

The image is a composite background. The top half features two petri dishes. The left dish has a green agar medium with numerous dark, circular bacterial colonies of varying sizes. The right dish has a blue agar medium with several white, fuzzy bacterial colonies. A gloved hand is visible on the right, holding the edge of the blue dish. The bottom half of the image is split: the left side is a solid green rectangle, and the right side shows a close-up of a white, textured fabric material.

MicroEcoTex

LES RÉSULTATS DU PROJET

Partenaires

Coordinateur : Centexbel – www.centexbel.be

Partenaire : ULiège - Department of Chemical Engineering – <https://www.chemeng.uliege.be>

Appel

Win4Collective – Région Wallonne

01/01/2023-31/12/2024



Contexte

Il existe une demande croissante de textiles et revêtements fonctionnalisés possédant des propriétés antimicrobiennes pour des raisons de santé, d'hygiène, d'odeur, de durée de vie. Des solutions antimicrobiennes existent mais celles-ci posent des problèmes de toxicité pour l'homme (cancer, perturbateur endocrinien) et l'environnement (accumulation dans l'environnement, toxique pour la faune et flore).

Depuis plusieurs années, de plus en plus de consommateurs sont conscientisés à ces problèmes et sont en faveur d'une diminution de l'utilisation de produits nocifs afin de diminuer l'impact humain sur l'environnement. Cette conscience environnementale croissante oblige les producteurs, les distributeurs et les utilisateurs de produits chimiques à opérer une transition vers des matériaux biosourcés non toxiques. Malheureusement, les alternatives actuelles pour lutter contre les microorganismes de manière éco-responsable sont encore insuffisantes. Ainsi, une nouvelle approche répondant à ces besoins est essentielle pour prévenir les dommages causés par la contamination par des microorganismes tout en respectant l'environnement. Le projet MicroEcoTex s'inscrit dans cette optique en proposant une solution antimicrobienne efficace à partir de matériaux écoresponsables.

Objectif

Le projet MicroEcoTex vise la production de textiles et de revêtements antimicrobiens pour des applications médicales (traitement de brûlures et des plaies) et agro-alimentaires (conservation des aliments et/ou des emballages). La technologie se base sur l'encapsulation d'un agent antimicrobien dans le matériau. Une fois en place, cet agent est relargué et permet d'éliminer les bactéries et virus en contact avec le matériau.

Les textiles et revêtements sont développés à partir d'un composite silice-polymère qui contient un agent actif. Ce dernier est relargué de manière contrôlée et durable sur plusieurs jours/semaines. Les matériaux ont été sélectionnés pour leur acceptation dans le domaine médical et agro-alimentaire, leur innocuité, leur biodégradabilité et leur control sur le relargage de molécule.

