj, "Antimicrobial And Antifungal Activity On Glutathione Stabilized Silver Nanoparticles – An In-Vitro Study," vol. 5, no. 3, p. 8, 2014.
- [109] 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. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 1343–1348, 2008.
- [110] F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, and M. A. Esmaili, "Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus," *Res. Microbiol.*, vol. 162, no. 5, pp. 542–549, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.resmic.2011.04.009.
- [111] S. Pal, T. Yu Kyung, and J. Song, "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium Escherichia coli," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, pp. 1712–20, Apr. 2007, doi: 10.1128/AEM.02218-06.
- [112] L. Zhang et al., "Ambient Light Reduction Strategy to Synthesize Silver Nanoparticles and Silver-Coated TiO<sub>2</sub> with Enhanced Photocatalytic and Bactericidal Activities," *Langmuir*, vol. 19, no. 24, pp. 10372–10380, Nov. 2003, doi: 10.1021/la035330m.
- [113] J. F. Hernández-Sierra et al., "The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 4, no. 3, pp. 237–240, 2008.
- [114] J. R. Morones et al., "The bactericidal effect of silver nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 16, no. 10, p. 2346, 2005.

- [115] S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, and D. Dash, "Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 18, no. 22, p. 225103, Jun. 2007, doi: 10.1088/0957-4484/18/22/225103.
- [116] M. Raffi, F. Hussain, T. M. Bhatti, J. I. Akhter, A. Hameed, and M. M. Hasan, "Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224," *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 24, no. 2, pp. 192–196, 2008.
- [117] J. L. Elechiguerra et al., "Interaction of silver nanoparticles with HIV-1," *J. Nanobiotechnology*, vol. 3, no. 1, p. 6, Jun. 2005, doi: 10.1186/1477-3155-3-6.
- [118] N. V. Ayala-Núñez, H. H. L. Villegas, L. C. I. Turrent, and C. R. Padilla, "Silver Nanoparticles Toxicity and Bactericidal Effect Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Nanoscale Does Matter," *NanoBiotechnology*, vol. 5, no. 1–4, pp. 2–9.
- [119] "Antimicrobial effects of silver nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 95–101, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.nano.2006.12.001.
- [120] S. H. Kim, H. S. Lee, D. S. Ryu, S. J. Choi, and D. S. Lee, "Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*," *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, 2011.

## *II Chapitre : Techniques de caractérisation*

## *II.1 Introduction*

Les propriétés physico-chimiques des nanoparticules métalliques contribuent à leur comportement dans les milieux biologiques. Par conséquent, une caractérisation adéquate est essentielle pour obtenir des données fiables avec un rendement de traduction élevé. Dans ce chapitre, nous allons présenter les trois différentes techniques de caractérisation utilisées dans notre étude, à savoir la microscopie électronique à transmission (MET), la technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) et enfin la spectroscopie d'absorption UV-visible.

## *II.2 La microscopie électronique à transmission MET*

La microscopie électronique à transmission (MET) [1] étudie au mieux la structure et la chimie des films solides minces lorsqu'ils sont visualisés en coupe transversale, c'est-à-dire lorsque la normale à la surface du film est perpendiculaire au faisceau d'électrons. Dans cette orientation, le substrat, les couches minces de film et les interfaces entre eux peuvent être imagés simultanément ou individuellement. En outre, les informations provenant de chacune de ces régions restent distinctes de celles obtenues des autres, éliminant ainsi les problèmes de superposition résultant de la visualisation d'une structure en couches de la manière classique (c'est-à-dire parallèle à la normale de la surface). [2]

### *II.2.1 Principe de fonctionnement*

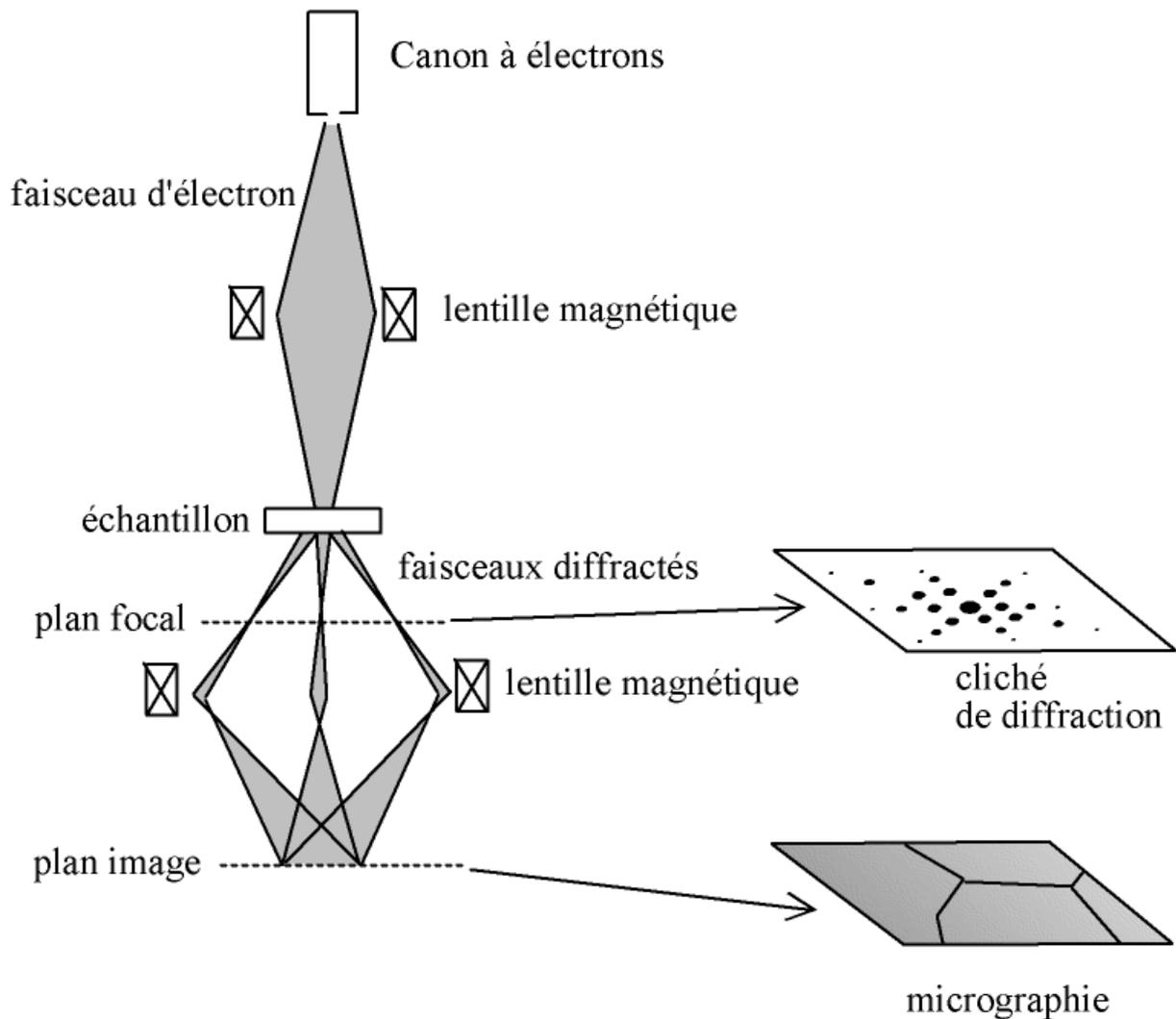
La microscopie électronique à haute résolution conventionnelle utilise la méthode de contraste de phase [1] dans laquelle les faisceaux diffractés émergent de l'échantillon sont recombinaés sur l'écran de visualisation du microscope. Le contraste résultant dépend des phases relatives des faisceaux diffractés, qui sont sensibles au microscope et à l'échantillon .

Un microscope électronique utilise un faisceau d'électrons au lieu de la lumière exploitant ainsi, la dualité onde-particule des électrons, il est constitué principalement d'une source d'électrons, de lentilles électromagnétiques et d'un détecteur d'électrons.

Un échantillon très mince (<100nm) est placé sur le parcours des électrons .Un faisceau d'électrons est produit, accéléré puis concentré sur l'échantillon grâce aux lentilles .Le faisceau traverse l'échantillon qui le modifie selon sa forme et sa nature et « imprime » ainsi son image au faisceau.

Le faisceau est ensuite agrandi par d'autres lentilles puis détecté, par exemple par fluorescence.

Un microscope électronique à transmission permet ainsi d'agrandir l'image d'échantillons minces jusqu'à des résolutions atomiques.



*Figure II-1 Schéma de fonctionnement du microscope électronique à transmission*

### *II.2.2 Modes de fonctionnement d'un MET*

Suivant la nature des électrons récoltés lors de l'interaction du faisceau d'électrons avec l'échantillon ( électrons rétrodiffusés , électrons diffusés ou transmis ,é Auger ,é secondaires) , le MET peut fonctionner en différents modes tel que : ,image , diffraction

balayage ,sonde fixe , micro diffraction, nano diffraction. Les deux modes les plus utilisés en MET sont le mode image et le mode diffraction ou les deux en même temps.

Les électrons transmis sans aucune interaction (faisceau incident), sont utilisés pour l'imagerie.

Les électrons inélastiques (collisions induisant à une perte d'énergie et un changement de trajectoire), sont des électrons avec lesquelles on peut récolter des informations sur la composition chimique, les liaisons, structures électroniques locale de l'échantillon (EELS)

Les électrons élastiques ayant subit des collisions induisant seulement une déviation de trajectoire sans perte d'énergie ; récoltent des informations sur la géométrie de l'échantillon (épaisseurs, orientation, image), ces derniers sont utilisés pour l'imagerie et la diffraction comme le montre le schéma ci dessous.

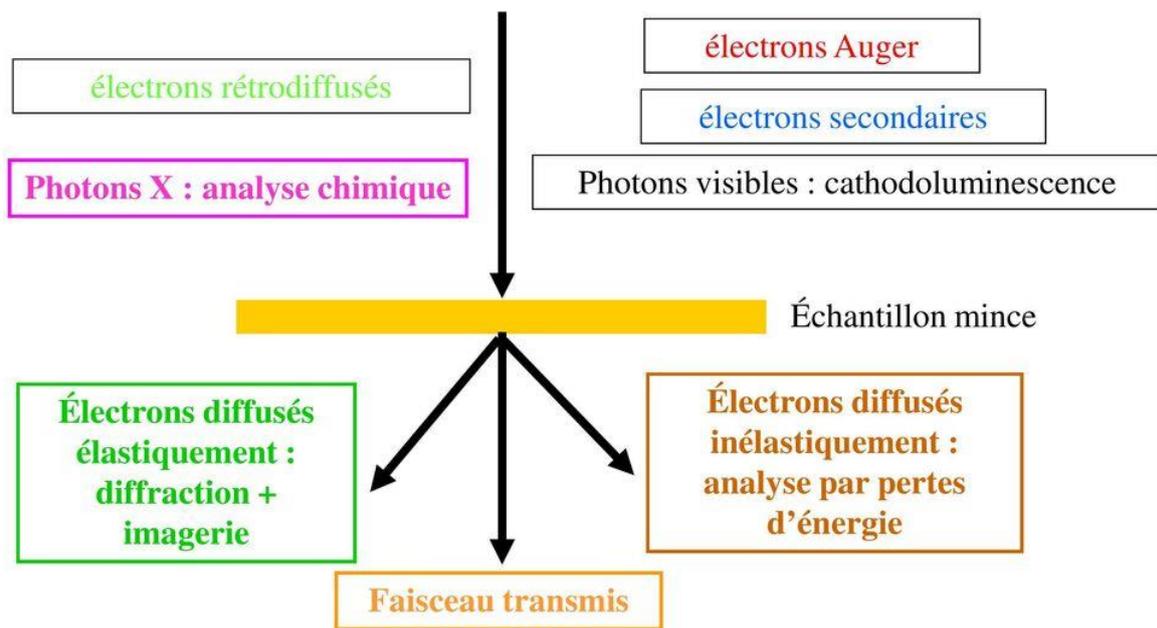


Figure II-2 Schéma de principe de base de la microscopie électronique à transmission

### **II .2 .3      *Formation de l'image d'un objet***

La quantité de l'image fournie par MET est principalement contrôlée par la lentille la plus proche de l'échantillon ou lentille objectif.

L'image se forme sur le plan image à partir des électrons n'ayant pas subi de diffraction (image en champ clair)

L'image se forme sur le plan image à partir des électrons ayant subi des diffractions (image en champs sombre)

### **II .2 .4      *Formation du diagramme de diffraction***

Le diagramme de diffraction se forme sur le plan focal à partir des électrons diffractés.

Ce diagramme donne les informations sur la structure cristalline du cristal observé (distance interatomique, symétrie cristalline, orientation cristalline)

Le diagramme de diffraction est visualisé sur le plan image

### **II .2 .5      *Composition du microscope électronique à transmission (MET)***

Une source d'électrons : Produit un faisceau d'électron de haute énergie, de grand courant et de grande cohérence, nécessaire pour générer des diagrammes de diffraction et des images à haute résolution spatiale

On trouve plusieurs lentilles électromagnétiques utilisées pour focaliser les électrons transmis avec ou sans diffraction

Lentilles condenseurs qui permettent le transfert des électrons sortant du canon à électrons jusqu'à l'échantillon.

Lentilles objectifs : La quantité de l'image fournie par un MET est contrôlée principalement par la lentille la plus proche de l'échantillon qui est la lentille objectif. L'échantillon est placé dans l'entrefer de cette lentille qui est la plus importante des lentilles du fait que c'est elle qui donne le premier agrandissement.

Objectif: les images sont échantillonnées et constituent l'objectif le plus puissant du système

Objectifs intermédiaires et objectifs de projecteur: modifie les modes de diffraction à imagerie.

Détecteurs : différentes configurations conçues pour collecter les signaux secondaires produits par le faisceau d'électrons à haute énergie.

Le porte échantillon : L'échantillon est placé sur une grille de quelques mm de diamètre (environ 15 carrés/mm) dans l'entrefer de la lentille objectif .Le porte échantillon est placé sur une canne orientable qui permet de voir différentes orientations cristallines du matériau.

Le groupe de pompage : le vide poussé dans le canon à électrons est de l'ordre de  $10^{-9}$  mbar, au niveau de l'écran il est à environ  $10^{-6}$ mbar et de la camera il se situe au alentour de  $10^{-5}$  mbar.

Le MET est aussi composé d'une colonne, d'un système électronique de commande, de spectres de micro-analyse.

### *II .2 .6 La préparation des échantillons*

Afin de réussir les mesures de la taille nanométrique des particules par Microscope électronique à transmission ,il est déterminent d'utiliser un protocole de préparation des échantillons mais aussi d'autres paramètres qui peuvent avoir un impacte sur les résultats [3] .

L'épaisseur de l'échantillon doit être la plus faible possible quelque nm à quelques microns.

Il faut commencer par les déshydrater afin d'éliminer tout liquide qui s'évaporerait sous l'effet du vide régnant dans la colonne

Il faut les amincir en utilisant un amincisseur (polisseuse électrolytique ou amincisseur ionique par un gaz inerte)

Il faut les métalliser dans certains cas (pour éviter l'effet de charge) par évaporation sous vide

### II.3 Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion dynamique de la lumière (DLS), également appelée spectroscopie de corrélation de photons (PCS) [4], est une technique non invasive et bien établie de mesure de la taille et de la distribution de taille de molécules et particules dans la région submicronique et grâce aux dernières technologies inférieur à 1nm. Les applications habituelles de cette technique sont la caractérisation de particules, émulsions, ou molécules qui sont dispersées ou dissoutes dans un liquide. Avec les avantages de précision, rapidité, bonne répétabilité, le DLS est devenu une méthode couramment utilisée en nanotechnologie.

#### II.3.1 Principes de base de la technique DLS :

La méthode DLS utilise le mouvement brownien comme « signature » de la taille des nanoparticules en suspension par la mesure de leur coefficient de diffusion [5].

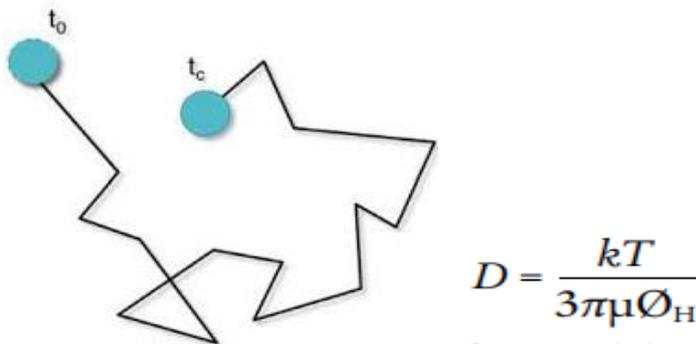


Figure II-3 Schéma illustrant le mouvement brownien des particules en suspension et Relation Stokes-Einstein où  $D$  est le coefficient de diffusion,  $\mu$  est la viscosité du solvant,  $T$  la température du solvant,  $k$  la constante de Boltzmann,  $\phi_H$  le diamètre hydrodynamique

En effet, le mouvement brownien des particules provoque des fluctuations d'intensité lumineuse. Les petites particules en suspension dans le liquide maintiennent des mouvements irréguliers. La vitesse du mouvement brownien dépend de la taille des particules et de la viscosité du milieu dans lequel les particules sont présentes (p. Ex. Eau, solvants organiques, etc.). La recherche indique que plus les particules sont petites et la viscosité du milieu est faible, plus le mouvement brownien est rapide.

### II.3.2 Diffusion de la lumière par des particules

Quand la lumière passe à travers le colloïde, les particules dispersent la lumière et le signal lumineux peut être détecté à un certain angle. Le signal détecté est le résultat de la superposition de plusieurs photons dispersés. L'intensité lumineuse instantanée n'est pas une valeur fixe, fluctuant autour d'une valeur moyenne, mais l'amplitude de la fluctuation est associée à la taille des particules. La vitesse du mouvement brownien des particules est liée à leur taille (équation de Stokes – Einstein). Si de grosses particules sont mesurées, l'intensité du point diffusé fluctuera aussi lentement en raison de son mouvement lent. De même, si de petites particules sont mesurées, la densité des points dispersés fluctuera rapidement à mesure qu'ils se déplacent rapidement. La corrélation entre les grosses particules et les petites particules peut être exprimée par une fonction. On peut voir que le taux de décroissance de la fonction de corrélation est lié à la taille des particules et que le taux de décroissance des petites particules est beaucoup plus rapide que celui des grosses particules.

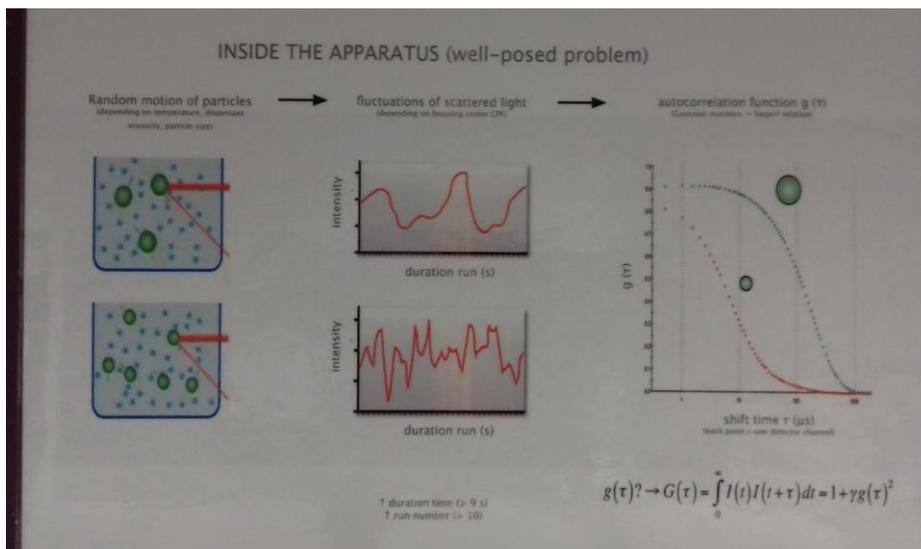


Figure II-4 Schéma illustrant les fluctuations du signal lumineux diffusé par de grande et petites particules .

