

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 verte des nanoparticules d'argent : Optimisation,
caractérisation et application pharmaceutique

Présenté par :

BENKACIMI Maria

Encadré par :

Dr. BRAHIM Meriem

Année universitaire 2024/2025

RESUME

Les nanoparticules d'argent sont largement connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, mais leur synthèse repose sur des procédés chimiques coûteux et polluants. Ce travail vise à développer une méthode de synthèse verte en utilisant deux extraits végétaux : *Origanum Vulgare* et *Carthamus Caeruleus L.* L'optimisation des conditions de synthèse (Température, temps, ratio extrait : précurseur ainsi que le pH) a permis d'obtenir des AgNPs stables, avec une absorbance maximale et une bonne activité antimicrobienne.

Ces nanoparticules ont ensuite été incorporées dans une formulation topique stable, qui a été testé sur le plan physico-chimique et microbiologique puis enrichie avec l'ajout d'une huile essentielle de l'une des plantes utilisées pendant la synthèse.

ABSTARCT

Silver nanoparticles are widely known for their antimicrobial properties, but their synthesis relies on expensive and polluting chemical processes. This work aims to develop a green synthesis method using two plant extracts: *Origanum vulgare* and *Carthamus caeruleus L.* the optimization of the synthesis conditions (temperature, time, extract: precursor ratio, and pH) resulted in stable AgNPs with maximum absorbance and good antimicrobial activity.

These nanoparticles were then incorporated into a stable topical formulation, which was tested physico-chemically and microbiologically and then enriched with the addition of an essential oil from one of the plants used during the synthesis.

ملخص

تُعرف جسيمات الفضة النانوية على نطاق واسع بخصائصها المضادة للميكروبات، إلا أن تصنيعها يعتمد على عمليات كيميائية مكلفة ومُلوثة. يهدف هذا العمل إلى تطوير طريقة تصنيع صديقة للبيئة باستخدام مستخلصين نباتيين الزعتر و مغرس غرس : أدى تحسين ظروف التصنيع (درجة الحرارة، والوقت، ونسبة المستخلص : المادة الأولية، ودرجة الحموضة) إلى إنتاج جسيمات نانوية فضية مستقرة ذات امتصاصية قصوى ونشاط مضاد للميكروبات جيد.

ثم أُدمجت هذه الجسيمات النانوية في تركيبة موضعية مستقرة، خضعت للاختبار الفيزيائي والكيميائي والميكروبيولوجي، ثم أُثريت بإضافة زيت من أحد النباتات المستخدمة أثناء التصنيع.

REMERCIEMENTS

*Avant tout, je remercie **ALLAH** de m'avoir accordé la patience et la force nécessaire pour mener à bien ce travail.*

Je tiens à remercier :

*Mes **parents** et mon **frère** pour leur aide et soutiens moral constant ainsi que toute ma **famille**,*

*La responsable de formation, Pr. **HADJ-ZIANE** pour son engagement et son suivi pédagogique,*

*Mon encadrante, Dr. **BRAHIM** pour sa disponibilité et son accompagnement,*

*Mon **cousin** pour ses indications sur les plantes médicinales et leurs vertus,*

*Ma **tante** pour son appui et conseils en microbiologie,*

*Les **ingénieures** du laboratoire **113** et **LAFPC** pour leur assistance et aide technique,*

*Toutes **personnes** ayant contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET REVUE DE LA LITTERATURE	3
CHAPITRE I : NANOTECHNOLOGIE ET NANOPARTICULES D'ARGENT	4
I.1. Nanotechnologie	4
I.2. Nanoparticules	4
I.2.1 Définition	4
I.2.2 Origine	4
I.2.3 Classification	5
I.2.4 Argent	7
I.2.5 Approches de synthèse des nanoparticules d'argent	10
I.2.6 Méthodes de synthèse biologiques et vertes	11
I.2.7 Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent	13
I.2.8 Application des nanoparticules d'argent	14
I.2.9 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent	14
I.2.10 Toxicité et réglementation des AgNPs	16
CHAPITRE II : LES EMULSIONS	17
II.1. Définition	17
II.2. Différents types d'émulsion	17
II.2.1. Emulsions simples	17
II.2.2. Emulsions multiples	18
II.3. Instabilité des émulsions	18
II.4. Stabilité des émulsions	19
II.5. Les tensioactifs	19
CHAPITRE III : SANTE CUTANEE ET REGENERATION TISSULAIRE	20
III.1. Peau saine	20
III.1.1. Définition	20
III.1.2. Structure	20
III.2. Brûlures	20
III.2.1. Définition	20
III.2.2. Classification par étiologie	20
III.2.3. Degré de brulure	21

III.3. Cicatrisation	21
III.3.1. Définition	21
III.3.2. Processus	21
CHAPITRE IV : PHYTOTHERAPIE	22
IV.1. Définition	22
IV.2. Atouts	22
IV.3. Statut de la phytothérapie dans le monde d'aujourd'hui	22
IV.4. Préparations et utilisations de la phytothérapie	23
IV.5. Phytothérapie et cicatrisation des brûlures	23
CHAPITRE V : TRAVAUX ANTERIEURS	24
V.1. Application des nanoparticules en médecine, pharmacie et biologie	24
V.2. Nanoparticules d'argent : une revue des méthodes de synthèse, des propriétés et des applications.	24
V.3. Synthèse biologique de nanoparticules d'argent à l'aide du champignon <i>Aspergillus flavus</i>	25
V.4. Biosynthèse de nanoparticules d'argent à partir d'extrait de bourgeons de <i>Syzygium nervosum</i> et stabilité	25
V.5. Activité antimicrobienne in vitro d'une crème à base d'extraits de plantes et de nanoparticules d'argent et recherche clinique in vivo sur des cas vétérinaires	26
V.6. Les nanoparticules d'argent comme agents topiques efficaces pour la cicatrisation des plaies	26
V.7. Nanoparticules d'argent synthétisées par voie verte pour la formulation d'une crème : activités anti-inflammatoires et cicatrisantes	27
V.8. Effets de l'exposition aux nanoparticules sur la santé	27
V.9. Criblage phytochimique des constituants bioactifs d'une plante algérienne (<i>Carthamus caeruleus</i> L.)	28
APPROCHE EXPERIMENTALE	29
CHAPITRE VI : ORIGINE VEGETALE, ELABORATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT ET CARACTERISATION	30
VI.1. Description des plantes utilisées	30
VI.1.1. <i>Origanum Vulgare</i>	30
VI.1.2. <i>Carthamus Caeruleus</i> L.	31
VI.2. Protocole de préparation des extraits aqueux	33
VI.3. Préparation de la solution d'AgNO ₃	36
VI.4. Protocole de synthèse des nanoparticules d'argent	37

Table des matières

VI.5. Optimisation du procédé de synthèse	37
VI.6. Etude complémentaire de l'influence du pH	41
VI.7. Caractérisation des nanoparticules d'argent et des extraits	42
VI.7.1. Infrarouge	42
VI.7.2. UV Visible	42
VI.7.3. DLS	43
VI.7.4. Potentiel Zeta	43
VI.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent	44
CHAPITRE VII : FORMULATION ET EVALUATION D'UNE EMULSION	45
VII.1. Conception et mise en point d'une émulsion à effet thérapeutique	45
VII.1.1. Choix du type d'émulsion	45
VII.1.2. Matières premières utilisées	45
VII.1.3. Fraction des tensio-actifs nécessaires	46
VII.1.4. Protocole expérimental	46
VII.2. Caractérisation de l'émulsion	47
VII.2.1. Examen macroscopique	47
VII.2.2. Sens de l'émulsion	48
VII.2.3. Stabilité à la centrifugation	48
VII.2.4. Examen microscopique	48
VII.2.5. pH	48
VII.2.6. Analyse rhéologique	48
VII.3. Qualité microbiologique	49
VII.4. Amélioration de la formulation	49
VII.4.1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Carthamus Caeruleus L.</i>	50
VII.4.2. Caractérisation de l'huile essentielle de <i>Carthamus Caeruleus L.</i>	51
VII.4.2.1. Caractéristiques organoleptiques	51
VII.4.2.2. Rendement	51
VII.4.2.3. Masse volumique	51
VII.4.2.4. Densité	51
VII.4.3. Intégration de l'huile essentielle comme principe actif	51
VII.4.4. Analyse microbiologique de la nouvelle formulation	51
RESULTATS ET DISCUSSIONS	52
CHAPITRE VIII : RESULTAT DE LA SYNTHÈSE DES NANOPARTICULES D'ARGENT	53
VIII.1. Optimisation du procédé de synthèse	53
VIII.1.1. Evaluation statistique du modèle	58