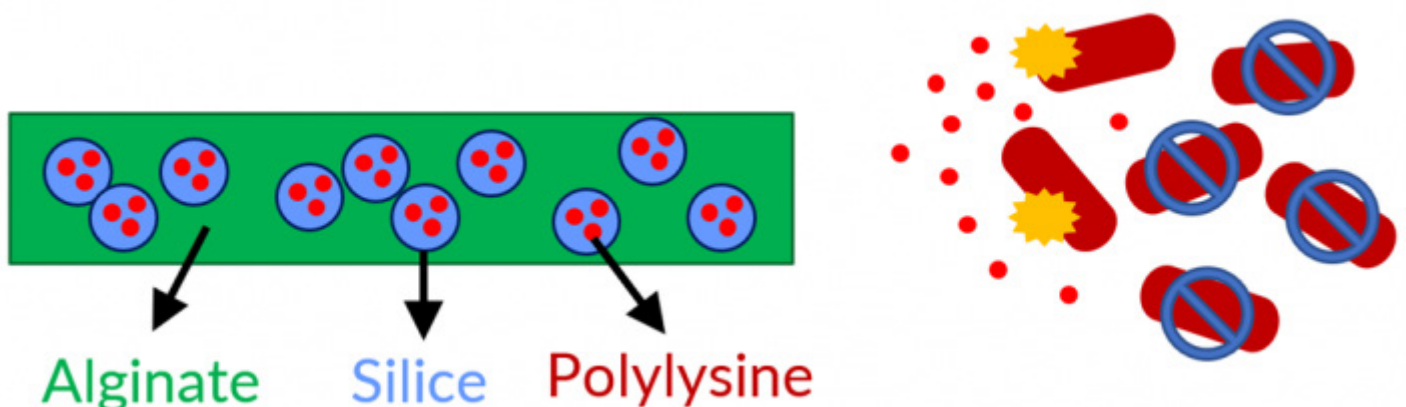


Figure 1 Principe du projet MicroEcoTex

Les résultats

Les polymères sélectionnés sont l'alginate (ALG), la polycaprolactone (PCL), le polylactide (PLA). Les agents actifs sont la polylysine (PLL) et la polymyxin B (PMB).

1. SILICE

Des colorants naturels ont été extraits à partir de fractions non valorisées (i.e. extraits de rhubarbe obtenu comme co-produits dans l'industrie agro-alimentaire, jus de grenades déclassés. Le procédé d'extraction a été transposé sur les jus de chez Granaline avec succès (Figure 2). Des pigments issus de fractions indésirable co-produite en cours de production compléments alimentaires de chez Ortis ont ainsi pu être valorisés.

Des particules de silice présentant différentes propriétés texturales (porosité et surface spécifique) et des groupes fonctionnels distincts ont été testées afin d'évaluer leur capacité d'adsorption en présence de PLL ou de PMB. L'influence des principaux précurseurs de la silice et l'effet des agents de nucléation ont été étudiés via deux méthodes différentes de synthèse :

- les échantillons de silice ont été synthétisés en utilisant le procédé sol-gel. Différents précurseurs de silice constitués d'alcoxydes de silicium dotés de groupements méthoxy, éthoxy ou propoxy et d'organosilanes ont contribué à contrôler la chimie de surface et les propriétés texturales. Les précurseurs de silice utilisés sont le tétraméthylorthosilicate (TMOS), le tétraéthylorthosilicate (TEOS) et le tétrapropylorthosilicate (TPOS). Les organosilanes utilisés pour la synthèse comme agents de nucléation sont le 3-(2-aminoéthylamino)propyltriméthoxysilane (EDAS) et le 3-(2-aminoéthylamino)propyltriéthoxysilane (EDAES), et le phényltriméthoxysilane (PTMS), un silane contenant un groupement phényle. EDAS et EDAES ont une charge positive et sont hydrophiles tandis que PTMS a une charge neutre et est hydrophobe ;
- des échantillons de silice mésoporeuse ont été synthétisés par co-précipitation en présence d'un tensioactif non ionique (TX100). Dans cette partie, les propriétés texturales et chimiques de la silice ont été ajustées en utilisant une solution très concentrée de HCl et un tensioactif non ionique (TX100). Le précurseur de silice est une solution de silicate de sodium dont le ratio $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O} = 3,3$. Lors de ces synthèses, on a travaillé avec un réactif en excès, soit HCl, soit $\text{Na}_2\text{O}(\text{SiO}_2)_x \cdot x\text{H}_2\text{O}$, pour avoir un meilleur rendement. Ainsi deux méthodes de synthèse ont été utilisées :

