

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

**Synthèse des nanoparticules d'argent :
Evaluation de l'activité antimicrobienne et
incorporation dans un système
pharmaceutique**

Présenté par :
SAF Yasmina
BOUTALIA Lylia

Encadré par :
Pr. CHEMAT Zoubida
Mr. BOULAIOUNE Abderrahmane

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout au long de ce cycle universitaire, après de gros efforts et de la persévérance, à tous ceux qui nous ont accompagné, aidé, encouragé et encadré, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et remerciements.

Au bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons particulièrement à adresser nos remerciements à Professeur **CHEMAT Zoubida** notre promotrice, pour avoir dirigé ce travail et accepté de nous encadrer ainsi que pour ses conseils qui nous ont orienté dans cette démarche scientifique.

Nous tenons à remercier notre doctorant **BOULAIOUNE Abderrahmane** de nous avoir aidé durant tout le chemin de cette étude.

Nous remercions également les membres de jury d'avoir Accepté d'examiner notre travail, c'est un grand honneur pour nous d'être jugées par vous.

Nos remerciements s'adressent également à Dr Mahfoud et Dr Boutaleb du laboratoire central d'analyses du CHU de Blida.

Nos remerciements vont aussi à tous les membres du Laboratoire d'Analyse Fonctionnelle des Procédés Chimiques, en particulier à l'ingénieure Mme **MERIEM** et aussi Mme **LAMIA** du laboratoire des matériaux de nous avoir accueillies au sein de leurs laboratoires.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier **DIEU** de m'avoir donné la force et le courage pour mener à bien ce modeste travail.

À mes chers **parents** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, soutien et surtout leurs prières tout au long de ma vie scolaire et universitaire. Vous êtes le pilier solide et incontournable en mon parcours, que Dieu vous donne la santé et la longue vie.

À mes chères sœurs **ASMA, NESRINE** et **FARAH** qui m'ont aidé à surmonter les difficultés que j'ai rencontré au cours de ce travail. Vous m'avez énormément soutenu.

À mon chère frère **SADEK** pour ses encouragements et son soutien indéfectible.

Spéciale dédicace à mon cher **OUSSAMA** d'être toujours présent pour moi.

À ma chère binôme **LYLIA**, je te remercie pour le courage, le sourire, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.

À ma chère amie **KARIMA** et mes chers amis **RACHA, MERIEM, BILLAL, AYMEN, ABDE SSAMIE, BOB** et **SIFOU** et l'ensemble des étudiants de la promotion PHI, Vous m'avez tous aidé et encouragé, vous avez fait et ferez toujours partie de ma vie.

A ma famille.

A tous ceux que j'apprécie, du fond du cœur, je vous dédie ce travail.



YASMINA

Dédicace

إلى من أشعل لي أول شمعة، إلى عبق طفولتي، إلى دفء حياتي، وأريج شبابي، إلى ملجئي وملاذبي، إلى من تحمل كل لحظه ألم في حياتي وحولها إلى لحظات فرح، إلى من حماني من حر الصيف بورود من أزهار الربيع، إلى حبيبي وروح قلبي إلى أبي، وإلى من ساندتني يوم ضعفي، إلى حبيبتني التي شاركتني همي وحزني، إلى من ذرفت الدموع من أجلي، إلى من سقتني الحب في صغري حتى أرتوت منه عروق جسدي، إلى من ارتحلت لها روحي لتعانق روحها العذبة وتتصاغر أمام صفائها، إلى أمي.

Tout mon amour à ma sœur, je ne trouve pas les mots qui peuvent décrire tout ce qu'elle fait pour moi, pour ses soutiens et ses précieux conseils tout au long de mon parcours. Je te souhaite le meilleur car tu le mérites. De tout mon cœur, je t'aime.

A mes frères, **Rayan** et **Oussama** et mes sœurs **Rahef** et **Ryhan**.

A ma chère binôme **Yasmina**, la personne la plus proche qui m'a toujours soutenu et qui m'as toujours donné de la force pour avancer vers le meilleur.

A mes copines **Meriem**, **RACHA** et **MERIEM**, vous étiez toujours à mes côtés, je vous remercie pour l'indéfectible soutien et la patience sans cesse.

A mes chers amis **Siham**, **Chaima**, **Mahrez**, **Abde Ssamie**, **Sifo**, **Billal**, **Aymen** et **Bob** pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A l'ensemble des étudiants de la promotion 2020-2024 de Pharmacie Industrielle. Le parcours universitaire a été pour moi le plus marquant dans ma vie et cela restera gravé dans ma mémoire.

A toute ma famille ...



Lylia

Liste des abréviations

Ag	Argent
Ag⁺	Ion d'argent
UV	Ultra-violet
Vis	Visible
LED	Light Emitting Diode
ADN	Acide désoxyribonucléique
AgClO₄	Perchlorate d'argent
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée

Liste des figures

Figure I.1 : **a)** Résonance plasmonique de surface pour les nanoparticules d'argent à une longueur d'onde spécifique ; **b)** Image de microscopie en champ noir des nanoparticules d'argent

Figure I.2 : Approche mécanique des nanoparticules d'argent contre les bactéries

Figure II.1 : Synthèse des nanoparticules via les approches top-down et bottom-up

Figure II.2 : Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules

Figure III.1 : Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu : l'eau, en jaune : l'huile)

Figure IV.1 : Image d'un broyeur à bille

Figure V.1 : Mélange réactionnel (à gauche : avant broyage, à droite : après broyage)

Figure V.2 : Suivi de la cinétique de synthèse par UV-vis de l'essai AgNPs/PVP K30

Figure V.3 : Suivi de la cinétique de synthèse par UV-vis de l'essai AgNPs/PVP K90

Figure V.4 : Superposition des spectres FTIR des AgNPs/PVP K30 et du PVP K30 pur

Figure V.5 : Superposition des spectres FTIR des AgNPs/PVP K90 et du PVP K90 pur

Figure V.6 : Distribution de taille des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

Figure V.7 : Distribution de taille des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

Figure V.8 : Potentiel zêta de l'échantillon AgNPs/PVP K30

Figure V.9 : Potentiel zêta de l'échantillon AgNPs/PVP K90

Figure V.10 : Spectre DRX représentatif des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

Figure V.11 : Spectre DRX représentatif des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

Figure V.12 : Antibiogramme des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

Figure V.13 : Antibiogramme des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

Figure V.14 : Photo sous microscopique de la crème placebo grossissement x10

Figure V.15 : Traitement de la photo sous microscopique de la crème placebo grossissement x10 par le logiciel ImageJ

Figure V.16 : Courbe d'écoulement de la crème placebo

Figure V.17 : courbe d'écoulement de la crème après incorporation des AgNPs

Figure V.18 : Photographie de la crème après le test de centrifugation (à gauche : placebo, à droite : crème + AgNPs/PVP K30)

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Applications des nanoparticules d'argent dans différents secteurs

Tableau II.1 : Résultats de quelques articles travaillant sur la synthèse des nanoparticules d'argent par mécanochimie

Tableau IV.1 : Réactifs utilisés dans la synthèse des nanoparticules d'argent

Tableau IV.2 : Concentrations et codage des dilutions de la dispersion d'AgNPs/PVP K30

Tableau IV.3 : Concentrations et codage des dilutions de la dispersion d'AgNPs/PVP K90

Tableau IV.4 : Matières premières utilisées dans la formulation de la crème

Tableau IV.5 : Composition de la crème formulée

Tableau V.1 : Récapitulatif des diamètres d'inhibition de l'antibiogramme

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Les nanoparticules d'argent.....	
I.1. Les nanoparticules	3
I.2. Les nanoparticules d'argent.....	3
I.3. Propriétés des nanoparticules d'argent	4
I.3.1. Propriétés optiques	4
I.3.2. Structure cristalline.....	5
I.3.3. Propriétés catalytiques	5
I.4. Applications des nanoparticules d'argent	6
I.5. Mécanisme d'action des nanoparticules d'argent	7
Chapitre II : Synthèse des nanoparticules d'argent.....	
II.1. Méthodes de synthèse des nanoparticules	9
II.2. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent	10
II.2.1. Méthodes chimiques	10
II.2.2. Méthodes physiques	10
II.2.3. Méthodes biologiques (synthèse verte)	11
II.3. La mécanochimie	13
II.4. Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent	17
II.4.1. Spectroscopie UV-Visible.....	17
II.4.2. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	17
II.4.3. Diffraction des rayons X (DRX)	17
II.4.4. Diffusion dynamique de la lumière (DLS).....	18
II.4.5. Potentiel Zêta	18
Chapitre III : Les émulsions et les crèmes.....	
III.1. Définition d'une émulsion	19
III.2. Les différents types d'émulsions	19
III.3. L'interface	20
III.4. Les crèmes	21
III.4.1. Définition	21
III.4.2. Types de crèmes	21
III.4.3. Formulation des crèmes	21
III.4.4. Méthodes de formulation	22
III.4.5. Caractérisation des crèmes	23
Chapitre IV : Matériels et méthodes.....	
IV.1. Synthèse des nanoparticules d'argent.....	25
IV.1.1. Produits chimiques.....	25

IV.1.2. Méthode de synthèse.....	25
IV.1.3. Techniques de caractérisation.....	26
IV.2. Formulation de la crème.....	29
IV.2.1. Matières premières utilisées.....	29
IV.2.2. Procédé de formulation.....	30
IV.2.3. Caractérisation de la crème	31
Chapitre V : Résultats et discussions.....	
V.1. Synthèse des nanoparticules d'argent.....	33
V.1.1. Propriétés organoleptiques.....	33
V.1.2. Caractérisation par spectroscopie UV-vis	33
V.1.3. Caractérisation par FTIR.....	35
V.1.4. Caractérisation par la DLS.....	37
V.1.5. Caractérisation par le potentiel zêta.....	38
V.1.6. Caractérisation par la DRX.....	39
V.1.7. Activité antibactérienne.....	40
V.2. Caractérisation de la crème formulée.....	43
V.2.1. Vue sous microscope.....	43
V.2.2. Caractérisation rhéologique.....	44
V.2.3. Résistance à la centrifugation.....	45
Conclusion générale.....	47
Références bibliographiques.....	49

Résumé

Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressés d'une part à la synthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs) par une approche chimique impliquant un broyeur mécanique et d'une autre part à la formulation d'une crème contenant les nanoparticules d'argent synthétisées. Pour mener ces travaux, nous avons réalisé une étude basée sur la synthèse sèche des nanoparticules d'argent en utilisant le polyvinylpyrrolidone (PVP) comme agent réducteur et stabilisant. Afin d'optimiser la synthèse, nous avons étudié l'effet de l'utilisation de deux grades différents de PVP (K30 et K90). La formation des nanoparticules d'argent a été confirmée par un changement de couleur caractéristique, passant du blanc au jaune-brun. Dans le but de caractériser les nanoparticules synthétisées avec les deux grades de PVP, nous avons utilisé un panel de techniques telles que la spectroscopie UV-vis, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, la diffraction des rayons X, la diffusion dynamique de la lumière et potentiel zêta ainsi que l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Les résultats de ces différentes analyses ont mené à conclure que les AgNPs synthétisées avec le PVP de grade K30 (AgNPs/PVP K30) présentent de meilleures propriétés. Ces dernières ont été par la suite incorporées dans une formulation pharmaceutique. Le choix a été fixé sur une crème dermique. Pour cela, deux formulations ont été préparées, l'une placebo et une deuxième dans laquelle on a incorporé les AgNPs/PVP K30. Les formulations ont été soumises à quelques tests de qualité : vue sous microscope, examen rhéologique et un test de résistance à la centrifugation. Les résultats de ces derniers tests ont prouvé que les deux crèmes formulées sont d'une bonne qualité et que l'incorporation des dites nanoparticules n'altèrent en rien les propriétés de la formulation.

Mots clés : synthèse, nanoparticules d'argent, polyvinylpyrrolidone, mécano-chimie, crème

Abstract

In this study, we focused on the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) by a chemical approach involving a mechanical crusher and on the formulation of a cream containing the synthesized silver nanoparticles. To conduct this work, we performed a study based on the dry synthesis of silver nanoparticles using polyvinylpyrrolidone (PVP) as a reducing and stabilizing agent. In order to optimize the synthesis, we studied the effect of using two different grades of PVP (K30 and K90). The formation of silver nanoparticles was confirmed by a characteristic colour change from white to yellow-brown. In order to characterize the synthesized nanoparticles with the two grades of PVP, we used a panel of techniques such as UV-vis spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, dynamic light scattering and zeta potential as well as the evaluation of the antimicrobial activity. The results of these different analyses led to the conclusion that the AgNPs synthesized with the grade K30 of PVP (AgNPs/ PVP K30) have better properties. The latter were subsequently incorporated into a pharmaceutical formulation. The choice was fixed on a dermal cream. For this, two formulations were prepared, one placebo and a second in which AgNPs/PVP K30 were incorporated. The formulations were subjected to some quality tests: microscope view, rheological examination and centrifugation resistance test. The results of these last tests proved that the two formulated creams are of a good quality and that the incorporation of the so-called nanoparticles do not alter the properties of the formulation.

Keywords: synthesis, silver nanoparticles, polyvinylpyrrolidone, mechanochemistry, cream

ملخص

في هذه الدراسة، ركزنا على تخليق جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) من خلال نهج كيميائي يتضمن كسارة ميكانيكية وعلى تركيبة كريم يحتوي على جسيمات الفضة النانوية المصنعة. لإجراء هذا العمل، أجرينا دراسة تستند إلى التركيب الجاف لجسيمات الفضة النانوية باستخدام البولي فينيل بيروليديون (PVP) كعامل تقليل وتثبيت. من أجل تحسين التوليف، درسنا تأثير استخدام درجتين مختلفتين من PVP (K90 و K30). تم تأكيد تكوين الجسيمات النانوية الفضية من خلال تغيير اللون المميز من الأبيض إلى البني الأصفر. من أجل توصيف الجسيمات النانوية المصنعة بدرجتي PVP، استخدمنا مجموعة من التقنيات مثل التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية، والتحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء فوربييه، وحيود الأشعة السينية، والتشتت الديناميكي للضوء وإمكانات زيتا بالإضافة إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات. أدت نتائج هذه التحليلات المختلفة إلى استنتاج أن AgNPs المصنعة مع الدرجة K30 PVP لها خصائص أفضل. ثم أدمجت هذه الأخيرة في تركيبة صيدلانية. تم تثبيت الخيار على كريم جلدي. لهذا الغرض، تم إعداد تركيبتين، واحدة وهمية والثانية تم فيها دمج AgNPs/PVP K30. خضعت التركيبات لبعض اختبارات الجودة: رؤية المجهر والفحص الريولوجي واختبار مقاومة الطرد المركزي. أثبتت نتائج هذه الاختبارات الأخيرة أن الكريمين المكونين لهما جودة جيدة وأن دمج ما يسمى بالجسيمات النانوية لا يغير خصائص التركيبة.

الكلمات الرئيسية: التخليق، الجسيمات النانوية الفضية، البولي فينيل بيروليديون، الكيمياء الميكانيكية، الكريم

Introduction générale

Les nanoparticules représentent un domaine d'étude et d'innovation majeur avec un impact économique et thérapeutique considérable. Leur développement ouvre la voie à de nombreuses applications prometteuses dans des secteurs clés [1].

Dans le domaine pharmaceutique, les nanoparticules sont utilisées pour diverses applications. Leur petite taille et leur grande surface spécifique permettent une meilleure absorption, une bio-distribution améliorée et des effets thérapeutiques accrus. Parmi ces nanoparticules, nous citons les nanoparticules d'argent qui sont utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes. Elles peuvent être intégrées dans des formulations topiques pour traiter les infections cutanées.

Il existe différentes approches pour synthétiser des nanoparticules d'argent, parmi celles-ci, les méthodes en phase liquide sont fréquemment utilisées. Cependant, ces procédés présentent certaines limitations concernant le contrôle précis de la taille des nanoparticules produites ainsi que le maintien de leur stabilité dans le temps [2].

C'est pourquoi, dans notre étude, nous avons privilégié une méthode de synthèse par voie sèche. Cette approche alternative offre un meilleur contrôle sur les dimensions des nanoparticules d'argent obtenues et permet d'assurer leur stabilité de façon plus fiable comparé aux techniques en milieu liquide.

Notre travail est axé en deux parties principales :

Une étude bibliographique divisée en trois chapitres :

- Le premier chapitre décrit des généralités sur les nanoparticules et leurs origines en se basant principalement sur les nanoparticules d'argent, leurs propriétés, leurs applications et leur mécanisme d'action sur les bactéries.
- Le deuxième chapitre est consacré aux différentes méthodes de synthèse des nanoparticules, en se focalisant sur l'approche par mécano-chimie que nous avons retenu pour notre étude. Les techniques de caractérisation des nanoparticules synthétisées y sont également détaillées, à savoir la spectroscopie UV-visible, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la diffraction des rayons X (DRX), la diffusion dynamique de la lumière (DLS) et la mesure du potentiel zêta.
- Le troisième chapitre porte sur des généralités sur les crèmes et les émulsions. Il aborde les différentes méthodes permettant de formuler ces préparations et d'y incorporer les

nanoparticules d'argent synthétisées. Les techniques de caractérisation physicochimiques et de contrôle de ces formulations finales y sont également détaillées.

L'étude expérimentale est scindée en deux chapitres :

- Le premier chapitre détaille le matériel et les méthodes expérimentales utilisés. Nous avons adopté un protocole de synthèse permettant d'obtenir les nanoparticules d'argent visées. Le procédé de formulation de notre crème y est également décrit. Afin de garantir la qualité et l'efficacité de cette formulation, différentes caractérisations ont été réalisées. Nous avons mesuré le pH, effectué un examen organoleptique évalué sa résistance au crémage. L'étude rhéologique a également permis d'évaluer la viscosité et le comportement mécanique de la crème.
- Le second chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des différents résultats obtenus.

Le travail est clôturé par une conclusion générale synthétisant les principales observations et les perspectives futures envisageables pour donner suite et améliorer ce travail.

Chapitre I :

Les nanoparticules

d'argent

Ce chapitre vise à fournir une compréhension approfondie sur les nanoparticules d'argent, et leurs propriétés remarquables, Ensuite, nous aborderons les applications émergentes des nanoparticules d'argent dans divers domaines. Dans le secteur biomédical, nous explorerons leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens.

I.1. Les nanoparticules

Les nanoparticules (NPs) sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètre), les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets sont différentes de celles des matériaux classiques. Leur champ de développement est extrêmement vaste et inclut la recherche médicale [3, 4].