Table des matières

VIII.1.2. Corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs observées	60
VIII.1.3. Effet des facteurs et interactions sur les réponses	61
VIII.1.4. Modèle mathématique	63
VIII.2. Etude complémentaire de l'influence du pH	64
VIII.3. Caractérisation des nanoparticules d'argent et des extraits aqueux	65
VIII.3.1. Infrarouge	65
VIII.3.2. UV-Visible	68
VIII.3.3. DLS	69
VIII.3.4. Potentiel Zeta	70
VIII.4. Influence du pH	71
VIII.5. Activité antibactérienne des AgNPs	71
CHAPITRE IX : RESULTATS DE LA FORMULATION, CARACTERISATION ET EVALUATION DE LA CREME	72
IX.1. Caractérisation de l'émulsion obtenue	72
IX.1.1. Examen macroscopique	72
IX.1.2. Sens de l'émulsion	72
IX.1.3. Stabilité à la centrifugation	72
IX.1.4. Examen microscopique	72
IX.1.5. pH	73
IX.1.6. Analyse rhéologique	73
IX.1.7. Qualité microbiologique	76
IX.2. Formulation améliorée	76
IX.2.1. Caractérisation de l'huile essentielle de la Cardoncelle Bleue.	76
IX.2.2. Analyse microbiologique de la nouvelle formulation	77
CONCLUSION	78
APPENDICES	79
A. Présentation du logiciel MODDE 6	79
B. Spectre infra rouge de la solution des AgNPs synthétisée a ph 8,5	80
C. Photographie des boîtes de Petri des AgNPs	81
D. Tableau des matières premières de la formulation améliorée	82
E. Surface de réponse en 3D de l'absorbance à 60°C	83
F. Photographie des boîtes de Petri des formulations	84
REFERENCES	85

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Illustration des nanoparticules organiques : A-Lipidique, B,C- Polymériques (nanoparticules et micelles), D- Dendrimère.	6
Figure I.2: Illustration des nanoparticules à base de carbone : a-fullerènes, b-graphènes, c-nanotube	7
Figure I. 3: Illustration résumant les deux approches bottom up et top down	10
Figure I.4: Illustration du mécanisme de nucléation et de croissance	14
Figure I.5: Illustration de principaux mécanismes d'action antibactérien des nanoparticules d'argent	15
Figure II.1 : Image démonstrative des émulsions simples.	17
Figure II.2 : Image démonstrative de la dispersion des gouttelettes d'une émulsion multiple	18
Figure II.3 : Illustration des mécanismes d'instabilité des émulsions	18
Figure II.4 : Structure schématique d'un tensioactif	19
Figure III.1 : Image démonstrative d'une coupe histologique de la peau	20
Figure III.2 : Illustration des profondeurs des brûlures	21
Figure VI.1 : Illustration de la plante <i>Origanum vulgare</i>	30
Figure VI.2 : Illustration de <i>Carthamus Caeruleus</i> L. (plante et racines)	31
Figure VI.3: Diagramme de l'effet des racines de <i>Carthamus caeruleus</i> sur la cicatrisation en comparaison avec du Madécassol chez des rats	33
Figure VI.4 : Illustration de la préparation de l'extrait d'origan	33

Liste des figures

Figure VI.5 : Illustration de la préparation de l'extrait de carthamus	35
Figure VI.6 : Image démonstrative de la préparation de la solution de nitrates d'argent	36
Figure VI.7 : Image démontrant le protocole de synthèse des nanoparticules d'argent	37
Figure VI.8 : Illustration des constituants d'un appareil UV-Visible	42
Figure VII.1: Illustration des étapes du procédé d'émulsification	46
Figure VII.2 : Schéma du montage de l'appareil Clevenger pour l'hydrodistillation	50
Figure VIII.1: Résultat UV-Visible de la synthèse à 60°C, ratio 1 :4	55
Figure VIII.2 : Résultat UV-Visible de la synthèse à 60°C, ratio 1 :10	56
Figure VIII.3 : Résultat UV-Visible de la synthèse à 80°C, ratio 1 :4	57
Figure VIII.4 : Résultat UV-Visible de la synthèse à 80°C, ratio 1 :10	58
Figure VIII.5 : Histogrammes des coefficients de corrélation et de prédiction	59
Figure VIII.6 : Graphique des valeurs observées et valeurs prédites pour l'absorbance	60
Figure VIII.7 : Graphique des valeurs observées et valeurs prédites pour la longueur d'onde	61
Figure VIII.8 : Diagramme des effets des facteurs et interactions sur l'absorbance	61
Figure VIII.9 : Diagramme des effets des facteurs et interactions sur la longueur d'onde	62
Figure VIII.10 : Résultat UV-Visible de la synthèse à un pH 8,5	64
Figure VIII.11 : Spectre FTIR de l'Origan	65
Figure VIII.12 : Spectre FTIR de Carthamus Caeruleus L.	66
Figure VIII.13 : Spectre FTIR du mélange des deux extraits	67
Figure VIII.14 : Spectre FTIR des AgNPs à pH=5	67

Liste des figures

Figure VIII.15 : Résultats de l'analyse DLS pour le pH=5	69
Figure VIII.16 : Résultats de l'analyse DLS pour le pH=8.5	69
Figure VIII.17 : Résultats du potentiel Zêta	70
Figure IX.1 : Photographie de l'émulsion obtenue	72
Figure IX.2 : Image du microscope optique à un grossissement de $\times 4$ et de $\times 100$	73
Figure IX.3 : Courbe d'écoulement de l'émulsion formulée à 20°C	74
Figure IX.4 : Courbe de variation des deux modules G' et G'' typique de l'émulsion en fonction de la déformation (%) à 20°C	75
Figure A1 : Spectre FTIR des AgNPs à pH 8,5	80
Figure A2 : Photographies des boîtes de pétri des AgNPs	81
Figure A3 : Surface de réponse illustrant l'effet du temps de réaction et du ratio sur l'absorbance des AgNPs à 60°C.	83
Figure A4 : photographies des boîtes de pétri des émulsions	84

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Propriétés caractéristiques de l'argent	8
Tableau I.2: Elément clés de l'approche bottom up	11
Tableau I. 3: Comparaison entre les procédés de synthèse des nanoparticules	13
Tableau VI.1 : classification de l'origanum selon Deysson	31
Tableau VI .2 : Cassification systématique du Carthamus Caeruleus L. selon l'inventaire national du patrimoine naturel	32
Tableau VI.3 : Niveaux des facteurs choisis	38
Tableau VI.4 : Matrice des essais	39
Tableau VII.1 : Matières premières utilisées lors de la formulation	45
Tableau VIII.1 : Matrice des résultats du plan d'expérience	53
Tableau VIII.2 : Résultats des pics FTIR de l'Origan et rôles potentiels de chaque groupement	65
Tableau VIII.3 : Résultats des pics FTIR du Carthamus et rôles potentiels de chaque groupement	66
Tableau VIII.4 : Résultat de l'activité antimicrobienne des AgNPs	71
Tableau A1 : Composition détaillée de la formulation améliorée	82

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

Abréviation	Définition
AgNO ₃	Nitrates d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
CMC	Concentration micellaire critique
cf.	Confer (voir)
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
g	Gramme
HE	Huile essentielle
HLB	Balance hydrophile/lipophile
KBr	Bromure de potassium
L	Litre
LAFPC	Functional Analysis of Chemical Processes Laboratory
min	Minute
mL	Millilitre
MH	Mueller Hinton
nm	Nanomètre
NPs	Nanoparticules
NPM	Nanoparticules manufacturées
PA	Principe actif
pH	Potentiel hydrogène
PCA	Plate count agar
PDI	Indice de polydispersité
PPM	Partie par million
Q ²	Coefficient de prédiction
R ²	Coefficient de corrélation
rpm	Tour par minute
RSD	Écart type relatif
s	Seconde
T	Température
UFC	Unité formant colonie
UV-Vis	Spectroscopie Ultraviolet-Visible
°C	Degré Celsius
μL	Microlitre

INTRODUCTION GENERALE

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) suscitent depuis plusieurs années un intérêt croissant, notamment dans le domaine pharmaceutique et médical, en raison de leurs puissantes propriétés antimicrobiennes et de leur capacité à favoriser la cicatrisation. Grâce à ces caractéristiques, elles trouvent également des applications variées dans d'autres secteurs : comme agents antimicrobiens dans les dispositifs médicaux, en imagerie médicale, dans la fabrication de nanocomposites et des implants, pour la vectorisation ciblée de médicaments, pour la filtration de l'eau, pour les sprays de chambres ainsi qu'en électronique et en mécanique. [1] [2] [3] [4]

Cependant, la synthèse conventionnelle de ces nanomatériaux fait appel à des procédés chimiques impliquant des réactifs coûteux, peu compatibles, voire toxiques pour l'environnement et l'organisme ; c'est dans cette perspective qu'apparaît la synthèse verte comme une alternative durable et écoresponsable ; elle fait appel aux extraits végétaux riches en éléments réducteurs et stabilisants, permettant ainsi d'éliminer le besoin d'additifs chimiques synthétiques. [5] [6]

Le présent travail a pour objectif d'optimiser la synthèse verte des nanoparticules d'argent à partir de deux plantes, en l'occurrence l'*Origanum Vulgare* et le *Carthamus Caeruleus L.* L'étude portera sur les principaux facteurs influençant la synthèse (température, ratio et temps de réaction) ainsi qu'une étude complémentaire de l'effet du pH. Les AgNPs obtenues feront ensuite l'objet d'une caractérisation physico-chimique au sein du laboratoire LAFPC et d'une évaluation de leur activité antimicrobienne contre plusieurs souches bactériennes ainsi qu'une levure, réalisée au laboratoire IMMULAB.