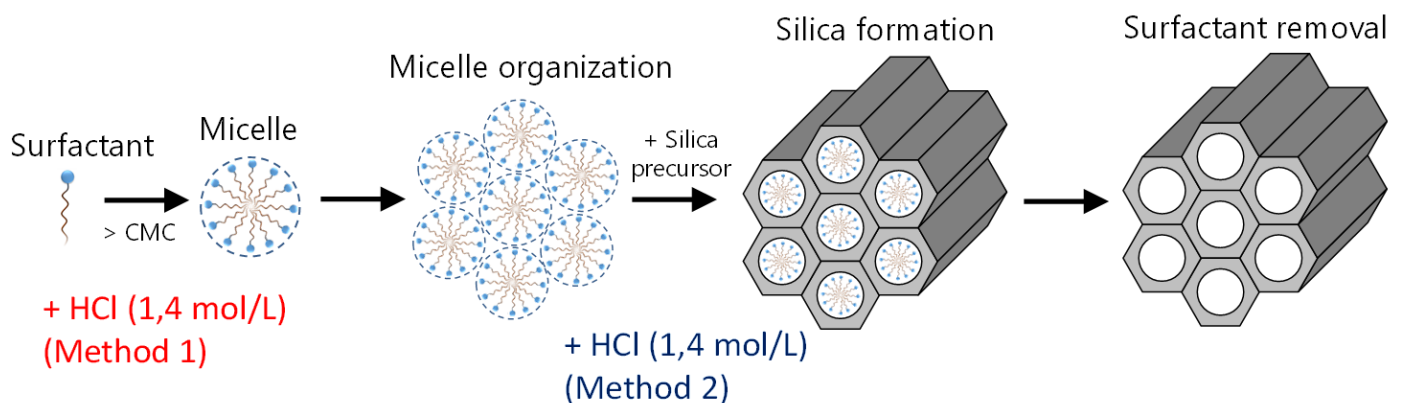


Figure 2 – Synthèse de silice mésoporeuse utilisant un surfactant non-ionique (TX100)

2. ENCAPSULATION DE PLL OU PMB DANS LES ÉCHANTILLONS DE SILICE

La procédure suivie pour encapsuler l'antimicrobien à l'intérieur du gel de silice est appelée méthode d'imprégnation. Tout d'abord, une solution de 1 mg/mL de PLL ou de PMB dans un solvant PBS pH 7,4 est préparée. Ensuite, 10 mg de chaque échantillon de silice ont été pesées dans des tubes Eppendorfs et réalisés en trois exemplaires. Des échantillons à blanc contenant uniquement la poudre de silice et le tampon PBS ont également été préparés en trois exemplaires. 1 ml de solution PLL ou PMB a été ajoutée à chacun des tubes Eppendorf. Tous les échantillons ont été agités à température ambiante pendant 72 h pour permettre l'imprégnation. L'agitation s'est déroulée sous agitation douce grâce à un agitateur rotatif. Ensuite, les échantillons ont été centrifugés à 400 tours/min pendant 5 min. Tout le surnageant a été collecté et congelé afin d'être quantifié ultérieurement. Les principaux résultats sont présentés dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Pourcentage PLL ou PMB encapsulé dans les échantillons de silice après 72 h

Sample	specific surface area (m ² /g)	point of zero charge	pH of media	Loading PLL (%) ± 5	Loading PMB (%) ± 1
TEOS-PTM5	795	6.8	7	>95	-
TEOS-EDAS	355	9.6	7	<1	40
TX100/1	350	6.5	7	90	50
TX100/2	70	6.5	7	50	90

Les groupes fonctionnels des différents organosilanes peuvent avoir une influence sur l'encapsulation de PLL ou de PMB dans la silice. Les groupes amines présents dans l'échantillon TEOS-EDAS donnent des résultats d'encapsulation moins bons pour la PLL par rapport au groupement phényle dans l'échantillon TEOS-PTMS. La PLL est chargée positivement ainsi que les groupements amines de EDAS, ainsi une répulsion de charge peut se produire entre la PLL et les groupements amines de la silice. Cela pourrait expliquer la faible quantité de PLL encapsulée dans les pores de la silice ou à sa surface par rapport aux autres échantillons. L'agent de nucléation PTMS contient un groupement phényle qui n'a pas de charge, on s'attend donc à un plus grand pourcentage d'encapsulation de PLL dans la silice (> 95%).