On distingue par exemple les nanoparticules organiques (constituées majoritairement de polymères), métalliques (ex : nanoparticules d'or ou d'argent), d'oxydes métalliques (ex : oxyde de fer, dioxyde de titane) ou encore des composites (ex : quantum dots CdSe-ZnS) [5].

Cette caractéristique dimensionnelle confère à ces matériaux des comportements particuliers et des propriétés très intéressantes. Les nanotubes de carbone par exemple, sont cent fois plus résistants que l'acier [6].

Le terme nanoparticules fait référence à différentes familles de particules telles que :

- Les oxydes de métaux (titane, cuivre, zinc, aluminium, silicium, etc.).
- Les nanotubes de carbone qui forment des fibres solides aux propriétés électriques particulières.
- Les fullerènes [C60, C70], utilisées pour améliorer les propriétés électriques et optiques des polymères ou pour des applications pharmaceutiques.
- Les nano poudres d'argent, dont les propriétés antibactériennes sont mises à profit notamment dans le textile [7].

I.2. Les nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent sont des molécules ayant une taille entre 1-100 nm. Elles sont, devant les nanotubes de carbone et les NPs de titane, les nanoparticules les plus vendues. La taille des AgNPs peut avoir un impact sur leurs propriétés et leurs applications. Ces variations de taille soulignent l'importance de comprendre et de contrôler les paramètres de synthèse pour adapter les nanoparticules d'argent à des utilisations

spécifiques dans divers domaines, y compris la biomédecine, les applications antimicrobiennes et l'assainissement de l'environnement [8].

Au cours de la dernière décennie, la propagation d'organismes pathogènes multi-résistants aux antibiotiques est devenue une des menaces les plus sérieuses qui empêche le traitement efficace des maladies infectieuses. Grâce aux progrès récents de la nanotechnologie, des AgNPs dotées d'excellentes propriétés antimicrobiennes ont été mises au point et pourraient constituer une option future pour éradiquer ce fléau. Certains résultats confirment l'activité bactéricide des AgNPs à partir d'une concentration minimale de 0.25mM et leur combinaison avec les antibiotiques rend ces derniers plus efficaces contre les bactéries, ce qui ouvre la voie vers une application médicale des AgNPs en thérapie anti-infectieuse [9].

I.3. Propriétés des nanoparticules d'argent

La transition de la taille en vrac à la taille nanométrique de l'argent peut induire des changements de stabilité thermique, entraînant diverses modifications structurales dans de petits amas, affectant les propriétés et les caractéristiques à l'état de nano-objet. Dans ce qui suit nous présenterons un aperçu sur l'effet de la taille des nanoparticules sur quelques une de leurs propriétés [10].

I.3.1. Propriétés optiques

Lorsque les nanoparticules métalliques sont réduites à l'échelle nanométrique, elles présentent une propriété unique d'absorber la lumière à des longueurs d'onde spécifiques. Cette absorption se produit grâce à un phénomène appelé résonance plasmonique de surface qui implique l'interaction entre le rayonnement électromagnétique et les électrons de la bande de conduction entourant les nanoparticules [11].

Il est possible d'effectuer des analyses quantitatives et qualitatives de la taille des particules, leur distribution, leur concentration ainsi que l'effet de leur forme comme conséquence des changements du spectre optique. Les nanoparticules d'or et d'argent montrent ces phénomènes de couleur avec une forte teinte, une saturation des couleurs et une transparence splendide.

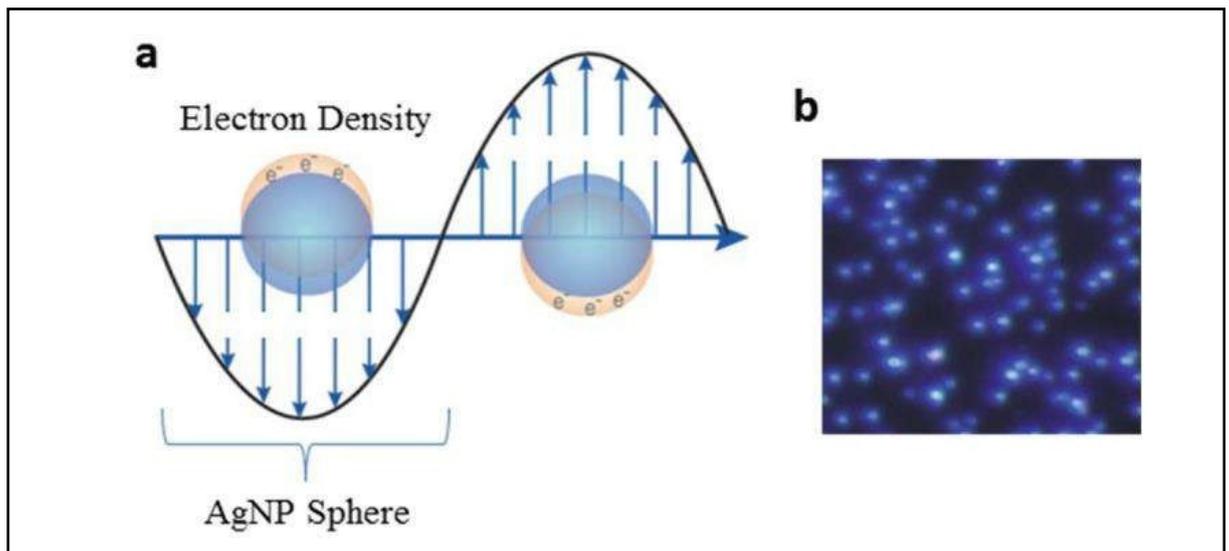


Figure I.1 : a) Résonance plasmonique de surface pour les nanoparticules d'argent à une longueur d'onde spécifique ; b) Image de microscopie en champ noir des nanoparticules d'argent [12]

I.3.2. Structure cristalline

La grande surface spécifique des nanoparticules est une propriété importante liée à la réactivité, la solubilité, la performance de frittage, etc. et est également liée au transfert de masse et de chaleur entre les particules et leur environnement. En outre, la structure cristalline des particules peut changer avec la taille des particules dans la gamme nanométrique dans de nombreux cas. Ceci est attribué à la force de compression exercée sur les particules en raison de la tension superficielle de la particule elle-même. La taille critique des particules de la structure cristalline et l'effet de la taille diffèrent avec les matériaux [13].

I.3.3. Propriétés catalytiques

Les nanoparticules d'argent présentent des propriétés catalytiques remarquables en raison de leurs caractéristiques uniques. A titre d'exemple, les nanostructures $\text{Ag}@\text{TiO}_2$ montrent une activité catalytique élevée dans la catalyse de la graphitisation du polyacrylonitrile par rapport à l'argent nu, attribuée à l'effet de résonance plasmonique de surface [14].

Les nanomatériaux contenant de l'argent synthétisés dans différentes conditions présentent des propriétés physicochimiques et des activités photocatalytiques variables, l' Ag_2CO_3 présentant une efficacité élevée dans la dégradation du p-nitrophénol [15]. Les catalyseurs fibrés avec des AgNPs présentent une excellente activité catalytique dans la réaction de réduction du 4-nitrophénol, avec une stabilité et une recyclabilité élevées [16].

I.4. Applications des nanoparticules d'argent

Ces dernières années, la production mondiale des nanotechnologies n'a cessé de croître de manière significative, plus précisément, la production des AgNPs.

Il y a eu diverses estimations de la production mondiale des nanoparticules d'argent. Plusieurs études ont montré que les AgNPs ont une plus grande valeur marketing que les autres nanoparticules et que leur présence dans les produits de consommation est largement annoncée [17].

Le tableau I.1 montre les applications des AgNPs dans des divers domaines.

Tableau I.1 : Applications des nanoparticules d'argent dans différents secteurs [18]

Domaine	Application des AgNPs
Biomédical	<ul style="list-style-type: none">▪ Réalisations antibactériennes▪ Réalisations antifongiques▪ Réalisations antivirales▪ Réalisations anti-inflammatoires▪ Activité anti-angiogénique▪ Exploits anticancéreux
Textile	<ul style="list-style-type: none">▪ Textile bloquant les rayons UV▪ Textiles et dispositifs médicaux
Industries alimentaires	<ul style="list-style-type: none">▪ Nanotechnologie et emballage alimentaire▪ Transformation alimentaire
Traitement environnemental	<ul style="list-style-type: none">▪ Désinfection de l'air▪ Désinfection de l'eau<ul style="list-style-type: none">✓ Désinfection de l'eau potable✓ Désinfection des eaux souterraines et des eaux usées
Pharmacologie	<ul style="list-style-type: none">▪ Activité antimicrobienne▪ Activité larvicide▪ Propriétés de cicatrisation des plaies
L'optique	Utilisation dans : <ul style="list-style-type: none">▪ Les cellules solaires▪ L'imagerie médicale

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les limiteurs optiques ▪ Les dispositifs plasmoniques
La conductivité	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les écrans LCD ▪ LED haute intensité ▪ Ecrans tactiles

I.5. Mécanisme d'action des nanoparticules d'argent

L'argent est chargé positivement et a donc tendance à réagir avec des biomolécules chargées négativement telles que le phosphore et le soufre, qui sont les principaux composants de la membrane cellulaire, des protéines et des bases d'ADN. Les AgNPs endommagent la paroi cellulaire et la membrane des cellules bactériennes, provoquant divers changements morphologiques à ces dernières [19]. Plusieurs études ont montré l'utilisation efficace des nanoparticules d'argent contre les agents pathogènes à Gram positif et à Gram négatif [20].

Les caractéristiques critiques des nanoparticules sont une taille qui doit être dans le domaine de 1 à 100 nm, mais également un excellent rapport volumique de surface et une forme adéquate [21]. La taille des nanoparticules joue un rôle important dans l'activité antibactérienne. Les différentes études démontrent que plus la dimension de la nanoparticule est petite, plus sa capacité de pénétration dans les bactéries est grande [22-24].

Le mécanisme exact de l'effet antimicrobien des AgNPs sur les bactéries n'a pas encore été élucidé. Dans la figure I.2, nous expliquons un mécanisme d'action possible des AgNPs sur les bactéries. Des ions d'argent sont continuellement libérés des nanoparticules d'argent, ce qui peut envisager un mécanisme pour tuer les bactéries. Les ions argent peuvent facilement adhérer à la paroi cellulaire et à la membrane cytoplasmique car ils sont plus étroitement liés aux protéines soufrées et également en raison de l'attraction électrostatique [25-31] causant une perturbation de l'enveloppe bactérienne car lorsque les ions argent se fixent à la paroi cellulaire ou à la membrane cytoplasmique, la perméabilité de la cellule sera améliorée et conduit finalement à une perturbation cellulaire.

Lorsque les ions d'argent libres sont absorbés par les cellules, ils désactivent les enzymes respiratoires, générant des espèces réactives de l'oxygène interrompant la production d'adénosine triphosphate. Les espèces réactives de l'oxygène sont la principale espèce qui provoque l'activité de modification de l'ADN et de perturbation de la membrane

cellulaire. Dans l'ADN, le soufre et le phosphore sont des composants essentiels. Pourtant, l'interaction des AgNPs avec le soufre et le phosphore dans l'ADN peut entraîner des difficultés dans la réplication de l'ADN et la reproduction cellulaire ou même entraîner la terminaison des bactéries. Parfois, la dénaturation du ribosome dans le cytoplasme se produit car les ions argent peuvent inhiber la synthèse des protéines [32, 33].

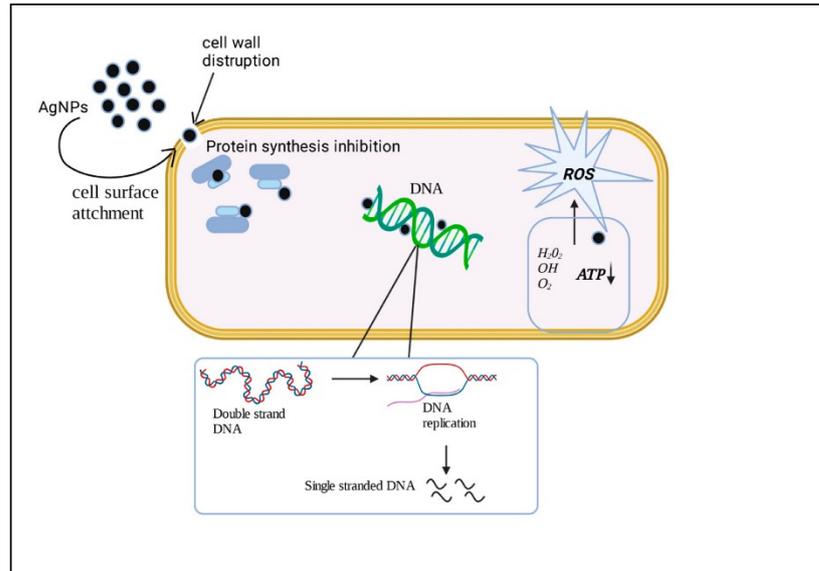


Figure I.2 : Approche mécanique des nanoparticules d'argent contre les bactéries

**Chapitre II :
Synthèse des
nanoparticules
d'argent**

Les nanoparticules d'argent ont attiré une attention considérable au cours des dernières décennies en raison de leurs propriétés uniques et de leurs applications diversifiées. Leur taille nanométrique confère aux AgNPs des caractéristiques distinctes par rapport à leurs homologues massifs, notamment une surface spécifique élevée, des propriétés optiques particulières et une réactivité chimique accrue. Ces propriétés font des AgNPs des candidats idéaux pour des applications dans des domaines variés tels que la médecine, l'électronique, l'énergie et l'environnement.

Ce chapitre explore les différentes méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent, en mettant l'accent sur leurs mécanismes de formation et en mentionnant les caractéristiques de ces nanoparticules, ainsi que la définition de la mécanochemie qui est une approche prometteuse pour la production de nanoparticules d'argent. Cette méthode implique l'utilisation de l'énergie mécanique pour initier des réactions chimiques, offrant divers avantages par rapport aux méthodes conventionnelles.

II.1. Méthodes de synthèse des nanoparticules

Il existe deux approches différentes utilisées pour synthétiser les NPs, l'approche descendante « top-down », qui est basée sur des méthodes physiques, et l'approche ascendante « bottom-up », qui est basée sur des méthodes chimiques [38-40].

L'approche descendante part d'un matériau en vrac qui incorpore des détails nanométriques critiques. Dans cette approche, un biomatériau est conçu en réduisant une entité complexe en ses composants, comme la création de petits cristaux à partir d'un tissu dur minéralisé en vrac par gravure à l'acide [41].

Quant à l'approche ascendante, les nanoparticules sont préparées en utilisant des atomes, des molécules ou des agrégats comme entités de départ. Cette voie nécessite l'utilisation de trois composants indispensables : un précurseur, un agent réducteur et un agent stabilisant. Le contrôle précis de la taille, de la distribution de taille, de la forme et de la composition des nanoparticules passe par le contrôle et l'ajustement des divers paramètres de réaction. La température, la nature et la concentration des réactifs et des agents stabilisants sont, dans ce cas, des paramètres modulables [42].

Les deux approches tendent à converger en termes de gamme de tailles des objets. L'approche « bottom-up » semble néanmoins plus riche en termes de type de matière, de diversité d'architecture et de contrôle de l'état nanométrique alors que l'approche « top-down » permet d'obtenir des quantités de matière plus importantes mais le contrôle de l'état nanométrique s'avère plus délicat [43].

La synthèse des nanoparticules via les deux approches top-down et bottom-up est représentée dans la figure II.1.

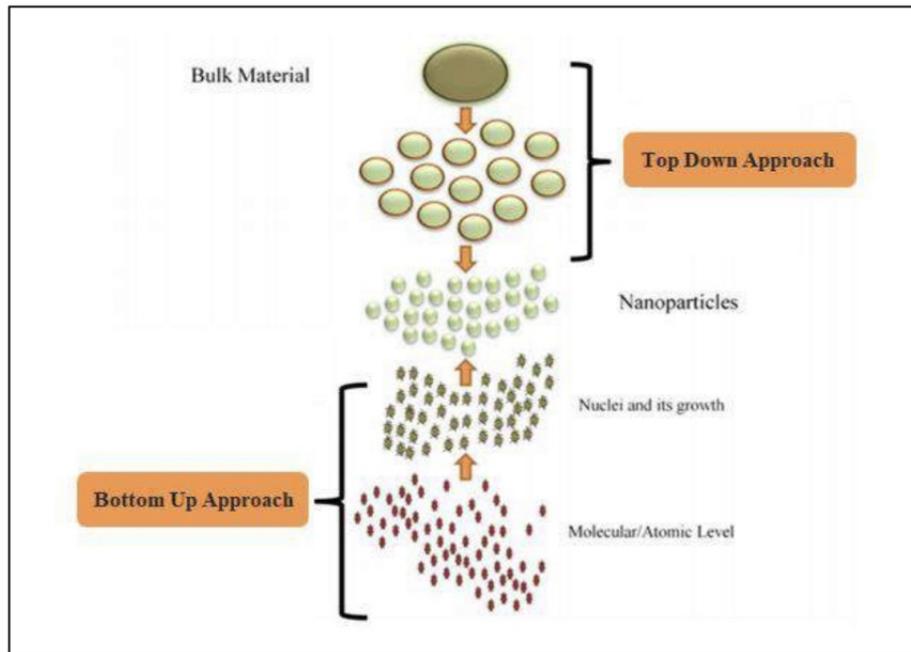


Figure II.1 : Synthèse des nanoparticules via les approches top-down et bottom-up [44]

II.2. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent

Il existe plusieurs méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent telles que les méthodes chimiques, physiques, photochimiques et biologiques [45]. Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients avec des problèmes de coût, d'évolutivité, de taille de particules uniforme et de distribution de taille.

II.2.1. Méthodes chimiques

La réduction chimique des ions métalliques est une méthode plus facile pour la préparation des nanoparticules métalliques. Généralement, le processus de synthèse chimique des AgNPs en dispersion utilise trois composantes principales : un précurseur métallique comme AgNO_3 , AgClO_4 , etc. des agents réducteurs comme le citrate de sodium et des agents stabilisants tel que le PVP. La formation de solutions colloïdales à partir de la réduction des sels d'argent implique quatre étapes : la nucléation, l'incubation, la croissance ultérieure et la maturation d'Ostwald. Il est également révélé que la taille et la forme des Ag-NP s synthétisés sont fortement dépendantes de ces étapes [46].