Dans un second temps, ces nanoparticules seront incorporées dans une formulation topique de type huile dans eau, cette dernière sera élaborée, contrôlée puis testée sur le plan microbiologique chez VENUS SAPECO. Elle sera ensuite améliorée par l'ajout d'un composé actif : une huile essentielle extraite dans le laboratoire BIOLERA à partir de l'une des plantes utilisées pendant la synthèse ; la formulation finale visera ainsi à favoriser la prise en charge

Introduction générale

des brûlures cutanées, en combinant les propriétés antimicrobiennes des nanoparticules à l'action régénératrice de l'huile essentielle.

Ce mémoire est structuré en trois grandes sections :

- Une synthèse bibliographique en cinq chapitres, posant les bases scientifiques et techniques du sujet.
- Une partie expérimentale en deux volets qui détaillent le matériel végétal, les protocoles suivis, l'optimisation ainsi que la formulation et les tests.
- Une dernière partie dédiée aux résultats et à la discussion, également répartie en deux chapitres présentant l'analyse critique des résultats obtenus.

CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

CHAPITRE I : NANOTECHNOLOGIE ET NANOPARTICULES D'ARGENT

I.1. Nanotechnologie

Le terme « nanotechnologie » a été utilisé pour la première fois en 1974, lorsque Norio Taniguchi, un scientifique, a fait référence à des matériaux à l'échelle du nanomètre. Il s'agit d'un domaine multidisciplinaire qui désigne toute technologie à l'échelle nanométrique ayant des applications dans le monde réel. [7]

À ces échelles, la matière développe des propriétés inattendues et souvent différentes de celles des mêmes matériaux à l'échelle micro- ou macroscopique. [8]

La nanotechnologie est devenue l'une des technologies les plus prometteuses avec une application potentielle dans tous les domaines de la science à savoir médicale, pharmaceutique, cosmétique, agricole, séquençage d'ADN et traitement de l'eau. [9]

I.2. Nanoparticules

I.2.1 Définition

Les nanoparticules sont définies comme des particules dont la taille varie généralement de 1 à 100 nanomètres. Elles peuvent être classées en trois catégories : inorganiques, organiques ou à base de carbone à l'échelle nanométrique. En raison de leur petite taille, elles présentent des propriétés supérieures contrairement aux matériaux de plus grande taille, notamment une résistance accrue, une sensibilité élevée, une forte réactivité, une stabilité améliorée et une surface spécifique augmentée. [10]

Elles peuvent se former naturellement ou être synthétisées à des fins spécifiques. Leur formulation varie considérablement en fonction de leur utilisation prévue ou du produit dans lequel elles sont incorporées. [11]

I.2.2 Origine

I.2.2.1 Nanoparticules naturelles

Un grand nombre de nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans l'environnement, parmi elles on note les nanoparticules naturelles qui se présentent sous la forme de tubes

(imogolites) ou une forme décrite comme sphérique mais dont la structure reste imprécise (allophanes). Les imogolites et allophanes sont des aluminosilicates structurés à courte distance résultant de l'altération de verres et de cendres volcaniques. [12]

I.2.2.2 Nanoparticules non manufacturées d'origine anthropique

Dans cette catégorie on trouve les nanoparticules ultrafines atmosphériques qui proviennent principalement de la combustion des carburants fossiles. D'autres nanoparticules sont générées involontairement, notamment dans les fumées de soudage, qui contiennent des particules métalliques nanométriques. Ces nanoparticules représentent une part significative des aérosols industriels. Leur origine est principalement liée aux procédés de combustion et de soudage utilisés dans diverses industries. [13]

I.2.2.3 Nanoparticules manufacturées

Le développement des nanotechnologies, qui englobent les techniques visant à concevoir et produire des matériaux à l'échelle nanométrique, a conduit à une production accrue de nanoparticules manufacturées. Ces nanoparticules, distinctes des particules ultrafines atmosphériques, présentent une distribution de taille étroite et une composition chimique définie. Parmi les NPM, on trouve des nanoparticules métalliques (comme l'argent et le dioxyde de titane) et des nanoparticules carbonées, dont les nanotubes de carbone, découverts en 1991. [14]

Ces nanotubes possèdent des propriétés remarquables, notamment mécaniques et électriques, ce qui les rend intéressants pour des applications industrielles et médicales, telles que le transport de médicaments. Toutefois, leur toxicité potentielle et leur biodégradabilité sont des domaines de recherche en pleine expansion [12].

I.2.3 Classification

Les nanoparticules sont généralement classées comme organiques, inorganiques et à base de carbone.

I.2.3.1 Nanoparticules organiques

Les dendrimères, micelles, liposomes et ferritine, sont communément connus sous le nom de nanoparticules organiques. Ils sont biodégradables, non toxiques et certaines particules telles que les micelles et les liposomes ont un noyau creux également connu sous le nom de nanocapsules et sont sensibles à la chaleur et rayonnement électromagnétique tel que la chaleur et la lumière. [15]

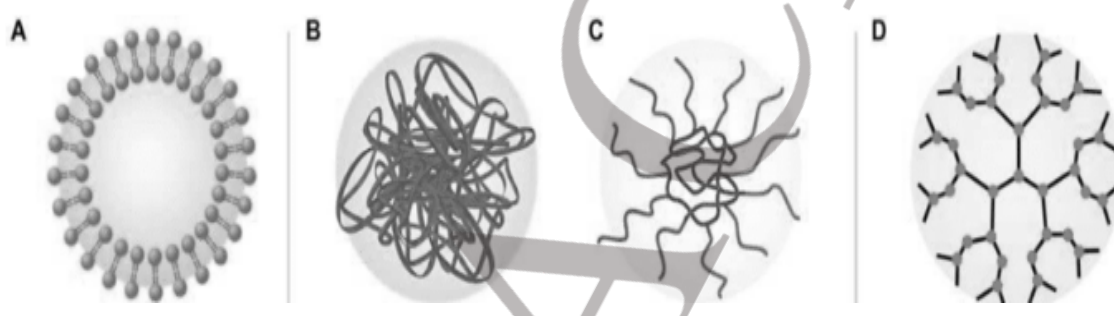


Figure I.1 : Illustration des nanoparticules organiques : A-Lipidique, B, C- Polymériques (nanoparticules et micelles), D- Dendrimère.

I.2.3.2 Nanoparticules inorganiques

a. A base de métal

Les nanoparticules synthétisées à partir des ions métalliques avec une taille nanométrique par des méthodes destructives ou constructives sont des nanoparticules à base de métal. Les métaux couramment utilisés pour la synthèse des nanoparticules sont l'aluminium, le cadmium, le cobalt, le cuivre, l'or, le fer, l'argent et le zinc. [16]

b. A base d'oxyde métallique

Les nanoparticules à base d'oxyde métallique sont synthétisées à base de leurs métaux respectifs, par exemple les nanoparticules de fer sont immédiatement oxydées en oxyde de fer (Fe_2O_3) en présence d'oxygène à température ambiante. Ces nanoparticules ont quelques propriétés supérieures par rapport aux nanoparticules métalliques. [17]

I.2.3.3 Nanoparticules à base de carbone

Les nanoparticules constituées entièrement de carbone sont connues sous le nom de carbone. Ils peuvent être classés en fullerènes graphène, nanotubes de carbone comme le montre la figure (1.2). [18]

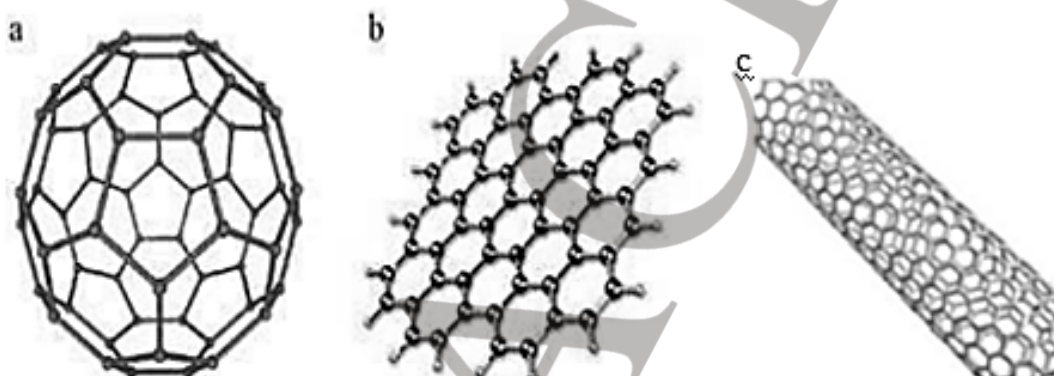


Figure I.2 : Illustration des nanoparticules à base de carbone : a-fullerènes, b-graphènes, c-nanotube.