### II.3.3 Instrumentation et aspect technique d'un système DLS

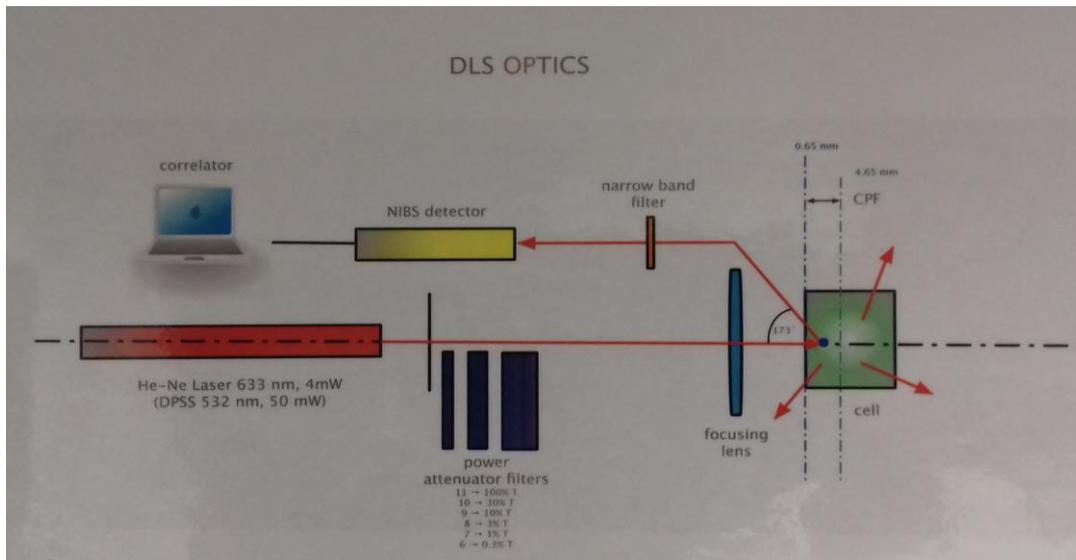


Figure II-5 Schéma montrant l'instrumentation d'un système DLS

Une gamme d'instruments de diffusion de la lumière [par exemple, Malvern (série Zetasizer), Brookhaven (série NanoDLS), Microtrac (série Wave II)] est apparue ces dernières années. Les instruments de la série Malvern Zetasizer sont très populaires parmi les diplômés universitaires et ont émergé sous la forme d'une évolution progressive du corrélateur original Malvern commercialisé en 1970. Ces instruments comportent globalement trois composants principaux: le laser, l'échantillon et le détecteur de lumière.

Le laser utilisé dans Zetasizers de Malvern est un laser He-Ne de 4 mW de 633 nm de longueur d'onde avec option vert (532 nm, 50 mW).

Échantillon : Cuvettes propres et carrées en verre sans rayures ou optiquement plastique jetable translucide ( $3 \times 3$  mm,  $5 \times 5$  mm ou  $10 \times 10$  mm) sont utilisés.

Le détecteur : Les instruments DLS modernes sont équipés de détecteurs APD (avalanche-photodiode) qui ont une efficacité quantique d'environ 65% dans les longueurs d'onde rouges et utilisent donc les lasers de 633nm.

Le détecteur convertit les fluctuations d'intensité diffusée dues au mouvement Brownien des particules en un signal électronique qui est ensuite traité numériquement par une carte électronique dédiée (l'auto-corrélateur), pour générer une fonction d'auto corrélation en

intensité Dans une dernière étape de traitement, des algorithmes d'inversion permettent de « fitter » le corrélogramme et d'extraire de façon précise les distributions de taille (diamètre hydrodynamique) ainsi que l'indice de polydispersité (PDI) des particules.

#### *II.3.4 Evaluation de la qualité de mesure DLS*

la taille et la distribution des particules sont calculées à l'aide de la variation de l'intensité lumineuse et de la fonction d'autocorrélation de l'intensité lumineuse [5]. Le coefficient de distribution ( indice de dispersion des particules , PDI) est nécessaire lors de l'analyse des données obtenues à partir d'expériences. Il reflète l'uniformité de la taille des particules et constitue un indicateur important de la caractérisation de la taille des particules. Si la valeur est inférieure à 0,05, les systèmes sont mono dispersés, tels que le standard de certaines émulsions.. Lorsque la valeur est inférieure à 0,08, le système est presque mono dispersé, mais DLS ne peut être analysé que par une seule méthode de décroissance exponentielle, qui ne pourrait pas fournir une résolution plus élevée. Si la valeur se situe dans la plage de 0,08 à 0,7, il s'agit d'un système à dispersion modérée. C'est l'application la plus optimale de l'algorithme. Enfin, si la valeur est supérieure à 0,7, il s'agit d'un système de distribution de tailles très large. Il ne convient probablement pas pour la méthode d'analyse par diffusion de la lumière.

#### *II.3.5 Techniques de séparation des nanoparticules métalliques*

Les techniques de séparation ou d'exclusion de taille des nanoparticules métalliques à des fins de caractérisation ou d'analyses de ces nanoparticules métalliques dans l'environnement sont nombreuses .Différentes méthodes de séparation des nanoparticules sont proposées dans la littérature.[6] .

Une technique basée en partie sur l'utilisation d'une méthode d'étalonnage de l'énergie de sonication permet une optimisation complète aboutissant à une approche normalisée et validée pour la préparation de dispersions de nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) dans des milieux biologiques pertinents [7]

Une étude sur l'utilisation de la technique de filtration a montré une rétention significative de nanoparticules d'argent de 14 nm de taille moyenne synthétisées avec la méthode citrate et des nanoparticules CeO<sub>2</sub> de 7 nm positivement chargés ; même par les filtres ayant de large

taille de pores. Cette rétention augmentait avec la diminution de la concentration initiale et semblait donc dépendre d'avantage des caractéristiques des particules que du type de membranes [8].

Le filtrage par membrane est l'une de ces méthodes alternatives pour la purification et le fractionnement de la taille des nanoparticules.

Les filtres à membrane sont des membranes poreuses composées d'esters de cellulose [9] et peuvent être obtenus avec des diamètres de pores moyens allant de 0,01 à 5 microns et des porosités allant jusqu'à 85%. Bien qu'ils soient censés agir principalement en tant que filtres de type tamis, ils ont la propriété de retenir les particules qui sont beaucoup plus petites que la taille des pores et de retenir toutes les particules de manière très superficielle. Des membranes polymériques telles que la matrice PEO/PVDF peuvent retenir des particules de très petite taille (2-3 nm) [10] ce qui est très utile pour des applications biomédicales où il faut par exemple filtrer la taille des nanoparticules inférieures à 5 nm. Ces matrices peuvent servir aussi pour stocker les nanoparticules pendant longtemps.

### *II.3.6 Les filtres seringues à membrane en acétate de cellulose*

Afin de remédier au problème de la poly dispersion des colloïdes métalliques lors de différentes caractérisations telles que la caractérisation par DLS. Les filtres seringues qui sont des filtres du type tamis peuvent être utilisés dans des solutions aqueuses pour séparer les grosses nanoparticules (supérieure à 200 ou 400 nm par exemple) des petites nanoparticules restantes dans la solution colloïdale avant la caractérisation par DLS par exemple. Il existe différents modèles sur le marché, les plus utilisés sont les filtres 0.22  $\mu\text{m}$  et 0.45  $\mu\text{m}$ .



*Figure II-6 Filtre seringue en acétate de cellulose pour les solutions aqueuses*



*Figure II-7 Filtre seringue 0.22µm utilisé lors de la caractérisation des échantillons par DLS*

### *II.3.1 Préparation des échantillons pour la mesure DLS*

La préparation des échantillons est une étape indispensable dans la mesure du diamètre hydrodynamique par DLS [11] :

1. Utilisez une cuvette avec des fenêtres en verre ou en quartz de qualité optique.
2. Les cuvettes de mesure doivent être nettoyées avec de l'eau déminéralisée filtrée et conservées au sec.
3. Milieu de suspension (solvant, dispersant ou solution) doit être filtré avant la préparation des échantillons avec un filtre membrane de taille de pore de 0,1 µm ou plus petite et doit être testée pour les contributions de diffusion au signal mesuré en l'absence de l'analyte.

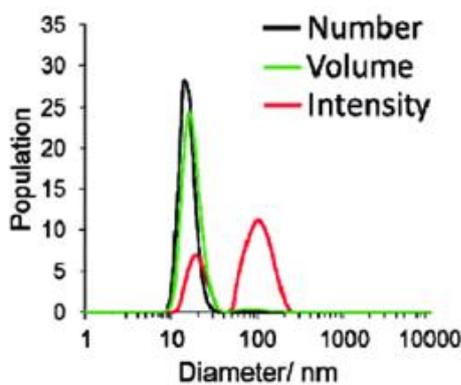
En règle générale, il convient de filtrer le milieu jusqu'à au moins la taille nominale de l'analyte à mesurer. Cela peut ne pas être pratique pour les particules inférieures à 20 nm

4. La concentration typique de l'échantillon de départ est de 1 mg / ml Cette concentration doit être ajustée pour tenir compte de la propriété de diffusion de votre échantillon (par exemple, 100 mg / ml pour or colloïdal et 2 mg / ml pour les dendrimères.

5. Les échantillons doivent être filtrés avec une taille de pore inférieure ou égale à 0,2  $\mu\text{m}$ .

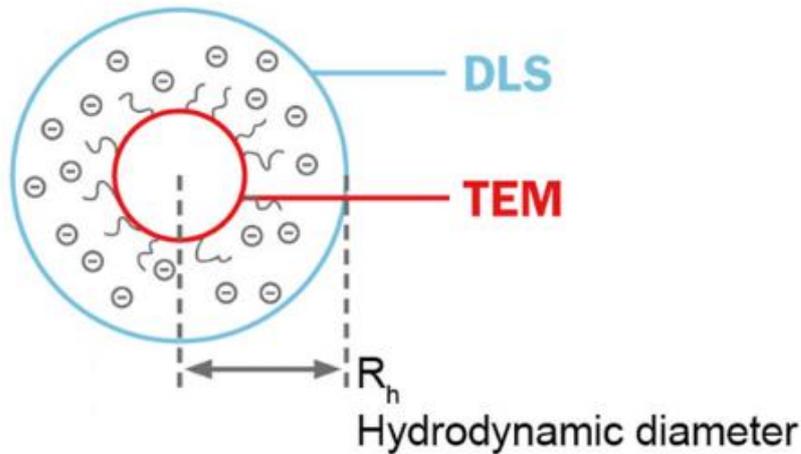
### *II.3.2 Comparaison entre la mesure de la distribution de taille des particules par TEM et DLS*

Les résultats de la taille des particules obtenus avec la mesure par MET ne doivent pas coïncider avec ceux obtenus par d'autres techniques comme la DLS. Ceci est d'une part due à la différence dans la moyenne pondérée déterminée dans chaque cas, par exemple : Nombre dans TEM contre intensité pour DLS.



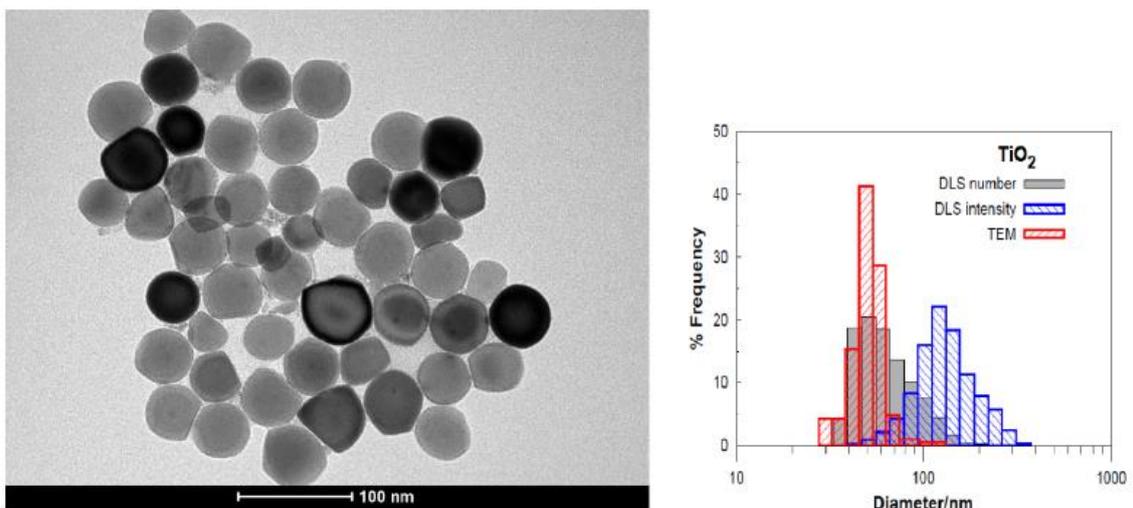
*Figure II-8 Différentes tailles moyennes dans la mesure par DLS*

Aussi, les propriétés physiques qui sont mesurées par exemple: Surface projetée contre surface du diamètre hydrodynamique. Le MET est sensible à la taille primaire des particules alors que la diffusion dynamique de la lumière est influencé par la présence de large particules en petites quantités ou des particules beaucoup plus petites les clusters.



*Figure II-9 comparaison entre la mesure par TEM et DLS*

Ceci dit, les mesures effectuées par DLS en utilisant la distribution de taille par nombre (pour un échantillon monomode) présentent des résultats précis en similitude avec le TEM contrairement à la distribution de taille par intensité de lumière diffusée [12] (voir figure II-10)



*Figure II-10 Images TEM des nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  et distribution de la taille des particules correspondantes TEM et DLS[12]*

## **II.4 Spectroscopie UV-visible**

La spectroscopie optique permet d'étudier les propriétés de réflexion ou de transition de la lumière après son interaction avec la matière. C'est l'étude quantitative des spectres électromagnétiques. La nature des informations apportés par la spectrophotométrie optique dépendra de l'énergie  $E_0$  de l'onde incidente donc de sa longueur d'onde  $\lambda_0$  et dépendra aussi du type de rayonnement analysé à savoir l'intensité de lumière transmise ou celle de la lumière émise : On distinguera ainsi la spectrophotométrie d'absorption de la spectrophotométrie d'émission .

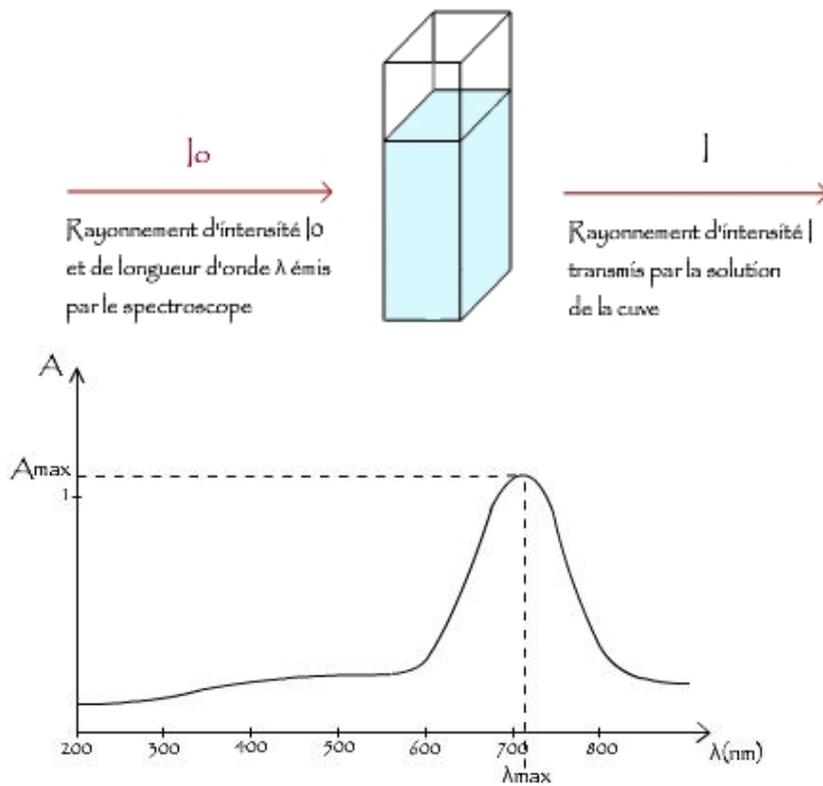
la spectroscopie UV-vis est rapide, facile, simple, sensible, sélective pour différents types de NPs, nécessite seulement une courte période pour la mesure, et finalement un étalonnage n'est pas nécessaire pour la caractérisation des particules de suspensions colloïdales [13]–[15].

Cette technique peut également être utilisées pour surveiller la synthèse et la stabilité des nanoparticules de métaux nobles[16].

### **II.4.1 Principe de la spectroscopie d'absorption UV-visible**

L'échantillon à analyser est traversé par un rayonnement lumineux de longueur d'onde allant de 200-900 nm. Les photons issus du rayonnement transfèrent aux composés analysés une énergie qui excite les molécules, atomes ou ions traversés. Ainsi une partie du rayonnement incident est absorbé (Voir figure II-11).

L'étude du rayonnement après passage à travers la substance analysée permet d'obtenir des informations sur sa nature.



*Figure II-11 Schéma de principe de la spectroscopie d'absorption UV-visible avec un exemple de spectre d'absorption*

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

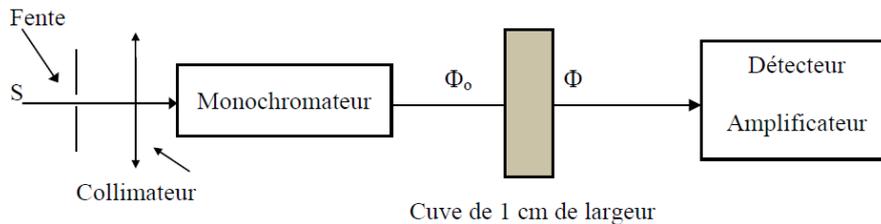
*Figure II-12 Absorbance mesurée par spectroscopie UV-vis ( $A_{max}$ ) loi de Beer- Lambert*

- Lorsque la solution est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité  $I_0$ .
- Elle en diffuse une partie et absorbe l'autre.
- L'intensité ( $I$ ) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement initial ( $I_0$ ).

### II.4.2 Principe du spectrophotomètre :

Un spectrophotomètre est un appareil qui mesure l'absorbance  $A_\lambda$  d'une solution colorée, pour une longueur d'onde  $\lambda$  donnée.

Ci-contre le schéma de principe d'un spectrophotomètre.



Une source de lumière blanche traverse un monochromateur qui sélectionne une radiation de longueur d'onde  $\lambda$ . Le faisceau de lumière monochromatique traverse alors une solution colorée. Une photo capteur convertit l'intensité lumineuse transmise en un signal électrique. Enfin un analyseur traite le signal électrique et affiche la valeur de l'absorbance.

### II.5 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons détaillé les techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent : le microscope électronique à transmission, la technique DLS, et la spectroscopie UV-visible. La combinaison de ces différentes techniques permet de connaître les particules analysées. Cela dit chaque technique a différentes limites qu'il faut considérer.

## II.6 Références

- [1] O. Scherzer, “The Theoretical Resolution Limit of the Electron Microscope,” *J. Appl. Phys.*, vol. 20, no. 1, pp. 20–29, Jan. 1949.
- [2] J. C. Bravman and R. Sinclair, “The preparation of cross-section specimens for transmission electron microscopy,” *J. Electron Microsc. Tech.*, vol. 1, no. 1, pp. 53–61, 1984.
- [3] J. E. Bonevich and W. K. Haller, “Measuring the size of nanoparticles using transmission electron microscopy (TEM),” 2010.
- [4] S. Bhattacharjee, “DLS and zeta potential—what they are and what they are not?,” *J. Controlled Release*, vol. 235, pp. 337–351, 2016.
- [5] A. Meller, R. Bar-Ziv, T. Tlusty, E. Moses, J. Stavans, and S. A. Safran, “Localized dynamic light scattering: a new approach to dynamic measurements in optical microscopy,” *Biophys. J.*, vol. 74, no. 3, pp. 1541–1548, 1998.
- [6] B. Kowalczyk, I. Lagzi, and B. A. Grzybowski, “Nanoseparations: Strategies for size and/or shape-selective purification of nanoparticles,” *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 16, no. 2, pp. 135–148, 2011.
- [7] J. S. Taurozzi, V. A. Hackley, and M. R. Wiesner, “A standardised approach for the dispersion of titanium dioxide nanoparticles in biological media,” *Nanotoxicology*, vol. 7, no. 4, pp. 389–401, 2013.
- [8] F. V. K. S. V. Elien, “Use of filtration techniques to study environmental fate,” *Anal Chem*, vol. 30, pp. 528–540, 2016.
- [9] D. Klemm, H.-P. Schmauder, and T. Heinze, “Cellulose,” *Biopolym. Online Biol. Chem. Biotechnol. Appl.*, vol. 6, 2005.
- [10] A. Akthakul, A. I. Hochbaum, F. Stellacci, and A. M. Mayes, “Size fractionation of metal nanoparticles by membrane filtration,” *Adv. Mater.*, vol. 17, no. 5, pp. 532–535, 2005.
- [11] V. A. Hackley and J. D. Clogston, “Measuring the hydrodynamic size of nanoparticles in aqueous media using batch-mode dynamic light scattering,” in *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery*, Springer, 2011, pp. 35–52.