II.2.2. Méthodes physiques

Les méthodes physiques les plus utilisées dans la synthèse des nanoparticules d'argent sont l'évaporation–condensation, l'ablation laser, l'irradiation électrique. Kimura et BANDOW [47] ont examiné la mesure des spectres optiques de nombreuses dispersions de colloïdes métalliques et ont présenté de nouvelles méthodes de préparation de solvants inorganiques de colloïdes métalliques sans les produits chimiques [48].

II.2.3. Méthodes biologiques (synthèse verte)

La synthèse verte des nanoparticules émerge progressivement comme une branche clé de la nanotechnologie dans laquelle les nanoparticules sont produites à l'aide d'entités biologiques [49], où la paroi cellulaire chargée négativement interagit électrostatiquement avec les ions métalliques chargés positivement et bio-réduit les ions métalliques en NPs [50].

Cette méthode peut être considérée comme une approche respectueuse de l'environnement et également comme une technique à faible coût, à haut rendement, non toxique [51], simple, fiable, une densité élevée, et la stabilité des nanoparticules préparées [52].

En raison de leur nature relativement polyvalente, les extraits de métabolites secondaires collectés à partir des sources biologiques contiennent de nombreuses biomolécules telles que des enzymes, des protéines, des flavonoïdes, des stéroïdes, des triterpènes, des triterpénoïdes et des saponines ayant des propriétés réductrices et antioxydantes responsables de la réduction des composés métalliques en leurs nanoparticules respectives [53].

Certains des agents réducteurs et/ou stabilisants utilisés pour la production des nanoparticules d'argent par synthèse verte sont :

II.2.3.1. Les bactéries

L'utilisation de bactéries gagne rapidement une importance en raison de son succès croissant, de sa facilité de manipulation et de sa modification génétique. Les AgNPs ont été synthétisées en utilisant à la fois des bactéries gram-positives et gram-négatives ayant la capacité de produire des nanoparticules intracellulaires ou extracellulaires [54].

Les bactéries utilisent couramment le nitrate comme source principale d'azote, grâce à quoi le nitrate est converti en nitrite par le nitrate réductase, en utilisant le pouvoir réducteur d'une forme réduite de nicotinamide adénine dinucléotide. En fait, l'utilisation de la nitrate réductase comme agent réducteur s'avère jouer un rôle clé dans la bio-réduction des ions Ag^+ [55].

II.2.3.2. Les champignons

Les champignons ont un potentiel de synthèse de NPs métalliques en raison de la capacité de bioaccumulation des métaux et de leur tolérance, de leur capacité de liaison élevée et de leur absorption intracellulaire qui sont faciles à manipuler dans une installation de recherche par rapport aux bactéries. De plus, ils sécrètent d'énormes enzymes catalysant la réduction de la solution d'AgNO₃ ce qui tend à augmenter considérablement la rentabilité de cette approche synthétique.

Le mécanisme de synthèse des AgNPs par les champignons suit les étapes suivantes [56] :

- a) Les ions Ag⁺ sont adsorbés à la surface des cellules fongiques en raison de la présence d'une interaction électrostatique entre les groupes carboxyliques chargés négativement présents dans les enzymes et les ions d'argent chargés positivement.
- b) Les particules d'argent réduites par les enzymes présentes dans les parois cellulaires provoquent le développement de noyaux d'argent.
- c) Les nanoparticules se forment à la surface des mycéliums, pas en solution.

II.2.3.3. Les polysaccharides

Dans cette méthode, les AgNPs sont préparés en utilisant de l'eau comme solvant respectueux de l'environnement et des polysaccharides comme agent de stabilisation et réducteur. Dans un système chauffé doucement contenant de l'amidon et du β-glucose (agent réducteur), permet la formation d'AgNPs. Cette solution, associée à l'AgNO₃ permet la synthèse de nanoparticules d'argent de 10-34 nm. Ces dites nanoparticules sont stables en dispersion à 25°C pendant 3 mois [56].

II.2.3.4. Les plantes

Les plantes sont considérées comme une très bonne méthode pour la synthèse rapide des nanoparticules d'argent en raison de leur large spectre de métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les acides aminés, les protéines et les enzymes, qui pourraient améliorer la synthèse des nanoparticules, en jouant un rôle d'agent stabilisant ou réducteur [54].

Les parties des plantes comme les racines, la tige, les graines et les feuilles sont principalement utilisées dans la synthèse des NPs. Le point intéressant est l'agent actif présent dans ces parties. Après sélection de l'extrait de plante, les principaux paramètres à optimiser sont la concentration de l'extrait, la température, le sel métallique, le pH et le temps de contact [56].

Dans la figure II.2, sont résumées différentes méthodes de synthèse des nanoparticules (physiques, chimiques et biologiques) par approche descendante et ascendante.

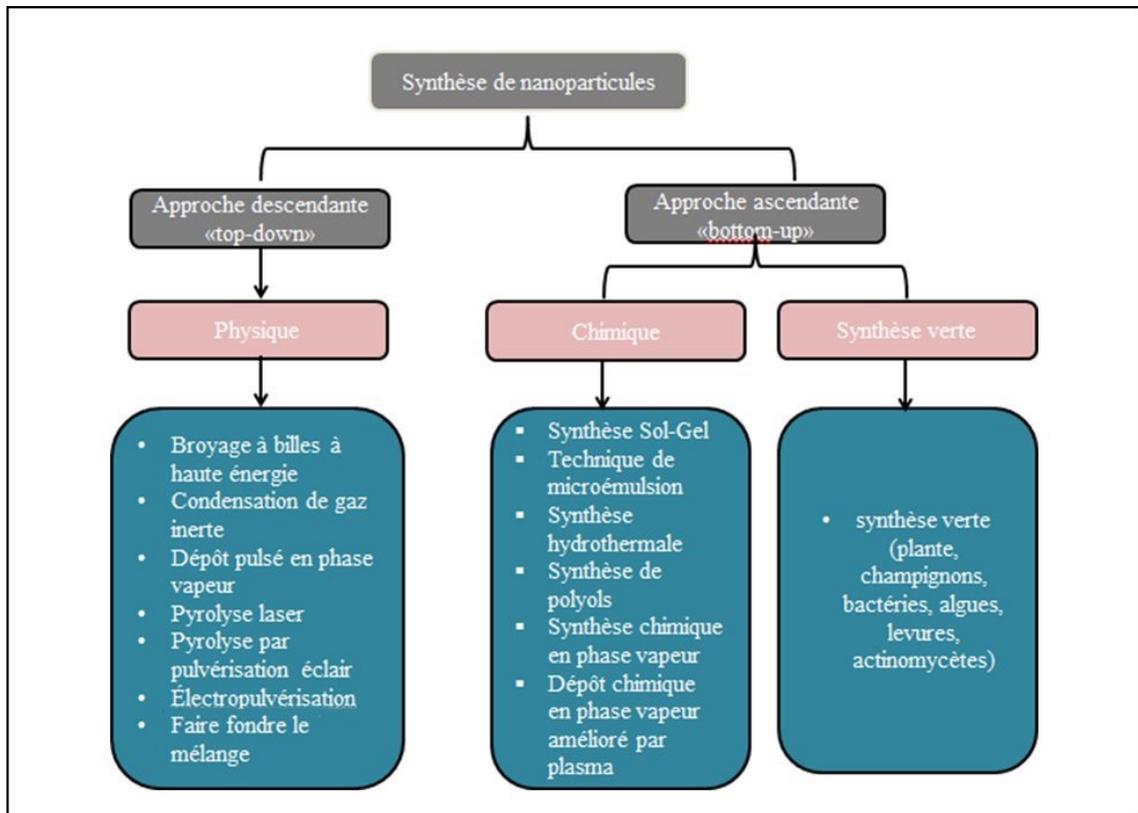


Figure II.2 : Différentes méthodes de synthèse des nanoparticules [57]

II.3. La mécano chimie

L'un des objectifs des industries pharmaceutiques et chimiques est le développement de procédés écologiques qui éliminent ou réduisent l'utilisation de solvants. Cependant, éviter les solvants nécessite souvent l'utilisation de catalyseurs métalliques ou autres, qui accélèrent les réactions chimiques, mais rendent les purifications difficiles, en particulier dans le cas de produits chimiques fins, tels que les ingrédients pharmaceutiques actifs. La mécano chimie est apparue comme un moyen durable qui permet la synthèse chimique, y compris les transformations moléculaires organiques, en utilisant l'énergie mécanique [58].

Ces dernières années et avec le développement important des recherches sur l'utilisation de l'énergie mécanique en chimie, le terme mécano chimie peut dorénavant être élargi à toute transformation observée au cours ou après le traitement d'une substance, quel que soit le rôle exact de l'action mécanique mise en jeu. Depuis ses prémices, le nombre

d'articles traitant ou citant la mécano-chimie n'a pas cessé d'augmenter, tant et si bien qu'en 2019, l'IUPAC a identifié la mécano-chimie comme l'une des dix technologies émergentes en mesure de rendre le monde plus durable [59].

Le principe de la mécano-chimie est au premier abord simple : des réactifs solides sont mélangés sous l'action de forces mécaniques permettant d'initier une réaction chimique entre eux. Dans le cas du broyage à bille(s), un réacteur contenant des billes est mis en mouvement grâce à des équipements spécifiques appelés broyeurs. Le mouvement du réacteur et des billes engendre des chocs à l'origine du broyage. Ainsi, lors du broyage, les réactifs sont soumis à des variations d'énergies et élévations de température qui permettent de former de nouvelles liaisons et pouvant générer des radicaux [60].

Il est cependant très difficile d'établir le ou les rôles exacts d'une action mécanique sur un mélange de réactifs, les natures physiques et chimiques du mélange doivent être prises en compte au cas par cas. En effet, les forces mécaniques imposées à un mélange réactionnel peuvent être de plusieurs types (compression, cisaillement, impact, etc.) et avoir différents effets macro- ou microscopiques (réduction de la taille des particules, modification de la structure cristalline, génération de nouvelles surfaces réactives, homogénéisation et mise en contact des réactifs, activation de certaines liaisons chimiques, etc.) [60].

Comme on le constate, une réaction mécano-chimique peut être un processus très complexe et la façon dont une énergie mécanique est transformée en énergie chimique est encore mal connue [60].

Le tableau II.1 rassemble les résultats de quelques articles travaillant sur la synthèse de nanoparticules d'argent par voie sèche (mécano-chimie).

Tableau II.1 : Résultats de quelques articles travaillant sur la synthèse de nanoparticules d'argent par mécano-chimie [61-63]

Article	Année	Agent précurseur	Agent réducteur/ Agent stabilisant	Conditions opératoires	UV-vis	FTIR	DRX
Characterization and optical studies of PVP-capped silver nanoparticles	2017	AgNO ₃	NaBH ₄ /PVP	Les solutions de PVP et d'AgNO ₃ doivent être préparées séparément en dissolvant des quantités appropriées d'AgNO ₃ (10 et 25 mM d'AgNO ₃ dans 10 ml) et de PVP dans de l'eau distillée et dans des tasses sèches soigneusement nettoyées à température ambiante.	Entre 200 et 800 nm avec une résolution de 1 nm	4,0845 Å	Plans cristallins de la phase cubique à faces centrées
Solid state synthesis of starch-capped silver nanoparticles	2016	AgNO ₃	L'amidon/ l'amidon en présence d'hydroxyde de sodium	On mélange l'amidon natif séché (1,0 g) avec 0,25 g de plaquettes de NaOH dans un petit broyeur à mortier puis chauffé à 70 °C pendant 10min	De 140 à 420 nm		Cubique à faces centrées

<p>Solid-State Synthesis of Silver Nanoparticles at Room Temperature: Poly(vinylpyrrolidone) as a Tool</p>	<p>2009</p>	<p>AgNO₃</p>	<p>PVP/PVP</p>	<p>Les solutions de PVP et d'AgNO₃ doivent être préparées séparément en dissolvant des quantités appropriées d'AgNO₃ (10 et 25 mM d'AgNO₃ dans 10 ml) et de PVP dans de l'eau distillée</p>	<p>De 300 à 800 nm avec une résolution de 1 nm</p>	<p>2000 A°</p>	<p>Sous forme de monocristaux</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------	-------------------------	----------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------	----------------	-----------------------------------

II.4. Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent

La caractérisation est une étape essentielle pour découvrir les AgNPs par leur taille, leur forme, morphologie, structure, chimie de surface, charge de surface, dispersité et superficie. Diverses techniques sont employées pour caractériser les AgNPs, les plus fréquentes sont indiquées ci-dessous.

II.4.1. Spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-vis est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées et est également utilisée pour vérifier la présence des AgNPs synthétisées. Le spectre d'absorption des AgNPs dépend de la morphologie, forme, taille et environnement chimique des nanoparticules synthétisées. De nombreuses études ont montré que les nanoparticules d'argent produisent des bandes d'absorption dans la plage 200-800 nm [64].

II.4.2. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La FTIR joue un rôle crucial dans la synthèse des nanoparticules d'argent. Elle est utilisée pour analyser les configurations spectrales des nanoparticules synthétisées à l'aide de diverses méthodes [65, 66]. La FTIR aide à caractériser les colloïdes de taille nanométrique en détectant des pics d'absorption à des longueurs d'onde spécifiques, confirmant la présence de nanoparticules d'argent basées sur des groupes fonctionnels tels que le N-O. De plus, la FTIR est utilisée pour étudier les différences structurelles de la liaison moléculaire lors de la synthèse des nanoparticules, fournissant des informations sur les interactions entre les entités impliquées dans le processus [67]. Elle est utilisée aussi pour analyser les groupes fonctionnels présents à la surface des nanoparticules, fournissant des informations sur les agents de protection et de réduction impliqués dans le processus de synthèse. La spectroscopie FTIR aide à comprendre la composition chimique et la structure des nanoparticules [68].

II.4.3. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est utilisée pour déterminer la structure cristalline des solides, y compris les constantes et la géométrie du réseau, l'identification des matériaux inconnus, l'orientation des monocristaux, les défauts, etc. Les diagrammes de diffraction des rayons X sont obtenus en mesurant les angles auxquels un faisceau de rayons X est diffracté par les phases cristallines de l'échantillon.

A partir des diagrammes de diffraction, on peut déterminer l'unicité de la structure des nanocristaux, la pureté de la phase, le degré de cristallinité et les paramètres des

cellules unitaires des matériaux nanocristallins. La technique de diffraction des rayons X est non destructive et ne nécessite pas de préparation d'échantillons élaborée, ce qui explique en partie la large utilisation des méthodes de DRX dans la caractérisation des matériaux. L'analyse d'élargissement par diffraction des rayons X a été largement utilisée pour déterminer la taille des cristaux de matériaux à l'échelle nanométrique. La taille moyenne des nanoparticules peut être estimée en utilisant l'équation de Debye-Scherrer :

$$D = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta}$$

Où :

D : épaisseur du nanocristal

K : une constante

λ : longueur d'onde des rayons X

β : largeur à mi-hauteur de la réflexion à l'angle de Bragg 2θ [69, 70].

II.4.4. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion dynamique de la lumière est une technique qui fonctionne sur le principe du mouvement brownien. Les plus petites particules auront des mouvements rapides et les plus grosses particules auront un mouvement plus lent. Cette technique est largement utilisée pour analyser les polymères biologiques, les colloïdes et les nanoparticules, elle fournit des informations précieuses sur la taille des particules, les distributions granulométriques et les relaxations dans les fluides complexes basées sur la relation de Stokes-Einstein [71].

Cette méthode joue un rôle crucial dans la caractérisation et le contrôle de la qualité des thérapies et vaccins à base de nanoparticules, facilitant la spécification des produits, évaluant les procédures de dispersion et garantissant une quantification précise dans les suspensions colloïdales pour diverses applications [72, 73], et offrant une approche prometteuse pour le repositionnement et la découverte des médicaments [74].

II.4.5. Potentiel Zêta

Le potentiel zêta est un paramètre crucial reflétant la stabilité des systèmes colloïdaux [75]. Il représente le potentiel électrique au bord de la double couche électrique par rapport au potentiel électrique global [76]. Des études sur les nanoparticules dans des dispersions colloïdales ont montré que des facteurs tels que les concentrations ioniques, la température et les propriétés spécifiques à la surface ont un impact sur les valeurs du

potentiel zêta, des simulations moléculaires fournissant des informations sur ces comportements électrocinétiques [77].

Chapitre III :

Les émulsions et les crèmes

Les émulsions jouent un rôle fondamental dans de nombreux domaines, notamment en pharmacie où elles sont largement utilisées comme formulations topiques. Ces systèmes dispersés constitués de deux phases non miscibles, offrent une voie efficace pour délivrer de substances actives et améliorer la stabilité des formulations pharmaceutiques.

Dans ce chapitre, nous nous plongerons dans l'univers fascinant des émulsions, en mettant en lumière la formulation des crèmes pharmaceutiques. Le contrôle de ces émulsions est essentiel pour garantir leur stabilité, efficacité et sécurité. Nous explorerons par la suite les méthodes de caractérisation clés ainsi que leur contribution à l'amélioration continue des formulations émulsionnées dans le domaine pharmaceutique.

III.1. Définition d'une émulsion

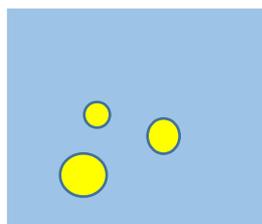
Une émulsion se définit comme la dispersion de deux phases liquides non miscibles. C'est un mélange de solutions lipophile et hydrophile se caractérisant par la présence de deux phases distinctes dont l'une est dispersée dans l'autre. On appelle phase dispersée ou phase discontinue, le liquide formant des gouttelettes, alors que l'on désigne le second fluide comme étant la phase dispersante ou la phase continue. Les émulsions faisant partie des colloïdes, la dimension des gouttelettes est située entre le micromètre et le nanomètre [78].

Une émulsion possède un aspect macroscopique homogène alors que sa structure microscopique est hétérogène [78].

III.2. Différents types d'émulsions

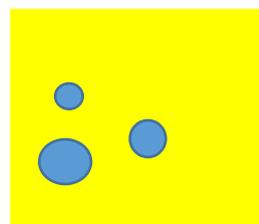
On différencie deux types d'émulsions selon la répartition des différentes phases employées. Une émulsion est dite directe (notée H/E pour Huile dans Eau) lorsque la phase dispersante est hydrophile et que la phase dispersée est lipophile. Au contraire, une émulsion inverse (notée E/H pour Eau dans Huile) se caractérise par une phase dispersante lipophile et une phase dispersée hydrophile [79].