I.2.4 Argent

I.2.4.1 Définition

L'argent est un métal brillant, ductile et malléable, trouvé à l'état natif sous forme de pépite. Du latin Argentum, qui a donné les initiales de son symbole chimique « Ag » et du grec ancien argov, qui signifie : blanc, ou brillant, il a donné son nom durant l'antiquité à la cité Argentoratum, l'actuelle ville de Strasbourg. [19]

C'est un métal noble et plus réactif. Assez ductile et malléable et il a une excellente conductivité, une propriété utilisée en électronique. L'argent (Ag) a deux isotopes stables, ^{107}Ag et ^{109}Ag , avec abondance de 51,8% et 48,2%. [20]

I.2.4.2 Propriétés

L'argent (Ag) est le deuxième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique, le tableau (I.1) montre les propriétés caractéristiques de l'argent.

Tableau I.1 : Propriétés caractéristiques de l'argent. [20]

Propriété	Valeur
Configuration électronique	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹
Numéro atomique – poids	47 – 107.87
Structure cristalline	CFC (Cubique à Faces Centrées)
Densité (g/cm ³)	10.5
Rayon atomique (nm)	0.153
Première énergie d'ionisation (KJ/mol)	758
Vitesse de Fermi (m/s)	1.39×10^6
Résistivité électrique ($\mu\Omega \cdot \text{cm}$)	1.59 (à 20 °C)
Température de fusion (K)	1235.43
Température d'ébullition (K)	2485
Conductivité thermique ($\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	429
Conductivité électrique ($\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$)	63×10^6
Potentiel standard (V)	0.779 (Ag ⁺ /Ag)
Électronégativité	1.93

I.2.4.3 Nano particules d'argent

Parmi les différentes nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont l'un des nanomatériaux les plus essentiels et les plus fascinants. [21]

Composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions d'argent. Elles sont les nanoparticules les plus vendues et relâchées dans l'environnement. [22]

I.2.4.4 Propriétés des nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) se distinguent par leurs propriétés physico-chimiques uniques, notamment une conductivité électrique et thermique élevée, une grande stabilité chimique et une activité catalytique marquée. Elles présentent également un comportement optique non linéaire, ainsi que des caractéristiques mécaniques et magnétiques améliorées.

a. Propriétés physiques et chimiques

La maîtrise de propriétés telles que la taille, la forme, la charge et le revêtement de surface est essentielle pour évaluer les interactions et les effets biologiques de ces nanoparticules. Les particules de plus petite taille, offrant une surface de contact accrue, présentent un fort potentiel en tant que composés bioactifs. [22]

b. Propriétés optiques

Les AgNPs sont extrêmement efficaces pour absorber et diffuser la lumière et contrairement à de nombreux colorants et pigments, ont une couleur qui dépend de la taille et de la forme de la particule. [23]

c. Propriétés biologiques

Les composés d'argent se sont révélés efficaces contre les bactéries aérobies et anaérobies en provoquant la précipitation des protéines cellulaires bactériennes et en inhibant leur système respiratoire. [23]

d. Chimie de surface

Lorsque les nanoparticules sont en solution, les molécules s'adsorbent à leur surface, formant une double couche de charge qui assure leur stabilité et prévient l'agrégation. [23]

I.2.5 Approches de synthèse des nanoparticules d'argent

Généralement la fabrication des nanoparticules d'argent est principalement dévisée en deux approches comme illustrées dans la figure (I.4) suivante :

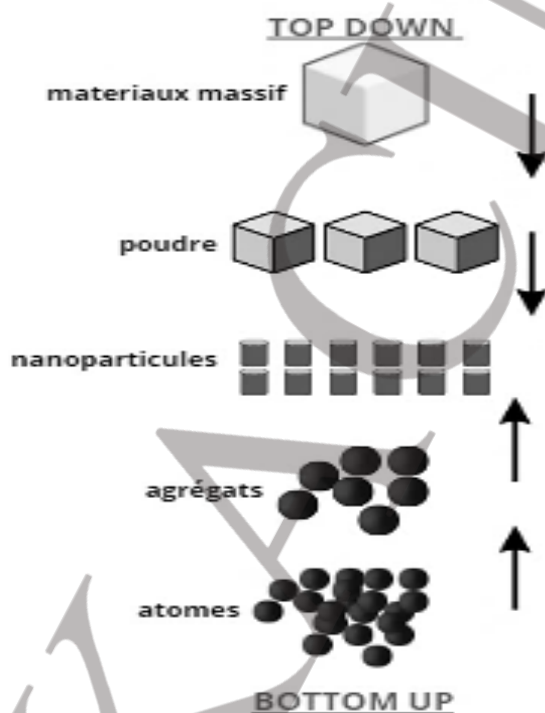


Figure I. 3: Illustration résumant les deux approches bottom up et top down.

▪ Approche descendante ou top down

Regroupant essentiellement des méthodes physiques et mécaniques comme le broyage à haute énergie, l'évaporation –condensation et des procédés d'ablation au laser. Elle consiste en la diminution graduelle de la taille jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques. [24] [25]

▪ Approche ascendante, ou bottom up

Cette approche, appelée bottom-up, est l'inverse de la méthode top-down. Contrairement à cette dernière, la méthode bottom-up consiste à assembler des atomes, des molécules ou des agrégats pour former des nanoparticules. Elle fait appel à des procédés d'élaboration chimiques et physiques et repose sur trois éléments clés qui sont groupés dans le tableau (I.2.) [26]

Tableau I.2 : Elément clés de l'approche bottom up. [26]

Elément	Rôle
Le précurseur	Il s'agit de la source d'ions métalliques (par exemple, un sel d'argent comme le nitrate d'argent pour les AgNPs).
L'agent réducteur	Il réduit les ions métalliques en atomes neutres, qui vont ensuite s'agréger pour former des nanoparticules
L'agent stabilisant	Il empêche l'agrégation des nanoparticules en contrôlant leur croissance et en stabilisant leur surface

I.2.6 Méthodes de synthèse biologiques et vertes

Récemment, les méthodes de biosynthèse ont été explorées comme une nouvelle approche pour la production des AgNPs. Ces méthodes biologiques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs nombreux avantages ; contrairement aux méthodes chimiques et physiques elles sont plus économiques et ne nécessitent pas l'utilisation de produits chimiques toxiques, réduisant ainsi les risques pour la santé humaine et l'écosystème. [27]

La biosynthèse repose sur l'utilisation d'organismes vivants tels que des bactéries, des champignons, des algues et des extraits végétaux pour la réduction des ions d'argent en nanoparticules. Ces organismes agissent comme agents réducteurs et stabilisants, favorisant ainsi la formation de nanoparticules avec des propriétés optimisées, notamment une meilleure stabilité et une morphologie bien définie. [28] [29]

a. Micro-organismes

i. Bactéries

La synthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs) à partir de bactéries a été réalisée avec succès à plusieurs reprises. Les cellules bactériennes agissent comme des agents réducteurs naturels, facilitant la formation de ces nanoparticules. Ce procédé biologique présente plusieurs avantages, notamment une production respectueuse de l'environnement et l'obtention de particules aux propriétés physico-chimiques optimisées. [30]

ii. Champignons

Les champignons ont un potentiel pour la synthèse de NPs métalliques en raison de capacité de bioaccumulation des métaux et leur tolérance, capacité élevée de liaison et absorption intracellulaire. [31]

La présence des groupements carboxyliques dans l'enzyme sécrétée par les champignons, favorise l'adsorption et la réduction des ions métalliques sur la surface externe des cellules fongiques, incitant par la suite la formation des nanoparticules métalliques. [32]

b. Plantes

Les plantes représentent une méthode efficace pour la synthèse des nanoparticules d'argent, grâce à leur richesse en métabolites secondaires bioactifs. Parmi ces composés, les polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes, acides aminés, protéines et enzymes jouent un rôle clé en facilitant la formation des nanoparticules, tout en agissant comme agents réducteurs ou stabilisants. [33]

Les parties des plantes comme les racines, la tige, les graines et les feuilles sont principalement utilisées pour ce procédé. Le point intéressant est l'agent actif présent dans ces parties.

Le protocole général implique l'extraction des composés végétaux par décoction, suivie d'une réaction avec une solution d' AgNO_3 , dont la formation des nanoparticules est confirmée par un changement de couleur et une analyse spectroscopique. Plusieurs plantes médicinales, comme *Azadirachta indica*, *Aloe vera* et *Ocimum tenuiflorum*, ont été étudiées pour leur capacité à générer des AgNPs, avec des variations de taille et de forme influencées par la concentration en ions métalliques, le pH, la température et la durée de réaction. [34]

Le tableau suivant montre une comparaison entre les 3 méthodes de synthèse des nanoparticules.