En plus de l'attraction/répulsion des charges de surface, les propriétés texturales pourraient également être prises en compte pour expliquer le pourcentage d'encapsulation faible ou élevé. En effet, la taille des pores, ainsi que leur volume et leur surface spécifique, jouent un rôle dans l'encapsulation. Plus les pores sont nombreux et plus la surface est grande, plus la quantité de PLL ou de PMB peut être encapsulée. Les analyses de propriétés texturales effectuées précédemment ont indiqué que les échantillons TEOS-PTMS et TEOS-EDAS étaient constitués de micro- et mésopores. Cependant, même si l'échantillon TEOS-EDAS présente une grande valeur de surface spécifique (355 m²/g), son taux d'encapsulation reste beaucoup plus faible, ce qui suggère que les charges de surface jouent un rôle important.

Par contre, dans les échantillons de silice synthétisés en présence du surfactant non ionique (TX100), l'encapsulation de la PLL dans l'échantillon TX100/1 présente un taux de rétention de la polylysine ≥ 90%. Ce résultat est d'ailleurs en accord avec la surface spécifique disponible par rapport à celle obtenues dans l'échantillon TX100/2.

Ainsi, il est important de signaler que la charge à la surface de la silice, la taille et la nature des pores ont une influence sur l'encapsulation de la PLL par cette dernière.

En ce qui concerne l'encapsulation de PMB, les échantillons de silice TEOS-EDAS, TX100/1 et TX100/2 donnent des résultats intéressants. Dans la 1^{ère} condition d'imprégnation, on enregistre un taux d'adsorption de la PMB de 90 % par la silice TX100/2 qui par contre possède la plus petite surface spécifique (70 m²/g), comparée aux autres échantillons. On peut supposer que la majorité des micropores (tailles < 2 nm) présents dans les échantillons TEOS-EDAS et TX100/1 n'encapsulent pas les molécules de PMB de plus grande taille.

3. RELARGAGE DE PLL OU PMB AU COURS DU TEMPS

Les pourcentages de PLL ou PMB désorbés au cours du temps sont présentés dans le Tableau 2 :

Tableau 2 : Pourcentages de relargage de PLL ou PMB au cours du temps

Sample	specific surface area (m ² /g)	Loading PLL (%) ± 5	Release PLL after 80 days (%) ± 5	Loading PMB (%) ± 1	Release PMB after 12 days (%) ± 1
TEOS-PTM5	795	>95	10	-	-
TEOS-EDAS	355	<1	-	40	60
TX100/1	350	90	10	50	75
TX100/2	70	50	35	90	100

Il apparaît clairement que, le taux de relargage de la PLL par les différentes silices au bout d'environ 3 mois reste faible (de 10% à 35%). Cela sous-entend que les molécules de PLL sont fortement adsorbées à la surface de la silice (chimisorbées) et donc qu'il est difficile de les désorber. Par contre, la quantité de PMB relarguée après seulement 12 jours, est très satisfaisante puisqu'elle varie de 60% à 100%. Ainsi, lorsque l'agent microbien ne présente pas de fortes interactions électrostatiques avec la silice et n'est adsorbé que dans les mésopores (pores de 2 à 50 nm), il semble que son relargage soit efficace.

4. MISE EN ŒUVRE PAR ÉLECTROSPINNING

Des membranes ont été mises en œuvre par électrospinning. L'électrospinning consiste à charger et à éjecter une solution de polymère sous une haute tension afin de former un filament. Ce filament est ensuite recueilli sur un collecteur, ce qui crée une membrane poreuse. L'électrospinning présente l'avantage d'être flexible, tant en ce qui concerne les matériaux utilisés que les paramètres du processus, permettant d'ajuster les propriétés des produits à des applications spécifiques. De plus, ce procédé existe déjà à l'échelle industrielle, ce qui permettra une mise à l'échelle rapide.