Ces deux types d'émulsions élucidés sont présentés en schémas dans la figure III.1.



Emulsion directe

Huile dans eau : H/E



Emulsion inverse

Eau dans huile : E/H

Figure III.1 : représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu : l'eau, en jaune : l'huile)

Lorsque l'émulsion est composée uniquement de deux phases, on la qualifie de "simple". À l'inverse, si le mélange se présente sous plus de deux phases imbriquées les unes dans les autres, le système est désigné comme "multiple" ou est appelée "émulsion d'émulsion". Celle-ci se caractérise par une première émulsion dans laquelle sont présentes des gouttelettes composées elles-mêmes d'une émulsion. Il est possible d'obtenir des émulsions multiples E/H/E pour "Eau dans Huile dans Eau" ou H/E/H pour "Huile dans Eau dans Huile" [80].

Selon la dimension des gouttelettes présentes dans la phase dispersée, on distingue trois grandes catégories d'émulsion. En les classant dans l'ordre croissant de taille, on trouve les nano-émulsions, microémulsions, et macro-émulsions. De plus, chacun de ces types d'émulsion possède des caractéristiques qui lui sont propres [81].

Une des propriétés des émulsions est qu'elles ne sont pas naturellement stables. Il est donc nécessaire d'appliquer un traitement (mécanique ou chimique) pour garantir leur stabilité dans le temps [82].

III.3. L'interface

Lors de l'élaboration d'une émulsion, on retrouve de nombreuses surfaces de séparation entre les différentes phases, appelées interfaces. Celles-ci se caractérisent par des propriétés physicochimiques caractéristiques. En effet, cet espace est dans un état énergétiquement différent dû à la présence d'une tension interfaciale (notée γ_{int}). Celle-ci s'explique par une réorganisation des molécules au niveau de la zone de contact induisant de nouvelles interactions. Cette force correspond à l'énergie qu'il faut apporter pour attirer les molécules vers l'interface. On peut déterminer sa valeur en faisant le rapport entre la variation d'énergie libre, notée dF , et la variation de surface notée dS [83].

$$\gamma_{int} = \frac{dF}{dS}$$

Cette force doit être la plus réduite possible afin d'assurer la stabilité temporelle de l'émulsion. Les molécules tendent ainsi à réduire la surface séparant les deux phases ce qui se traduit par l'apparition de gouttelettes de forme sphériques assurant un rapport volume/surface optimal. Un des objectifs majeurs lors de la formulation d'une émulsion stable est donc de réduire la tension interfaciale, cela est possible en ajoutant des molécules capables d'abaisser cette barrière énergétique [83].

III.4. Les crèmes

III.4.1. Définition

Les crèmes sont des préparations dermatologiques multiphasiques, comprenant au moins deux phases liquides non miscibles : une phase hydrophile ou aqueuse et une phase lipophile ou huileuse. Ce sont donc des émulsions, c'est-à-dire des systèmes dispersés dans lesquels une des deux phases liquides, appelée phase dispersée, est fragmentée en fines gouttelettes (1 à 100 micromètres) distribuées de façon homogène dans l'autre liquide (phase externe) [84].

Comme tout système émulsionné, les crèmes doivent obligatoirement être stabilisées par des émulsionnants ou tensioactifs ou surfactants, qui sont des substances amphiphiles abaissant la tension interfaciale et l'énergie libre de surface [84].

La crème est un produit polyvalent avec diverses applications dans différents domaines. Dans le contexte des produits pharmaceutiques et cosmétiques, les crèmes sont des émulsions utilisées pour les soins de la peau, l'administration de substances actives et à des fins cosmétiques [85, 86].

III.4.2. Types de crèmes

III.4.2.1. Les crèmes lipophiles

Dans les crèmes lipophiles, la phase externe est la phase huileuse, ces préparations contiennent des agents émulsifiants eau dans l'huile, tels que : les alcools de graisse, des esters de sorbitane ou des monoglycérides.

III.4.2.2. Les crèmes hydrophiles

Dans les crèmes hydrophiles, la phase externe est la phase aqueuse. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants huile dans l'eau, tels que des savons de sodium ou des alcools gras sulfatés, éventuellement en combinaison avec des agents émulsifiants eau dans l'huile [87].

III.4.3. Formulation des crèmes

III.4.3.1. La phase hydrophile

Le terme "hydrophile" vient du grec "hydro" (eau) et "philos" (ami), signifiant littéralement "qui aime l'eau" [88].

Dans une émulsion, la phase hydrophile est celle qui contient l'eau et les substances dissoutes dans l'eau. Par exemple, dans une émulsion huile dans l'eau, l'huile est dispersée sous forme de gouttelettes dans une phase continue hydrophile (aqueuse) [88].

III.4.3.2. La phase lipophile

Le terme "hydrophobe" vient du grec, où "hydro" signifie eau et "phobos" signifie peur ou aversion. En termes scientifiques et techniques, une substance hydrophobe est repoussée par l'eau et ne se dissout pas facilement dans cette dernière [88].

Dans les crèmes, une phase hydrophobe peut être utilisée pour créer des barrières protectrices ou pour permettre l'incorporation de substances actives lipophiles qui se dissolvent dans les graisses [88].

III.4.3.3. Les émulsifiants

Les émulsifiants jouent un rôle crucial dans les crèmes en stabilisant les émulsions huile dans eau, affectant des propriétés telles que l'étalement, le diamètre des globules, la stabilité et l'efficacité hydratante [89-92]. Ils dispersent les composants insolubles dans l'eau influençant le comportement biomécanique et les propriétés de barrière de la peau lorsqu'ils sont incorporés dans des crèmes hydratantes. Le type et la concentration d'émulsifiants ont un impact sur la stabilité physique, la viscosité et la distribution granulométrique des crèmes [93].

Les émulsifiants, souvent associés à des co-tensioactifs, forment des structures cristallines liquides lamellaires dans les crèmes, affectant leur microstructure et leur rhéologie. Dans l'ensemble, le choix des émulsifiants dans les crèmes est essentiel pour obtenir les caractéristiques souhaitées telles que la stabilité, l'étalement et l'efficacité hydratante, ce qui en fait d'eux des composants essentiels dans les formulations de crèmes [93].

III.4.4. Méthodes de formulation

La préparation d'une crème pharmaceutique implique plusieurs méthodes, chacune adaptée au type de crème et aux ingrédients utilisés [94].

Ci-après sont citées quelques méthodes couramment employées dans la formulation des crèmes.

III.4.4.1. Méthode par fusion

Cette méthode consiste à chauffer les ingrédients gras jusqu'à ce qu'ils fondent, puis à mélanger les ingrédients aqueux chauffés séparément. Une fois les deux phases à la même température, elles sont combinées et agitées jusqu'à refroidissement pour former une crème homogène [95].

III.4.4.2. Méthode par émulsification

Cette méthode est utilisée pour les crèmes émulsifiées. Elle implique la dispersion d'une phase aqueuse dans une phase huileuse (ou vice versa) en présence d'un agent émulsifiant. L'émulsification peut être réalisée par agitation mécanique, homogénéisation ou en utilisant des équipements spécialisés comme des homogénéisateurs à haute pression [96].

III.4.4.3. Méthode par incorporation

Cette méthode consiste à incorporer des substances actives ou des excipients à une base de crème déjà préparée. Les ingrédients sont soigneusement mélangés jusqu'à ce que le produit final soit homogène. Elle est souvent utilisée pour préparer des crèmes avec des substances sensibles à la chaleur [97].

III.4.4.4 Méthode de mélange à froid

Certains ingrédients, en particulier les actifs thermosensibles, sont ajoutés à des bases de crème sans chauffage. Les ingrédients sont simplement mélangés à température ambiante jusqu'à obtention d'une crème homogène [97].

III.4.4.5. Méthode de fabrication continue

Dans les installations industrielles, des systèmes de fabrication continue peuvent être utilisés. Cette méthode implique le mélange en continu des ingrédients à des taux de débit contrôlés, souvent avec des étapes de chauffage et de refroidissement intégrées [98].

III.4.4.6. Méthodes spécifiques pour crèmes anhydres

Pour les crèmes sans eau (anhydres), la préparation peut simplement impliquer la fusion et le mélange des ingrédients huileux et gras sans nécessiter une étape d'émulsification. Ces méthodes peuvent être combinées et adaptées en fonction des exigences spécifiques de la crème à préparer, des ingrédients utilisés et de l'application prévue. La qualité du produit final dépend en grande partie de la rigueur et de la précision dans le respect des protocoles de préparation [99].

III.4.5. Caractérisation des crèmes

III.4.5.1. Mesure de pH

La mesure du pH va nous renseigner sur la stabilité chimique d'une crème, et tout changement de la valeur du pH est un signe de l'évolution de la composition chimique du système.

III.4.5.2. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des crèmes et l'évaluation de leurs caractères organoleptiques (Couleur, consistance, odeur et toucher) sont en général d'une importance capitale. Cet examen fait partie des tests importants qui indiquent la présence ou non d'un phénomène de déstabilisation du système [100].

III.4.5.3. Caractérisation rhéologique

La caractérisation rhéologique d'une crème implique l'étude approfondie de ses propriétés d'écoulement et de déformation lorsqu'elle est soumise à des contraintes de cisaillement. Cette analyse est cruciale dans le développement et la formulation des produits cosmétiques et pharmaceutiques sous forme semi-solide. Elle permet d'évaluer plusieurs paramètres clés, tels que la viscosité, qui mesure la résistance à l'écoulement de la crème, le comportement d'écoulement (newtonien ou non-newtonien), le seuil d'écoulement requis pour initier le mouvement, ainsi que les propriétés viscoélastiques décrivant le comportement à la fois visqueux et élastique de la crème sous contrainte. La thixotropie et la rhéopexie, qui caractérisent respectivement la capacité de la crème à retrouver ou non sa viscosité initiale après l'arrêt du cisaillement, sont également prises en compte. Ces paramètres rhéologiques influencent directement les performances de la crème, comme l'étalement, la sensation au toucher, la stabilité et la libération des substances actives. Leur caractérisation rigoureuse permet ainsi d'optimiser la formulation et d'assurer la qualité du produit final [101].

III.4.5.4. Indice de crémage

L'indice de crémage est une mesure utilisée pour évaluer la stabilité d'une crème. Il est déterminé par centrifugation, où la crème est soumise à une force centrifuge, provoquant la séparation des phases. Plus précisément, l'indice de crémage est calculé en divisant la hauteur de la phase lipidique (généralement la phase la plus dense) par la hauteur totale de l'émulsion observée après centrifugation. Un indice de crémage élevé indique une séparation plus importante des phases et donc une stabilité réduite de la crème [98].

Chapitre IV :

Matériels et

méthodes

Dans ce chapitre, nous allons décrire le procédé choisi pour la synthèse des nanoparticules d'argent par voie sèche se basant sur deux grades différents d'un polymère ainsi que les méthodes de préparation des échantillons pour la caractérisation de ces dites nanoparticules synthétisées dans le but de cerner le plus intéressant produit de synthèse en matière de caractéristiques physicochimiques et microbiologiques. Dans un second lieu, les étapes de préparation d'une crème dermique sont élucidées et suivies de quelques analyses de base des formes semi-solides.

IV.1. Synthèse des nanoparticules d'argent

IV.1.1. Produits chimiques

Les réactifs rentrant dans la synthèse des nanoparticules d'argent sont présentés dans le tableau IV.1. Le choix de polymère a été basé sur le travail de Debnath et al. déjà publié. Par contre, dans cette étude, nous allons opter pour une étude comparative entre deux grades différents du polymère en question.

Tableau IV.1 : Réactifs utilisés dans la synthèse des nanoparticules d'argent

Produit chimique	Formule chimique	Fonction
Nitrate d'argent	AgNO_3	Précurseur d'argent
PVP K30	$(\text{C}_6\text{H}_9\text{NO})_n$	Agents réducteurs et stabilisants
PVP K90	$(\text{C}_6\text{H}_9\text{NO})_n$	

IV.1.2. Méthode de synthèse

La méthode de synthèse choisie est celle par réduction chimique d'un précurseur d'argent. Dans le but d'éviter toute instabilité liée aux dispersions d'argent colloïdal, nous avons opté pour une synthèse par voie sèche, il s'agit du broyage mécanique, communément connu par la mécanochimie.

Afin d'évaluer l'impact de la masse moléculaire du polymère utilisé sur la qualité des nanoparticules d'argent synthétisées, nous avons utilisé deux grades de PVP à faible et à fort poids moléculaire notés PVP K30 et PVP K90 résultant à AgNPs/PVP K30 et AgNPs/PVP K90, respectivement.

Pour la synthèse des deux échantillons, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Dans un broyeur à bille (Figure IV.1), mettre 1,5g de nitrate d'argent et 10g de PVP (K30 ou K90 selon le cas).

- Remettre la bille en agate, fermer le couvercle et mettre l'appareil en marche à la vitesse 16 (échelon de vitesse propre à l'appareil).
- Après chaque 45min de marche, mettre en pause l'appareil, racler les bords du récipient et laisser refroidir pendant 10min pour éviter toute surchauffe, causée par les forces de friction, qui pourrait affecter le mélange réactionnel.
- Toutes les deux heures et demie, prélever une quantité de 0.03g pour une analyse UV-vis.
- Arrêter le procédé de synthèse lorsque deux valeurs d'absorption obtenues de deux prélèvements successifs sont très proches ou voire les mêmes.
- Récupérer l'échantillon et le stocker à l'abri de la lumière dans un tube hermétiquement fermé.



Figure IV.1 : image d'un broyeur à bille

IV.1.3. Techniques de caractérisation

IV.1.3.1. Spectroscopie UV-visible

Pour la préparation de l'échantillon, 0,03g d'AgNPs/PVP K30 ou AgNPs/PVP K90 ont été dispersé dans 10mL d'eau distillée. Utiliser un vortex pour créer un mouvement circulaire rapide, assurant ainsi une distribution homogène.

IV.1.3.2. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier

Préparer des pastilles de KBr mélangé aux AgNPs synthétisées. Le rapport entre les deux composants du mélange n'est pas calculé vigoureusement car il s'agit d'une analyse qualitative seulement.

IV.1.3.3. Diffraction des rayons X

L'échantillon est étalé sous forme de poudre (15 mg) sur une lame de verre qui tourne d'un mouvement uniforme autour d'un axe situé dans son plan.

IV.1.3.4. Diffusion dynamique de la lumière et Potentiel zêta

- Disperser, par ultrasons, et pendant 5min, 0,1g de la poudre d'AgNPs synthétisées dans 30mL d'eau distillée.
- Faire passer la dispersion à travers un micro-filtre de 0,45 μ m afin d'éliminer les plus grosses particules ainsi que toutes impuretés qui pourraient fausser les résultats des deux analyses.

IV.1.3.6. Activité antimicrobienne (Concentration Minimale Inhibitrice)

L'appréciation de la l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent synthétisées ainsi que le calcul de la Concentration Minimale Inhibitrice ont été réalisés par le biais de la méthode de diffusion sur milieu gélose suivant des normes spécifiques.

Pour cela, les souches bactériennes de référence suivantes ont été testées :

- ATCC 27853 / *Pseudomonas aeruginosa* (gram négatif)
- ATCC 25922 / *Escherichia coli* (gram négatif)
- ATCC 25923 / *Staphylococcus aureus* (gram positif)

Tout d'abord, des suspensions bactériennes de microorganismes de contrôle testés devront être préparées. Pour cela, les étapes ci-dessous sont suivies :

- Chaque suspension bactérienne est préparée dans un tube contenant 5mL d'eau physiologique stérile.
- Mesurer la turbidité de la suspension à l'aide d'un densimètre. Atteindre 0.5 McFarland.

Avant de lancer le test, il faudra préparer le milieu gélose Mueller-Hinton selon les étapes suivantes :

- Préparation à partir d'une base déshydratée et stérilisée selon la procédure standard suivie d'un refroidissement jusqu'à 45-50°C.
- Versement dans des boites de pétri stériles sur une surface nivelée, horizontale donnant ainsi une profondeur uniforme d'environ 4mm.

- Les plaques sont laissées refroidir à température ambiante.

A ce moment, nous pouvons commencer le test suivant les étapes suivantes :

- 15min après réglage de la turbidité, un écouvillon stérile est plongé dans la suspension bactérienne puis tourné plusieurs fois et pressé fermement sur la paroi intérieure du tube au-dessus du niveau de la suspension pour enlever l'excédent.
- Inoculer sur la surface séchée de la gélose en striant l'écouvillon sur toute la surface de la plaque.
- Répéter deux fois de plus en faisant tourner le disque de 60° chaque fois afin d'assurer une distribution uniforme.
- Des disques de 6mm imprégnés de la dispersion de nanoparticules d'argent sont placés à la surface de la plaque. Différentes concentrations de la dispersion de AgNPs sont préparées pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice.
- Chaque disque est pressé afin d'assurer le contact complet avec la gélose.
- Placer les disques dans une incubateur à 35 ± 2 °C pendant 24h.
- Après incubation, mesurer les diamètres d'inhibition de chaque disque.

La solution mère utilisée pour ce test a été préparée en dispersant par sonication pendant 5min 0.125g de poudre d'AgNPs dans 50mL d'eau distillée. Différentes dilutions son par la suite préparées pour l'évaluation de la Concentration Minimale Inhibitrice.

Dans les tableaux IV.2 et IV.3 sont présentées les différentes valeurs de concentrations des dispersions d'AgNPs/PVP K30 et AgNPs/PVP K90 respectivement ainsi que leur codage pour faciliter la présentation des résultats par la suite.

Tableau IV.2 : Concentrations et codage des dilutions de la dispersion d'AgNPs/PVP K30

Essai	Concentration	Code
Avec PVP K30	140 ppm	1
Avec PVP K30	70 ppm	2
Avec PVP K30	35 ppm	3
Avec PVP K30	17.5 ppm	4
Avec PVP K30	8.75 ppm	5
Avec PVP K30	4.375 ppm	6

Avec PVP K30	2.1875 ppm	7
AgNO ₃	10 mM	T

Tableau IV.3 : Concentrations et codage des dilutions de la dispersion d'AgNPs/PVP K90

Essai	Concentration	Code
AgNPs/PVP K90	92.1 ppm	1
AgNPs/PVP K90	46.05 ppm	2
AgNPs/PVP K90	23.025 ppm	3
AgNPs/PVP K90	11.5125 ppm	4
Eau distillée	/	E
Solution de PVP	2.88 g/L	P

IV.2. Formulation de la crème

IV.2.1. Matières premières utilisées

Les matières premières utilisées dans la formulation de la crème sont regroupés dans le tableau IV.4 présenté ci-dessous.