Tableau I.3 : Comparaison entre les procédés de synthèse des nanoparticules. [35]

Méthodes	Biologiques/vertes	Chimiques	Physiques/Mécaniques
Différents procédés	-Bactéries -Champignons -Plantes -Levures -Enzymes -Micro-organismes	-Réduction chimique -Sonochimique -Microémulsion -Photochimique -Electrochimique -Four micro-onde	-Ablation laser pulsée. -Evaporation -Condensation. -Décharge d'arc. -Fraisage à billes. -Phase vapeur et gaz
Toxicité	Non toxique	Toxique	Toxique

I.2.7 Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent

La formation des nanoparticules en solution est un processus influencé par de nombreux paramètres. Elle se déroule généralement en plusieurs étapes successives. Parmi les facteurs intervenant dans cette synthèse, on retrouve la température, la concentration, ainsi que la nature des réactifs et de l'agent réducteur, qui jouent un rôle déterminant dans la morphologie et la stabilité des nanoparticules obtenues. [36]

a. Nucléation

Les précurseurs métalliques sont dissous puis réduits pour donner des atomes métalliques de valence zéro. Une sursaturation d'atomes insolubles entraîne la formation de petits agrégats par collisions, ce processus est la nucléation. Elle correspond à la formation localisée d'une nouvelle phase solide thermodynamiquement stable au sein d'une phase liquide. Après un certain temps, cette nucléation entraîne une réduction de la sursaturation, ce qui stabilise le nombre de particules dans le système. [22]

b. Croissance

Les noyaux ayant atteint un rayon critique peuvent croître en consommant les monomères présents en solution. Cette étape de croissance est thermodynamiquement favorisée. Plus la concentration en atomes est élevée, plus la croissance des particules sera rapide. [22]

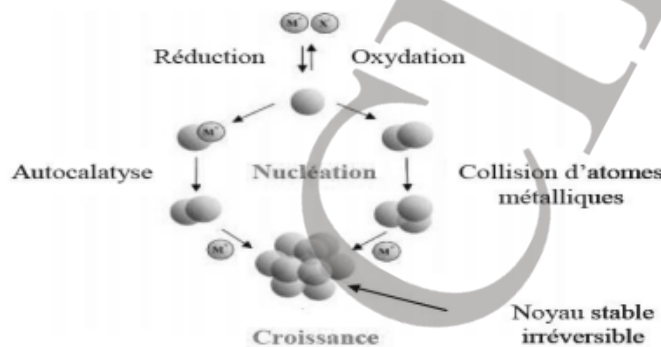


Figure I.4 : Illustration du mécanisme de nucléation et de croissance.

c. Murissement

Au fur et à mesure de l'avancement de la réaction, le taux de sursaturation continue de diminuer. La croissance des particules s'arrête alors, et une étape finale peut survenir : le mûrissement d'Oswald. Ce phénomène correspond à l'inter-diffusion des atomes des particules plus petites vers celles plus grandes. [22]

I.2.8 Applications des nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent, grâce à leurs propriétés sont utilisées dans de nombreux domaines comme agents antimicrobiens, en imagerie médicale, en nano-composites, en vectorisation de médicaments et en électronique. [1]

I.2.9 Activité anti microbienne des nanoparticules d'argent

a. Activité anti microbienne

Le spectre d'action antimicrobien des nanoparticules d'argent est large, elles sont actives même à faible concentration. Plusieurs études *in vitro* ont montré leur activité biocide contre divers virus, bactéries (à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium* et à Gram positif : *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecium*) et champignons (*Aspergillus niger*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*). [37].

Il est intéressant de noter que les nanoparticules d'argent ont montré une plus grande activité antibactérienne que des antibiotiques comme la gentamicine contre *P. aeruginosa* et la vancomicine contre *S. aureus*, notamment le *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. [1]

b. Mécanisme d'action antibactérien

Les ions argent sont produits par l'oxydation de la surface des nanoparticules. Les principaux mécanismes à l'origine de cette activité antibactérienne sont représentés sur la Figure (I.5) ci-dessous. [1]

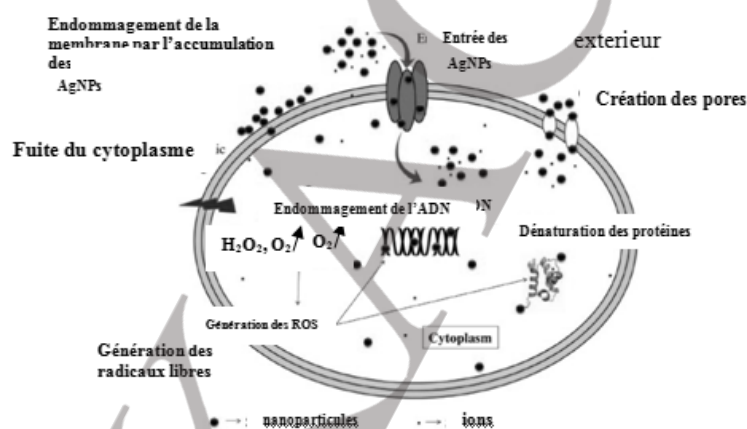


Figure I.5 : Illustration de principaux mécanismes d'action antibactérien des nanoparticules d'argent.

Tout d'abord, les nanoparticules d'argent ont la capacité de s'ancrer dans la membrane bactérienne ce qui conduit à la neutralisation de la charge de surface de la membrane. Des puits se forment alors, altérant la perméabilité membranaire, ce qui entraîne la fuite du cytoplasme à l'extérieur de la cellule puis, les nanoparticules pénètrent à l'intérieur de la bactérie.

Les nanoparticules inhibent les défenses antioxydantes en se liant aux groupes thiols des enzymes, ce stress oxydatif provoque des dommages cellulaires, notamment la dénaturation de l'ADN, des protéines et des ribosomes ainsi que la peroxydation des lipides membranaires, perturbant ainsi la croissance et la prolifération bactérienne. [38] [39]

Concernant les biofilms, les nanoparticules d'argent exercent leur action non seulement par ces mécanismes, mais aussi en déstabilisant les constituants de la matrice extracellulaire. [1]

I.2.10 Toxicité et réglementation des AgNPs

Bien que les nanoparticules d'argent soient largement reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, leur utilisation suscite des inquiétudes toxicologiques. En effet, des études ont montré qu'elles peuvent induire un stress oxydatif et une génotoxicité, la sévérité de ces impacts dépendant de la taille, de la dose et de la surface des particules. [40]

Sur le plan réglementaire, le règlement (CE) n° 1223/2009 oblige les fabricants à déclarer les nanomatériaux utilisés dans les cosmétiques via une notification six mois à l'avance. [41]

Ces mesures montrent que, malgré leur potentiel, les AgNPs nécessitent des études toxicologiques rigoureuses avant toute application pharmaceutique ou cosmétique.

CHAPITRE II : LES EMULSIONS

II.1. Définition

Une émulsion est une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide qui sont naturellement non miscibles, dans la majorité des cas on trouve une phase hydrophile et une phase lipophile. On distingue alors :

- Une phase discontinue (interne), qui correspond au liquide dispersé sous forme de gouttelettes.
- Une phase continue (externe), qui est le liquide dispersant.

II.2. Différents types d'émulsion

Essentiellement, on trouve deux types d'émulsions dites simples où une seule phase est dispersée dans une autre phase, cependant il existe également des émulsions complexes où plusieurs phases sont dispersées successivement les unes dans les autres.

II.2.1. Emulsions simples

Les émulsions simples sont des systèmes composés d'une unique phase liquide dispersée dans une unique phase continue liquide et qui se divisent en deux catégories :

- Emulsion huile dans eau (H/E) : qui est composée d'une phase huileuse dispersée dans une phase aqueuse, connue aussi sous le nom d'émulsion directe. [42]
- Emulsion eau dans huile (E/H) : qui est composée d'une phase aqueuse dispersée dans une phase huileuse, elle est beaucoup plus grasse qu'une émulsion directe. [42]

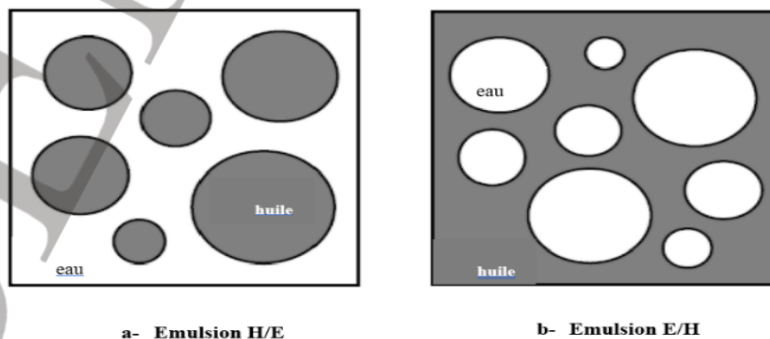


Figure II.1 : Image démonstrative des émulsions simples. [43]

II.2.2. Emulsions multiples

Les émulsions multiples (figure II.2) sont plus complexes et contiennent de très petites gouttelettes en suspension dans de plus grandes gouttelettes qui sont-elles mêmes dispersées dans une phase continue comme le montre la figure (II.2), cela inclut l'émulsion eau dans huile dans eau (E/H/E) et l'émulsion huile dans eau dans huile (H/E/H). [43]

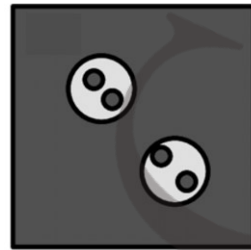


Figure II.2 : Image démonstrative de la dispersion des gouttelettes d'une émulsion multiple. [43]

II.3. Instabilité des émulsions

Les phénomènes d'instabilité qui peuvent survenir sont par exemple, dus à une différence de densité entre les phases ou à la présence d'une forte force attractive entre les gouttelettes.