- [12] T. G. Souza, V. S. Ciminelli, and N. D. S. Mohallem, "A comparison of TEM and DLS methods to characterize size distribution of ceramic nanoparticles," in *Journal of Physics: Conference Series*, 2016, vol. 733, p. 012039.
- [13] X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, "Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy," *Nanomed.*, vol. 2, no. 5, pp. 681–693, 2007.
- [14] A. B. Leung, K. I. Suh, and R. R. Ansari, "Particle-size and velocity measurements in flowing conditions using dynamic light scattering," *Appl. Opt.*, vol. 45, no. 10, pp. 2186–2190, 2006.
- [15] E. Tomaszewska *et al.*, "Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids," *J. Nanomater.*, vol. 2013, p. 60, 2013.
- [16] M. Sastry, V. Patil, and S. R. Sainkar, "Electrostatically Controlled Diffusion of Carboxylic Acid Derivatized Silver Colloidal Particles in Thermally Evaporated Fatty Amine Films," *J. Phys. Chem. B*, vol. 102, no. 8, pp. 1404–1410, Feb. 1998.

***III CHAPITRE : RESULTATS  
EXPERIMENTAUX***

### III.1 Introduction

Dans ce chapitre expérimental, différentes techniques de caractérisations chimiques et structurales ont été utilisées. En effet, après avoir synthétisé des nanoparticules d'argent avec différentes quantités du précurseur nitrate d'argent dans deux milieux solvants différents : L'éthanol et le méthanol, nous avons augmenté la température de synthèse progressivement afin d'évaluer l'état d'agrégation dans les deux types de milieux solvant. La caractérisation par spectroscopie optique des nanoparticules d'argent permet de nous renseigner sur la bande d'absorption des différentes nanoparticules d'argent synthétisées mais aussi sur les changements intrinsèques liés à la taille et la forme des particules ou extrinsèques liés aux changements chimiques ou physiques dans l'environnement entourant ces nanoparticules. La technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet d'avoir une distribution de taille des particules très précise dans la suspension de nanoparticules d'argent ; ainsi qu'une idée sur l'agrégation des particules. Enfin, la microscopie électronique à transmission (TEM) permet de caractériser les différentes formes de nanoparticules d'argent. Le but étant d'appliquer leurs différentes propriétés et caractéristiques dans différents domaines biomédicaux tel que l'augmentation de l'activité antibactérienne des antibiotiques.

### III.2 Description expérimentale

Le Nitrate d'argent ( $\text{AgNO}_3$ , 99.92%) a été utilisé comme précurseur. Le polyvinylpyrrolidone (PVP K30 de poids moléculaire 40.000) est utilisé comme stabilisant, l'acide benzoïque est utilisé comme agent réducteur, le méthanol et l'éthanol sont utilisés comme solvants.

*Tableau III-1 Paramètres utilisés pour la synthèse de nanoparticules d'argent*

Solvant		Précurseur		Stabilisateur	Acide
Ethanol	Méthanol	$\text{AgNO}_3$		PVP	Acide benzoïque
V (ml)		n (mole)	m(g)	m(g)	m(g)
10		0.0015	0.25	1	0.5
10		0.0025	0.42	1	0.5
10		0.0030	0.5	1	0.5
10		0.0035	0.6	1	0.5

### *III.2.1 Protocole de synthèse*

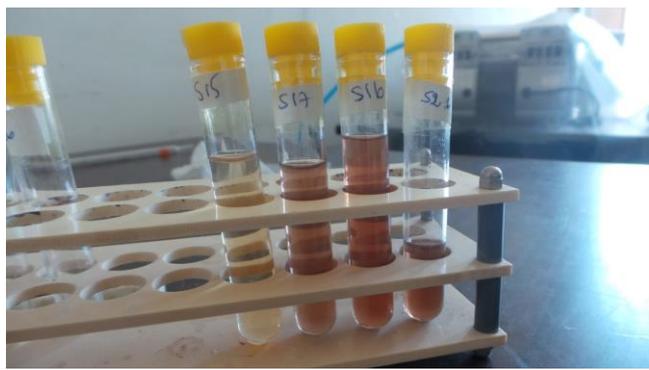
Les nanoparticules d'argent ont été synthétisées par un processus de réduction chimique. Une solution de nitrate d'argent (0,0025 M d'AgNO<sub>3</sub>) a été préparée en diluant 0,42 g dans 10 ml d'éthanol avec un mélange simultané de la solution d'acide benzoïque (0,5 g dans 10 ml d'éthanol) et de la solution de PVP (1 g dans 10 ml d'éthanol) à la température ambiante sous agitation magnétique vigoureuse pendant 20 min. le mélange de réaction a été chauffé à diverses températures (40 °, 50 °, 60 °, 70 °). Ensuite, nous avons varié la concentration en AgNO<sub>3</sub> en prenant les concentrations 0,0015M, 0,0030M, 0,0035M et en conservant les mêmes paramètres. Le même protocole pour la synthèse des nanoparticules d'argent est refait avec du méthanol



*Figure III-1 Préparation de nanoparticules d'argent à température ambiante. La couleur jaune indique la formation de nanoparticules d'argent*



*Figure III-2 Variation de la température de synthèse des nanoparticules d'argent de la température ambiante à 60°C.*



*Figure III-3 La solution de nanoparticule d'argent après chaque élévation de la température de synthèse (30°C, 40°C, 50°C, 60°C).*

### *III .2 .2 Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent*

La microscopie TEM a été utilisée pour obtenir des informations structurales et morphologiques détaillées sur les échantillons et a été réalisée à l'aide d'un microscope JEM-2100Plus fonctionnant à une tension d'accélération de 200 kV, à haute résolution (0,4 nm). La caractérisation par microscope électronique à transmission a été effectuée après 24 h de la synthèse des nanoparticules d'argent. Les quatre solutions de nanoparticules d'argent ont été diluées dans de l'éthanol (10 µl de solution dans 1 ml d'éthanol) puis redispersé dans un bac à ultrason pendant 5 minutes. La solution diluée a été déposée sur des grilles de cuivre revêtues de carbone, puis séchée dans des conditions environnementales. L'opération est ensuite renouvelée pour les trois autres solutions restantes. Le logiciel Image J, disponible gratuitement sur Internet, a été utilisé pour l'analyse d'images. Les tailles de zone délimitées par l'outil de sélection ovale préalablement calibré sur la barre d'échelle imprimée sur les images TEM ont été déterminées. Le diamètre a été calculé en tenant compte de la forme parfaitement sphérique



*Figure III-4 Préparation des échantillons pour la caractérisation par MET, chaque pince contient une grille de cuivre recouverte de Carbone sur laquelle on a déposé une solution diluée de nanoparticules d'argent.*

Les solutions ont été ensuite utilisées telles qu'elles sans préparation pour la caractérisation par spectroscopie UV-visible, pour la caractérisation par DLS des filtres 0.45 $\mu$ m et 0.22  $\mu$ m ont été utilisés.

Les diamètres hydrodynamiques des nanoparticules étudiées ont été mesurés à l'aide d'un système de diffusion dynamique de la lumière Zetasizer Nano ZS (Malvern instruments, UK) équipé d'un laser rouge avec option vert (532 nm). Des cuvettes PCS ont été utilisées. Les paramètres utilisés sont l'indice de refraction du milieu dispersant 1.36, indice de refraction du matériau (Ag) 0.19, la viscosité 1.2 (cP), température 20°, nombre de mesures 3.

Les spectres UV-Vis de nanoparticules d'argent ont été enregistrés à la température ambiante en utilisant un spectrophotomètre Ultrospec 2100 PRO avec une cuvette à quartz standard de 10 mm de chemin optique. Dans une plage de longueurs d'onde allant de 200 à 900 nm

### **III.3 RESULTATS ET DISCUSSION**

#### **III.3.1 Etude morphologique des nanoparticules d'argent par DLS et MET**

Nous avons caractérisé les nanoparticules d'argent synthétisées dans un milieu solvant éthanol. Les nanoparticules d'argent synthétisées à température ambiante avec différents rapports AgNO<sub>3</sub>/PVP ont été analysé le jour de leur synthèse par la technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) et par microscope électronique à transmission (TEM).

### III.3.1.1 Le cas 0.0015M AgNO<sub>3</sub> :

Les résultats de la mesure par DLS révèlent que les nanoparticules d'argent ont une distribution de taille allant de 5.6 nm - 18.17nm avec une taille moyenne de 9.44 nm  $\pm$ 2.33 nm à 97.3% , bien qu'il existe un faible pourcentage de nanoparticules d'argent de 37.12 nm (1%) et 423 nm( 1.7%) (Voir figure2). Cette distribution de taille par volume de La mesure DLS permet de se faire une idée sur la quantité d'agrégation des nanoparticules d'argent. Ces résultats sont confirmés par la microscopie électronique à transmission (TEM) (figure 3) où on observe des nanoparticules d'argent dans cette distribution de taille .La forme des nanoparticules d'argent est majoritairement sphéroïdale, Cela dit il y a quelques formes ellipsoïdales. (Voir figure4).

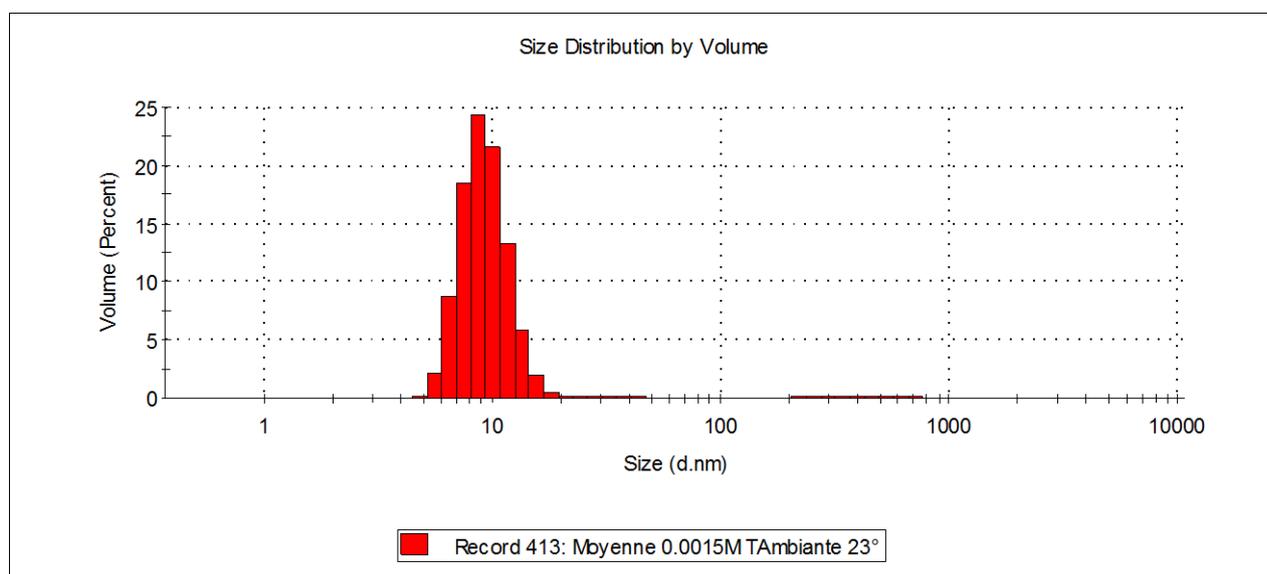
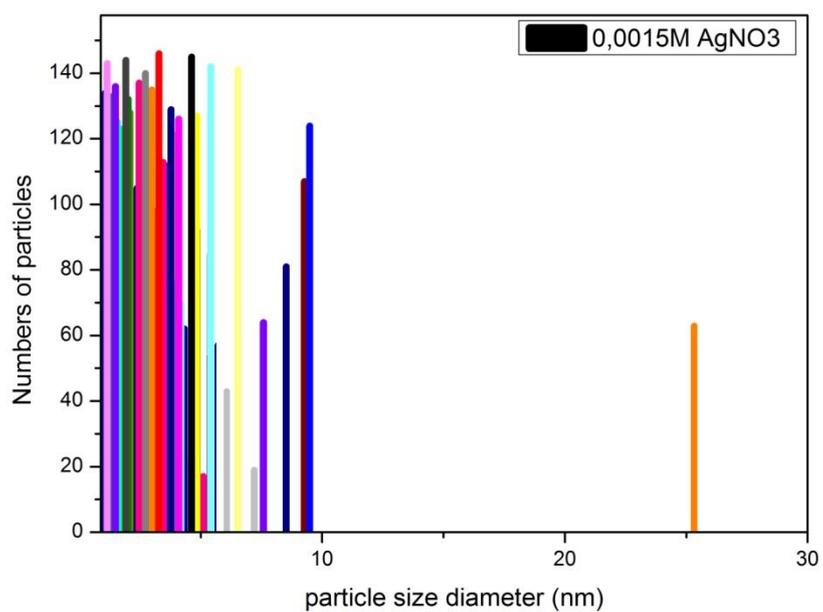
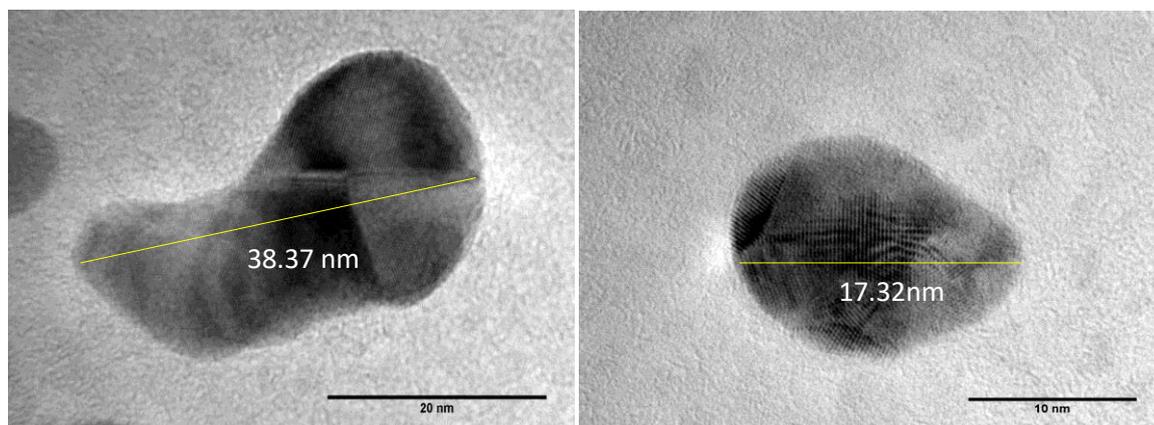
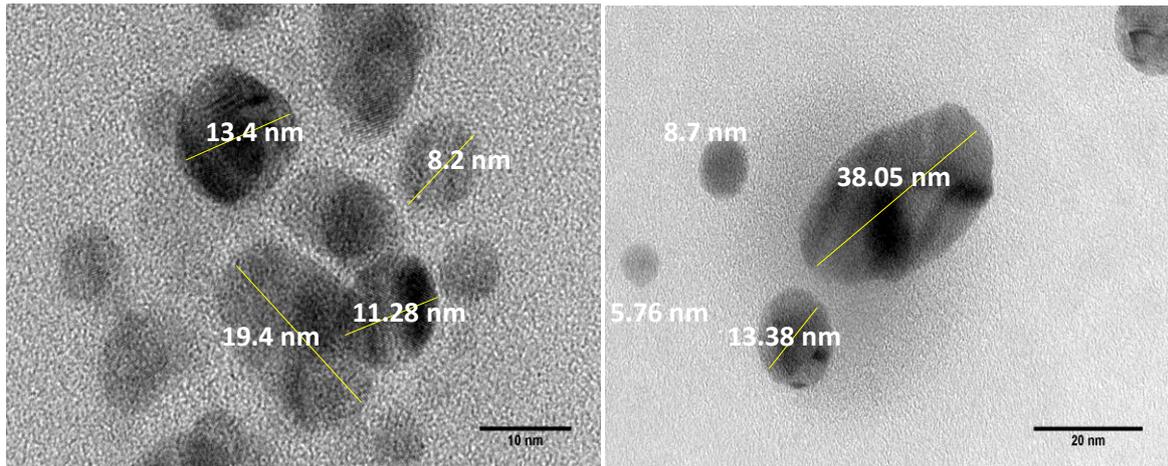


Figure III-5 : Distribution de taille des nanoparticules d'argent (0.0015M AgNO<sub>3</sub>) déterminée par DLS



*Figure III-6 Les histogrammes de distribution de taille calculés à partir des images TEM à l'aide du logiciel ImageJ*





*Figure III-7 Image TEM de la forme sphéroïdale des nanoparticules d'argent (0.0015M AgNO<sub>3</sub>)*

### *III .3 .1 .2 Le cas 0.0025M AgNO<sub>3</sub> :*

La taille des nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0025M AgNO<sub>3</sub> à température ambiante a été analysé par la technique de diffusion dynamique de la lumière .Elle révèle une distribution de taille des nanoparticules entre 4.18 nm et 21.04 nm avec une taille moyenne de 8.29 nm  $\pm$ 2.35 nm à 99.6% .Aussi ,il existe un faible pourcentage de nanoparticules de taille 37.33 nm (0.2%) et 338.7 nm (0.1%) (Voir figure 4).

Les résultats de la mesure par TEM révèlent des nanoparticules d'argent dans cette plage de distribution avec des rapports d'aspect variant entre 1.2 et 1.9, On observe différentes formes sphéroïdales mais aussi triangulaires, ellipsoïdales, hexagonales (Voir figure 6)

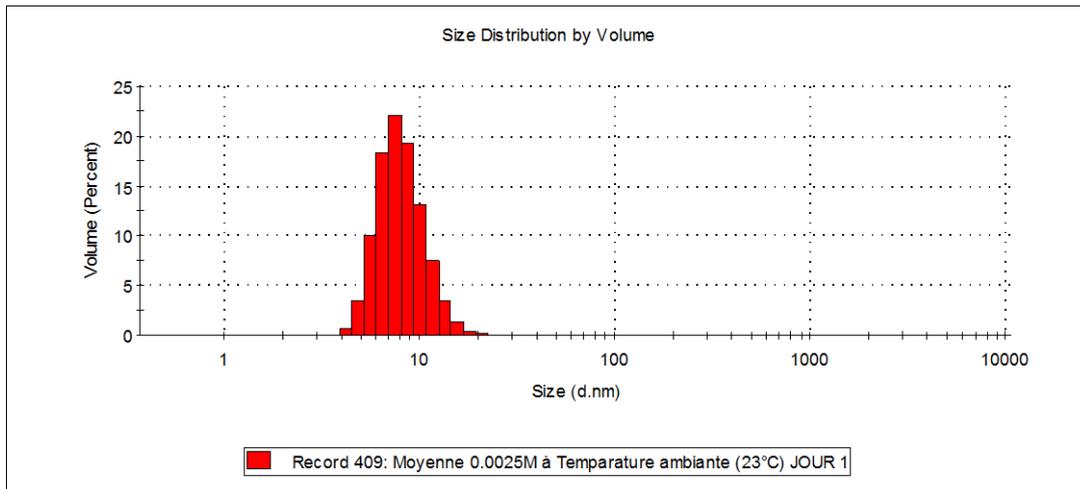


Figure III-8 Distribution de taille des nanoparticules d'argent (0.0025M AgNO<sub>3</sub>) déterminée par DLS