Tableau IV.4 : Matières premières utilisées dans la formulation de la crème

Nom du produit	Formule chimique
Xanthane	C ₃₅ H ₄₅ O ₂₉
Glycérol	C ₃ H ₈ O ₃
Propylène glycol	C ₃ H ₈ O ₂
Hydroxyéthylcellulose (HEC)	C ₆ H ₇ O ₂ (OH) ₃ ·x(C ₂ H ₄ O)
Huile de vaseline	C _n H _{2n+2}
Span 60	C ₂₄ H ₄₆ O ₆
Tween 80	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₂₆
Hydroxyde de sodium	NaOH

IV.2.2. Procédé de formulation

Avant d'entamer les étapes du procédé de formulation de notre crème, nous présentons dans le tableau IV.5 les composés de cette dernière, leurs rôles ainsi que leurs proportions respectives.

Avant de fixer les proportions de chaque composant de la préparation, il faudra calculer les proportions des tensioactifs utilisés et ce par rapport à l'HLB_{requis} de la phase huileuse utilisée. Ci-après nous présenterons comment calculer, selon les formules suivantes, les proportions des deux tensioactifs utilisés.

$$A\% = \frac{100 * HLB_x - HLB_B}{HLB_A - HLB_B}$$

$$B\% = 100 - A\%$$

Où :

A% : pourcentage du tensioactif A (tween 60 dans notre cas)

B% : pourcentage du tensioactif B (span 80 dans notre cas)

HLB_x : HLB_{requis} de la phase huileuse

HLB_A : HLB du tensioactif A

HLB_B : HLB du tensioactif B

Après calcul, nous aurons pour une somme de 100% :

$$A\% = 63.21\%$$

$$B\% = 36.79\%$$

Tenant compte du pourcentage massique en tensioactifs dans la préparation qui est de 2%, les pourcentages se calculent comme suit :

$$\%A' = 2 * \%A / 100$$

$$\%B' = 2 * \%B / 100$$

Où :

%A' = Pourcentage en tensioactif A par rapport à 2%

%B' = Pourcentage en tensioactif B par rapport à 2%

Après calcul, nous aurons pour un pourcentage en masse de 2% en tensioactifs :

$$\%A' = 1.264\%$$

$$\%B' = 0.736\%$$

Tableau IV.5 : Composition de la crème formulée

Composé	Rôle	Pourcentage % w/w	Remarques
AgNPs	Agent antimicrobien	0.035	
Eau distillée	Phase aqueuse	QSP	
Huile de vaseline	Phase huileuse	30	HLB requis = 10
Span 80	Tensioactif	0.736	HLB = 4.3
Tween 60	Tensioactif	1.264	HLB = 14.9
Glycérol	Agent humectant	5	
Xanthane	Agent épaississant	0.5	
Propylène glycol	Agent pro-pénétrant et conservateur	15	
HEC	Agent filmogène	1.5	

IV.2.2.1. Préparation de la phase aqueuse

- Sur un agitateur mené du chauffage, Chauffer 23g d'eau distillée à 80°C.
- Ajouter la quantité de HEC et laisser sous agitation magnétique et chauffage à 80°C pendant 20min
- Ajouter le Glycérol, le propylène glycol et le xanthane
- Laisser le mélange sous agitation magnétique pendant 1h et demie

IV.2.2.2. Préparation de la phase huileuse

- Mélanger la quantité d'huile de vaseline avec les tensioactifs (Span 80 et Tween 60) en chauffant sous agitation magnétique jusqu'à ce que la température atteigne 80°C
- Remettre la phase aqueuse à la même température que la phase huileuse (80°C)

IV.2.2.3. Étape d'émulsification

Ajouter lentement et sous agitation magnétique la phase aqueuse dans la phase huileuse puis pour former l'émulsion, utiliser un ultra turrax pendant 20min jusqu'à l'obtention d'une crème homogène et consistante.

IV.2.3. Caractérisation de la crème

IV.2.3.1. Vue sous microscope

La taille des globules est déterminée à l'aide d'un microscope optique (objectif x40) disponible au laboratoire. Une goutte d'émulsion (ni diluée, ni colorée) de la grosseur d'une tête d'épingle est déposée entre lame et lamelle. L'homogénéité ou l'hétérogénéité de l'émulsion ainsi que la forme des globules dispersés sont notées.

IV.2.3.2. Examen rhéologique

Prélever soigneusement une quantité de la crème et l'appliquer dans le système de mesure du rhéomètre. Effectuer l'analyse à 25°C. Les propriétés rhéologiques des deux échantillons ont été testées 24 heures après leur préparation.

IV.2.3.3. Stabilité à la centrifugation

5mL de chaque crème sont introduits dans des tubes à fond conique. Soumettre chaque échantillon à trois centrifugations successives de 10 minutes chacune ; la première à 1600 tours/minute, la deuxième à 3000 tours/minute et la dernière à 4000 tours/minute. Après chaque centrifugation, la présence ou non, de crémage ou de coalescence est notée.

Chapitre V :

Résultats et

discussions

Dans ce chapitre, nous présentons et discutons dans une première partie les différents résultats obtenus lors de la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'argent. Dans une seconde partie, les résultats de l'analyse des crèmes formulées sont présentés et discutés.

V.1. Synthèse des nanoparticules d'argent

V.1.1. Propriétés organoleptiques

La synthèse des AgNPs a été confirmée à première vue par le changement de couleur caractéristique, du blanc au jaune brun comme le montre la figure V.1



Figure V.1 : Mélange réactionnel (à gauche : avant broyage, à droite : après broyage)

V.1.2. Caractérisation par spectroscopie UV-vis

La formation des nanoparticules d'argent a été investiguée par Spectrophotométrie UV-Vis qui est l'une des techniques les plus importantes utilisées dans la caractérisation des nanoparticules métalliques.

La figure V.2 montre le spectre UV-Vis enregistré à partir du premier essai après broyage mécanique du nitrate d'argent mélangé au PVP K30 en fonction de la progression de la réaction.

Comme, le montre le spectre, le maximum d'absorption de l'échantillon AgNPs/PVP K30 quantifiée à 1,263, a été centré à environ 413nm. L'intensité de ce pic augmente régulièrement avec l'augmentation du temps de réaction en raison de l'augmentation du nombre des nanoparticules formées dans le mélange car l'intensité du pic d'absorption est directement proportionnelle à la densité des nanoparticules en solution.

L'intensité maximale est atteinte après 12 heures et demie de broyage indiquant la réduction complète des ions Ag^+ . Une couleur jaune intense du mélange réactionnel (figure

V.1 à droite) confirme encore la réduction complète des cations d'argent et la formation de nanoparticules d'argent.

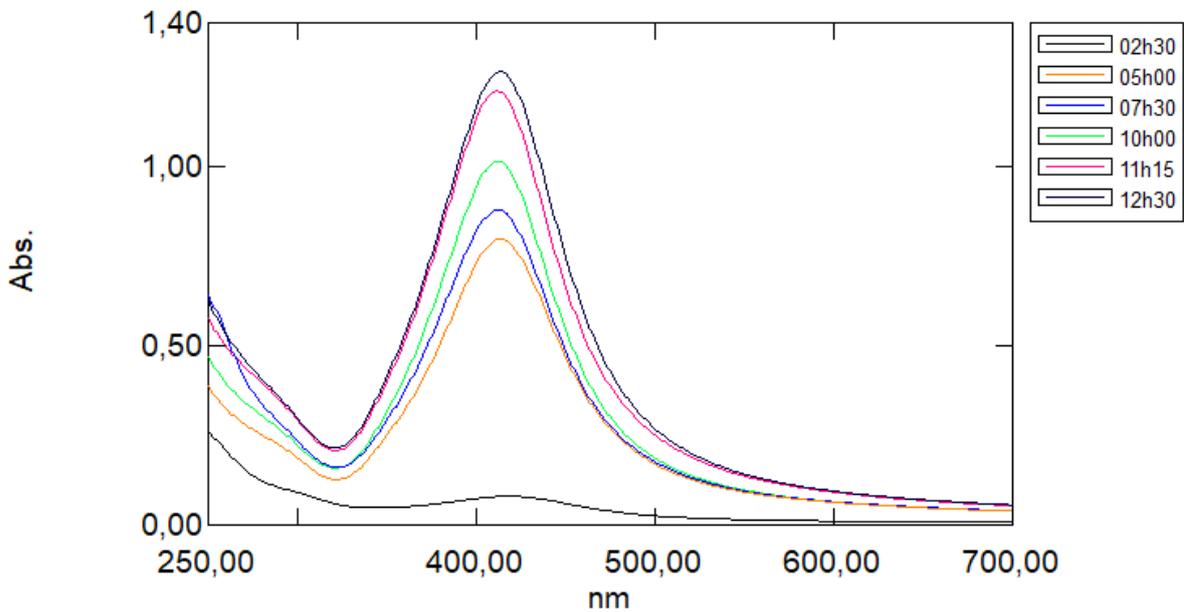


Figure V.2 : Suivi de la cinétique de synthèse par UV-vis de l'essai AgNPs/PVP K30

De même, la formation des nanoparticules d'argent par réduction des ions Ag^+ et la stabilisation des dites nanoparticules par le PVP K90 a également été surveillée par la spectroscopie UV-Vis montrée dans la figure V.3.

Le spectre montre une bande d'absorption située à environ 412nm correspondant à la résonance plasmonique de surface des nanoparticules d'argent indiquant leur formation dans le mélange réactionnel. Là encore, l'intensité augmente linéairement en fonction du temps de la réaction et une intensité maximale de 0,346 est atteinte après 7 heures et demie de broyage mécanique ce qui indique l'achèvement de la réaction. Ceci est également confirmé par la couleur brune intense du mélange réactionnel comme observé à la fin de la réaction.

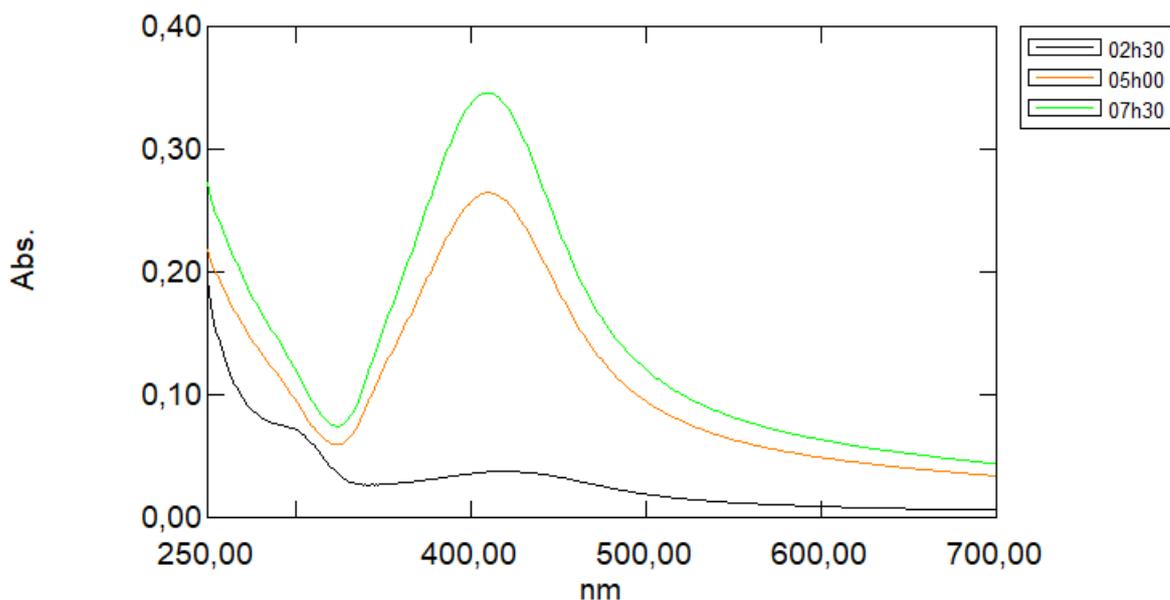


Figure V.3 : Suivi de la cinétique de synthèse par UV-vis de l'essai AgNPs/PVP K90

V.1.3. Caractérisation par FTIR

Les AgNPs préparées stabilisées avec le PVP K30 ont été caractérisées en utilisant la spectroscopie FTIR. La figure V.4 présente les Spectres FTIR du PVP K30 pur et des AgNPs/PVP K30.

Tous les pics caractéristiques des groupes $-CH$, $-CH_2$ et $-CH_3$ du PVP K30 à 2927 , 1461 et 1380 cm^{-1} , respectivement, ont été observée dans les deux cas. Dans les deux cas, en a observé un fort pic d'absorption caractéristique du groupe carbonyle du PVP K30 à 1647 et 1658 cm^{-1} respectivement. Dans le PVP K30 pur, ce pic était centré à 1647 cm^{-1} et pour les AgNPs/PVP K30, ce pic était décalé vers 1658 cm^{-1} .

La même observation a été détectée pour le pic typique de la liaison C-N, on est passé de 1288 à 1299 cm^{-1} .

Ces déplacements ont été associés à la formation de liaisons de coordination entre les atomes d'argent et les atomes d'oxygène ou d'azote provenant d'unités de PVP K30.

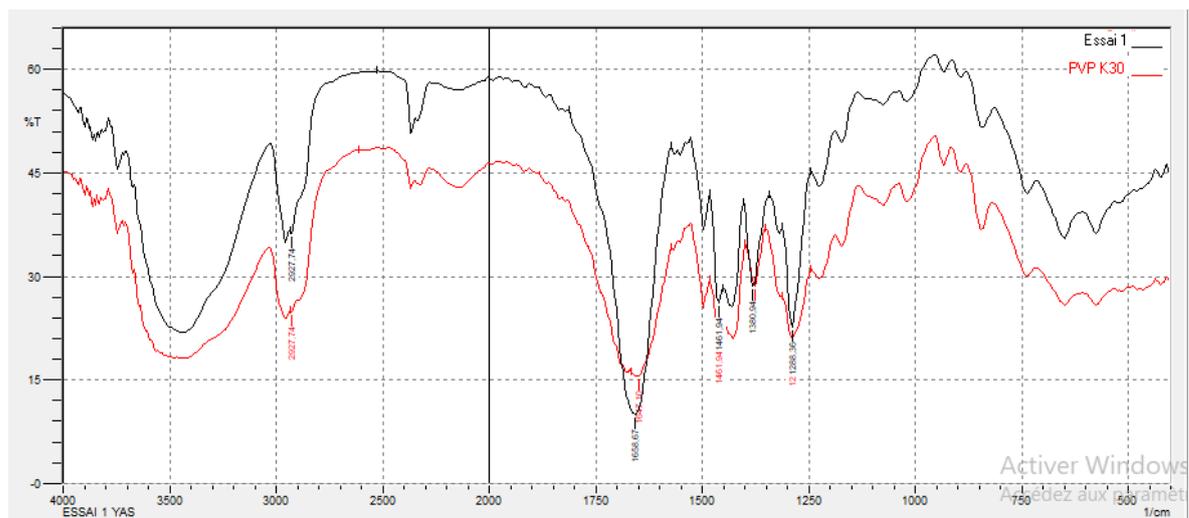
Le mécanisme de formation des AgNPs a été étudié en utilisant des analyses spectroscopiques FTIR. Pour cela, le spectre FTIR de l'échantillon AgNPs/PVP K90 a été comparé à celui du PVP K90 (figure V.5).

Aucun changement dans la bande d'absorption carbonyle (C=O) du PVP K90 dans l'échantillon en question par rapport au PVP K90 lui-même à 1643 cm^{-1} indiquant que le groupement C=O n'est pas impliqué dans la réduction de l' AgNO_3 et la stabilisation des AgNPs synthétisées.

Une nouvelle petite bande pour le C-N à 1074 cm^{-1} pour l'échantillon ainsi qu'une bande à 1022 cm^{-1} pour le PVP K90 seulement ont été observées, qui sont indicatives de l'implication des électrons d'azote du pyrrolidone dans la formation des AgNPs. Les fréquences de vibration de ces liaisons C-N, où les atomes d'azote étaient impliqués dans la formation des AgNPs ont été décalées de 1022 à 1074 cm^{-1} . Mais les liaisons C-N où les atomes N n'étaient pas impliqués dans la formation des AgNPs sont restées à la même position.

De plus l'élargissement de la bande à 2927 cm^{-1} , qui est attribué à l'étirement de la liaison $>\text{C-H}$ attaché à l'anneau pyrrolidone est également en faveur de l'implication de l'anneau dans la croissance des AgNPs.

Par conséquent, on peut dire du déplacement de la fréquence de vibration C-N dans les études spectroscopiques IR que l'azote pyrrolidone est responsable de la réduction des ions Ag^+ en argent métal et peut être pour la stabilisation ultérieure des AgNPs



synthétisées.

Figure V.4 : Superposition des spectres FTIR des AgNPs/PVP K30 et du PVP K30 pur

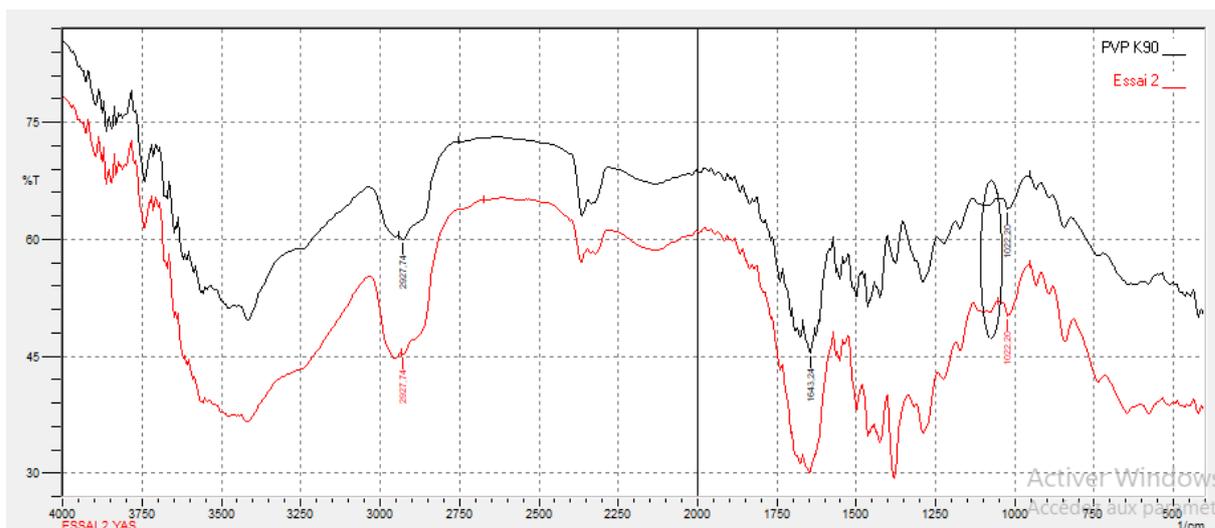


Figure V.5 : Superposition des spectres FTIR des AgNPs/PVP K90 et du PVP 90 pur

V.1.4. Caractérisation par la DLS

Le diamètre hydrodynamique moyen des nanoparticules d'argent synthétisées avec deux grades différents de PVP a été déterminé par le moyen de la DLS et les graphes de distribution de taille sont présentés dans les figures V.6 et V.7.