L'ensemble des mécanismes d'instabilité des émulsions sont représentés dans la figure (II.3) suivante :

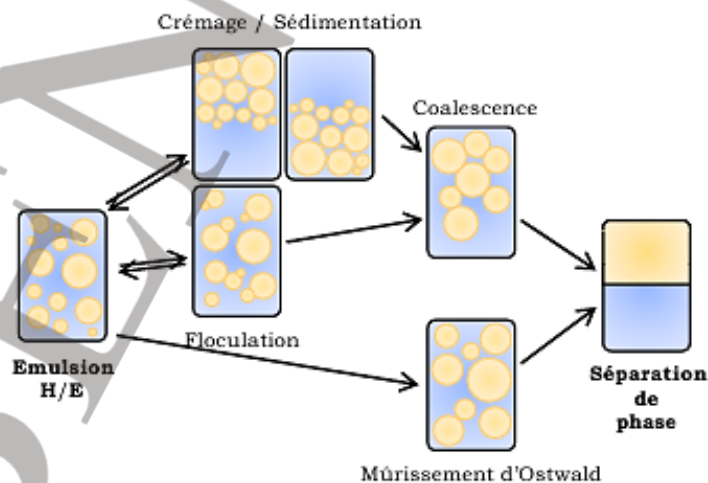


Figure II.3 : Illustration des mécanismes d'instabilité des émulsions. [44]

II.4. Stabilité des émulsions

La stabilité des émulsions est telle que leur aspect macroscopique reste inchangé au cours de la conservation. Elle est liée au type et à la quantité des tensioactifs utilisés, ces derniers favorisent la stabilité en se groupant et en formant un film à l'interface des gouttelettes d'eau ou d'huile. [45] [46]

II.5. Les tensioactifs

Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles possédant une double affinité, ils sont composés d'une partie hydrophile polaire et d'une partie hydrophobe apolaire comme le montre la figure (II.4). Cette propriété leur donne la capacité de diminuer l'énergie libre aux interfaces en diminuant la tension interfaciale. [47]

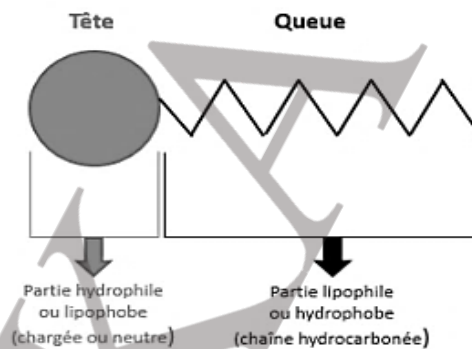


Figure II.4 : Structure schématique d'un tensioactif. [47]

Lorsque la concentration des tensioactifs dépasse la CMC, ces derniers peuvent former des structures supramoléculaires qui peuvent augmenter la viscosité du milieu ce qui diminue la vitesse de sédimentation des gouttelettes selon la loi de Stokes donnée par :

$$V = \frac{2gr^2\Delta\rho}{9\eta} \dots (II.1)$$

Avec :

V : vitesse de sédimentation

g : accélération de la pesanteur (9,81 m/s²)

r : rayon de la gouttelette

$\Delta\rho$: différence de densité entre les deux phases

η : viscosité de la phase continue

CHAPITRE III : SANTE CUTANEE ET REGENERATION TISSULAIRE

III.1. Peau saine

III.1.1. Définition

La peau, est l'organe le plus grand et le plus lourd du corps humain, avec une surface de 2 m² et une épaisseur variant de 1 à 4 mm. Au-delà de son rôle de couverture, elle assure plusieurs fonctions essentielles : protection, thermorégulation, sensibilité et échanges. [48]

III.1.2. Structure

Structurellement la peau se compose de trois couches l'épiderme, le derme et l'hypoderme, comme le montre la figure (III.1).

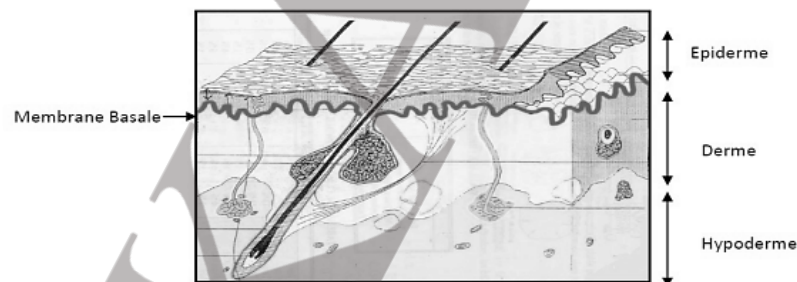


Figure III.1 : Image démonstrative d'une coupe histologique de la peau. [49]

III.2. Brûlures

III.2.1. Définition

Les brûlures sont une forme de traumatisme très grave, provoquant des dommages locaux et généraux qui perturbent fortement l'équilibre du corps. Elles entraînent une destruction immédiate des tissus et peuvent avoir de lourdes conséquences sur la santé. [50]

III.2.2. Classification des brûlures par étiologie

Les brûlures sont classées selon leur étiologie comme suit :

- Brûlures thermiques
- Brûlures chimiques
- Brûlures électriques
- Brûlures par rayonnements

III.2.3. Degré des brûlures

La structure histologique de la peau (figure III.1) permet de distinguer 4 degrés en fonction de la destruction ou pas de la membrane basale ; ainsi on distingue le 1^{er} degré, le 2^{ème} degré superficiel, le 2^{ème} degré profond ou intermédiaire et le 3^{ème} degré. [49]

La figure (III.2) suivante résume la profondeur des 3 degrés de brûlures.

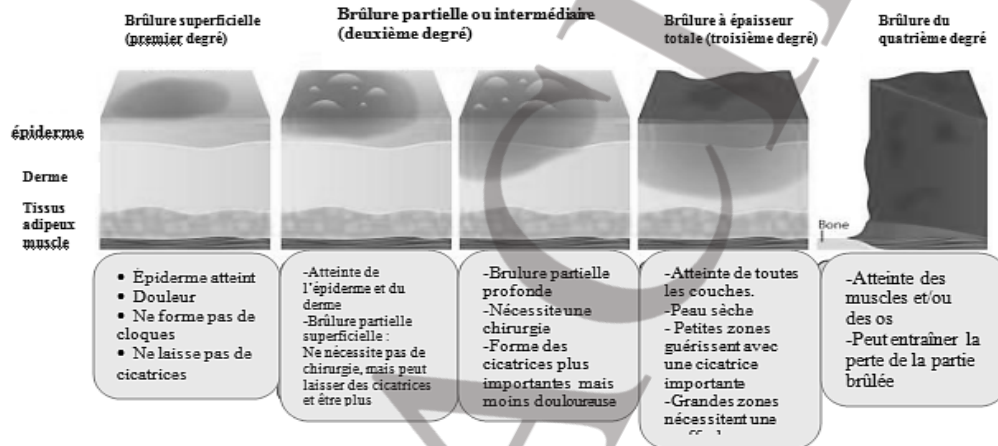


Figure III.2 : Illustration des profondeurs des brûlures. [49]

III.3. Cicatrisation

III.3.1. Définition

La cicatrisation des brûlures est décrite comme un processus biologique irréversible débutant par une altération de l'intégrité des tissus. [51]

III.3.2. Processus

De manière générale le processus de cicatrisation est classé en trois

- **Phase initiale vasculo-inflammatoire avec détersion**

Lors de cette phase qui dure jusqu'à 72 heures, la coagulation commence et le saignement s'arrête. Cette phase est suivie par la réponse inflammatoire qui dure jusqu'à 4 jours. [52]

- **Phase de migration (prolifération) ou de bourgeonnement**

Lors de cette étape, la cicatrisation progresse vers la phase proliférative, caractérisée par la restauration du réseau vasculaire et la régénération de l'épithélium. [53]

- **Phase de remodelage ou de maturation**

Cette dernière phase de maturation est la plus longue et peut durer plusieurs mois voire années. Elle permet au tissu lésé de retrouver plus ou moins ses propriétés fonctionnelles initiales et d'obtenir une cicatrice stable. [52]

CHAPITRE IV : PHYTOTHERAPIE

IV.1. Définition

Le terme de phytothérapie provient du grecques « photon » et « thérapie » qui signifie respectivement « plante » et « traitement », elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour soigner les maladies. [54]

Une plante médicinale est une plante dont ces organes (les feuilles, l'écorce, les fleurs, les racines ou les fruits) possèdent des vertus curatives lorsqu'ils sont utilisés à un certain dosage et d'une manière précise. [55]

IV.2. Atouts

Selon l'institut européen des substances végétales, l'atout premier de la phytothérapie est l'exceptionnelle tolérance des plantes médicinales, si elles sont choisies soigneusement en respectant les indications, contre-indications et en tenant compte des interactions éventuelles. Cet avantage permet d'éviter les effets secondaires, les problèmes de rebond, de rétrocontrôles négatifs et de dépendance si fréquemment rencontrés avec les médicaments de synthèse.