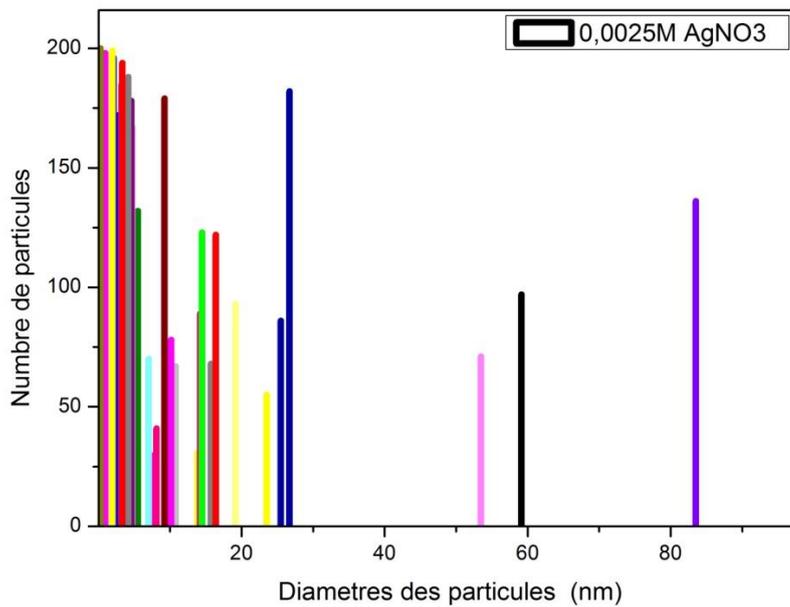
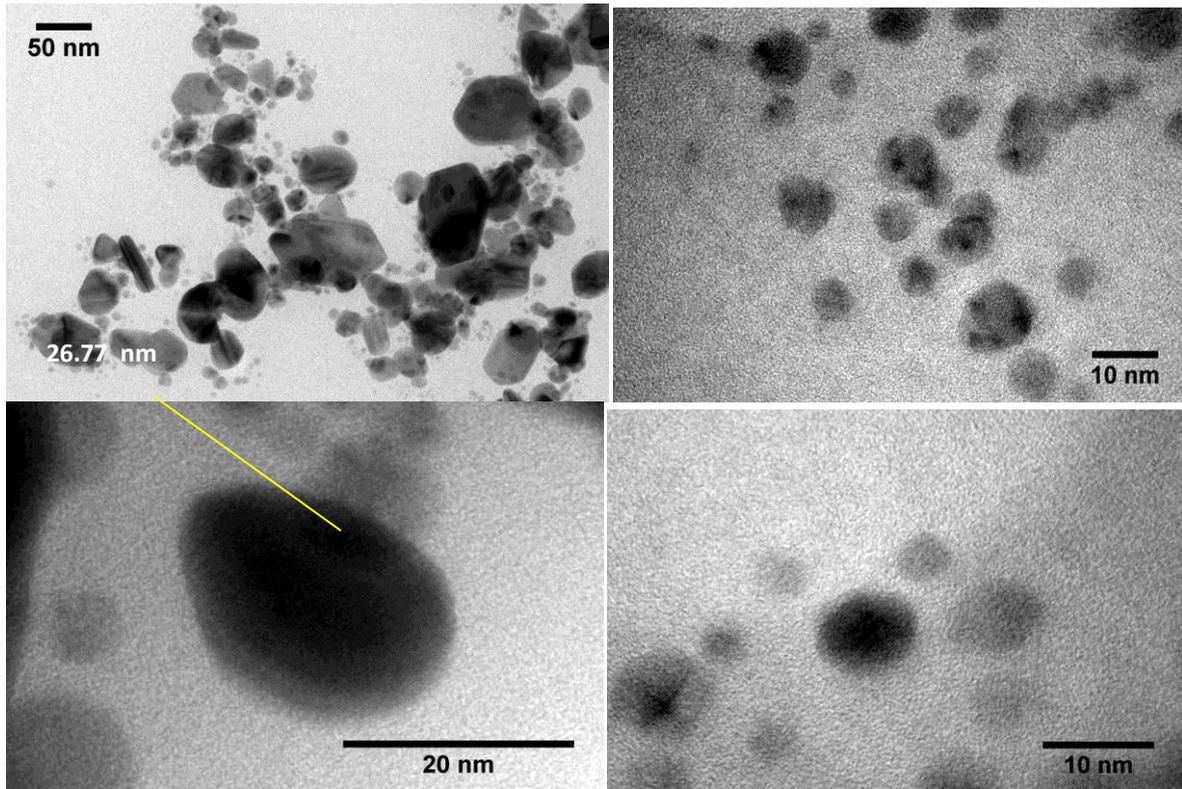


Figure III-9 Les histogrammes de distribution de taille ont été calculés à partir des images TEM à l'aide du logiciel libre de droit ImageJ



*Figure III-10 Image TEM de des formes sphéroïdales, ellipsoïdales, triangulaires et hexagonales des nanoparticules d'argent (0.0025M AgNO<sub>3</sub>)*

### *III.3.1.3 Le cas 0.0030M AgNO<sub>3</sub>*

Les nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0030M AgNO<sub>3</sub> à température ambiante présente une distribution de taille allant de 3.6nm-24.36nm avec une taille moyenne de 10.14 nm± 3.22 nm à 99.2% (Voir figure6) .Cela dit il y a un pourcentage très faible de nanoparticules de taille 51.66 nm (0.1%), et 560.8 nm (0.2%) .

La caractérisation par TEM montre des nanoparticules d'argent dans cette plage de taille avec un rapport d'aspect variant entre 1.1 et 1.5. On observe des formes sphéroïdales ainsi que quelques structures octaédriques ou bipyramidales (Voir figure 7).

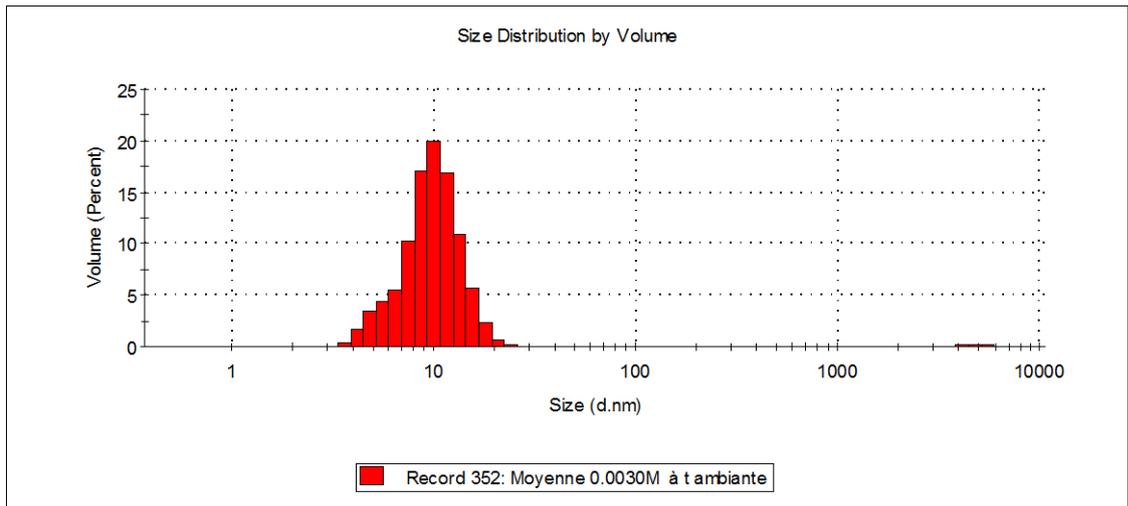


Figure III-11 Distribution de taille des nanoparticules d'argent 0.0030M AgNO<sub>3</sub> mesuré par DLS

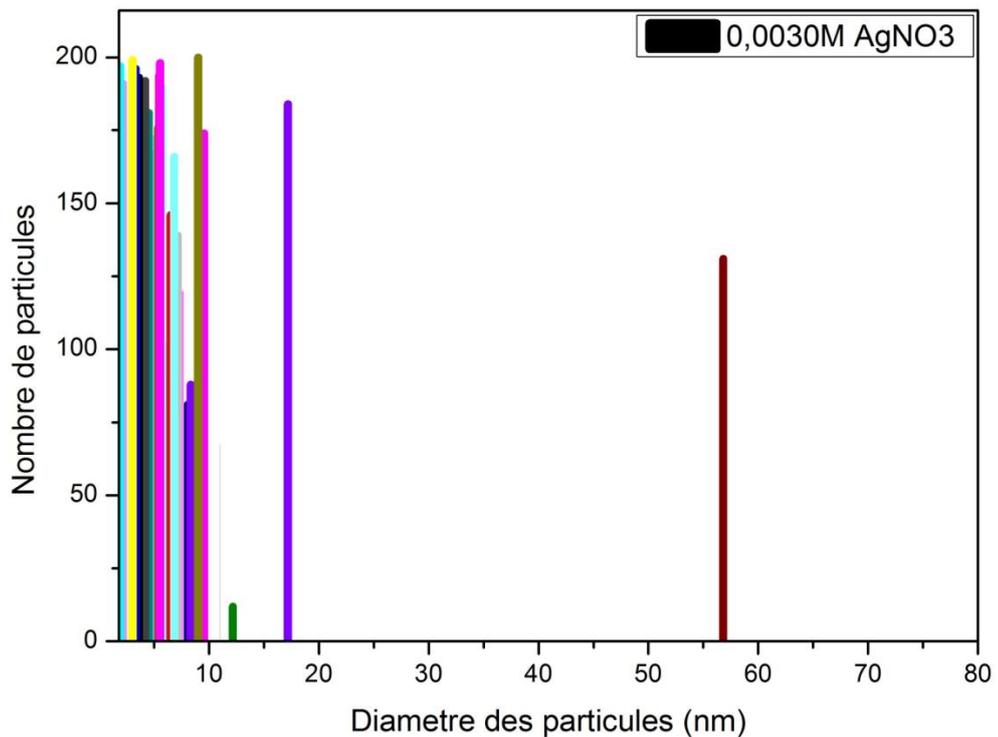
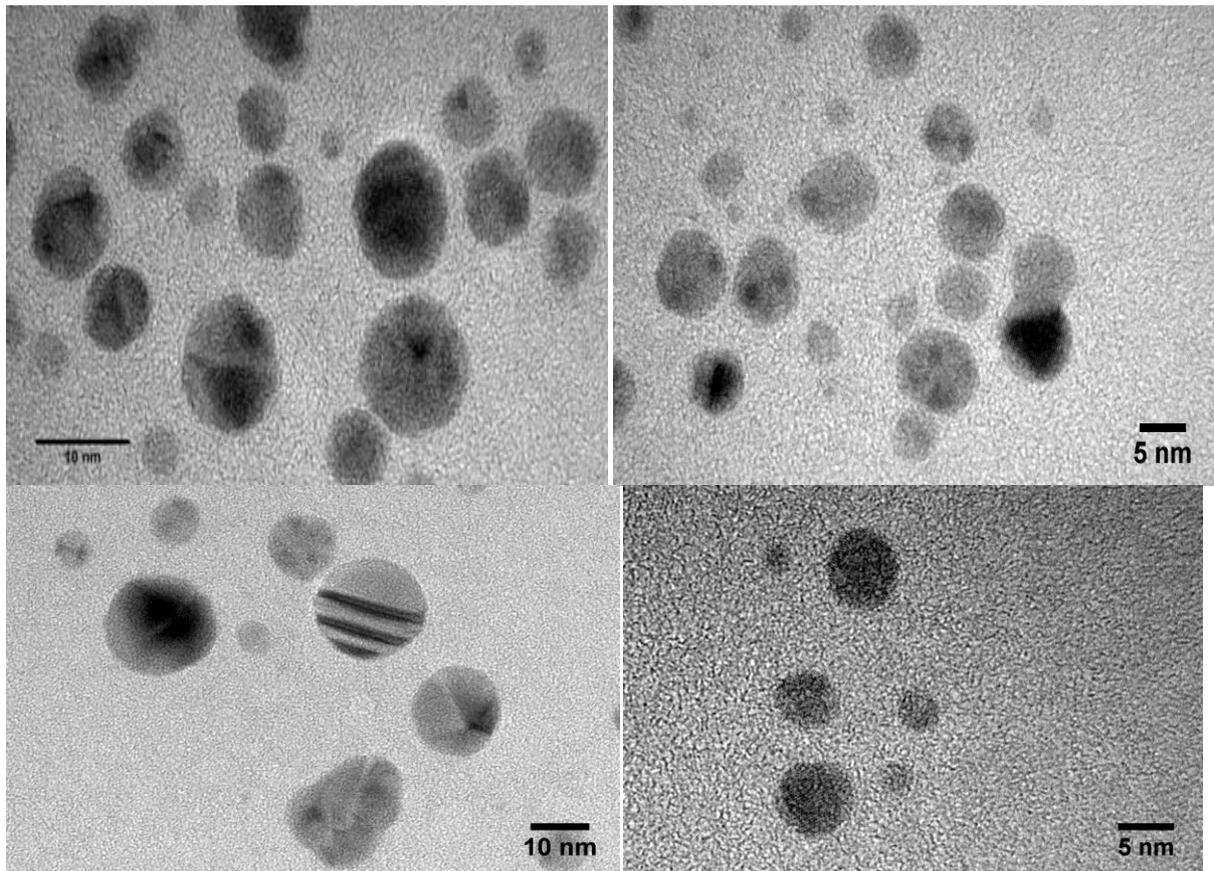


Figure III-12 Les histogrammes de distribution de taille ont été calculés à partir des images TEM à l'aide du logiciel libre de droit ImageJ



*Figure III-13 Images TEM des nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0035M AgNO<sub>3</sub>*

#### *III.3.1.4 Le cas 0.0035M AgNO<sub>3</sub> :*

La caractérisation de la taille des nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0035M AgNO<sub>3</sub> à température ambiante par la technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) ; montre une distribution de taille allant de 6.5 nm -21 nm avec une taille moyenne de 10.76 nm ±2.66 nm à 99.8 % (Voir figure 8) , bien qu'il existe quelques nanoparticules de grande taille à un pourcentage très faible 550nm (0.1%). La caractérisation des nanoparticules d'argent par TEM révèle des tailles dans cette plage de tailles et des formes sphéroïdales .

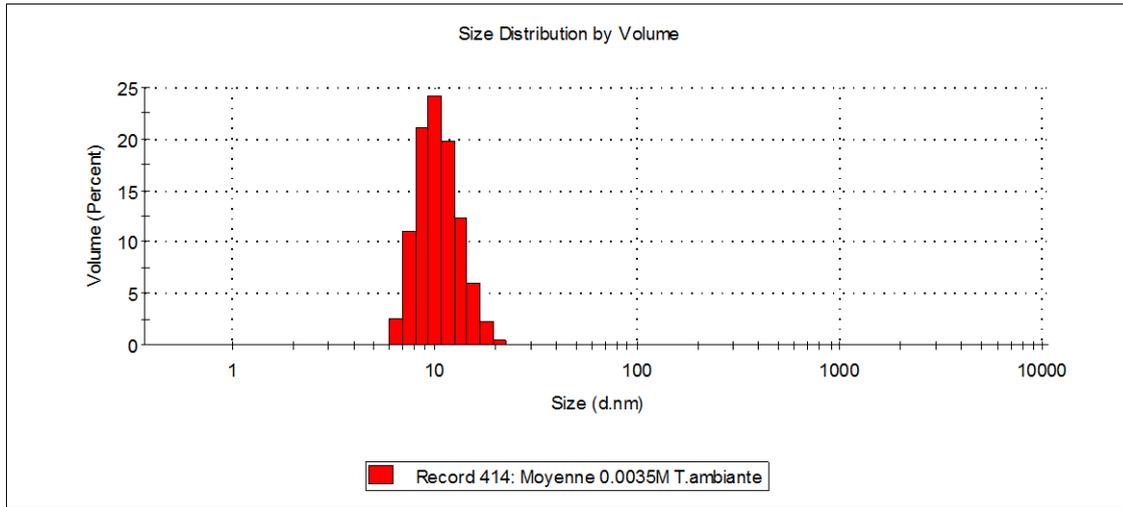


Figure III-14 Distribution de taille des nanoparticules d'argent 0.0035M AgNO<sub>3</sub> mesurée avec la technique DLS

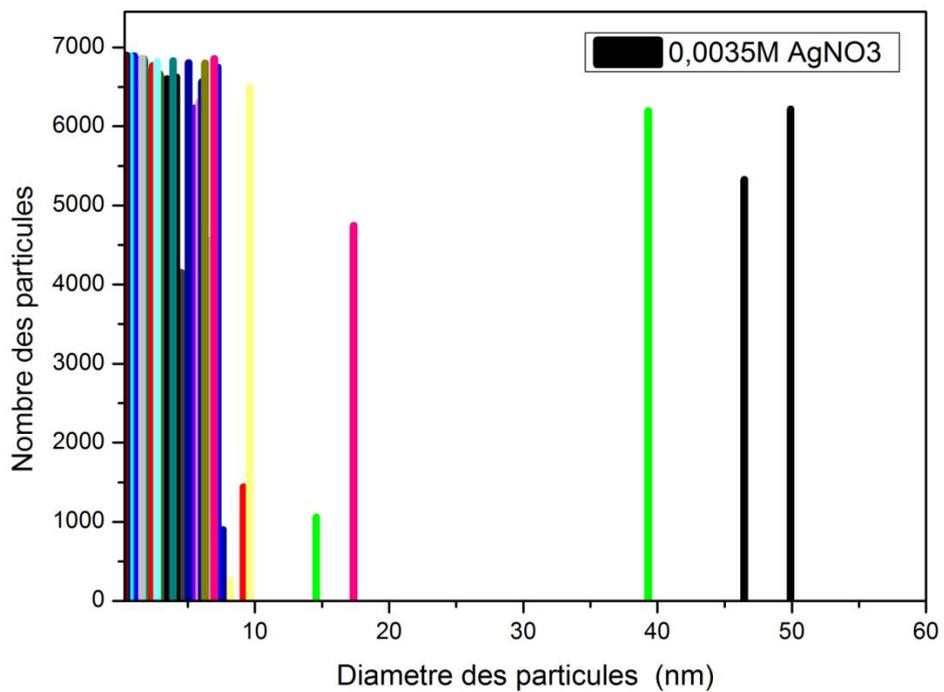
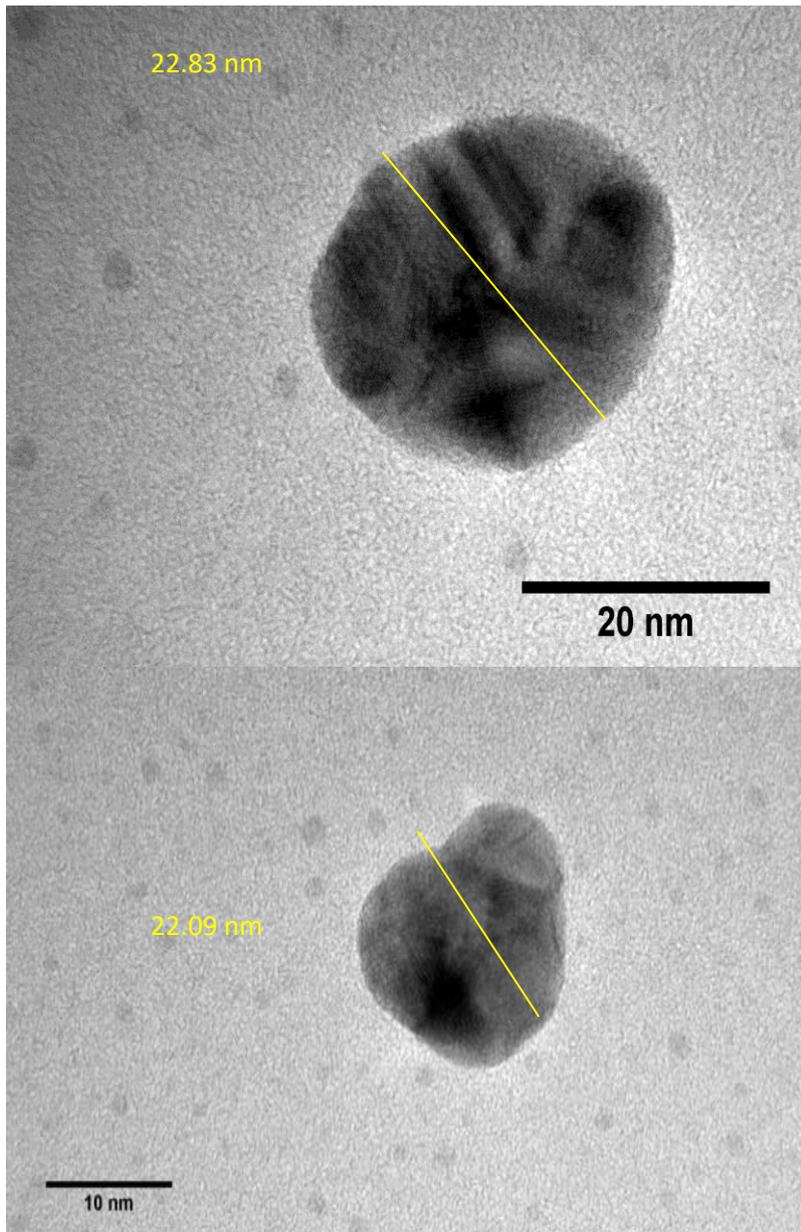


Figure III-15 Les histogrammes de distribution de taille ont été calculés à partir des images TEM à l'aide du logiciel libre de droit ImageJ



*Figure III-16 Images TEM des nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0035M AgNO<sub>3</sub> à température ambiante*

### *III.3.2 Etude de l'absorption optique des nanoparticules d'argent dans deux milieux solvant différents : Ethanol et Méthanol*

Nous avons utilisé la spectroscopie UV-Visible pour la caractérisation optique de nanoparticules d'argent synthétisées par procédé de réduction chimique du nitrate d'argent par l'acide benzoïque et stabilisation par polyvinylpyrrolidone (PVP). Dans tous les résultats obtenus il apparaît une première bande d'absorption autour de 300 nm associée à la formation d'ions  $\text{Ag}^+$  dans la solution. Ceci est la première étape de réduction chimique du précurseur  $\text{AgNO}_3$  par l'acide benzoïque qui est la dissociation entre les ions  $\text{Ag}^+$  et  $\text{NO}_3^-$ . L'agglomération des ions  $\text{Ag}^+$  est appelée "clusters". Le rôle du stabilisateur PVP dans ce cas est de contrôler la croissance des nanoparticules d'argent [1]. Récemment, il a été découvert que le polyvinylpyrrolidone (PVP) possède aussi une capacité de réduction pour  $\text{Ag}^+$  [2]. Après 20 minutes d'agitation, les solutions de nanoparticules d'argent obtenus sont de couleur jaune pâle qui s'intensifie doucement avec le temps. Après variation de la température la couleur des solutions s'intensifie plus rapidement dans le temps en passant par une couleur orange à rouge pâle.