Il est important de préciser que la distribution de la taille est bimodale dans les deux cas d'études. L'analyse sur le premier essai montre une première population d'un diamètre de 106,4 nm et une deuxième de 19,57 nm de diamètre avec une intensité de pic de 88,1 et 11,9 %, respectivement. Quant aux AgNPs/PVP K90, une première population s'affiche avec 92,8% d'intensité à 111,1 nm de diamètre. Un deuxième pic à 22,15 nm d'une intensité de 7.2% représente la deuxième population.

Cette variation de la taille des nanoparticules synthétisées pourrait être attribuée à l'effet de la différence des masses moléculaires des deux grades de PVP utilisé comme agent à la fois réducteur et stabilisant. Le système stabilisé par le PVP de plus faible poids moléculaire a produit des nanoparticules plus petites tandis que le système de plus grand poids moléculaire a généré des nanoparticules plus grandes.

On pourrait supposer que pendant la synthèse des nanoparticules, une extrémité du polymère stabilisateur puisse s'attacher aux particules d'argent tandis que le reste de la chaîne forme une couche autour d'eux. Le degré de couverture autour des nanoparticules augmente avec l'augmentation du poids moléculaire du polymère ayant pour résultat de plus grosses nanoparticules comparées à celles d'un système utilisant un polymère de poids moléculaire plus faible.

La présence d'une distribution bimodale pourrait avoir un effet sur le mécanisme d'action des nanoparticules d'argent contre les microorganismes. Oldenburg rapporte que les nanoparticules d'argent ont la capacité de s'attacher et de pénétrer la paroi cellulaire bactérienne, produisant ainsi des modifications structurelles dans la paroi bactérienne, induisant une perméabilité accrue et la mort des cellules [102]. De cette façon expliquent, Buzea et al., que des trous apparaîtront à la surface de la cellule à travers lesquels des agglomérations des nanoparticules d'argent peuvent y pénétrer [103].

Par déduction, on peut dire que les AgNPs de la population ayant un petit diamètre vont ouvrir le chemin aux plus grosses nanoparticules de la deuxième population pour pénétrer la paroi cellulaire et faire leur travail.

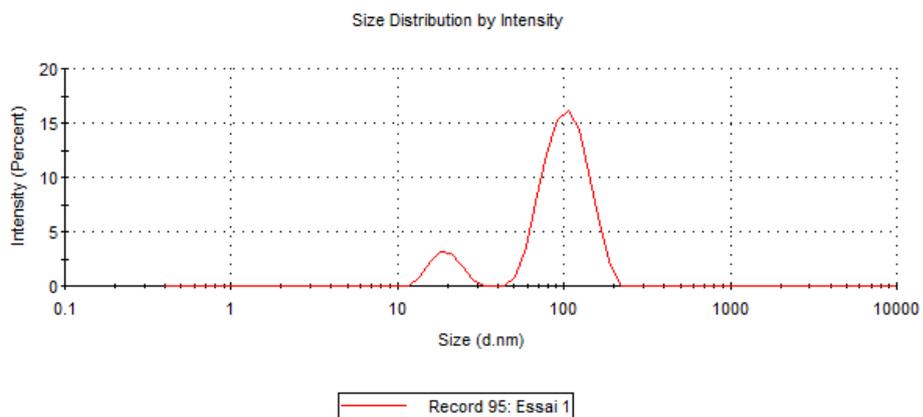


Figure V.6 : Distribution de taille des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

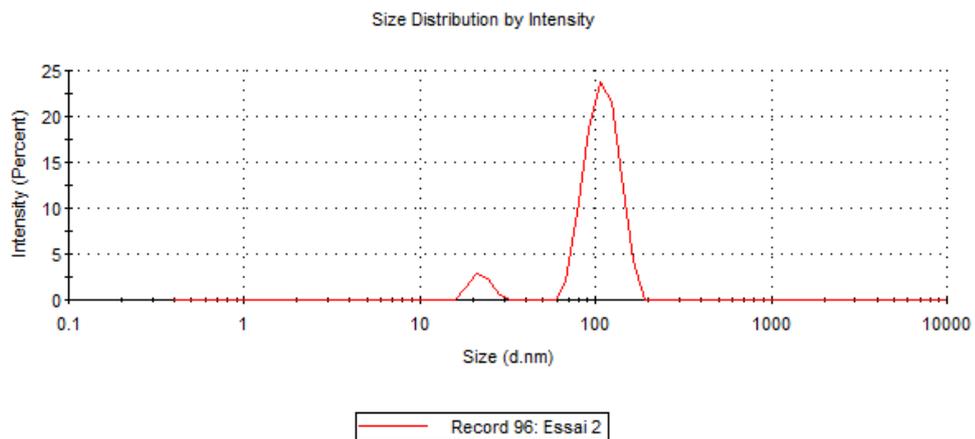


Figure V.7 : Distribution de taille des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

V.1.5. Caractérisation par le potentiel zêta

Il est connu que la stabilité des nanoparticules dépend principalement de leur charge extérieure (potentiel zêta).

Le potentiel zêta à la surface des AgNPs s'est avéré être de -6.79 et -3.61 mv pour l'essai AgNPs/PVP K30 et l'essai AgNPs PVP K90 présentés dans les figures V.8 et V.9, respectivement.

Par conséquent, on peut prévoir que les AgNPs synthétisées ont une bonne stabilité dans l'eau en raison des forces répulsives électrostatiques.

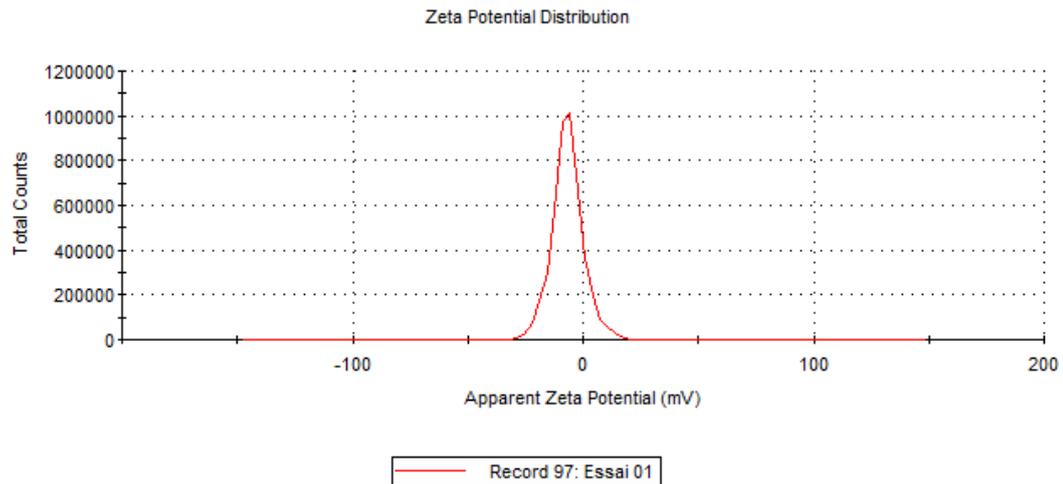


Figure V.8 : Potentiel zêta de l'échantillon AgNPs/PVP K30

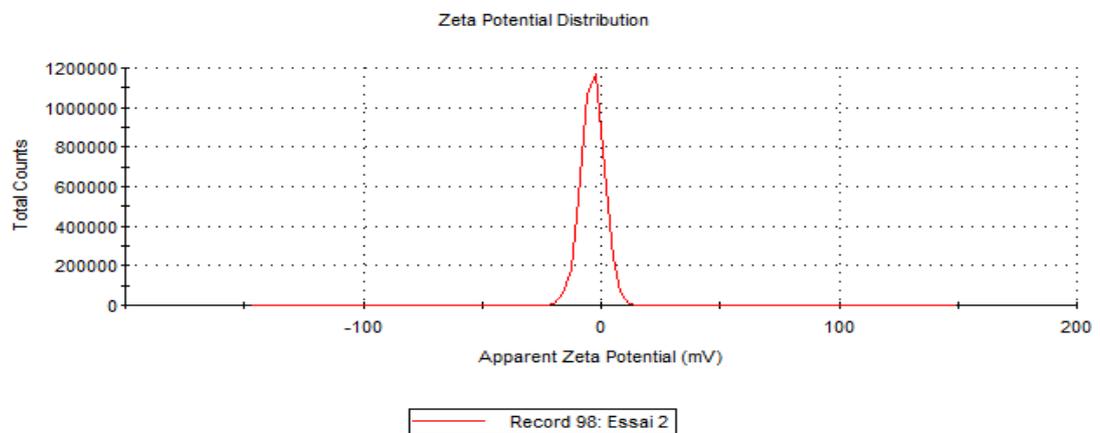


Figure V.9 : Potentiel zêta de l'échantillon AgNPs/PVP K90

V.1.6. Caractérisation par la DRX

Les échantillons finaux, dénommés AgNPs/PVP K30 et AgNPs/PVP K90, ont été examinés par la DRX : les figures V.10 et V.11 montrent les profils DRX de ces deux échantillons respectivement. Les deux modèles DRX révèlent que l'argent élémentaire se forme dans les deux systèmes après l'arrêt du broyage mécanique.

Les pics de diffraction autour des valeurs 2θ de $37,7^\circ$, $44,0^\circ$, $64,2^\circ$, 79° et 81° correspondent aux plans (111), (200), (220), (311) et (222) de l'argent, respectivement et les positions des pics sont en bon accord avec les valeurs de la littérature [104].

Le seul point de différence à signaler entre les résultats des deux essais est bien l'intensité des pics. Les pics de diffraction montrés dans la figure V.10 correspondant aux AgNPs/PVP K30 sont plus importants en termes d'intensité que ceux correspondant aux AgNPs/PVP K90.

Ces résultats sont ainsi en parfaite concordance avec les résultats de la spectrophotométrie UV-Vis où l'absorbance attribuée aux AgNPs/PVP K30 en fin de broyage est plus importante que celle attribuée aux AgNPs/PVP K90 et ce, indique que la quantité de nanoparticules d'argent synthétisées lors de l'essai avec le PVP K30 est plus important que la quantité synthétisée en utilisant le grade K90 de PVP.

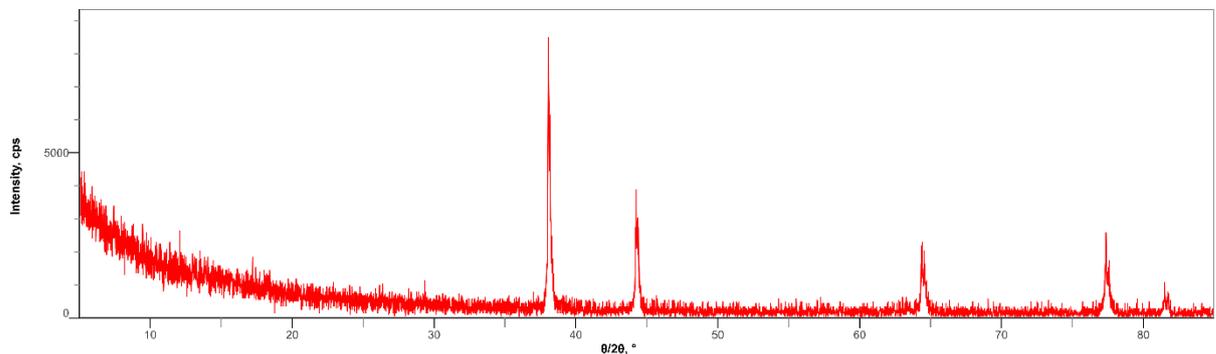


Figure V.10 : Spectre DRX représentatif des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

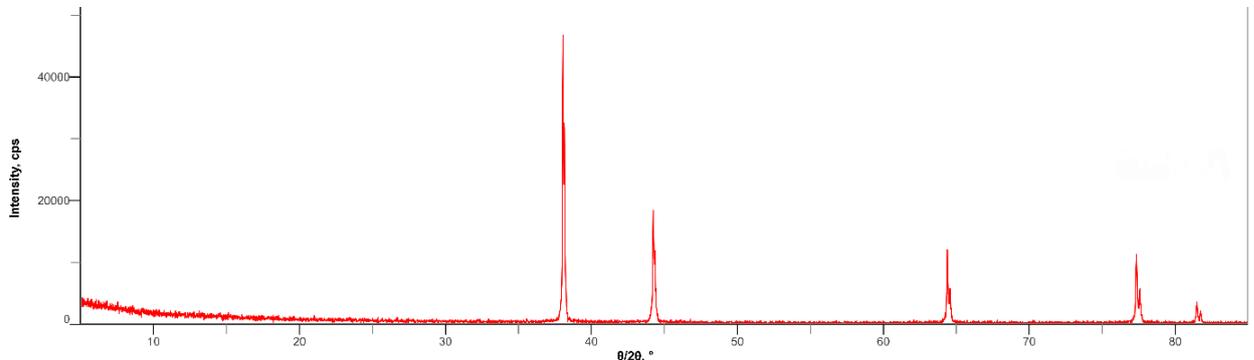


Figure V.11 : Spectre DRX représentatif des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

V.1.7. Activité antibactérienne

Afin d'étudier l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent synthétisées, trois types de bactéries (un gram positif et deux gram négatif) ont été soumis à différentes concentrations des échantillons de l'essai AgNPs/PVP K30 et AgNPs/PVP K90 ainsi qu'à des témoins négatifs comme le nitrate d'argent, le PVP et l'eau distillée.

Les résultats ont montré qu'aucun des réactifs utilisés ne possédait une activité antimicrobienne à l'exception du nitrate d'argent qui est bien la source des nanoparticules d'argent.

Les résultats des échantillons des deux essais ont démontré que les AgNPs se comportent différemment envers diverses bactéries, cependant, l'activité antimicrobienne des dites nanoparticules a été observée dans tous les échantillons étudiés.

L'activité antimicrobienne des nanoparticules préparées avec le PVP K30 était plus élevée que celle des nanoparticules préparées avec le grade K90, présentant ainsi, dans les cas du premier essai, une concentration minimale inhibitrice plus faible.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* étaient résistantes aux plus faibles concentrations (17,5 ; 8,75 ; 4,375 et 2,1875 ppm). Quant à *Escherichia coli*, on remarque le même profil de résistance sauf à 17,5 ppm où les nanoparticules ont un effet minime.

Comme témoin, une solution de nitrate d'argent à 10mM a été choisie pour prouver que l'activité antimicrobienne soulignée provienne uniquement de l'argent.

Dans le cas de l'essai AgNPs/PVP K90, une activité moins importante a été signalée. Les témoins utilisés dans ce cas à savoir l'eau distillée et la dispersion de PVP n'ont présenté aucune activité contre les souches testées.

La poudre de nanoparticules d'argent provenant de ce dernier essai n'a pas montré d'inhibition aux bactéries ni gram positif ni gram négatif à très faibles concentrations (23,025 et 11,5125 ppm) sauf dans le cas de *Escherichia coli* qui, à 23,025 ppm, a été inhibée.