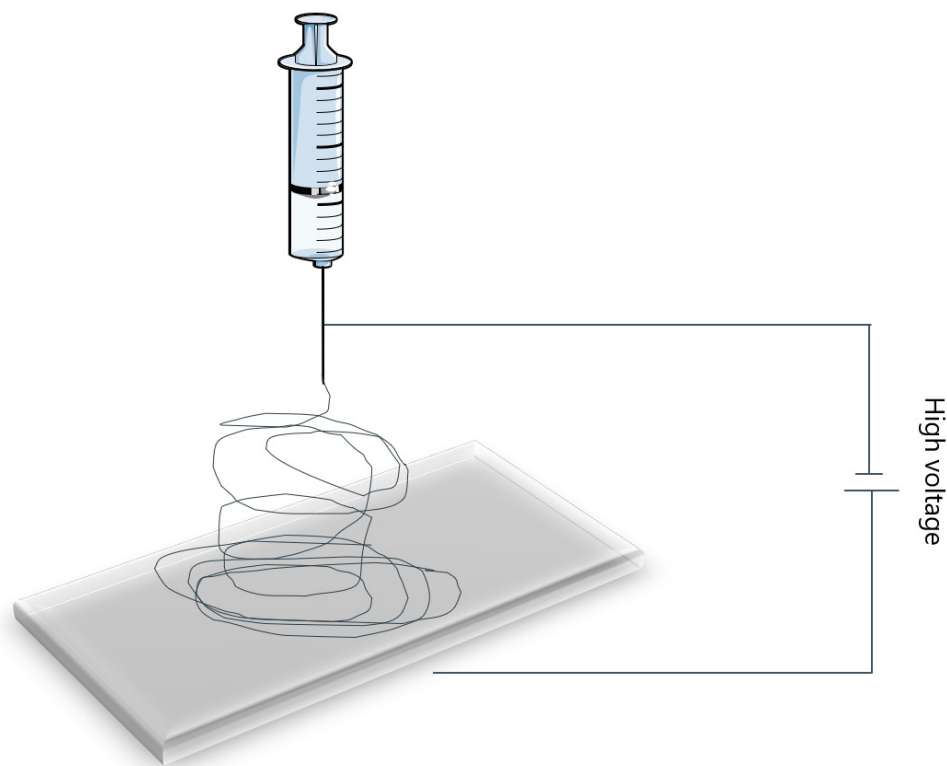


Figure 3 – Principe de l'électrospinning

Après optimisation des paramètres opératoires, des membranes en alginate, en PCL et en PLA, avec/ sans antimicrobien, avec/sans silice ont pu être produites. Même si macroscopiquement similaires, ces membranes présentent des propriétés différentes, notamment en termes de porosité, d'aspect microscopique (diamètre des filaments), de propriétés mécaniques et d'encapsulation/relargage des composés actifs.



Figure 4 – Aspect macroscopique des membranes

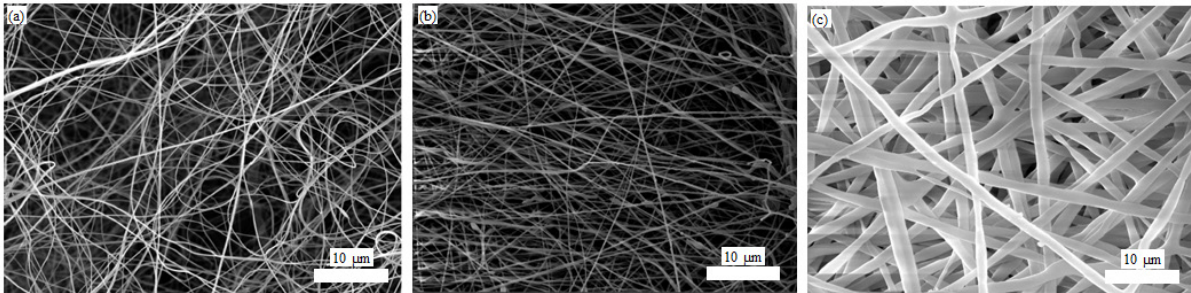


Figure 5 – Aspect microscopique des membranes : (a) Membrane en ALG (solvant = eau), (b) Membrane en PCL (solvants = solvants organiques), (c) Membrane en PCL (solvants = acides)

Les membranes en PCL ont montré les résultats les plus concluants. Celles-ci contenaient 92 % de vide avec des filaments de 200 nm à 1500 nm selon les conditions opératoires. 2% de PMB ont pu être ajoutés directement dans la solution d'électrospinning. Ces membranes présentent un relargage sur une durée de 3 jours et étaient efficaces contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas paraeruginosa* (absence de croissance bactérienne sous et autour de l'échantillon). Ces membranes sont également non-cytotoxiques (ISO 10993-5).