Les nanoparticules d'argent synthétisées à température ambiante après variation de la quantité molaire du précurseur: 0.0015M, 0.0025M, 0.0030M, 0.0035M  $\text{AgNO}_3$  ont montré une bande de résonance plasmon de surface dont l'intensité du pic d'absorption varie entre 436.4 nm et 441 nm pour les nanoparticules d'argent synthétisées dans un milieu solvant éthanol. Dans un milieu solvant méthanol on observe un élargissement de la bande plasmon avec un léger décalage du pic d'absorption vers le rouge 435.6-446.2 nm (voir figure 1 à, b).

La solution de nanoparticules d'argent synthétisées à une concentration 0.0025M présentant le pic de résonance le plus élevé ; dont la valeur de la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) est la plus faible, a été chauffée graduellement de la température ambiante jusqu'à 70°. Après chaque 10°C d'intervalle nous avons prélevé une quantité de la solution colloïdale et effectué une mesure spectroscopique. Dans le solvant éthanol, lorsque la température augmente, l'intensité de la bande d'absorption augmente également avec une légère variation dans la position des pics; 436.1nm-437.4nm. Cependant, dans un solvant méthanol, bien que le pic d'absorption se déplace vers le rouge 441.5 nm-451.4 nm, l'intensité du pic d'absorption croît de manière aléatoire par rapport à l'élévation de température; on remarque toutefois l'apparition d'une autre bande d'absorption. (Voir figure 1 c, d).

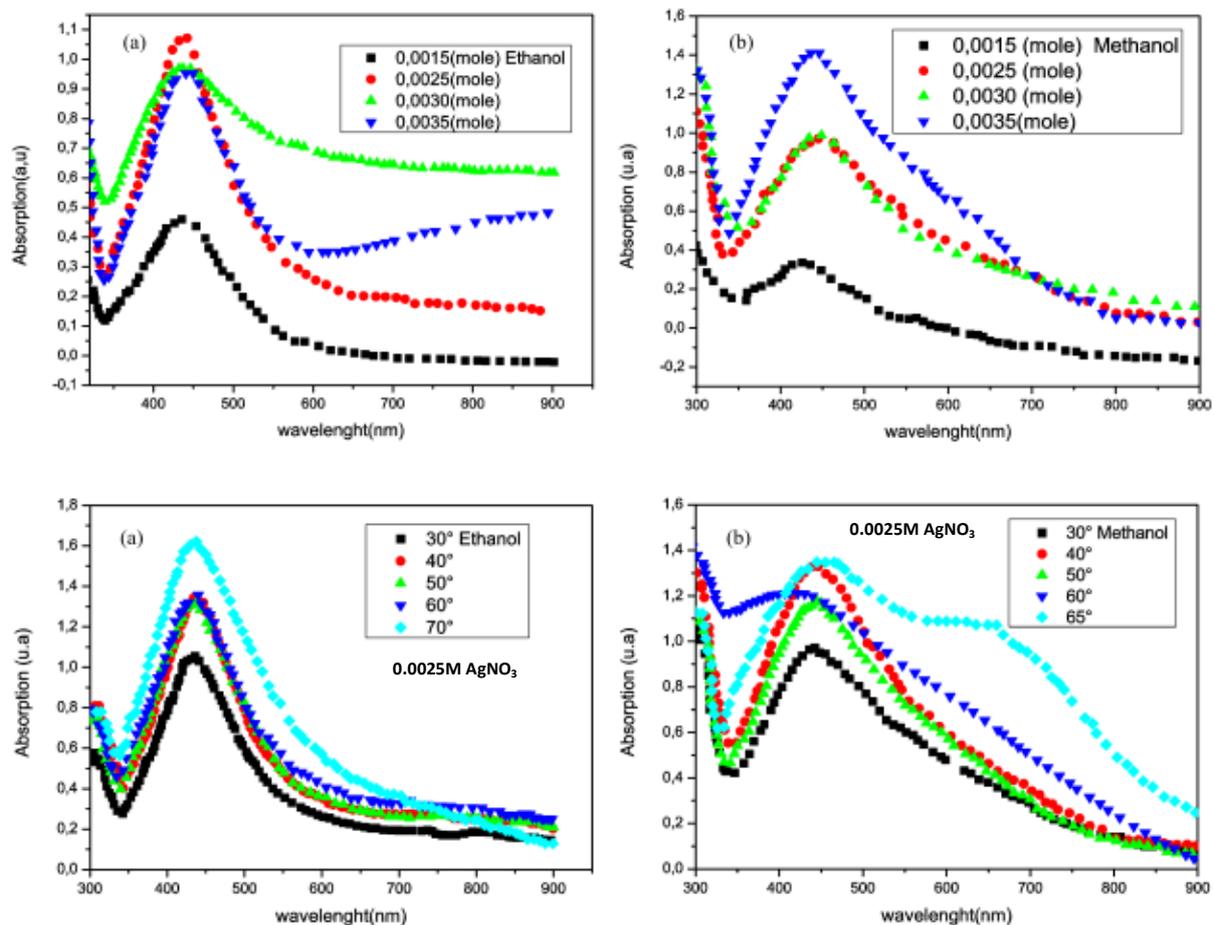


Figure III-17 : Spectres d'absorption UV-visible des nanoparticules d'argent préparées dans (a) éthanol, (b) méthanol, Influence de la variation de la concentration du précurseur  $AgNO_3$  et de la température de synthèse.

### III.3.3 Discussion

L'excitation collective cohérente des électrons libres dans la bande de conduction produit une forte bande d'absorption et une diffusion de la lumière par les particules.

La bande de résonance plasmon est associée au temps de déphasage de l'oscillation électronique cohérente, une plus grande largeur de bande correspond à une perte de cohérence plus rapide [3].

La bande d'absorption et la fréquence de résonance plasmon de surface dépend de plusieurs facteurs comme la taille, la forme, les constantes optiques des particules et le milieu diélectrique entourant les particules [4].

La position de la bande d'absorption dépend aussi fortement du rapport PVP/AgNO<sub>3</sub> ainsi que de la température de synthèse [5]. Le PVP en tant qu'agent protecteur joue un rôle décisif dans le contrôle de la taille, de la distribution en taille et de l'agglomération des NP d'argent. [6].

Le décalage du pic de résonance plasmon vers le rouge a été associé à l'augmentation de la température [7] ainsi qu'à une concentration élevée de nitrate d'argent [8].

Aussi, l'augmentation de la température a été associée à l'augmentation du taux de réduction [9] et à l'élargissement de la bande de résonance .

L'élargissement de la bande de résonance, et l'augmentation de la FWHM des pics correspondant sont la conséquence de l'augmentation de la taille des nanoparticules [10] Cette augmentation de la taille des nanoparticules peut être expliquée par le phénomène d'agglomération , présent dans le milieu méthanol.

#### *III.4 Conclusion :*

Une synthèse chimique de nanoparticules d'argent (NP) de différentes tailles et formes a été effectuée. Le nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>) a été utilisé comme précurseur, la polyvinylpyrrolidone (PVP) a été utilisé en tant que stabilisant et l'acide benzoïque en tant qu'agent réducteur et la température de la réaction a été modifiée de 30 à 70 ° C à 10 ° C pour obtenir différentes nanostructures d'argent. Il a été constaté qu'en variant la valeur du rapport entre AgNO<sub>3</sub> et PVP mais en gardant la même quantité d'acide benzoïque, différentes formes de NP d'argent, telles que des formes sphériques, ellipsoïdales, triangulaires, hexagonales et octaédriques sont produites. Ces nanostructures ont été caractérisées à l'aide de microscope électronique à transmission. La spectroscopie UV -visible de tous les échantillons révèle que les nanoparticules d'argent synthétisés présentent une forte absorption dans la région visible .Nous avons conclu que les meilleurs résultats étaient observés pour la concentration 0.0025M AgNO<sub>3</sub> dans la solution colloïdale préparée dans un milieu solvant éthanol où le pic d'absorption est le plus intense et le spectre le moins étendu. La température de synthèse joue un rôle important dans le processus de réduction ; où elle augmente la vitesse de réaction. Nous avons trouvé un phénomène multipolaire dépendant de la température et lié à l'agrégation des nanoparticules d'argent entre elle et donc à l'élargissement de la taille des nanoparticules, provoquant ainsi un décalage vers le rouge du pic de résonance plasmon. Cependant, nous avons constaté que les pics d'absorption des nanoparticules d'argent

synthétisées avec 0.0025M AgNO<sub>3</sub> restaient relativement stables en fonction de l'augmentation de la température de synthèse jusqu'à 70°.

On conclue que la variation du rapport AgNO<sub>3</sub>/PVP dans la procédure de synthèse des nanoparticules d'argent par réduction chimique influe sur la forme des nanoparticules. Ces différentes formes peuvent influencer à leur tour l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent et leur effet synergique avec différents antibiotiques.

### III.5 Références

- [1] K. M. Koczkur, S. Mourdikoudis, L. Polavarapu, and S. E. Skrabalak, “Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis,” p. 23.
- [2] C. Wu, B. P. Mosher, K. Lyons, and T. Zeng, “Reducing Ability and Mechanism for Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Silver Nanoparticles Synthesis,” Apr-2010. [Online]. Available:  
<https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jnn/2010/00000010/00000004/art00010>.  
[Accessed: 21-Oct-2019].
- [3] U. Kreibig and M. Vollmer, “Theoretical Considerations,” in *Optical Properties of Metal Clusters*, U. Kreibig and M. Vollmer, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995, pp. 13–201.
- [4] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, “The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, no. 3, pp. 668–677, Jan. 2003.
- [5] J. Kim, “Reduction of Silver Nitrate in Ethanol by Poly ( N-vinylpyrrolidone ),” 2007.
- [6] M. Ismail and R. Jabra, “Investigation the parameters affecting on the synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and printing a conductive pattern,” *J Mater Env. Sci*, vol. 8, no. 11, pp. 4152–4159, 2017.
- [7] O. A. Yeshchenko, I. M. Dmitruk, A. A. Alexeenko, A. V. Kotko, J. Verdal, and A. O. Pinchuk, “Size and temperature effects on the surface plasmon resonance in silver nanoparticles,” *Plasmonics*, vol. 7, no. 4, pp. 685–694, 2012.
- [8] H. Jiang, K. Moon, Z. Zhang, S. Pothukuchi, and C. P. Wong, “Variable frequency microwave synthesis of silver nanoparticles,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 117–124, 2006.
- [9] G.-J. Lee, S.-I. Shin, Y.-C. Kim, and S.-G. Oh, “Preparation of silver nanorods through the control of temperature and pH of reaction medium,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 84, no. 2–3, pp. 197–204, 2004.

[10] V. Amendola, O. M. Bakr, and F. Stellacci, “A Study of the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles by the Discrete Dipole Approximation Method: Effect of Shape, Size, Structure, and Assembly,” *Plasmonics*, vol. 5, no. 1, pp. 85–97, Mar. 2010.

*IV Chapitre Application des nanoparticules  
d'argent*

#### *IV.1 Introduction*

Dans ce dernier chapitre l'activité antibactérienne des solutions de nanoparticules d'argent a été testé sur différentes bactéries à savoir le *Pseudomonas aeruginosa*, le *Staphylococcus aureus* et l'*Acinetobacter*. Les différentes solutions colloïdales d'argent ont ensuite été combinées avec différents antibiotiques conventionnels choisis pour leur inefficacité initiale sur les deux bactéries *S.aureus* et *staphylocoque* à coagulase négative.

#### *IV.2 Evaluation Microbiologique :*

##### **IV.2.1 Contre *S.aureus*, *Pseudomonans aeruginosa*, *Acenitobacter multi résistantes***

Les nanoparticules d'argent synthétisées à température ambiante avec différentes concentration du précurseur  $\text{AgNO}_3$  à savoir 0.0015M, 0.0025M, 0.0030M, 0.0035M précédemment caractérisées ont été testées pour leur activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acenitobacter baumannii*, multi résistantes. Une solution éthanoïque ne contenant pas de nanoparticules d'argent a été testé en premier sur les trois différentes bactéries comme control puis 5ul de chaque solution colloïdale a été testé avec la méthode de diffusion de disque (Kirby-Bauer and Stokes).

##### **IV.2.2 Contre *S.aureus* et *Staphylocoque* à coagulase négatives multi-résistantes**

les effets synergétiques de la combinaison de nanoparticules d'argent et d'antibiotiques ont été évalués contre le SARM et SCNRM. Pour cela nous avons choisis de travailler uniquement avec des antibiotiques dont la bactérie à acquis la résistance. Nous les avons testés seuls pour un control puis en combinaison avec les nanoparticules d'argent (10ul). Ces différents tests de sensibilité antibactérienne ont été effectués en utilisant la méthode de diffusion de disque (Kirby-Bauer and Stokes) dont les étapes sont décrites ci-dessous :

### *IV.2.3 Méthode de diffusion de disque (Méthode Kirby-Bauer and Stokes)*

#### *IV.2.3.1 Milieu*

- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4mm
- Les géloses sont séchées avant l'emploi

#### *IV.2.3.2 Inoculum*

- A partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5Mc Farland ou à une D.O de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant soit 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

#### *IV.2.3.3 Ensemencement*

- Tremper un échantillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur la périphérie de la gélose
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- L'écouvillon évite les contaminations du manipulateur et de la paillasse

#### *IV.2.3.4 Application des disques d'antibiotiques*

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.
- Tester la liste des antibiotiques, selon la bactérie isolée.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

#### *IV.2.3.5 Incubation :*

- 18h à 35°C
- La durée d'incubation peut être prolongée dans certain cas : Oxacilline, glycopeptides, macrolides.

#### *IV.2.3.6 Lecture*

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer les résultats avec les valeurs critiques figurants dans le CLSI.

### *IV.3 RESULTATS ET DISCUSSION*

#### *IV.3.1 Effet antibactérien des nanoparticules d'argent seules contre différentes bactéries*

L'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisées à température ambiante avec différentes concentrations du précurseur  $\text{AgNO}_3$  (0.0015M, 0.0025M, 0.0030M, 0.0035M) a été testé sur trois bactéries différentes : Le staphylococcus aureus ,le aeruginosa, l' avec la méthode de diffusion de disc de-Bauer [1]. Après 24 h d'incubation à 37°, on observe la présence de zones d'inhibition autour des disques de papier chargés de nanoparticules d'argent . Les boîtes témoins contenant des disques chargés d'éthanol ne montrent aucune zone d'inhibition comme en témoigne les différentes boîtes « réf » sur l'image 1. Les différents diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et présentés dans le tableau 1.



Figure IV-1 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent contre *aeruginosa*, *staphylococcus aureus*. (Contrôle (réf), 0.0015M (a), 0.0025M(b), 0.0030M(c), 0.0035M(d) AgNO3).

**Tableau IV-1 Activité antibacterienne des nanoparticules d'argent contre aeruginosa, staphylococcus aureus,**

Nom de la bactérie	Zone d'inhibition des nanoparticules d'argent (mm)			
	0,0015M	0,0025M	0,0030M	0,0035M
	(a)	(b)	(c)	(d)
Pseudomonas aeruginosa	25	15	16	16
Staphylococcus aureus	23	12	15	21
Acenitobacter	11	12	11	10

On remarque que la concentration de la solution de nanoparticule d'argent synthétisée avec 0.0015 M d'AgNO<sub>3</sub> présente un maximum d'efficacité sur les deux bactéries pseudo monas et staphylococcus avec des diamètres de 25 et 23 mm. On note que l'action inhibitrice des nanoparticules d'argent contre la bactérie gram négatif Pseudomonas aeruginosa est légèrement plus élevée que sur la bactérie gram positive staphylococcus aureus.

Les suspensions colloïdales 0.0035M, 0.0025M AgNO<sub>3</sub> sont plus efficace sur la bactérie staphylococcus aureus avec un diamètre d'inhibition de 21mm et 15 mm respectivement

Pour la concentration de 0.0030 M on observe une meilleure activité antibactérienne face à la bactérie pseudo monas avec un diamètre d'inhibition de 16 mm

Beaucoup de rapports font état de la puissance antibactérienne plus élevée envers les bactéries gram négatif [2]–[4] Les colloïdes d'argent dont au moins l'une des dimensions est inférieure à 100 nm ont reçus beaucoup d'attentions due à leur activité antibactérienne. [5] ont démontré que l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent contre staphylococcus aureus pouvait être modifié avec la variation de la taille des nanoparticules d'argent .Ils ont trouvé que l'activité antibactérienne diminuait avec l'augmentation de la taille des nanoparticules. [6] ont proposé un mécanisme d'action des nanoparticules d'argent contre la bactérie gram positive staphylococcus aureus. Ils ont confirmé que la formation de trous membranaires pouvait être un facteur important inhibant la croissance bactérienne.

La forme des nanoparticules d'argent joue un rôle important dans leur puissance antibactérienne contre les bactéries gram négatif [7].Peu d'études sont en mesure de donner

une estimation de l'influence de différentes surfaces de nanoparticules d'argent sur leur activité antimicrobienne contre les bactéries gram positif.

#### **IV .3 .2    Activité antibactérienne synergique des nanoparticules d'argent avec différents antibiotiques conventionnels**

Nous avons testé les nanoparticules d'argent synthétisées avec différentes concentrations du nitrate d'argent sur deux bactéries staphylococcus aureus et staphylocoque à coagulase négative résistantes à la methicilline .La méthode utilisé est la méthode de diffusion des disques d'antibiotique sur un milieu gélosé Muller Hinton (MH) qui est un milieu nutritif pour tout types de bactéries. Le principe est le suivant : On dépose une quantité connues de nanoparticules d'argent (10ul) sur des disques d'antibiotiques qui se sont révélés inefficaces sur la bactérie testée lors du test antibiogramme (diamètre d'inhibition inferieur à 6 ou un diamètre d'inhibition répertorié comme valeur résistante par le CLSI [8].Des boites témoins sont utilisées pour témoigner de l'activité des antibiotiques seuls sur la même bactérie . Apres 24h d'incubation à 37 ° les diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques chargés de nanoparticules d'argent sont lus en mm et présentés sous forme d'histogramme (Voir les figures IV-2 et IV-3)

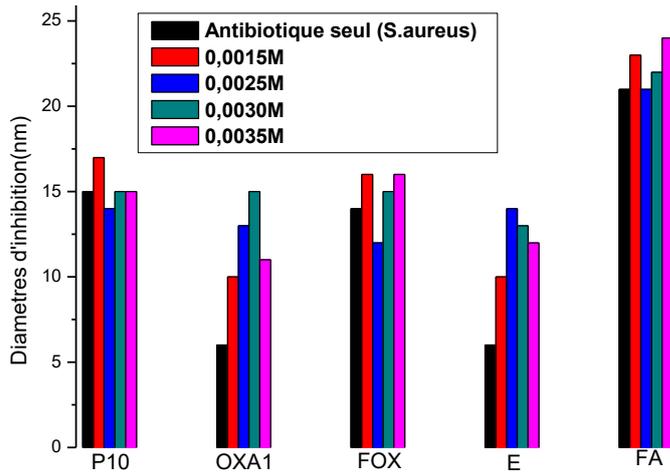


Figure IV-2 Diamètres d'inhibitions de la bactérie *S.aureus* résistante à la méticilline .L' association des antibiotiques fréquemment utilisés pour traiter cette bactérie avec les nanoparticules d'argent synthétisées avec différentes concentrations du précurseur  $AgNO_3$  0.0015M,0.0025M ,0.0030M et 0.0035M montre une augmentation significative des diamètres d'inhibition autour des disques antibiotiques Oxacilline et Erythromycine chargés de nanoparticules d'argent synthétisées avec différentes concentrations du précurseur : 0.0030M et 0.0025M respectivement

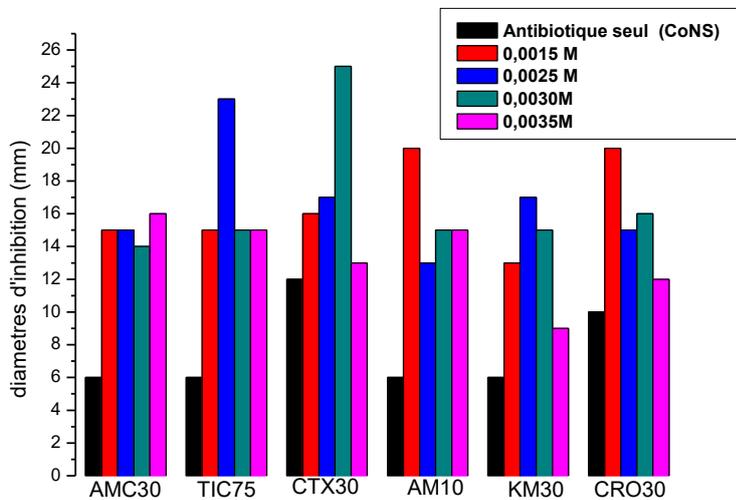


Figure IV-3 Diamètres d'inhibition de la bactérie *Staphylocoque à coagulase négative* résistante à la méticilline . Les antibiotiques testés sont choisis délibérément pour leur inefficacité contre la bactérie (Histogrammes en noir) .Leur association avec les nanoparticules d'argent synthétisées avec différentes concentrations du précurseur  $AgNO_3$  0.0015M,0.0025M ,0.0030M et 0.0035M montre une augmentation significative de tous les diamètres d'inhibition.