Il est important de préciser que connaître une plante, c'est aussi être conscient de ses limites et de ses dangers car la phytothérapie n'est en aucun cas une technique anodine. [56]

IV.3. Statut de la phytothérapie dans le monde d'aujourd'hui

De nos jours, la phytothérapie est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés ces derniers sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation, la circulation de ces derniers est soumise à l'autorisation de mise sur le marché. [57]

Les traitements à base des plantes sont de plus en plus pris en compte, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques diminue en raison de l'adaptation des bactéries et des virus aux médicaments et de leur résistance croissante. [58]

IV.4. Préparations et utilisations de la phytothérapie

IV.4.1. Infusion

La méthode la plus simple consiste à verser de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de plante. Après une infusion de 10 minutes à plusieurs heures, les vapeurs riches en composés volatils se condensent, puis le liquide est filtré avant usage. [59]

IV.4.2. Décoction

La décoction consiste à faire bouillir les plantes ou partie de la plante ; elle s'applique aux écorces, racines, tiges, fruits. L'ébullition dure généralement entre 10 et 30 minutes. [60]

IV.4.3. Macération

La macération est une technique d'extraction qui consiste à laisser tremper une plante dans un solvant à température ambiante pendant une durée prolongée. [60]

IV.4.4. Huiles essentielles

Un produit extrait d'une matière première végétale par différentes techniques, telles que l'hydrodistillation ou la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction mécanique par pressage de l'épicarpe des agrumes, ou encore la distillation sèche. [61]

IV.4.5. Poudres

Les poudres végétales sont obtenues par séchage puis broyage des parties de plantes. Elles conservent les principes actifs de la plante et peuvent être utilisées en infusion, en gélules, ou incorporées dans des préparations médicinales et cosmétiques. [59]

IV.5. Phytothérapie et cicatrisation des brulures

IV.5.1. Propriétés intéressantes pour la cicatrisation des brulures

La phytothérapie offre une alternative naturelle ou complémentaire aux traitements conventionnels des brulures grâce aux propriétés suivantes :

- **Anti-inflammatoires** : réduction de la réponse inflammatoire excessive.
- **Cicatrisantes** : stimulation de la régénération cellulaire.
- **Antimicrobiennes** : prévention des infections secondaires.
- **Hydratantes et apaisantes** : restauration de la barrière cutanée et soulagement des douleurs. [62] [63] [64]

CHAPITRE V : TRAVAUX ANTERIEURS

V.1. Application des nanoparticules en médecine, pharmacie et biologie.

D'après la recherche publiée en 2004 par Salata dans le journal de la nanobiotechnologie, les nanoparticules connaissent des avancées significatives dans les applications biologiques et médicales en raison de leurs propriétés dépendantes.

Elles sont utilisées pour le marquage biologique, l'administration ciblée de médicaments, la détection de pathogènes et l'ingénierie tissulaire. Les récents développements incluent des applications en thérapie anticancéreuse, en détection des protéines, en manipulation des cellules et en implants.

D'après l'auteur, bien que la majorité des applications commerciales soient centrées sur l'administration et la vectorisation des médicaments, l'avenir de ces technologies se dirige vers des dispositifs multifonctionnels et contrôlables qui pourraient révolutionner le diagnostic et le traitement des maladies. [65]

V.2. Nanoparticules d'argent : une revue des méthodes de synthèse, des propriétés et des applications.

Une étude a été menée par Natsuki et al. en 2015 qui explore les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent, en mettant l'accent sur les approches chimiques qui permettent d'obtenir des nanoparticules stables et uniformes tout en minimisant le coût et respectent l'environnement.

Ces méthodes, soulignent l'utilisation de réactifs hydrosolubles et non toxiques, des réactions à température ambiante et des processus de purification simplifiés.

Les auteurs ont abordé également les facteurs influençant la taille, notamment les conditions de la réaction que ce soit température ou pH, les agents réducteurs et les stabilisants utilisés. Ces avancées ouvrent la voie à une production industrielle d'AgNPs par des méthodes efficace et respectueuse envers l'environnement pour diverses applications. [66]

V.3. Synthèse biologique de nanoparticules d'argent à l'aide du champignon *Aspergillus flavus*

Selon une recherche menée par Vigneshwaran et al. en 2006, le champignon *Aspergillus flavus* exposé aux nitrates d'argent, produit des nanoparticules d'argents en 72 heures qui se fixent sur sa paroi cellulaire.

Les analyses ont montré que le pic d'adsorption est à 420 nm et une taille moyenne de 8.92 ± 1.61 nm. Pour l'analyse par diffraction elle a confirmé la nature de ces nanoparticules métalliques. En photoluminescence, elles émettent un pic à 553 nm sous excitation à 420 nm.

Les résultats ont montré que ce procédé biologique est écologique et simple et les nanoparticules d'argent produites sont stables avec un potentiel anti microbien élevé. [28]

V.4. Biosynthèse de nanoparticules d'argent à partir d'extrait de bourgeons de *Syzygium nervosum* et stabilité

Dans une recherche récente (2023) portée sur la synthèse des nanoparticules d'argent, Pham et al. ont utilisé un extrait aqueux de bourgeons de *Syzygium nervosum* comme agent réducteur et stabilisant. Ils ont prouvé la grande stabilité de ces AgNPs due à la présence d'une couche organique protectrice qui empêche leur agrégation et assure leur dispersion d'une façon homogène, mais aussi d'autre part en raison de la forte charge négative de leur surface qui crée une force de répulsion électrostatique entre les nanoparticules, les empêchant de se rapprocher et de s'agréger.

Ces nanoparticules étaient sphériques, d'une taille moyenne de 10 à 30 nm et ont montré une excellente activité antimicrobienne et antifongique.

De plus, ils ont exhibé une activité catalytique remarquable en convertissant rapidement les dérivés nitrophénoliques (2-NP, 3-NP, 4-NP) en aminophénols dans une durée de 15 minutes.

[67]

V.5. Activité antimicrobienne in vitro d'une crème à base d'extraits de plantes et de nanoparticules d'argent et recherche clinique in vivo sur des cas vétérinaires

En 2022, Teodora et al. ont mis en évidence l'effet antimicrobien d'une crème, SILVER STOP® (SS®), contenant des extraits de plantes (*Pelargonium sidoides*, *Sambucus nigra*, *Hypericum perforatum*) et des nanoparticules d'argent (30 ppm).

In vitro, la crème a montré une forte activité antimicrobienne, éliminant rapidement *E. coli* (en 1 minute), tandis que *S. aureus* et *C. albicans* ont nécessité plus de temps, surtout à haute densité cellulaire (1 et 2 heures respectivement).

In vivo, des chiens atteints d'affections cutanées ont été traités avec la crème, entraînant une guérison complète sans effets secondaires ni irritation.

Ces résultats suggèrent que la combinaison des extraits de plantes et des AgNPs pourrait offrir une alternative efficace pour le traitement des infections cutanées, tant en médecine vétérinaire qu'humaine. [68]

V.6. Les nanoparticules d'argent comme agents topiques efficaces pour la cicatrisation des plaies

D'après la recherche menée par Thirumurugan et al. en 2011, les nanoparticules d'argent qui ont été incorporées dans des textiles en coton ou des pansements, ont montré une réduction significative du temps de cicatrisation des plaies avec une moyenne de 3,35 jours, ainsi qu'une élimination totale des bactéries des plaies infectées, sans aucun effet indésirable.

De plus, les propriétés anti-inflammatoires des nanoparticules d'argents favorisent la cicatrisation en diminuant la libération des cytokines, ce qui réduit l'infiltration des lymphocytes et des mastocytes. [3]

V.7. Nanoparticules d'argent synthétisées par voie verte pour la formulation d'une crème : activités anti-inflammatoires et cicatrisantes

La recherche publiée par Adeleye et al. en 2020, met en lumière l'utilisation des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisées par voie verte à partir d'extraits de *Ehretia cymosa* pour la formulation de crèmes ayant des propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes.

Les nanoparticules d'argent ont été synthétisées à partir de ces extraits et caractérisées par spectroscopie UV-Vis, ensuite l'activité anti-inflammatoire a été testée sur des rats.

Les résultats des crèmes contenant des AgNPs, ont montré une forte activité anti-inflammatoire, jusqu'à 100 % de réduction de l'inflammation en 4 heures pour certaines formulations et la vitesse de cicatrisation était plus rapide comparée aux crèmes à base d'extraits seuls et à un témoin positif (Diclofénac).

Les résultats ont mis en évidence une grande capacité à réduire l'inflammation et à favoriser la cicatrisation, suggérant que ces crèmes peuvent offrir une alternative naturelle, sécuritaire et efficace pour le traitement des affections cutanées. [2]

V.8. Effets de l'exposition aux nanoparticules sur la santé

Warheit et al. (2008) ont abordé les risques liés à l'exposition aux nanoparticules, en raison de leur petite taille (<100 nm) et de leur surface spécifique élevée, les nanoparticules peuvent générer des radicaux libres et interagir avec les cellules, provoquant des effets inflammatoires et cytotoxiques surtout dans les poumons.