Les membranes produites se sont révélées être dans une gamme appropriée pour être utilisées comme pansement de plaie où l'on peut s'attendre à un mouvement (étude des propriétés mécaniques et de la conformabilité via ISO 13726).

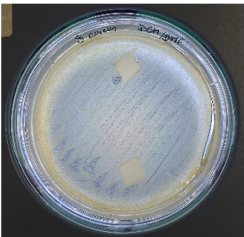
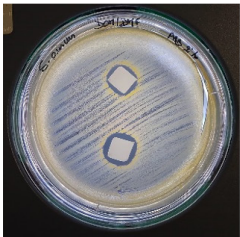
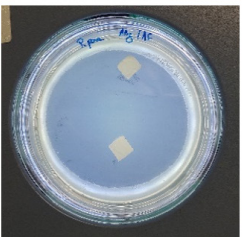
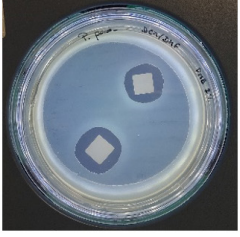
	0 % PMB	2 % PMB
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Pseudomonas paraeruginosa</i>		

Figure 6 – Evaluation de l'activité antimicrobienne via agar diffusion test (EN ISO 20645)

Des membranes en PCL ont également été produites avec ajout de silice contenant de la PMB dans la solution d'électrospinning. Jusqu'à 10 % de silice ont pu être ajoutés. Cette quantité est bien supérieure à la quantité de particules non soluble ajoutée habituellement (< 2 %). L'ajout de PMB dans la silice et non directement dans le polymère a grandement réduit la quantité de PMB relarguée. Cependant, les membranes contenant de la silice TMOS étaient efficaces contre *Escherichia coli* (absence de croissance bactérienne sous l'échantillon).

Les membranes en ALG ont également montré des résultats intéressants. En particulier, ces membranes ont présenté une durée de désintégration adaptable en fonction du procédé de fabrication et du milieu. Elles ont par exemple montré une durée de désintégration de 24 h dans de l'eau et de 14 jours dans un milieu simulant l'exsudat de blessure. Cette observation est importante puisqu'elle ouvre la porte à des textiles et revêtements pouvant facilement être éliminés après leur utilisation dans un milieu aqueux.

Conclusions

Le projet MicroEcoTex vise la production de textiles et de revêtements antimicrobiens via l'encapsulation et le relargage d'agents antimicrobiens dans un matériau. La conclusion principale de ce projet est la versatilité de la technologie. En effet, elle peut cibler un grand nombre de technologies via le choix des matériaux et leur mise en forme.

Nous avons notamment établi une bibliothèque de silice avec différentes propriétés physico-chimiques. Cette bibliothèque peut facilement être utilisée sur d'autres molécules actives afin de cibler des applications spécifiques (antimicrobien, drug delivery, molécules odorantes, pesticides, ...). Ces silices peuvent également être utilisées pour l'absorption de composés (polluants, molécules odorantes, ...).

Le polymère a également son importance puisqu'il va notamment influencer la durée d'utilisation (durée de relargage), le temps de biodégradabilité et la résistance mécanique. Le polymère doit être choisi en fonction de l'application pour répondre aux exigences spécifiques. Étant donné la versatilité de l'électrospinning, un grand nombre de polymères peuvent être utilisés. Au besoin, différentes technologies de mise en forme des plastiques pourraient être adaptées.

Comité de pilotage industriel



Contacts



RÉMI TILKIN

Centexbel
Rue du Travail 5
4460 Grâce-Hollogne
RT@centexbel.be



STÉPHANIE LAMBERT

ULiège - Department of Chemical Engineering
Quartier Agora
Allée du Cyclotron, Bâtiment B6h
4000 Liège
Stephanie.Lambert@uliege.be