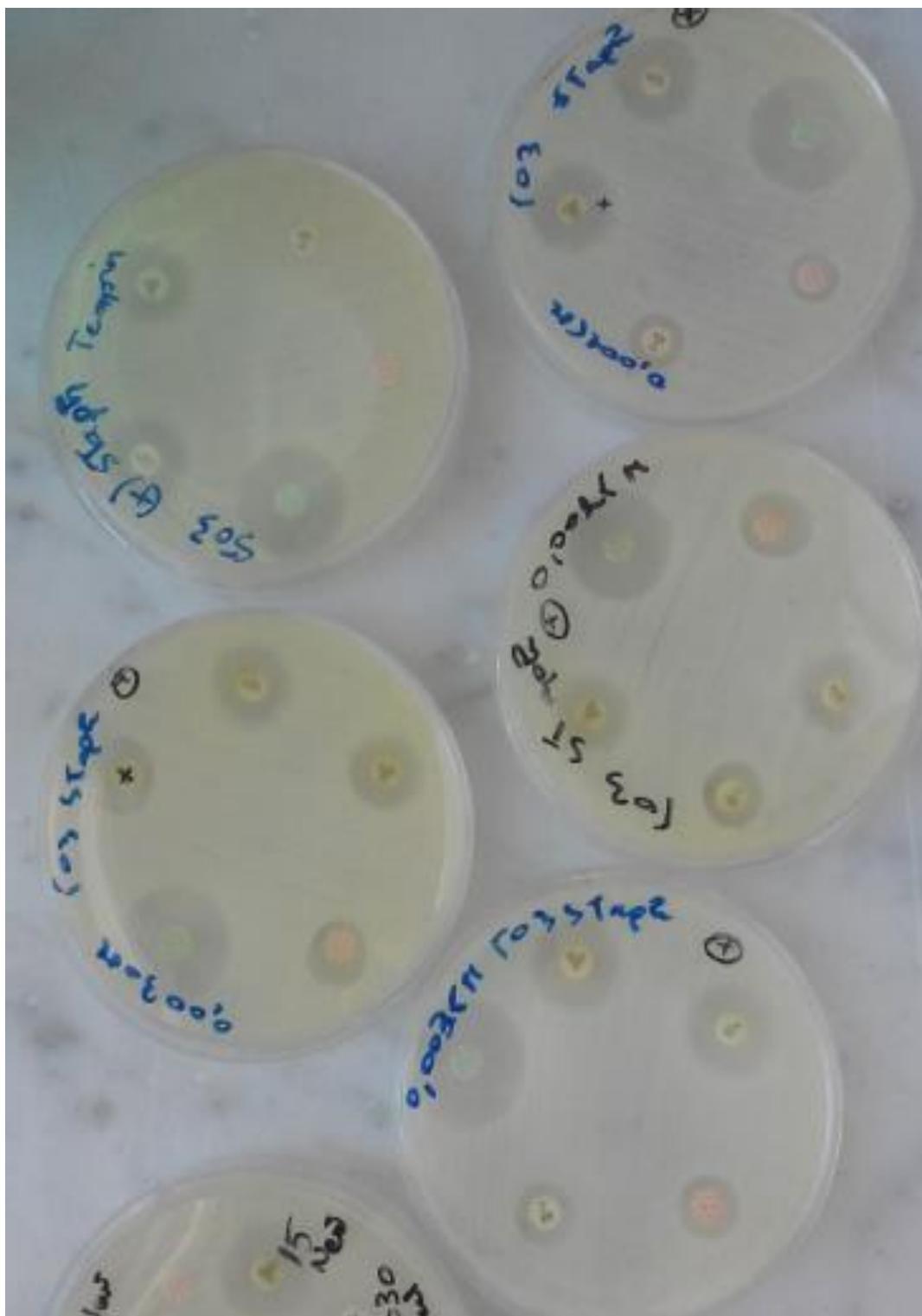


Figure IV-4 Boîtes de MH pour le test anti-SARM

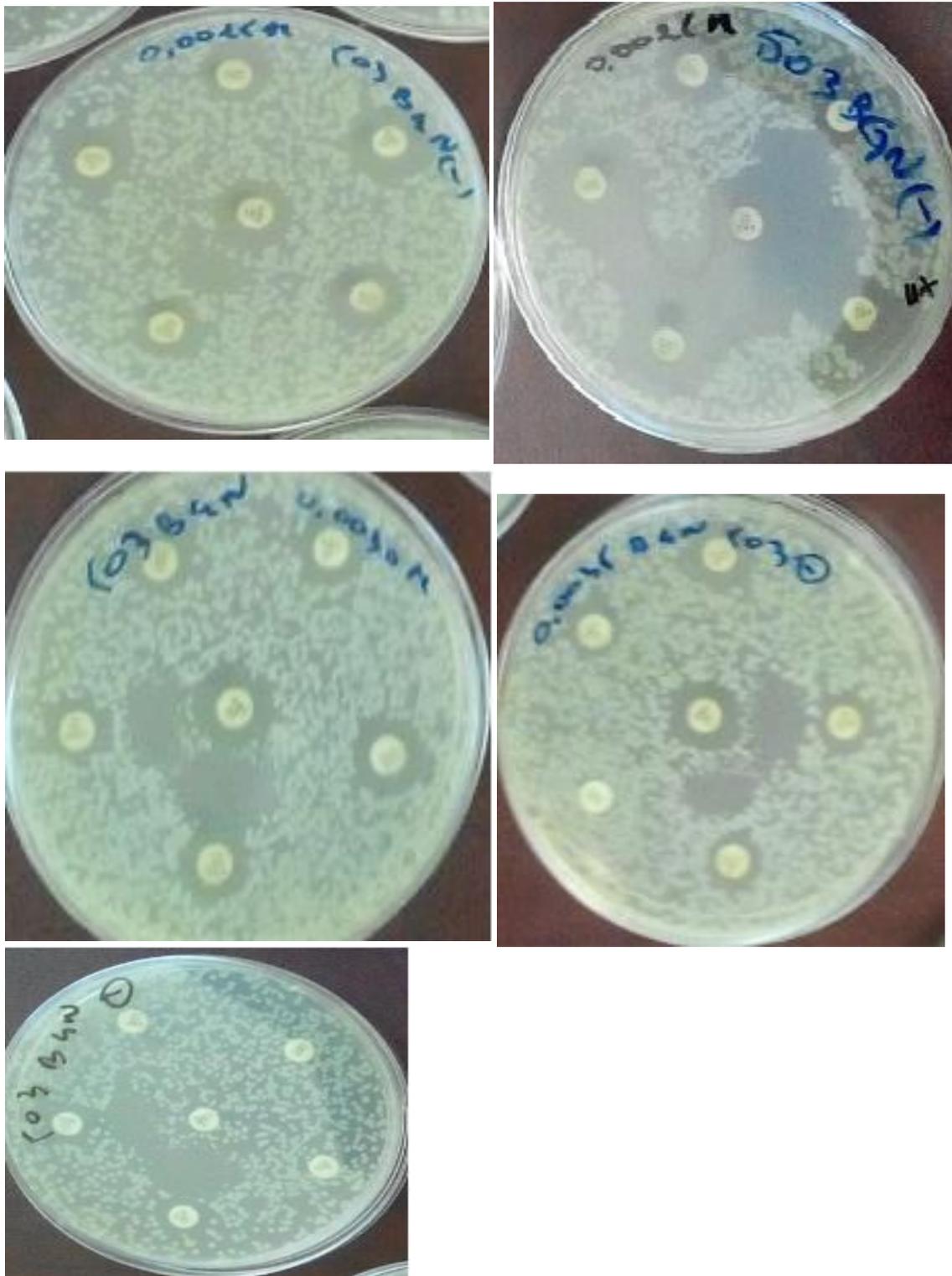


Figure IV-5 Boite MH pour le test anti-SCNRM

### **IV .3 .3 Discussion :**

L'effet antibactérien de l'association de différentes suspensions de NPs d'Ag 0.0015M, 0.0025M, 0.0030M ,0.0035M avec différents antibiotiques a été étudié contre S.aureus et Staphylocoque à coagulase négative (SCN) résistantes toutes les deux à la methicilline.

Les nanoparticules d'argent (NPs d'Ag) associées à ces différents antibiotiques ont montré une augmentation significative de l'action bactéricide contre S.aureus et SCN résistantes à la methicilline .En effet, l'activité antibactérienne de tous les antibiotiques Pénicilline ,Oxacilline , Céfoxitine, Erythromycine ,Acide fusidique, Amoxicilline, Ticarcilline, Ampicilline, kanamycine, Cefotriaxone, a augmenté en présence de nanoparticules d'argent .

On observe cela dit une activité antibactérienne contre la souche SCN supérieure à S.aureus.

Les plus grandes zones d'inhibition ont été observées pour l'Oxacilline et l'Erythromycine en présence des nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0025M AgNO<sub>3</sub> contre Staphylococcus aureus. Et pour les antibiotiques Cefotaximes et Ticarcylone associés aux nanoparticules d'argent synthétisées avec 0.0030M AgNO<sub>3</sub> contre Staphylocoque à coagulase négative.

Les nanoparticules d'argent peuvent être combinées avec des antibiotiques afin d'augmenter leur potentiel bactéricide [9].En effet,[10] ont signalé l'augmentation de l'activité antibactérienne de la pénicilline , et Erythromycine au contact des nanoparticules d'argent contre S.aureus , pseudo monas et E. colis. Aussi ,[11] ont également rapporté l'augmentation de l'activité antibactérienne de l'ampicilline , la Kanamycine et l'Erythromycine au contact des nanoparticules d'argent .

### **IV .3 .4 Mécanismes d'action antibactérienne des nanoparticules d'argent :**

les nanoparticules d'argent sont de redoutables agents antimicrobiens grâce à de multiples modes d'action antimicrobiens [12] .Les plus importants sont l'adhésion des AgNPs aux cellules microbiennes grâce à l'attraction électrostatique entre les nanoparticules d'argent chargés positivement et les membranes cellulaires chargés négativement [13] . L'attachement des nanoparticules d'argent sur la membrane va altérer la structure membranaire, la

perméabilité et les activités de transports de la cellule. Dans un autre cas ,après l'adhésion les nanoparticules d'argent pénètrent à l'intérieur des cellules, et génèrent de radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ROS ) ainsi que la modulation des voies de transduction du signal microbien [14], [15]

#### **IV .4 conclusion**

La caractérisation par DLS a montré une distribution de tailles des nanoparticules d'argent presque similaire ,Cela dit l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisées avec différents rapports  $\text{AgNO}_3$  /PVP ont montré différents diamètres d'inhibition des bactéries multi résistantes testées .En effet , Les nanoparticules d'argent synthétisées avec une concentration du précurseur 0.0015M présente l'activité antibactérienne la plus efficace contre les deux bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus* . Aussi les nanoparticules d'argent synthétisées avec une concentration 0.0025M  $\text{AgNO}_3$  ; ont l'activité antibactérienne la plus synergétique avec différents antibiotiques tels que Ticarcilline et Erythromycine.

## IV .5 Références

- [1] W. L. Drew, A. L. Barry, R. O'Toole, and J. C. Sherris, "Reliability of the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method for Detecting Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*," *Appl. Microbiol.*, vol. 24, no. 2, pp. 240–247, Aug. 1972.
- [2] J. S. Kim et al., "Antimicrobial effects of silver nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 95–101, 2007.
- [3] M. Guzman, J. Dille, and S. Godet, "Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 8, no. 1, pp. 37–45, 2012.
- [4] S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, and D. Dash, "Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 18, no. 22, p. 225103, Jun. 2007.
- [5] 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. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 1343–1348, 2008.
- [6] F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, and M. A. Esmacili, "Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*," *Res. Microbiol.*, vol. 162, no. 5, pp. 542–549, 2011.
- [7] S. Pal, T. Yu Kyung, and J. Song, "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, pp. 1712–20, Apr. 2007.
- [8] M. P. Weinstein and Clinical and Laboratory Standards Institute, *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 2019.
- [9] M. A. Dar, A. Ingle, and M. Rai, "Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 105–110, 2013.
- [10] A. R. Shahverdi, A. Fakhimi, H. R. Shahverdi, and S. Minaian, "Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against

Staphylococcus aureus and Escherichia coli,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 2, pp. 168–171, 2007.

[11] A. M. Fayaz, K. Balaji, M. Girilal, R. Yadav, P. T. Kalaichelvan, and R. Venketesan, “Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 103–109, 2010.

[12] G. Franci et al., “Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents,” *Molecules*, vol. 20, no. 5, pp. 8856–8874, May 2015.

[13] A. Abbaszadegan et al., “The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study,” *J. Nanomater.*, vol. 2015, p. 8, Sep. 2014.

[14] T. C. Dakal, A. Kumar, R. S. Majumdar, and V. Yadav, “Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. 1831, 2016.

[15] Y. Qing et al., “Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 3311–3327, Jun. 2018.



# CONCLUSION GENERALE

---

Les nanoparticules d'argent ont été préparées par réduction chimique dans deux milieux dispersifs différents : l'éthanol et le méthanol .Le nitrate d'argent a été utilisé comme précurseur et l'acide benzoïque comme agent réducteur. Deux paramètres ont été considérés. La variation de la concentration du précurseur ainsi que la température de synthèse des nanoparticules .la formation de nanoparticules d'argent a été suivi par spectroscopie d'absorption UV-Vis. Cette dernière a révélé la formation de nanoparticules d'argent en présentant le maximum d'absorption typique de la résonance plasmon de surface sur la bande 435-446 nm.

La spectroscopie UV -visible de tous les échantillons révèle que les nanoparticules d'argent synthétisées présentent une forte absorption dans la région visible .Nous avons conclu que les meilleurs résultats étaient observés pour la concentration 0.0025M  $\text{AgNO}_3$  dans la solution colloïdale préparée dans un milieu solvant éthanol où le pic d'absorption est le plus intense et le spectre le moins étendu. La température de synthèse joue un rôle important dans le processus de réduction ; où elle augmente la vitesse de réaction. Nous avons trouvé un phénomène multipolaire dépendant de la température et lié à l'agrégation des nanoparticules d'argent entre elles et donc à l'élargissement de la taille des nanoparticules, provoquant ainsi un décalage vers le rouge du pic de résonance plasmon.

Les résultats de la caractérisation par TEM ont montré des nanoparticules d'argent de forme sphéroïdale avec différents rapports d'aspect allant 1.1 à 1.9 et des tailles différentes suivant les conditions d'laboration ; Les tailles obtenues sont en moyenne au alentour de 10 nm.

Les résultats DLS ont confirmé ceux obtenus par TEM, ils ont montré une distribution homogène

Dans cette étude , nos efforts se sont dirigés vers l'application in vitro des nanoparticules d'argent comme agent antibactérien utilisé en association avec différents antibiotiques contre les deux souches bactériennes gram positif résistantes à la méthicilline : le staphylococcus aureus et le staphylocoque à coagulase négatif. Ces dernières se sont révélées résistantes aux différents antibiotiques appartenant aux classes de médicament beta-lactamines, aminoglycosides , macrolides

Leur effet antibactérien a été étudié avec une technique couramment utilisée en milieu hospitalier pour les antibiogrammes. La technique de diffusion de disques ou méthode Kirby-Bauer sur un milieu nutritif gélosé (Mueller Hinton). Pour cela des disques d'antibiotiques servant de témoins négatifs ont été imprégnés de différentes concentrations de NPs d'Ag. Le but étant de montrer une amélioration de l'efficacité des thérapies antimicrobiennes. Nous avons confirmé l'effet bactéricide des nanoparticules d'argent. Cet effet a été étudié en fonction des paramètres d'élaboration des nanoparticules d'argent.

Ce travail n'est qu'une contribution dans les efforts consentis par les chercheurs dans les différents centres et universités du monde, pour l'émergence de la nanotechnologie et ses applications dans le domaine du bien-être humain.

En perspective de ce travail, nous pensons qu'il serait judicieux de tenter d'appliquer ses résultats en particulier l'effet antibactérien sur d'autres souches de bactéries.

En plus de leur potentiel antimicrobien attrayant et polyvalent, les AgNPs fournissent des particularités mécaniques, optiques, chimiques et biologiques qui les recommandent pour la conception, l'obtention et l'évaluation clinique de biomatériaux et de dispositifs médicaux à performances améliorées. Néanmoins, des études approfondies sur leur toxicité à court et à long terme, ainsi que sur les mécanismes responsables liés à la toxicité, sont nécessaires.