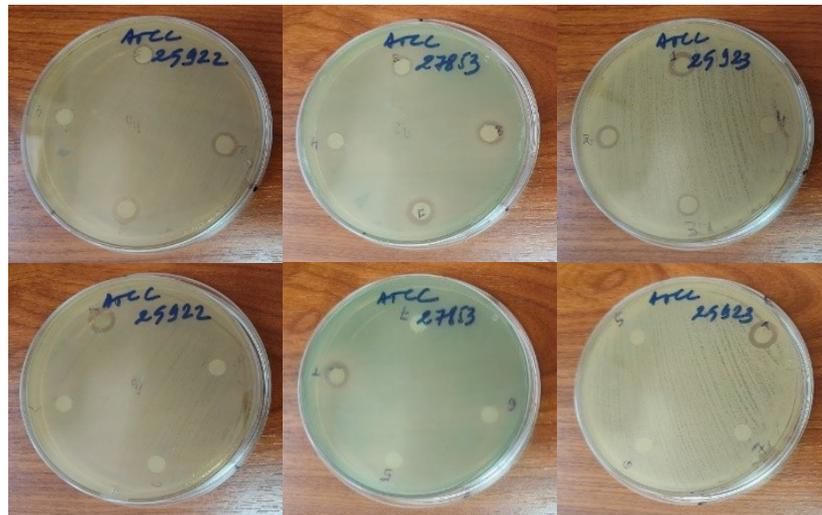


Figure V.12 : Antibiogramme des AgNPs synthétisées avec le PVP K30

Tableau V.1 : Récapitulatif des diamètres d'inhibition de l'antibiogramme

Souche	AgNPs/PVP K30		AgNPs/PVP K90	
	Code	Diamètre	Code	Diamètre
ATCC 27853	1	10mm	1	9mm
	2	9mm	2	8mm
	3	7mm	3	7mm
	4	/	4	/
	5	/	/	/
	6	/	/	/
	7	/	E	/
	T	/	PVP	/
ATCC 25923	1	10mm	1	8mm
	2	9mm	2	7mm
	3	8mm	3	/
	4	/	4	/
	5	/	/	/
	6	/	/	/
	7	/	E	/
	T	11mm	PVP	/
ATCC 25922	1	9,5mm	1	9mm
	2	9mm	2	8mm
	3	8mm	3	/
	4	6,5mm	4	/
	5	/	/	/
	6	/	/	/
	7	/	E	/
	T	10mm	PVP	/



Figure V.13 : Antibiogramme des AgNPs synthétisées avec le PVP K90

V.2. Caractérisation de la crème formulée

V.2.1. Vue sous microscope

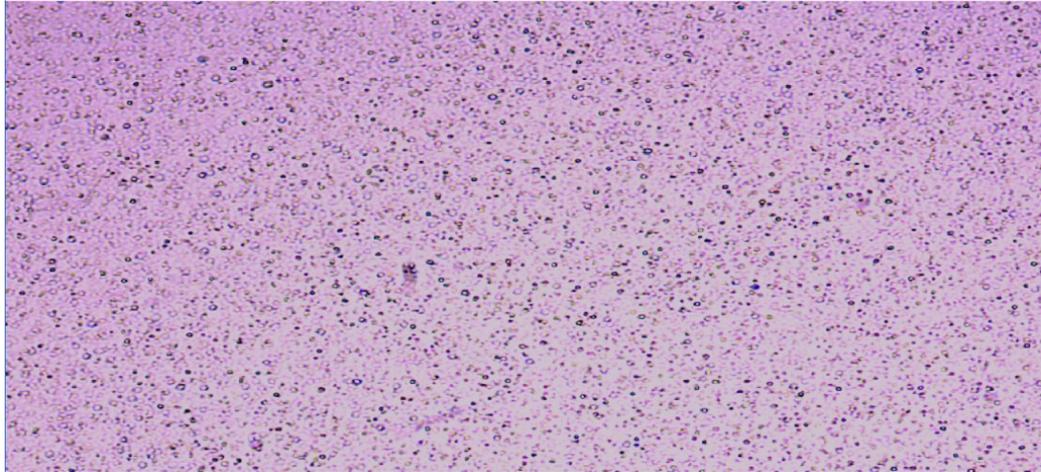


Figure V.14 : Photo sous microscopique de la crème placebo grossissement x10

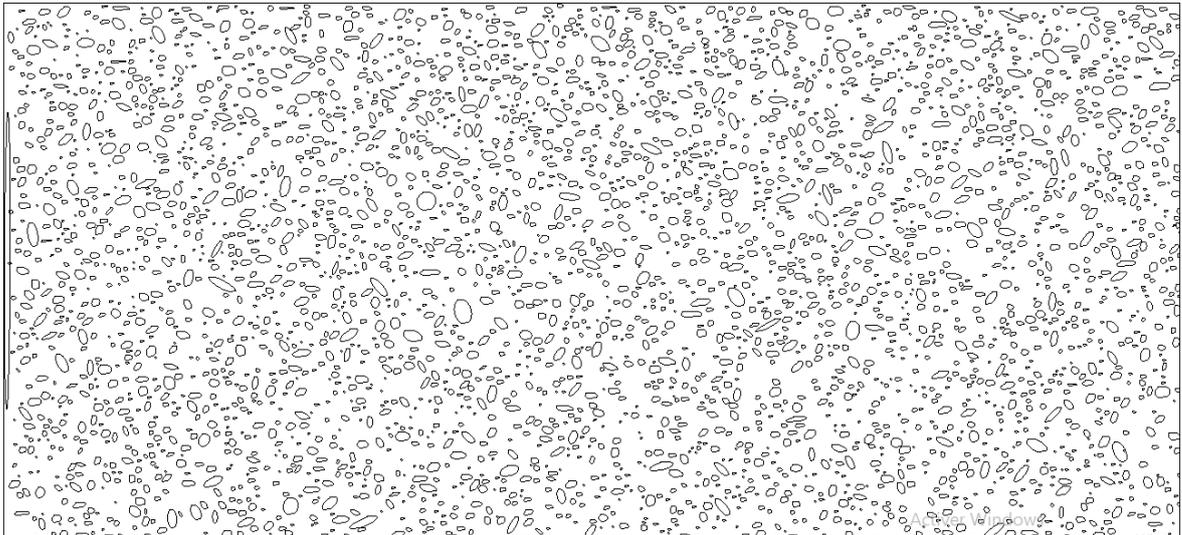


Figure V.15 : Traitement de la photo sous microscopique de la crème placebo grossissement x10 par le logiciel ImageJ

Dans la figure V.14, est présentée la vue sous microscope du crème placebo avec un grossissement de x10. Nous remarquons que la taille des gouttelettes est très petite même à ce niveau de grossissement. Le passage vers un grossissement de x40 affectera la qualité ainsi que la netteté de la prise.

De ce fait, et dans le but d'améliorer la visibilité de l'image, nous avons traité la capture avec le logiciel ImageJ et obtenu la représentation dans la figure V.15.

Les résultats de ce traitement montrent une homogénéité dans la taille des gouttelettes ainsi que dans leur forme ellipsoïdale.

V.2.2. Caractérisation rhéologique

Les courbes d'écoulement du crème placebo et celle contenant les AgNPs sont représentées dans les figures V.15 et V.16 respectivement.

Il a été remarqué que les deux préparations présentent un comportement d'écoulement non-Newtonien. Une viscosité constante (η_0) est obtenue à des très faibles taux cisaillement. Ceci indique que les crèmes formulées résistent aux forces externes avant de s'écouler.

Les valeurs de η_0 des deux crèmes sont comprises entre 1080 et 2840 Pa. s et sont appropriées pour les formulations semi-solides à usage topique.

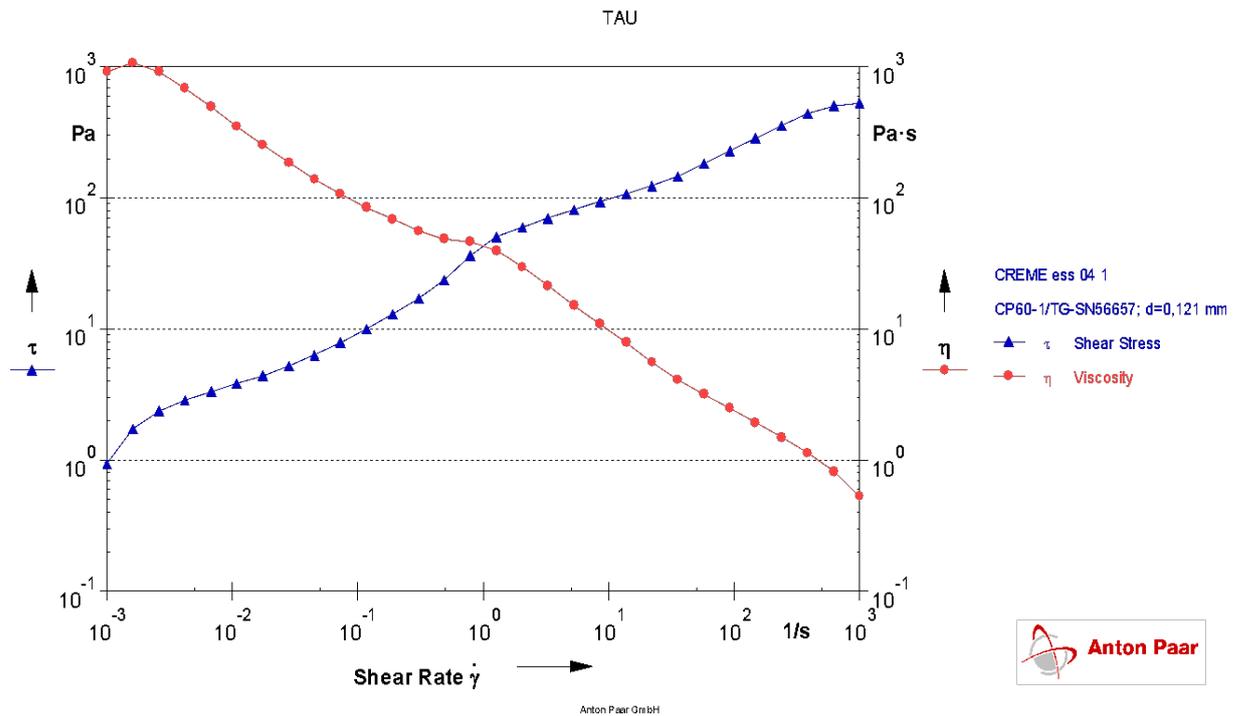


Figure V.16 : Courbe d'écoulement de la crème placebo

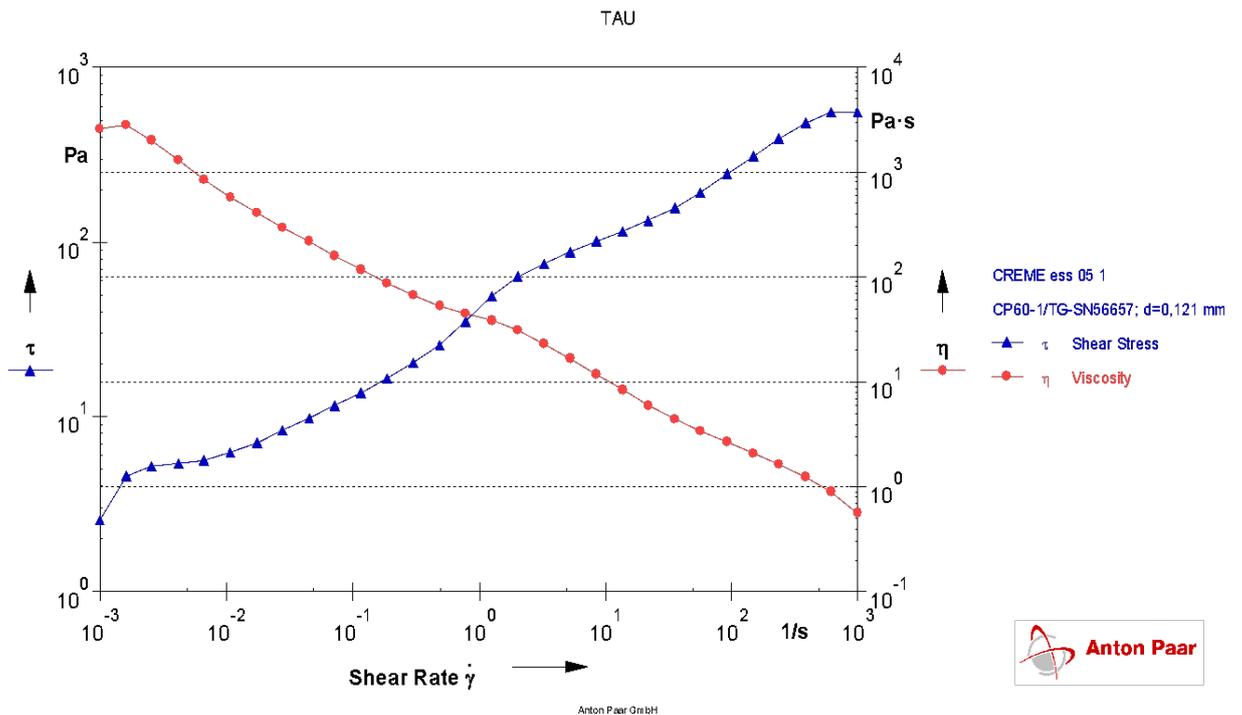


Figure V.17 : courbe d'écoulement de la crème après incorporation des AgNPs

V.2.3. Résistance à la centrifugation

Après centrifugation de la crème, il n'y a pas eu de déphasage observable entre les composants. La préparation est restée homogène et aucune séparation de phases distinctes n'a été détectée, indiquant une excellente stabilité et une compatibilité élevée entre les composants.

Ce résultat suggère que les interactions interarticulaires sont suffisamment fortes pour maintenir l'intégrité de la crème sous les conditions de centrifugation appliquées ce qui est prometteur pour son utilisation nécessitant une stabilité élevée.



Figure V.18 : Photographie de la crème après le test de centrifugation (à gauche : placebo, à droite : crème + AgNPs/ PVP K30)

Conclusion générale

Ces dernières années, on s'intéresse de plus en plus à l'étude de nouvelles nanoparticules métalliques. En particulier, les nanoparticules d'argent qui sont reconnues pour leur activité antimicrobienne exceptionnelle, couvrant une large gamme de microorganismes, y compris les bactéries, les champignons, et certains virus. Cette propriété en fait d'eux des agents précieux pour diverses applications médicales et industrielles.

Dans ce travail, nous avons synthétisé avec succès des nanoparticules d'argent par une méthode à la fois chimique et mécanique en utilisant le PVP comme agent réducteur et stabilisant. Nous avons réussi aussi à optimiser les paramètres opérationnels pour la synthèse des nanoparticules d'argent. La synthèse de ces dernières a été confirmée dans un premier temps par un changement de couleur caractéristique, du blanc au jaune brun. Par la suite, nous avons soumis ces nanoparticules à diverses caractérisations telles que l'UV-vis, la FTIR, la DLS, le potentiel zêta, la DRX ainsi qu'un test de l'activité antimicrobienne. La présente étude indique la synthèse chimique des nanoparticules d'argent très stables.

Dans un deuxième volet du travail, nous avons incorporé avec succès les nanoparticules d'argent synthétisées par cette nouvelle voie dans une crème.

Les spectres UV-Vis des nanoparticules d'argent montrent un pic d'absorption caractéristique autour de 413 nm, confirmant leur formation. Les spectres FTIR obtenus ont révélé les groupes fonctionnels du polymère entrant dans la formation et la stabilisation des dites nanoparticules. La caractérisation par DLS des nanoparticules d'argent synthétisées avec le PVP K30 présentent une taille moyenne de 77,50 nm tandis qu'une taille moyenne de 95,61 nm est attribuée aux nanoparticules d'argent préparées avec du PVP K90. La caractérisation par le potentiel zêta à la surface des AgNPs a donné des valeurs entre -6.79 et -3.61 mv pour les AgNPs/PVP K30 et AgNPs/PVP K90 respectivement et on peut donc prévoir que les AgNPs ont une bonne stabilité en dispersion en raison des forces répulsives électrostatiques. Les résultats de la DRX ont affirmé que les nanoparticules d'argent possédaient une structure cristalline cubique centrée sur les faces caractéristique de l'argent métallique. Les pics de diffraction observés à des angles 2θ de $37,7^\circ$, $44,0^\circ$, $64,2^\circ$, 79° et 81° correspondent aux plans (111), (220), (311) et (222) de l'argent, respectivement et les positions des pics sont en bon accord avec les valeurs de la littérature. Les nanoparticules d'argent ont démontré une activité antimicrobienne avec un diamètre d'inhibition entre 7mm et 10mm et une concentration minimale inhibitrice de 35ppm.

Les résultats de caractérisation rhéologiques des deux préparations, placebo et avec AgNPs/PVP K30, ont révélé un comportement d'écoulement non-Newtonien et présentent une crème de bonne qualité.

Comme perspective nous proposons :

- Travailler avec un broyeur plus performant pour réduire le temps de la réaction
- Tester d'autres polymères ou l'ajout d'un agent réducteur
- Mieux caractériser la crème formulée

Références bibliographiques

- [1] K.Janssens et R. V. Grieken, «MICROANALYSE NON DESTRUCTIVE DES MATERIAUX DU PATRIMOINE CULTUREL», 2004, pp.45.
- [2] Hosseinpour-Mashkani SM, Ramezani M. Silver and silver oxide nanoparticles: Synthesis and characterization by thermal decomposition. *Materials Letters*, 2014,130:259–62.
- [3] Étienne Klein, Vincent Bontems, Alexei Grinbaum, Nanosciences : les enjeux du débat, Dans *Le Débat*, (n° 148),_2008 pp 65 -79.
- [4] Chuto, P Chaumet-Riffaud, *Médecine Nucléaire* 34 (6), 2010, pp 370-376.
- [5] Zeyons, Ophélie, Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. s.l. : Université Pierre et Marie Curie – Paris,2008, pp. 23.
- [6] SAJID, M, et al., Impact of nanoprticles on human and environemnt : review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environ sci pollut res Int.* 22, 2015, pp. 4122- 43.
- [7] M.N., Khebbeb, Evaluation d'une toxicité induite par des nanoparticules (ZnO) sur deux modèles biologiques unicellulaires (*Saccharomyces cerevisiae* et *Paramecium* sp. Thèse de doctorat: toxicologie, Université badji mokhtar Annaba, .2015,p 18.
- [8] <https://typeset.io/journals/research-journal-of-pharmacology-and-pharmacodynamics-3jt604fw>. Consulté le 25/05/2024.
- [9] kante sékou Diallo Youssouf, SNV, STU, review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 4(2), 2019, pp.3765-3775.
- [10] S. L. Gafner, D.A. Bashkova, Yu Ya Gafner, Temperature-induced, structure evolution of Ag nanoparticles, article._2018, pp 12-56.
- [11] P. Mulvaney. « SPECTROSCOPIE PLASMONIQUE DE SURFACE DES PARTICULES METALLIQUES NANOMETRIQUES », *Article citations*, 1996 pp. 12-788.
- [12] Yusuf, M.,Silver Nanoparticles: Synthesis and Applications. *Handbook of Ecomaterials*, 2019. pp.2343-2356.
- [13] Karolina Jurkiewicz, Michal Kaminski, A. Bródka, Andrzej Burian, Atomistic origin of nano-silver paracrystalline structure: molecular dynamics and x-ray diffraction studies, *Journal of Physics: Condensed Matter - Vol. 34*
- [14] Zhengdong D. Zhang, Y. Bai, Xinru Li, Tao Ouyang, Yuwei Yan, Nan Sun, Jianqi Liu, Xiaoming Cai, Jinming Cai, Hong Ling Tan, _2023, Plasmonic properties of

Ag@TiO₂ nanostructures improve the graphitization of polyacrylonitrile and the mechanism, *Journal of Materials Research*.

[15] S. D. Al-Malwi, Rahmah H. AL-Ammari, Abdulmohsen Ali Alshehri, Katabathini Narasimharao, Influence of Synthesis Conditions on Physicochemical and Photocatalytic Properties of Ag Containing Nanomaterials, *Catalysts*, 2022, pp.19-21.

[16] Xiaoyu Zhu, Huiying Liu, Ying-Ju Wu, Jing Ye, Yacheng Li, Zhendong Liu, Preparation and catalytic properties of polydopamine-modified polyacrylonitrile fibers functionalized with silver nanoparticles, *RSC Advances*, 2022, pp.11.

[17] Calderón-Jiménez, B., Johnson, M.E., Montoro Bustos, A.R., Murphy, K.E., Winchester, M.R. and Vega Baudrit, J.R., 2017, Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in chemistry*, 5, pp.6.

[18] Verma, P. and Maheshwari, S.K., 2019. Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors. *International Journal of Nano Dimension*, 10(1), pp.18-36.