## ANNEXES :

### Liste des figures :

FIGURE I-1 HIERARCHIE DES TERMES D'APRES LE COMITE DE NORMALISATION DES NANOTECHNOLOGIES [1].....	5
FIGURE I-2 SCHEMA DE L'EVOLUTION DE LA STRUCTURE ELECTRONIQUE DE L'OR [2].....	6
FIGURE I-3 ORIGINE DE LA RESONANCE PLASMONIQUE DE SURFACE DUE A L'INTERACTION COHERENTE DES ELECTRONS DANS LA BANDE DE CONDUCTION AVEC LA LUMIERE [5] .....	7
FIGURE I-4 À GAUCHE : IMAGES TEM DE NANO SPHERES D'AU (A), DE NANO-TIGES (B) ET DE NANO-PRISME D'AG(C). À DROITE: PHOTOGRAPHIES DE DISPERSIONS COLLOÏDALES DE NANOPARTICULES D'ALLIAGE AU AG AVEC UNE CONCENTRATION CROISSANTE EN AU (D), DES NANO TIGES D'AU DE RAPPORT D'ASPECT CROISSANT (E) ET DES NANO PRISMES D'AG AVEC UNE TAILLE LATERALE CROISSANTE (F).[8].....	8
FIGURE I-5 SPECTRES EXPERIMENTAUX DE NANO-BATONNETS D'OR DANS DIFFERENTS SOLVANTS (A GAUCHE) ET MODIFICATION DE LA POSITION LONGITUDINALE DE LA BANDE DE PLASMON AVEC INDICE DE REFRACTION (A DROITE)[9].....	8
FIGURE I-6 DIFFUSION INTENSE DE LA LUMIERE PAR LES NANOPARTICULES DE DIFFERENTES FORMES ALLANT DE LA REGION VISIBLE POUR LES NANOPARTICULES SPHERIQUES (B)[6] A LA REGION INFRAROUGE POUR LES NANO-BATONNETS (A) [7] .....	9
FIGURE I-7 GAUCHE: SPECTRE D'ABSORPTION UV-VIS EXPERIMENTAL D'UN ECHANTILLON DE NANO- BATONNETS D'OR AVEC UN FACTEUR DE FORME MOYEN DE 3,3. LA BANDE A 525 NM EST APPELEE RESONANCE PLASMONIQUE TRANSVERSALE, TANDIS QUE CELLE CENTREE A 740 NM EST APPELEE ABSORPTION LONGITUDINALE [23].....	9
FIGURE I-8 POSSIBILITES DE FONCTIONNALISATION DE LA SURFACE EXTERNE DES NANOPARTICULES METALLIQUES (EN HAUT) OU DE NANOPARTICULES DE SILICE (EN BAS) A L'AIDE DE LIGANDS [36].....	11
FIGURE I-9 VOIE PHOTOCHEMIE POUR LA FORMATION DE NANO COMPOSITE M @ TiO2. CB: BANDE DE CONDUCTION; VB: BANDE DE VALENCE; M: AG, Pd, AU, Pt; e-: ELECTRONS PHOTO EXCITES; h +: TROUS PHOTO EXCITES; NPS: NANOPARTICULES [63].....	14
FIGURE I-10 SCHEMA REPRESENTATIF DE LA FORMATION D'UNE SONDE A NANOPARTICULE D'OR [34].....	19
FIGURE I-11 TYPES DE TUMEURS. DANS UNE TUMEUR BENIGNE, LES CELLULES MUTEES (BLEU) RESTENT CONTENUES DANS UN SEUL GROUPE, AVEC UNE FRONTIERE CLAIRE LES SEPARANT DES CELLULES NORMALES. DANS UNE TUMEUR MALIGN, DES CELLULES MUTEES SONT MELANGEES A DES CELLULES NORMALES, TENTANT D'ENVAHIR LE TISSU ENVIRONNANT. [106].....	20
FIGURE II-1 SCHEMA DE FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION .....	33
FIGURE II-2 SCHEMA DE PRINCIPE DE BASE DE LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION .....	34
FIGURE II-3 SCHEMA ILLUSTRANT LE MOUVEMENT BROWNIEN DES PARTICULES EN SUSPENSION ET RELATION STOKES-EINSTEIN OU D EST LE COEFFICIENT DE DIFFUSION, $\mu$ EST LA VISCOSITE DU SOLVANT, T LA TEMPERATURE DU SOLVANT, K LA CONSTANTE DE BOLTZMANN, $\varnothing$ H LE DIAMETRE HYDRODYNAMIQUE .....	37
FIGURE II-4 SCHEMA ILLUSTRANT LES FLUCTUATIONS DU SIGNAL LUMINEUX DIFFUSE PAR DE GRANDE ET PETITES PARTICULES . .....	38
FIGURE II-5 SCHEMA MONTRANT L'INSTRUMENTATION D'UN SYSTEME DLS.....	39
FIGURE II-6 FILTRE SERINGUE EN ACETATE DE CELLULOSE POUR LES SOLUTIONS AQUEUSES .....	41
FIGURE II-7 FILTRE SERINGUE 0.22UM UTILISE LORS DE LA CARACTERISATION DES ECHANTILLONS PAR DLS .....	42
FIGURE II-8 DIFFERENTES TAILLES MOYENNES DANS LA MESURE PAR DLS .....	43
FIGURE II-9 COMPARAISON ENTRE LA MESURE PAR TEM ET DLS .....	44
FIGURE II-10 IMAGES TEM DES NANOPARTICULES DE TiO2 ET DISTRIBUTION DE LA TAILLE DES PARTICULES CORRESPONDANTES TEM ET DLS[12] .....	44

FIGURE II-11 SCHEMA DE PRINCIPE DE LA SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION UV-VISIBLE AVEC UN EXEMPLE DE SPECTRE D'ABSORPTION .....	46
FIGURE II-12 ABSORBANCE MESUREE PAR SPECTROSCOPIE UV-VIS ( $A_{MAX}$ ) LOI DE BEER- LAMBERT .....	46
FIGURE III-1 PREPARATION DE NANOPARTICULES D'ARGENT A TEMPERATURE AMBIANTE. LA COULEUR JAUNE INDIQUE LA FORMATION DE NANOPARTICULES D'ARGENT .....	52
FIGURE III-2 VARIATION DE LA TEMPERATURE DE SYNTHESE DES NANOPARTICULES D'ARGENT DE LA TEMPERATURE AMBIANTE A 60°C .....	52
FIGURE III-3 LA SOLUTION DE NANOPARTICULE D'ARGENT APRES CHAQUE ELEVATION DE LA TEMPERATURE DE SYNTHESE (30°C, 40°C,50°C,60°C).....	53
FIGURE III-4 PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR LA CARACTERISATION PAR MET, CHAQUE PINCE CONTIENT UNE GRILLE DE CUIVRE RECOUVERTE DE CARBONNE SUR LAQUELLE ON A DEPOSE UNE SOLUTION DILUEE DE NANOPARTICULES D'ARGENT.....	54
FIGURE III-5 : DISTRIBUTION DE TAILLE DES NANOPARTICULES D'ARGENT (0.0015M $AgNO_3$ ) DETERMINEE PAR DLS .....	55
FIGURE III-6 LES HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION DE TAILLE CALCULES A PARTIR DES IMAGES TEM A L'AIDE DU LOGICIEL IMAGEJ .....	56
FIGURE III-7 IMAGE TEM DE LA FORME SPHEROÏDALE DES NANOPARTICULES D'ARGENT (0.0015M $AgNO_3$ ) .....	57
FIGURE III-8DISTRIBUTION DE TAILLE DES NANOPARTICULES D'ARGENT (0.0025M $AgNO_3$ ) DETERMINEE PAR DLS .....	58
FIGURE III-9 LES HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION DE TAILLE ONT ETE CALCULES A PARTIR DES IMAGES TEM A L'AIDE DU LOGICIEL LIBRE DE DROIT IMAGEJ .....	58
FIGURE III-10 IMAGE TEM DE DES FORMES SPHEROÏDALES, ELLIPSOÏDALES, TRIANGULAIRES ET HEXAGONALES DES NANOPARTICULES D'ARGENT (0.0025M $AgNO_3$ ).....	59
FIGURE III-11 DISTRIBUTION DE TAILLE DES NANOPARTICULES D'ARGENT 0.0030M $AgNO_3$ MESURE PAR DLS .....	60
FIGURE III-12 LES HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION DE TAILLE ONT ETE CALCULES A PARTIR DES IMAGES TEM A L'AIDE DU LOGICIEL LIBRE DE DROIT IMAGEJ .....	60
FIGURE III-13 IMAGES TEM DES NANOPARTICULES D'ARGENT SYNTHETISEES AVEC 0.0035M $AgNO_3$ .....	61
FIGURE III-14 DISTRIBUTION DE TAILLE DES NANOPARTICULES D'ARGENT 0.0035M $AgNO_3$ MESUREE AVEC LA TECHNIQUE DLS .....	62
FIGURE III-15 LES HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION DE TAILLE ONT ETE CALCULES A PARTIR DES IMAGES TEM A L'AIDE DU LOGICIEL LIBRE DE DROIT IMAGEJ .....	62
FIGURE III-16 IMAGES TEM DES NANOPARTICULES D'ARGENT SYNTHETISEES AVEC 0.0035M $AgNO_3$ A TEMPERATURE AMBIANTE.....	63
FIGURE III-17 : SPECTRES D'ABSORPTION UV-VISIBLE DES NANOPARTICULES D'ARGENT PREPAREES DANS (A) ETHANOL, (B) METHANOL, INFLUENCE DE LA VARIATION DE LA CONCENTRATION DU PRECURSEUR $AgNO_3$ ET DE LA TEMPERATURE DE SYNTHESE.....	65
FIGURE IV-1 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES NANOPARTICULES D'ARGENT CONTRE AERUGINOSA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS. (CONTROLE (REF), 0.0015M (A),0.0025M(B) ,0.0030M(C),0.0035M(D) $AgNO_3$ ).....	74
FIGURE IV-2 DIAMETRES D'INHIBITIONS DE LA BACTERIE S.AUREUS RESISTANTE A LA METICILLINE .L' ASSOCIATION DES ANTIBIOTIQUES FREQUEMMENT UTILISES POUR TRAITER CETTE BACTERIE AVEC LES NANOPARTICULES D'ARGENT SYNTHETISEES AVEC DIFFERENTES CONCENTRATIONS DU PRECURSEUR $AgNO_3$ 0.0015M,0.0025M ,0.0030M ET 0.0035M MONTRE UNE AUGMENTATION SIGNIFICATIVE DES DIAMETRES D'INHIBITION AUTOUR DES DISQUES ANTIBIOTIQUES OXACILLINE ET ERYTHROMYCINE CHARGES DE NANOPARTICULES D'ARGENT SYNTHETISEES AVEC DIFFERENTES CONCENTRATIONS DU PRECURSEUR : 0.0030M ET 0.0025M RESPECTIVEMENT .....	77

FIGURE IV-3 DIAMETRES D'INHIBITION DE LA BACTERIE STAPHYLOCOQUE A COAGULASE NEGATIVE RESISTANTE A LA METICILLINE . LES ANTIBIOTIQUES TESTES SONT CHOISIS DELIBEREMENT POUR LEUR INEFFICACITE CONTRE LA BACTERIE (HISTOGRAMMES EN NOIR) .LEUR ASSOCIATION AVEC LES NANOPARTICULES D'ARGENT SYNTHETISEES AVEC DIFFERENTES CONCENTRATIONS DU PRECURSEUR $AgNO_3$ 0.0015M,0.0025M ,0.0030M ET 0.0035M MONTRE UNE AUGMENTATION SIGNIFICATIVE DE TOUS LES DIAMETRES D'INHIBITION. ....	77
FIGURE IV-4 BOITES DE MH POUR LE TEST ANTI-SARM.....	78
FIGURE IV-5 BOITE MH POUR LE TEST ANTI-SCNRM.....	79

### Liste des tableaux

TABLEAU III-1 PARAMETRES UTILISES POUR LA SYNTHESE DE NANOPARTICULES D'ARGENT .....	51
TABLEAU IV-1 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES NANOPARTICULES D'ARGENT CONTRE AERUGINOSA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS,.....	75

## Références bibliographiques:

“ISO/TS 27687:2008(fr), Nanotechnologies — Terminologie et définitions relatives aux nano-objets — Nanoparticule, nanofibre et nanofeuillet.”

D. Coursault, “Decoration of linear networks of smectic defects with gold nanoparticles,” 2013.

C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. John Wiley & Sons, 2008.

U. Kreibig and M. Vollmer, “Theoretical Considerations,” in *Optical Properties of Metal Clusters*, U. Kreibig and M. Vollmer, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995, pp. 13–201.

V. Amendola, R. Pilot, M. Frasconi, O. M. Maragò, and M. A. Iatì, “Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review,” *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 29, no. 20, p. 203002, Apr. 2017, doi: 10.1088/1361-648X/aa60f3.

J. J. Mock, M. Barbic, D. R. Smith, D. A. Schultz, and S. Schultz, “Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles,” *J. Chem. Phys.*, vol. 116, no. 15, pp. 6755–6759, Apr. 2002, doi: 10.1063/1.1462610.

X. Lu, M. Rycenga, S. E. Skrabalak, B. Wiley, and Y. Xia, “Chemical Synthesis of Novel Plasmonic Nanoparticles,” *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 60, no. 1, pp. 167–192, 2009, doi: 10.1146/annurev.physchem.040808.090434.

L. Liz-Marzán, “Nanometals,” *Mater. Today - MATER TODAY*, vol. 7, pp. 26–31, Feb. 2004, doi: 10.1016/S1369-7021(04)00080-X.

J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, and P. Mulvaney, “Gold nanorods: synthesis, characterization and applications,” *Coord. Chem. Rev.*, vol. 249, no. 17–18, pp. 1870–1901, 2005.

K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, “The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, no. 3, pp. 668–677, Jan. 2003, doi: 10.1021/jp026731y.

M. Chen, Y.-G. Feng, X. Wang, T.-C. Li, J.-Y. Zhang, and D.-J. Qian, "Silver Nanoparticles Capped by Oleylamine: Formation, Growth, and Self-Organization," *Langmuir*, vol. 23, no. 10, pp. 5296–5304, May 2007, doi: 10.1021/la700553d.

E. Filippo, A. Serra, and D. Manno, "Poly(vinyl alcohol) capped silver nanoparticles as localized surface plasmon resonance-based hydrogen peroxide sensor," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 138, no. 2, pp. 625–630, May 2009, doi: 10.1016/j.snb.2009.02.056.

Y. Sun and Y. Xia, "Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles," vol. 298, p. 5, 2002.

B. J. Wiley et al., "Synthesis and optical properties of silver nanobars and nanorice," *Nano Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 1032–1036, 2007.

R. Jin, Y. C. Cao, E. Hao, G. S. Métraux, G. C. Schatz, and C. A. Mirkin, "Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation," *Nature*, vol. 425, no. 6957, p. 487, 2003.

S. Link, C. Burda, B. Nikoobakht, and M. A. El-Sayed, "How long does it take to melt a gold nanorod?: A femtosecond pump–probe absorption spectroscopic study," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 315, no. 1–2, pp. 12–18, 1999.

S. K. Kang, S. Chah, C. Y. Yun, and J. Yi, "Aspect ratio controlled synthesis of gold nanorods," *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 20, no. 6, pp. 1145–1148, 2003.

M. Liu, M. Leng, C. Yu, X. Wang, and C. Wang, "Selective synthesis of hexagonal Ag nanoplates in a solution-phase chemical reduction process," *Nano Res.*, vol. 3, no. 12, pp. 843–851, Dec. 2010, doi: 10.1007/s12274-010-0055-z.

I. Pastoriza-Santos and L. M. Liz-Marzán, "Colloidal silver nanoplates. State of the art and future challenges," *J. Mater. Chem.*, vol. 18, no. 15, pp. 1724–1737, Apr. 2008, doi: 10.1039/B716538B.

J. Li, Y. Lin, and B. Zhao, "Spontaneous agglomeration of silver nanoparticles deposited on carbon film surface," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 4, no. 4, pp. 345–349, 2002.

Z. Li, A. Gu, and Q. Zhou, "Growth of spindle-shaped silver nanoparticles in SDS solutions," *Cryst. Res. Technol. J. Exp. Ind. Crystallogr.*, vol. 44, no. 8, pp. 841–844, 2009.

A. Graff, D. Wagner, H. Ditlbacher, and U. Kreibig, "Silver nanowires," *Eur. Phys. J. -At. Mol. Opt. Plasma Phys.*, vol. 34, no. 1–3, pp. 263–269, 2005.

S. Link, M. B. Mohamed, and M. A. El-Sayed, "Simulation of the optical absorption spectra of gold nanorods as a function of their aspect ratio and the effect of the medium dielectric constant," *J. Phys. Chem. B*, vol. 103, no. 16, pp. 3073–3077, 1999.

O. A. Yeshchenko, I. M. Dmitruk, A. A. Alexeenko, M. Yu. Losytsky, A. V. Kotko, and A. O. Pinchuk, "Size-dependent surface-plasmon-enhanced photoluminescence from silver nanoparticles embedded in silica," *Phys. Rev. B*, vol. 79, no. 23, p. 235438, Jun. 2009, doi: 10.1103/PhysRevB.79.235438.

E. Dulkeith et al., "Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles," *Phys. Rev. B*, vol. 70, no. 20, p. 205424, Nov. 2004, doi: 10.1103/PhysRevB.70.205424.

A. Mooradian, "Photoluminescence of Metals," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 22, no. 5, pp. 185–187, Feb. 1969, doi: 10.1103/PhysRevLett.22.185.

M. B. Mohamed, V. Volkov, S. Link, and M. A. El-Sayed, "The 'lightning' gold nanorods: fluorescence enhancement of over a million compared to the gold metal," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 317, no. 6, pp. 517–523, Feb. 2000, doi: 10.1016/S0009-2614(99)01414-1.

Z. Wu and R. Jin, "On the Ligand's Role in the Fluorescence of Gold Nanoclusters," *Nano Lett.*, vol. 10, no. 7, pp. 2568–2573, Jul. 2010, doi: 10.1021/nl101225f.

S. Wang et al., "A 200-fold quantum yield boost in the photoluminescence of silver-doped Ag(x)Au(25-x) nanoclusters: the 13th silver atom matters," *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 53, no. 9, pp. 2376–2380, Feb. 2014, doi: 10.1002/anie.201307480.

N. Goswami, Q. Yao, Z. Luo, J. Li, T. Chen, and J. Xie, "Luminescent Metal Nanoclusters with Aggregation-Induced Emission," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 7, no. 6, pp. 962–975, Mar. 2016, doi: 10.1021/acs.jpcclett.5b02765.

M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, and R. Whyman, "Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid–Liquid system," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 7, pp. 801–802, Jan. 1994, doi: 10.1039/C39940000801.

I. Vargas-Baca et al., "Linear and nonlinear optical responses of a dye anchored to gold nanoparticles dispersed in liquid and polymeric matrixes," *Can. J. Chem.*, vol. 80, no. 11, pp. 1625–1633, Nov. 2002, doi: 10.1139/v02-147.

N. Barié, M. Rapp, H. Sigrist, and H. J. Ache, "Covalent photolinker-mediated immobilization of an intermediate dextran layer to polymer-coated surfaces for biosensing applications," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 13, no. 7, pp. 855–860, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0956-5663(98)00052-9.

Z. Wang and L. Ma, "Gold nanoparticle probes," *Coord. Chem. Rev.*, vol. 253, no. 11–12, pp. 1607–1618, 2009.

B. Kalska-Szostko, M. Rogowska, A. Dubis, and K. Szymański, "Enzymes immobilization on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–gold nanoparticles," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, no. 7, pp. 2783–2787, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.apsusc.2011.10.132.

M.-A. Neouze and U. Schubert, "Surface modification and functionalization of metal and metal oxide nanoparticles by organic ligands," *Monatshefte Für Chem.-Chem. Mon.*, vol. 139, no. 3, pp. 183–195, 2008.

A. S. Gurav, T. T. Kodas, L.-M. Wang, E. I. Kauppinen, and J. Joutsensaari, "Generation of nanometer-size fullerene particles via vapor condensation," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 218, no. 4, pp. 304–308, Feb. 1994, doi: 10.1016/0009-2614(93)E1491-X.

F. E. Kruis, H. Fissan, and B. Rellinghaus, "Sintering and evaporation characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 69, pp. 329–334, 2000.

T. C. Pluym et al., "Solid silver particle production by spray pyrolysis," *J. Aerosol Sci.*, vol. 24, no. 3, pp. 383–392, 1993.

D. C. Tien et al., "Novel technique for preparing a nano-silver water suspension by the arc-discharge method," *Rev Adv Mater Sci*, vol. 18, pp. 750–756, 2008.

R. F. Elsupikhe, K. Shameli, M. B. Ahmad, N. A. Ibrahim, and N. Zainudin, "Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ-carrageenan," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 10, no. 1, p. 302, 2015.

K. Shameli, M. B. Ahmad, W. M. Z. W. Yunus, N. A. Ibrahim, Y. Gharayebi, and S. Sedaghat, "Synthesis of silver/montmorillonite nanocomposites using  $\gamma$ -irradiation," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, p. 1067, 2010.

K. Shameli et al., "Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, p. 875, 2010.

K. M. A. El-Nour, A. Eftaiha, A. Al-Warthan, and R. A. Ammar, "Synthesis and applications of silver nanoparticles," *Arab. J. Chem.*, vol. 3, no. 3, pp. 135–140, 2010.

M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, M. Kubokawa, and T. Tsuji, "Microwave-assisted synthesis of metallic nanostructures in solution," *Chem. Eur. J.*, vol. 11, no. 2, pp. 440–452, 2005.

S. I. Dolgaev, A. V. Simakin, V. V. Voronov, G. A. Shafeev, and F. Bozon-Verduraz, "Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 186, no. 1–4, pp. 546–551, 2002.

M. Tajdidzadeh et al., "Synthesis of silver nanoparticles dispersed in various aqueous media using laser ablation," *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014.

K. Kalimuthu, R. S. Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, and S. Gurunathan, "Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*," *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 65, no. 1, pp. 150–153, 2008.

N. Kannan, S. Selvaraj, and R. V. Murty, "Microbial production of silver nanoparticles," *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, vol. 5, no. 1, pp. 135–140, 2010.

I. Maliszewska, K. Szewczyk, and K. Waszak, "Biological synthesis of silver nanoparticles," in *Journal of Physics: Conference Series*, 2009, vol. 146, p. 012025.

A. Saxena, R. M. Tripathi, and R. P. Singh, "Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity," *Dig J Nanomater Bios*, vol. 5, no. 2, pp. 427–432, 2010.

H. Huang and X. Yang, "Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method," *Carbohydr. Res.*, vol. 339, no. 15, pp. 2627–2631, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.carres.2004.08.005.

J. Y. Song and B. S. Kim, "Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 32, no. 1, p. 79, 2009.

K. Kalishwaralal et al., "Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*," *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 77, no. 2, pp. 257–262, 2010.

G. Gnanajobitha, G. Annadurai, and C. Kannan, "Green synthesis of silver nanoparticle using *Elettaria cardamomom* and assesment of its antimicrobial activity," *Int J Pharma Sci ResIJPSR*, vol. 3, pp. 323–330, 2012.

K. Esumi, S. Sarashina, and T. Yoshimura, "Synthesis of gold nanoparticles from an organometallic compound in supercritical carbon dioxide," *Langmuir*, vol. 20, no. 13, pp. 5189–5191, 2004.

E. J. Fernandez, J. Garcia-Barrasa, A. Laguna, J. M. Lopez-de-Luzuriaga, M. Monge, and C. Torres, "The preparation of highly active antimicrobial silver nanoparticles by an organometallic approach," *Nanotechnology*, vol. 19, no. 18, p. 185602, 2008.

I.-K. Shim, Y. I. Lee, K. J. Lee, and J. Joung, "An organometallic route to highly monodispersed silver nanoparticles and their application to ink-jet printing," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 110, no. 2–3, pp. 316–321, 2008.

F. Kim, J. H. Song, and P. Yang, "Photochemical synthesis of gold nanorods," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no. 48, pp. 14316–14317, 2002.

B. Pietrobon and V. Kitaev, "Photochemical synthesis of monodisperse size-controlled silver decahedral nanoparticles and their remarkable optical properties," *Chem. Mater.*, vol. 20, no. 16, pp. 5186–5190, 2008.

L. Maretti, P. S. Billone, Y. Liu, and J. C. Scaiano, "Facile photochemical synthesis and characterization of highly fluorescent silver nanoparticles," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, no. 39, pp. 13972–13980, 2009.

H. Huang and Y. Yang, "Preparation of silver nanoparticles in inorganic clay suspensions," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 68, no. 14, pp. 2948–2953, Nov. 2008, doi: 10.1016/j.compscitech.2007.10.003.

S. F. Chen et al., "Large scale photochemical synthesis of M@ TiO<sub>2</sub> nanocomposites (M= Ag, Pd, Au, Pt) and their optical properties, CO oxidation performance, and antibacterial effect," *Nano Res.*, vol. 3, no. 4, pp. 244–255, 2010.

Yu, S.-S. Chang, C.-L. Lee, and C. R. C. Wang, "Gold Nanorods: Electrochemical Synthesis and Optical Properties," *J. Phys. Chem. B*, vol. 101, no. 34, pp. 6661–6664, Aug. 1997, doi: 10.1021/jp971656q.

J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold," *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 11, p. 55, 1951, doi: 10.1039/df9511100055.

C. Wu, B. P. Mosher, K. Lyons, and T. Zeng, "Reducing Ability and Mechanism for Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Silver Nanoparticles Synthesis," *J Nanosci Nanotechnol.* 2010 avr; 10 (4): 2342-7.Apr-2010.

G. Frens, "Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions," *Nat. Phys. Sci.*, vol. 241, no. 105, p. 20, 1973.

N. G. Khlebtsov, V. A. Bogatyrev, L. A. Dykman, and A. G. Melnikov, "Spectral Extinction of Colloidal Gold and Its Biospecific Conjugates," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 180, no. 2, pp. 436–445, Jun. 1996, doi: 10.1006/jcis.1996.0323.

W. Baschong, J. M. Lucocq, and J. Roth, "Thiocyanate gold?: small (273 nm) colloidal gold for affinity cytochemical labeling in electron microscopy," *Histochemistry*, vol. 83, no. 5, pp. 409–411, 1985, doi: 10.1007/BF00509201.

K. R. Brown, D. G. Walter, and M. J. Natan, "Seeding of colloidal Au nanoparticle solutions. 2. Improved control of particle size and shape," *Chem. Mater.*, vol. 12, no. 2, pp. 306–313, 2000.

D. Goia and E. Matijević, "Tailoring the particle size of monodispersed colloidal gold," *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 146, no. 1–3, pp. 139–152, 1999.

S. T. Gentry, S. J. Fredericks, and R. Krchnavek, "Controlled Particle Growth of Silver Sols through the Use of Hydroquinone as a Selective Reducing Agent," *Langmuir*, vol. 25, no. 5, pp. 2613–2621, Mar. 2009, doi: 10.1021/la803680h.

C. R. Martin, "Nanomaterials: a membrane-based synthetic approach," *Science*, vol. 266, no. 5193, pp. 1961–1966, 1994.

N. R. Jana, L. Gearheart, and C. J. Murphy, "Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 19, pp. 4065–4067, May 2001, doi: 10.1021/jp0107964.

B. Nikoobakht and M. A. El-Sayed, "Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method," *Chem. Mater.*, vol. 15, no. 10, pp. 1957–1962, 2003.

A. V. Alekseeva et al., "Preparation and optical scattering characterization of gold nanorods and their application to a dot-immunogold assay," *Appl. Opt.*, vol. 44, no. 29, pp. 6285–6295, 2005.

V. Sharma, K. Park, and M. Srinivasarao, "Shape separation of gold nanorods using centrifugation," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 106, no. 13, pp. 4981–4985, 2009.

B. P. Khanal and E. R. Zubarev, "Purification of high aspect ratio gold nanorods: complete removal of platelets," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 38, pp. 12634–12635, 2008.

C. J. Murphy et al., *Anisotropic metal nanoparticles: synthesis, assembly, and optical applications*. ACS Publications, 2005.

A. V. Alekseeva, V. A. Bogatyrev, B. N. Khlebtsov, A. G. Mel'nikov, L. A. Dykman, and N. G. Khlebtsov, "Gold nanorods: synthesis and optical properties," *Colloid J.*, vol. 68, no. 6, pp. 661–678, 2006.

B. Pietrobon, M. McEachran, and V. Kitaev, "Synthesis of size-controlled faceted pentagonal silver nanorods with tunable plasmonic properties and self-assembly of these nanorods," *ACS Nano*, vol. 3, no. 1, pp. 21–26, 2008.

M. Liu and P. Guyot-Sionnest, "Synthesis and optical characterization of Au/Ag core/shell nanorods," *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 19, pp. 5882–5888, 2004.

C. S. Ah, S. D. Hong, and D.-J. Jang, "Preparation of Au@Ag shell nanorods and characterization of their surface plasmon resonances," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 33, pp. 7871–7873, 2001.

J. Becker, I. Zins, A. Jakob, Y. Khalavka, O. Schubert, and C. Sönnichsen, "Plasmonic focusing reduces ensemble linewidth of silver-coated gold nanorods," *Nano Lett.*, vol. 8, no. 6, pp. 1719–1723, 2008.

S. J. Oldenburg, R. D. Averitt, S. L. Westcott, and N. J. Halas, "Nanoengineering of optical resonances," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 288, no. 2–4, pp. 243–247, 1998.

B. E. Brinson, J. B. Lassiter, C. S. Levin, R. Bardhan, N. Mirin, and N. J. Halas, "Nanoshells made easy: improving Au layer growth on nanoparticle surfaces," *Langmuir*, vol. 24, no. 24, pp. 14166–14171, 2008.

N. Phonthammachai et al., "Synthesis of Contiguous Silica- Gold Core- Shell Structures: Critical Parameters and Processes," *Langmuir*, vol. 24, no. 9, pp. 5109–5112, 2008.

W. Shi, Y. Sahoo, M. T. Swihart, and P. N. Prasad, "Gold nanoshells on polystyrene cores for control of surface plasmon resonance," *Langmuir*, vol. 21, no. 4, pp. 1610–1617, 2005.

J.-H. Kim, W. W. Bryan, and T. Randall Lee, "Preparation, characterization, and optical properties of gold, silver, and gold- silver alloy nanoshells having silica cores," *Langmuir*, vol. 24, no. 19, pp. 11147–11152, 2008.

J. Ye, P. Van Dorpe, W. Van Roy, G. Borghs, and G. Maes, "Fabrication, characterization, and optical properties of gold nanobowl submonolayer structures," *Langmuir*, vol. 25, no. 3, pp. 1822–1827, 2009.

Y. Sun and Y. Xia, "Alloying and dealloying processes involved in the preparation of metal nanoshells through a galvanic replacement reaction," *Nano Lett.*, vol. 3, no. 11, pp. 1569–1572, 2003.

P.-Y. Silvert, R. Herrera-Urbina, N. Duvauchelle, V. Vijaykrishnan, and K. T. Elhsissen, "Preparation of colloidal silver dispersions by the polyol process. Part 1-Synthesis and characterization," *J. Mater. Chem.*, vol. 6, no. 4, pp. 573–577, 1996.

J. Chen, J. M. McLellan, A. Siekkinen, Y. Xiong, Z.-Y. Li, and Y. Xia, "Facile synthesis of gold- silver nanocages with controllable pores on the surface," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no. 46, pp. 14776–14777, 2006.

M. Liu and P. Guyot-Sionnest, "Mechanism of silver (I)-assisted growth of gold nanorods and bipyramids," *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 47, pp. 22192–22200, 2005.

C. Li, K. L. Shuford, M. Chen, E. J. Lee, and S. O. Cho, "A facile polyol route to uniform gold octahedra with tailorable size and their optical properties," *ACS Nano*, vol. 2, no. 9, pp. 1760–1769, 2008.

P. Bharadwaj and L. Novotny, "Plasmon-enhanced photoemission from a single Y3N@C80 fullerene," *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, no. 16, pp. 7444–7447, 2010.

X. Huang, I. H. El-Sayed, W. Qian, and M. A. El-Sayed, "Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no. 6, pp. 2115–2120, 2006.

S. Kawata, Y. Inouye, and P. Verma, "Plasmonics for near-field nano-imaging and superlensing," *Nat. Photonics*, vol. 3, no. 7, p. 388, 2009.

X. Zhu and T. Gao, "Chapter 10 - Spectrometry," in *Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications*, G. Li, Ed. Elsevier, 2019, pp. 237–264.

P. Debbage and W. Jaschke, "Molecular imaging with nanoparticles: giant roles for dwarf actors," *Histochem. Cell Biol.*, vol. 130, no. 5, pp. 845–875, Nov. 2008, doi: 10.1007/s00418-008-0511-y.

B. Khlebtsov, V. Zharov, A. Melnikov, V. Tuchin, and N. Khlebtsov, "Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters," *Nanotechnology*, vol. 17, no. 20, pp. 5167–5179, Oct. 2006, doi: 10.1088/0957-4484/17/20/022.

N. S. Abadeer and C. J. Murphy, "Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles," *J. Phys. Chem. C*, vol. 120, no. 9, pp. 4691–4716, Mar. 2016, doi: 10.1021/acs.jpcc.5b11232.

A. O. Govorov and H. H. Richardson, "Metal nanoparticles may induce phase transformations when they are in thermal contact with a polymer or a solid matrix, such as ice. This suggests new possibilities for measuring heat release at the nanoscale," 2007.

M. Hu et al., "Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 35, no. 11, pp. 1084–1094, Oct. 2006, doi: 10.1039/B517615H.

P. Vijayaraghavan, C.-H. Liu, R. Vankayala, C.-S. Chiang, and K. C. Hwang, "Designing multi-branched gold nanoechinus for NIR light activated dual modal photodynamic and photothermal therapy in the second biological window," *Adv. Mater. Deerfield Beach Fla*, vol. 26, no. 39, pp. 6689–6695, Oct. 2014, doi: 10.1002/adma.201400703.

J. A. Barreto, W. O'Malley, M. Kubeil, B. Graham, H. Stephan, and L. Spiccia, "Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy," *Adv. Mater.*, vol. 23, no. 12, pp. H18–H40, 2011.

M. Auffan, J. Rose, M. R. Wiesner, and J.-Y. Bottero, "Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro," *Environ. Pollut.*, vol. 157, no. 4, pp. 1127–1133, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.envpol.2008.10.002.

I. V. Anambiga, V. Suganthan, and N. A. N. Raj, "Antimicrobial And Antifungal Activity On Glutathione Stabilized Silver Nanoparticles – An In-Vitro Study," vol. 5, no. 3, p. 8, 2014.

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. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 1343–1348, 2008.

F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, and M. A. Esmaeili, "Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*," *Res. Microbiol.*, vol. 162, no. 5, pp. 542–549, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.resmic.2011.04.009.

S. Pal, T. Yu Kyung, and J. Song, "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, pp. 1712–20, Apr. 2007, doi: 10.1128/AEM.02218-06.

L. Zhang et al., "Ambient Light Reduction Strategy to Synthesize Silver Nanoparticles and Silver-Coated TiO<sub>2</sub> with Enhanced Photocatalytic and Bactericidal Activities," *Langmuir*, vol. 19, no. 24, pp. 10372–10380, Nov. 2003, doi: 10.1021/la035330m.

J. F. Hernández-Sierra et al., “The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 4, no. 3, pp. 237–240, 2008.

J. R. Morones et al., “The bactericidal effect of silver nanoparticles,” *Nanotechnology*, vol. 16, no. 10, p. 2346, 2005.

S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, and D. Dash, “Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles,” *Nanotechnology*, vol. 18, no. 22, p. 225103, Jun. 2007, doi: 10.1088/0957-4484/18/22/225103.

M. Raffi, F. Hussain, T. M. Bhatti, J. I. Akhter, A. Hameed, and M. M. Hasan, “Antibacterial characterization of silver nanoparticles against E. coli ATCC-15224,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 24, no. 2, pp. 192–196, 2008.

J. L. Elechiguerra et al., “Interaction of silver nanoparticles with HIV-1,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 3, no. 1, p. 6, Jun. 2005, doi: 10.1186/1477-3155-3-6.

N. V. Ayala-Núñez, H. H. L. Villegas, L. C. I. Turrent, and C. R. Padilla, “Silver Nanoparticles Toxicity and Bactericidal Effect Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Nanoscale Does Matter,” *NanoBiotechnology*, vol. 5, no. 1–4, pp. 2–9.

JS Kim “Antimicrobial effects of silver nanoparticles,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 95–101, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.nano.2006.12.001.

S. H. Kim, H. S. Lee, D. S. Ryu, S. J. Choi, and D. S. Lee, “Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli,” *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, 2011.

O. Scherzer, “The Theoretical Resolution Limit of the Electron Microscope,” *J. Appl. Phys.*, vol. 20, no. 1, pp. 20–29, Jan. 1949.

J. C. Bravman and R. Sinclair, “The preparation of cross-section specimens for transmission electron microscopy,” *J. Electron Microsc. Tech.*, vol. 1, no. 1, pp. 53–61, 1984.

J. E. Bonevich and W. K. Haller, “Measuring the size of nanoparticles using transmission electron microscopy (TEM),” 2010.

S. Bhattacharjee, “DLS and zeta potential—what they are and what they are not?,” *J. Controlled Release*, vol. 235, pp. 337–351, 2016.

A. Meller, R. Bar-Ziv, T. Tlusty, E. Moses, J. Stavans, and S. A. Safran, “Localized dynamic light scattering: a new approach to dynamic measurements in optical microscopy,” *Biophys. J.*, vol. 74, no. 3, pp. 1541–1548, 1998.

B. Kowalczyk, I. Lagzi, and B. A. Grzybowski, “Nanoseparations: Strategies for size and/or shape-selective purification of nanoparticles,” *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 16, no. 2, pp. 135–148, 2011.

J. S. Taurozzi, V. A. Hackley, and M. R. Wiesner, “A standardised approach for the dispersion of titanium dioxide nanoparticles in biological media,” *Nanotoxicology*, vol. 7, no. 4, pp. 389–401, 2013.

F. V. K. S. V. Elien, “Use of filtration techniques to study environmental fate,” *Anal Chem*, vol. 30, pp. 528–540, 2016.

D. Klemm, H.-P. Schmauder, and T. Heinze, “Cellulose,” *Biopolym. Online Biol. Chem. Biotechnol. Appl.*, vol. 6, 2005.

A. Akthakul, A. I. Hochbaum, F. Stellacci, and A. M. Mayes, “Size fractionation of metal nanoparticles by membrane filtration,” *Adv. Mater.*, vol. 17, no. 5, pp. 532–535, 2005.

V. A. Hackley and J. D. Clogston, “Measuring the hydrodynamic size of nanoparticles in aqueous media using batch-mode dynamic light scattering,” in *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery*, Springer, 2011, pp. 35–52.

T. G. Souza, V. S. Ciminelli, and N. D. S. Mohallem, “A comparison of TEM and DLS methods to characterize size distribution of ceramic nanoparticles,” in *Journal of Physics: Conference Series*, 2016, vol. 733, p. 012039.

X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, “Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy,” *Nanomed.*, vol. 2, no. 5, pp. 681–693, 2007.

A. B. Leung, K. I. Suh, and R. R. Ansari, “Particle-size and velocity measurements in flowing conditions using dynamic light scattering,” *Appl. Opt.*, vol. 45, no. 10, pp. 2186–2190, 2006.

E. Tomaszewska *et al.*, “Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids,” *J. Nanomater.*, vol. 2013, p. 60, 2013.

M. Sastry, V. Patil, and S. R. Sainkar, “Electrostatically Controlled Diffusion of Carboxylic Acid Derivatized Silver Colloidal Particles in Thermally Evaporated Fatty Amine Films,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 102, no. 8, pp. 1404–1410, Feb. 1998.

K. M. Koczur, S. Mourdikoudis, L. Polavarapu, and S. E. Skrabalak, “Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis,” *Dalton Trans.*, 2015, 44, 17883–17905.

C. Wu, B. P. Mosher, K. Lyons, and T. Zeng, “Reducing Ability and Mechanism for Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Silver Nanoparticles Synthesis,” Apr-2010. [Online]. Available: <https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jnn/2010/00000010/00000004/art00010>. [Accessed: 21-Oct-2019].

U. Kreibig and M. Vollmer, “Theoretical Considerations,” in *Optical Properties of Metal Clusters*, U. Kreibig and M. Vollmer, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995, pp. 13–201.

K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, “The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, no. 3, pp. 668–677, Jan. 2003.

J. Kim, “Reduction of Silver Nitrate in Ethanol by Poly ( N-vinylpyrrolidone ),” 2007.

M. Ismail and R. Jabra, “Investigation the parameters affecting on the synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and printing a conductive pattern,” *J Mater Env. Sci*, vol. 8, no. 11, pp. 4152–4159, 2017.

O. A. Yeshchenko, I. M. Dmitruk, A. A. Alexeenko, A. V. Kotko, J. Verdal, and A. O. Pinchuk, “Size and temperature effects on the surface plasmon resonance in silver nanoparticles,” *Plasmonics*, vol. 7, no. 4, pp. 685–694, 2012.

H. Jiang, K. Moon, Z. Zhang, S. Pothukuchi, and C. P. Wong, "Variable frequency microwave synthesis of silver nanoparticles," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 117–124, 2006.

G.-J. Lee, S.-I. Shin, Y.-C. Kim, and S.-G. Oh, "Preparation of silver nanorods through the control of temperature and pH of reaction medium," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 84, no. 2–3, pp. 197–204, 2004.

V. Amendola, O. M. Bakr, and F. Stellacci, "A Study of the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles by the Discrete Dipole Approximation Method: Effect of Shape, Size, Structure, and Assembly," *Plasmonics*, vol. 5, no. 1, pp. 85–97, Mar. 2010.

W. L. Drew, A. L. Barry, R. O'Toole, and J. C. Sherris, "Reliability of the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method for Detecting Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*," *Appl. Microbiol.*, vol. 24, no. 2, pp. 240–247, Aug. 1972.

J. S. Kim et al., "Antimicrobial effects of silver nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 95–101, 2007.

M. Guzman, J. Dille, and S. Godet, "Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 8, no. 1, pp. 37–45, 2012.

S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, and D. Dash, "Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 18, no. 22, p. 225103, Jun. 2007.

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. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 1343–1348, 2008.

F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, and M. A. Esmaili, "Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*," *Res. Microbiol.*, vol. 162, no. 5, pp. 542–549, 2011.

S. Pal, T. Yu Kyung, and J. Song, "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, pp. 1712–20, Apr. 2007.

M. P. Weinstein and Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2019.

M. A. Dar, A. Ingle, and M. Rai, "Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 105–110, 2013.

A. R. Shahverdi, A. Fakhimi, H. R. Shahverdi, and S. Minaian, "Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, no. 2, pp. 168–171, 2007.

A. M. Fayaz, K. Balaji, M. Girilal, R. Yadav, P. T. Kalaichelvan, and R. Venketesan, "Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 103–109, 2010.

G. Franci et al., "Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents," *Molecules*, vol. 20, no. 5, pp. 8856–8874, May 2015.

A. Abbaszadegan et al., "The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study," *J. Nanomater.*, vol. 2015, p. 8, Sep. 2014.

T. C. Dakal, A. Kumar, R. S. Majumdar, and V. Yadav, "Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles," *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. 1831, 2016.

Y. Qing et al., "Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 3311–3327, Jun. 2018.