[19] Hamouda, R.A. ; Abd El-Mongy, M. ; Eid, K.F. Comparative Study between Two Red Algae for Biosynthesis Silver Nanoparticles Capping by SDS : Insights of Characterization and Antibacterial Activity. *Microb. Pathog.* 2019, 129, 224–232.

[20] Mukundan, D. ; Mohankumar, R. ; Vasanthakumari, R. Comparative Study of Synthesized Silver and Gold Nanoparticles Using Leaves Extract of *Bauhinia Tomentosa* Linn and Their Anticancer Efficacy. *Bull. Mater. Sci.* 2017, 40, 335–344.

[21] Huh, A.J. ; Kwon, Y.J. “Nanoantibiotics” : A New Paradigm for Treating Infectious Diseases Using Nanomaterials in the Antibiotics Resistant Era. *J. Control. Release* 2011, 156, 128–145.

[22] Loo, Y.Y. ; Rukayadi, Y. ; Nor-Khaizura, M.-A.-R. ; Kuan, C.H. ; Chieng, B.W.; Nishibuchi, M.; Radu, S. In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-Negative Foodborne Pathogens. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 1555.

[23] Bruna, T.; Maldonado-Bravo, F.; Jara, P.; Caro, N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 7202.

[24] Yin, I.X.; Zhang, J.; Zhao, I.S.; Mei, M.L.; Li, Q.; Chu, C.H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *IJN* 2020, 15, 2555–2562.

[25] Kalwar, K.; Shan, D. Antimicrobial Effect of Silver Nanoparticles (AgNPs) and Their Mechanism—A Mini Review. *Micro Amp. Nano Lett.* 2018, 13, 277–280.

- [26] Shaikh, S. ; Nazam, N.; Rizvi, S.M.D.; Ahmad, K.; Baig, M.H.; Lee, E.J.; Choi, I. Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 2468.
- [27] Wahab, S. ; Khan, T. ; Adil, M. ; Khan, A. Mechanistic Aspects of Plant-Based Silver Nanoparticles against Multi-Drug Resistant Bacteria. *Heliyon* 2021, 7, e07448.
- [28] Mendes, C.R. ; Dilarri, G. ; Forsan, C.F. ; Sapata, V.D.M.R. ; Lopes, P.R.M. ; de Moraes, P.B. ; Montagnolli, R.N. ; Ferreira, H. ; Bidoia, E.D. Antibacterial Action and Target Mechanisms of Zinc Oxide Nanoparticles against Bacterial Pathogens. *Sci. Rep.* 2022, 12, 2658.
- [29] Anees Ahmad, S. ; Sachi Das, S. ; Khatoon, A. ; Tahir Ansari, M. ; Afzal, M. ; Saquib Hasnain, M.; Kumar Nayak, A. Bactericidal Activity of Silver Nanoparticles: A Mechanistic Review. *Mater. Sci. Energy Technol.* 2020, 3, 756–769.
- [30] Xu, L. ; Wang, Y.-Y. ; Huang, J. ; Chen, C.-Y. ; Wang, Z.-X. ; Xie, H. Silver Nanoparticles : Synthesis, Medical Applications and Biosafety. *Theranostics* 2020, 10, 8996–9031.
- [31] Jin, J. ; Wu, Y. ; Liang, L. ; Wei, Y. ; Zheng, X. ; Chen, Y. Altering Silver Nanoparticles-Induced Inhibition to Bacterial Denitrification via Visible Light by Regulating Silver Transformation and Adaptive Mechanism under Anaerobic Conditions. *Chem. Eng. J.* 2023, 452, 139268.
- [32] Dakal, T.C. ; Kumar, A. ; Majumdar, R.S. ; Yadav, V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1831.
- [33] Arif, R. ; Uddin, R. A Review on Recent Developments in the Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Biomedical Applications. *Med. Devices Sens.* 2021, 4, 10158.
- [34] Kumar, H., Venkatesh, N., Bhowmik, H. and Kuila, A., 2018, Metallic nanoparticle : a review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 4(2), pp.3765-3775.
- [35] Pal, S.L., Jana, U., Manna, P.K., Mohanta, G.P. and Manavalan, R., 2011. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of applied pharmaceutical Science*, 1(6), pp.228-234.
- [36] Parveen, K., Banse, V. and Ledwani, L., 2016, April. Green synthesis of nanoparticles : their advantages and disadvantages. In *AIP conference proceedings*. AIP Publishing LLC.1724(1), pp. 20-48.
- [37] Hoet, P.H., Brüske-Hohlfeld, I. and Salata, O.V., 2004. Nanoparticles—known and unknown health risks, *Journal of nanobiotechnology*, 2(1), pp.1-15.

- [38] Gulati, S., Sachdeva, M., & Bhasin, K. K., 2018. Various synthetic routes for the preparation of nanoparticles. In AIP Conference Proceedings, 1953(1), pp. 30215.
- [39] Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D., 2019. Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications, *Journal of Microbiological Methods*, 163, pp.105656.
- [40] Silva, G. A., Neuroscience nanotechnology: progress, opportunities and challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1),2006, pp.65-74.
- [41] BROUGUI, M & al, 2020. Nanomonde. In Didaquest [en ligne]. <http://www.didaquest.org/wiki/Nanomonde>. Consulté le 26/05/2024.
- [42] S. Kulkarni, Nanotechnology: Principles and Practices, New Delhi: Capital Publishing Company, India, 2015, pp.45.
- [43] Omar BAJJOU, Méthodes de synthèse des nanomatériaux, Université de Fès, Faculté de sciences de Fès, Maroc, 2021, pp. 23.
- [44] Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D., Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications. *Journal of Microbiological Methods*, 163,2019, p.105656.
- [45] Ayesha Arshad., 2017. Bacterial Synthesis and Applications of Nanoparticles. *Nano Science & Nano Technology : an Indian Journal*, 11(2), p.119.
- [46] Carla Pires ,2023 - Biology Method and Mechanism of Antimicrobial Action of Silver Nanoparticles, *Materials research foundations (Materials research foundations)* - pp 162-176.
- [47] Keisaku Kimura and Shunji Bandow, 1988, Quantum size effect observed in ultrafine magnesium particles *Phys,Rev. B* 37, 4473.
- [48] Kangkana Banerjee, V. Ravishankar Rai, University of Mysore (Elsevier), Silver nanoparticles synthesis mechanisms, pp .607-625.
- [49] Dongmei Xu, Lianzheng Zhang, Jun Gao, Dhakal Pratik, Liwen Zhao, Zhifang Cui,Liquid-liquid equilibrium for ternary systems of ethyl acetate/isopropyl acetate + 2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol + water at 298.15, 318.15 K,College of Chemical and Environmental Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao 266590, China,2017,pp.218-227.
- [50] Loc Tran 1, Linda Nunan, Rita M Redman, Leone L Mohny, Carlos R Pantoja, Kevin Fitzsimmons, Donald V Lightner,Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp,2013,pp.45.55.

- [51] Ghada A. Soliman, Dietary Cholesterol and the Lack of Evidence in Cardiovascular Disease, Department of Environmental, Occupational, and Geospatial Health Sciences, CUNY Graduate School of Public Health and Health Policy, The City University of New York, 55 W. 125th Street, New York, NY 10027, USA, 2018, 780.
- [52] Hao Liu, Ryutaro Himeno, Shigeo Noda, Zhang Xiancheng, International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering-2, 2016, pp.12.
- [53] Buddhika Indeewarie Keerawelle, Adikari Mudiyanseelage Ruhunu Chamara, Gobika Thiripuranathar, GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES VIA MEDICINAL PLANT EXTRACTS AND THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITIES, World Journal of Pharmaceutical Research 8(7), 2019, pp.100-111.
- [54] Chauvel R, Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie université claud bernard lyon, 2018, 1, pp.105.
- [55] Sang Hun Lee, Bong-Hyun Jun, Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine, Department of Bioscience and Biotechnology, Konkuk University, 1 Hwayang-dong, Gwanjin-gu, Seoul 143-701, Korea, 2019, 20(4), pp.865.
- [56] Muhammad, N., Maina, B. M.; Aljameel, K. M.; Maigandi, S. A.; Buhari, S., Nutrient intake and digestibility of Uda rams fed graded levels of *Parkia biglobosa* (African locust bean) yellow fruit pulp. Int. J. Livest. Res., 6 (5), 2016, pp.33-42.
- [57] Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X.J., Ying, A.N.J., Verma, N.K., Beuerman, R.W., Lakshminarayanan, R. and Ramakrishna, S., 2015. Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications : a comprehensive overview. Rsc Advances, 5(127), pp.105003-105037.
- [58] Oger Raphaël · Oliveira Nunes Andréa · Oliveira Paulo Filho, 2015, Marques de Oliveira Ecole nationale des Mines d'Albi-Carmaux, pp.56-59.
- [59] Heinicke, G. Tribochemistry; C. Hanser, 1984. Takacs, L. M. Carey Lea, the first mechanochemist. J. Mater. Sci. 2004, 39, pp.4987-4993.
- [60] Liu, X, Li, Y, Zeng, L, Li, X, Chen, N, Bai, S, He, H, Wang, Q, Zhang, C, 2022, A Review on Mechanochemistry: Approaching Advanced Energy Materials with Greener Force. Adv. Mater, 34, pp. 2108327.
- [61] Mirzaei, A., Janghorban, K., Hashemi, B. et al. Characterization and optical studies of PVP-capped silver nanoparticles. J Nanostruct Chem 7, 37–46 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40097-016-0212-3>

- [62] A. Hebeish, Th. I. Shaheen, Mehrez E. El-Naggar, Solid state synthesis of starch capped silver nanoparticles, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 87, 2016, Pages 70-76.
- [63] Debnath D, Kim C, Kim SH, Geckeler KE. Solid-State Synthesis of Silver Nanoparticles at Room Temperature: Poly(vinylpyrrolidone) as a Tool. *Macromol Rapid Commun.* 2010 Mar 16;31(6):549-53. doi: 10.1002/marc.200900656. Epub 2009 Dec 29. PMID: 21590940.
- [64] Maxime Patry, 2012, SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION D'UN MIROIR LIQUIDE À BASE DE NANOPARTICULES D'ARGENT, pp. 17.
- [65] Israa M. Abdulraheem, Ziad T. Khodair, Ammar Ayesh Habeeb, 2023, Preparation and Characterization of Silver Nanoparticles (AgNPs) by Pulsed Laser Ablation in Liquid, journal article, 2023.
- [66] Nitin Sharma, Jyotsna Vishwakarma, Summi Rai, Taghrid S. Alomar, Najla AlMasoud, A. Bhattarai, 2022, Green Route Synthesis and Characterization Techniques of Silver Nanoparticles and Their Biological Adeptness, journal article. pp.15.
- [67] Johnny Jaber, 2022, Silver nanoparticles synthesis mechanisms, National Research Centre, pp 645-673.
- [68] Elsevier eBooks, Silver nanoparticles synthesis mechanisms, Book Chapter, pp. 607-625.
- [69] Rau, R.C. Mon, 1962, « APPLICABILITÉ DE MÉTHODES DE ROUTINE D'ANALYSE DE TAILLE DE CRISTALLITE ».
- [70] LS. Birks, H. Friedman, 1946, « DETERMINATION DE LA TAILLE DES PARTICULES A PARTIR DE L'ELARGISSEMENT DE LA LIGNE DES RAYONS X, » *J Appl Phys.*
- [71] Lin Jin, Curtis W Jarand, Mark L Brader, Wayne F Reed, 2022 - Measurement Science and Technology (Measurement Science and Technology) - Vol. 33, Iss: 4, pp 045202-045202.
- [72] Wei Wang, Hehe Lv, Yuan Zhao, Dong Liu, Yongqing Wang, Yu Zhang Henan Normal University 24 Apr 2020 - Frontiers in Bioengineering and Biotechn... (Front Bioeng Biotechnol) - Vol. 8, pp 330-330
- [73] Frank Babick Dresden, Dynamic light scattering (DLS), University of Technology (Elsevier) - pp 137-172
- [74] Milena Martelli Tosi, Ana Paula Ramos, Bruno Stefani Esposto, Seid Mahdi Jafari University of São Paulo, Gorgan University (Academic Press) - pp 191-211

- [75] Yiming Feng, Sean Russell Kilker, Youngsoo Lee Virginia Tech, 2020, University of Illinois at Urbana–Champaign (Academic Press) - pp 213-241
- [76] Christina Deluchi, 2022, Zeta Potential of Intact Carbonate Core Samples Saturated with Natural Aqueous Solutions with Varying Concentration of Negative Potential Determining Ions, University of Aberdeen, School of Engineering, Elphinstone Road, Spain, pp.25.
- [77] Denys Biriukov, Pavel Fibich, Milan Předota Sewanee, 08 Jan 2020, The University of the South Journal of Physical Chemistry C (American Chemical Society), Vol. 124, Iss: 5, pp 3159-3170.
- [78] Stig Friberg, Kare Larsson, Johan Sjoblom, Food Science & Technology, Book Food Emulsions, 4th Edition, 2003, pp.665.
- [79] Laurine CAULLET, Alexandra DOS SANTOS, Geoffrey KNIPPER, Margaux RUSALEN et Marie SEIGNEUR, LES ÉMULSIONS ALIMENTAIRES ET COSMÉTIQUES,2017.
- [80] M. DE LUCA, P. ROCHA-FILHO', J.L. GROSSIORD', A. RABARON, C. VAUTION et M. SEILLER, Les émulsions multiples, 2019, pp.56-58.
- [81] DANIELSSON I. LINDMAN B, The definition of micro-emulsion, Colloids and Surfaces, 1981, Volume 3, pp. 391-392.
- [82] McCLEMENTS David Julian, Nanoemulsions versus microemulsions : terminology, differences, and similarities. DOI : 10.1039/c2sm06903b. Consulté le 27/05/2024.
- [83] ZIYANI Layella. Etude des phénomènes physico-chimiques à l'interface émulsion de bitume/substrat minéral - Application à la formulation de Bétons Bitumineux à l'Émulsion (BBE). Matériaux. Université Nantes Angers Le Mans, 2013. Français. Pp.30.
- [84] S. Djadel, K. Aitamar, formulation d'une crème à base de piroxicam, mémoire de fin d'étude, université mouloud Mammeri –tizi ousou, 2015.
- [85] Geetikirti Sahoo,Amitava Panja,Priyajoy Kar,Food Security and Sustainability,Role of Remote Sensing in Achieving Food Security,2023, pp.59-77.
- [86] Diksha K. Nunse,Rohini N. Jadhav,Amol S. Deshmukh,2022,Research journal of topical and cosmetic...,pp 35-43
- [87] M-C. Martinini, 2011, introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie, édition Lavoisier, 3ème édit, France, p27, 35-43.
- [88] Pavel Jandera,Tomáš Hájek, 2021, Molecules (Multidisciplinary Digital Publishing Institute), University of Pardubice Vol. 26, Iss: 16, pp 4819.
- [89] Macchi, A. University of Oslo (Elsevier eBooks) - pp 637-649

- [90] Margono Margono, Eudia Novianty Putri, Eva mardiana Gumilar 31 Dec 2022 - *Ekuilibrum* - Vol. 6, Iss: 2, pp 117-117
- [91] Farhan Ansari, Christine McGuiness, Christine McGuiness, Barry Zhang, Reinhold H. Dauskardt Stanford University, Solvay 21 Jun 2020 - *International Journal of Cosmetic Scienc...* (Wiley) - Vol. 42, Iss: 6, pp 581-589.
- [92] Delaram Ahmadi, Najet Mahmoudi, Richard K. Heenan, David J. Barlow, David J. Barlow, M. Jayne Lawrence King's College London, Rutherford Appleton Laboratory, RMIT University 11 Sep 2020 - *Pharmaceutics (Multidisciplinary Digital Publishing Institute)* - Vol. 12, Iss: 9, pp 864.
- [93] Yolanda Del Río-Ortuño, Sergio Streitenberger-Jacobi, Rafael Bermejo-Fernández, Fulgencio Marín-Iniesta 15 Nov 2022 - *Anales de veterinaria de Murcia* - Vol. 36
- [94] María V. Calvo, Manuela Juárez, Javier Fontecha, 2021, Cream Manufacture, Food Lipid Biomarkers and Health Group, Institute of Food Science Research (CIAL, CSIC-UAM), Madrid, Spain, pp 396-404.
- [95] Hirota Masashi, Habara Kazuhiro, Nishimura Yasuhiro, Abe Tadahiro, Adachi Mitsuru, 2015, Method for producing creams, pp.68.
- [96] Silvia de Almeida Baptista, Filomena Freitas, 2022, Formulation of the Polysaccharide FucoPol into Novel Emulsified Creams with Improved Physicochemical Properties, *Molecules* - Vol. 27, Iss: 22, pp 7759-7759.
- [97] Starke Bernward, Mueller Bernhard, Method for the automated production of creams, journal article.
- [98] Rodica Sturza, INTERACTIONS FER - CASEINES DANS LES EMULSIONS ALIMENTAIRES H/E, Université Technique de Moldova, Chisinau, 168, Bd. Stefan cel Mare, SCIENTIFIC STUDY & RESEARCH, Vol. VI (2), 2005, pp.56.
- [99] Hua Gao, Zidong Yu, Method for producing anhydrous oil removing cream, 2021, pp.65.
- [100] Jie Han, Xilong Zhou, Jialu Cao, Y. Wang, Bokang Sun, Yan Li, Liebing Zhang, 2018, Microstructural evolution of whipped cream in whipping process observed by confocal laser scanning microscopy, China Agricultural University, Beijing Technology and Business University, *International Journal of Food Properties (Taylor & Francis)* - Vol. 21, Iss: 1, pp 593-605.
- [101] Maryam Dabbaghi, Sarika Namjoshi, Bhavesh Panchal, Jeffrey E. Grice, Sangeeta Prakash, Michael S. Roberts, Yousuf H. Mohammed, 2021, Viscoelastic and Deformation

Characteristics of Structurally Different Commercial Topical Systems, University of Queensland, Pharmaceutics (MDPI AG) - Vol. 13, Iss: 9, pp 1351.

[102] Oldenburg, S.J., 2015. Silver Nanoparticles: Properties and Applications.

[103] Buzea, C., Blandino, I.I.P., Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2.

[104] Zineb, AKCHICHE SADOUKI, OUIDAD MEHIRIS, ZOHRA, Caractérisation et activité antioxydante des nanoparticules synthétisées à partir d'extrait aqueux de deux plantes aromatiques, 2022, pp.51.