Les chercheurs ont mis en avant l'importance de caractériser les propriétés physico-chimiques des nanoparticules (taille, surface, structure cristalline, réactivité, etc.) car ces paramètres jouent un rôle important dans leur potentiel toxique. Etant donné que la toxicité pulmonaire causée par les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂), et de quartz dépend davantage de la réactivité de surface que de la taille des particules.

Un cadre de gestion des risques (Nano Risk Framework) est proposé pour analyser leur dangerosité en tenant compte de leur cycle de vie. Ils soulignent aussi la nécessité de développer

des méthodes de manipulation des nanomatériaux en laboratoire, en utilisant des contrôles techniques et des équipements de protection pour minimiser les expositions. [69]

V.9. Criblage phytochimique des constituants bioactifs d'une plante algérienne (*Carthamus caeruleus* L.)

Le chercheur Dahmani a examiné la composition phytochimique et la toxicité de *Carthamus caeruleus* en 2016. Il a révélé que cette plante est riche en composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoire ce qui pourrait expliquer son usage traditionnel pour les brûlures.

Pour les tests de toxicité, l'étude était faite sur des souris et les résultats n'ont montré aucune toxicité bien qu'une diminution du poids ait été observée à la plus forte dose, possiblement liée à une diminution de l'appétit. [70]

**APPROCHE
EXPERIMENTALE**

CHAPITRE VI : ORIGINE VEGETALE, ELABORATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT ET CARACTERISATION

VI.1. Description des plantes utilisées

VI.1.1. *Origanum Vulgare*

VI.1.1.1. Présentation

L'Origan, ou l'*Origanum Vulgare* et de son nom arabe 'Zaater ' est une espèce de plantes herbacées vivace de la famille des lamiacées, également appelée Marjolaine Sauvage ou Marjolaine Vivace.

La famille des Lamiaceae comprend 187 genres et 3 000 espèces, et la plupart des Genres sont riches en huiles essentielles. [71]



Figure VI.1 : Illustration de la plante *Origanum vulgare*.

VI.1.1.2. Description botanique

L'*origanum vulgare*, originaire d'Europe et exporté au Moyen-Orient ; est une plante odorante vivace. Ses tiges sont dressées, velues et mesurent 0.60m portant des feuilles lancéolées, finement dentelées de couleur verte et des fleurs blanches ou pourpres. [72]

VI.1.1.3. Classification

Le tableau suivant montre la classification de l'origan selon Deysson 1967

Tableau VI.1 : classification de l'*Origanum vulgare* selon Deysson.

Genre	Origanum
Famille	Lamiaceae
Sous famille	Népétoïdées
Ordre	Lamiales
Super ordre	Tubiflorales
Série	Superovariées tétracycliques
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae

VI.1.1.4. Composition

Huile essentielle, sucres amers, caféine, tanins (8%), acides phénoléniques et flavonoïdes. 4 substances antiasthmiques, 6 substances expectorantes, 6 substances hypotensives, 19 substances bactéricides (jusqu'à 8,8 % du poids sec), carvacrol, thymol et tanins. [73]

VI.1.2. *Carthamus Caeruleus L.*

VI.1.2.1. Présentation

Le *Carthamus Caeruleus L.* et de son nom berbère 'Amerseguess' est une espèce de plantes vivace de la famille des astraceae, elle est également appelée Cardoncelle Bleue.

Figure VI.2 : Illustration de *Carthamus Caeruleus L.* (plante et racines).

VI.1.2.2. Description botanique

C'est une plante vivace qui mesure entre 20 et 60 cm, avec une tige droite et peu de branches, ses feuilles sont couvertes de petits poils, de formes variées et souvent dentées, ses graines sont blanchâtres avec une petite couronne de soies plus longues qu'elles et ses fleurs sont bleues violâtres. [72]

VI.1.2.3. Classification

Le tableau (VI.2) suivant, montre la classification de *Carthamus Caeruleus L.* selon l'inventaire national du patrimoine naturel.

Tableau VI .2 : Classification systématique du *Carthamus Caeruleus L.* selon l'inventaire national du patrimoine naturel.

Genre	Carthamus L.
Famille	Astraceae
Sous famille	<i>Carduoideae</i>
Ordre	Astérales
Règne	Plantae Haeckel
Tribu	Cardueae
Classe	Equisetopsida
Espèce	<i>Carthamus caeruleus L</i>

VI.1.2.4. Composition des racines

Le screening phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus* a révélé plusieurs biomolécules aux propriétés bénéfiques ; des terpènes, des terpénoïdes, des esters, des glucosides, des flavonoïdes, des saponosides, des tannins totaux, des sénosides, des mucilages et des leucoanthocyanes. [70]

VI.1.2.5. Propriétés pharmacologiques et indication en phytothérapie

▪ Anti-oxydante

L'analyse de l'activité antioxydante par une étude phytochimique des rhizomes de *Carthamus Caeruleus* a montré un pouvoir réducteur élevé par rapport à celui résultant d'un autre antioxydant, la richesse du rhizome de *Carthamus Caeruleus L.* en composés poly phénoliques lui confère l'activité antioxydante. [74]

▪ Cicatrisante

Le pouvoir cicatrisant de *Carthamus Caeruleus L.* est attribué pour la présence des composés phénoliques, l'étude de ce pouvoir a été faite chez des rats en comparaison avec le Madécassol (médicament à effet cicatrisant) les résultats ont confirmé l'hypothèse comme le montre la figure (VI.3). [74]

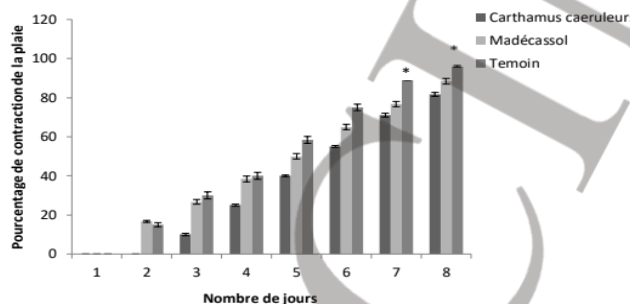


Figure VI.3 : Diagramme de l'effet des racines de *Carthamus caeruleus* sur la cicatrisation en comparaison avec du Madécassol chez des rats. [74]

▪ Anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de la plante est expliquée par la présence des flavonoïdes, qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires qui leur permettent de baisser la libération d'histamine. [75]

VI.2. Protocole de préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux des deux plantes ont été préparé en suivant les protocoles décrit par Shakeelet all. en 2016 et Pham et al. en 2023 avec une légère modification de la température. [67] [76]

VI.2.1. *Origanum vulgare*

L'extrait aqueux de l'origan a été préparé comme le montre la figure (VI.4) suivante :

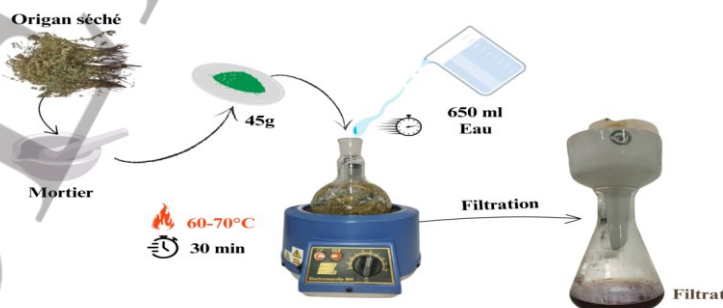


Figure VI.4 : Illustration de la préparation de l'extrait d'origan.

▪ Préparation primaire

Les feuilles de la plante *Origanum vulgare* ont été collectées à Ath Allaoua, Tizi ouzou, puis soigneusement triées afin d'éliminer les impuretés et les parties abimées.

▪ Séchage :

Les feuilles et les fleurs ont été étalées en couche fine dans un endroit sec à l'abri de la lumière. La température ambiante n'a pas été contrôlée de manière spécifique mais elle correspondait aux variations naturelles de l'environnement ($22 \pm 5^{\circ}\text{C}$), pendant 2 mois. Ce processus lent a permis de limiter la dégradation des molécules thermosensibles.

▪ Broyage :

Une fois les feuilles complètement sèches elles ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre grossière et non fine car un broyage fin pourrait compliquer l'étape de la filtration. Cette étape permet d'augmenter la surface d'échange entre la matière végétale et le solvant.

▪ Extraction :

Pour la préparation de l'extrait aqueux, 45g de plante ont été pesés et ajoutés dans ballon rond de 1L contenant déjà 650ml d'eau de manière à assurer une immersion complète.

L'extraction a été réalisée dans un chauffe ballon à une température de 60° à 70°C pendant 30 minutes afin d'éviter la dégradation des principes actifs. L'usage de cet appareil assure une chaleur douce et uniforme.

▪ Filtration :

Après chauffage l'extrait a été filtré à travers un filtre en papier pour éliminer les résidus végétaux et obtenir un extrait limpide.

▪ Stockage :

L'extrait est conservé à 4°C , à l'abri de la lumière.

VI.2.2. *Carthamus caeruleus* L.

L'extrait aqueux du *Carthamus* a été préparé comme le montre la figure (VI.5) suivante :

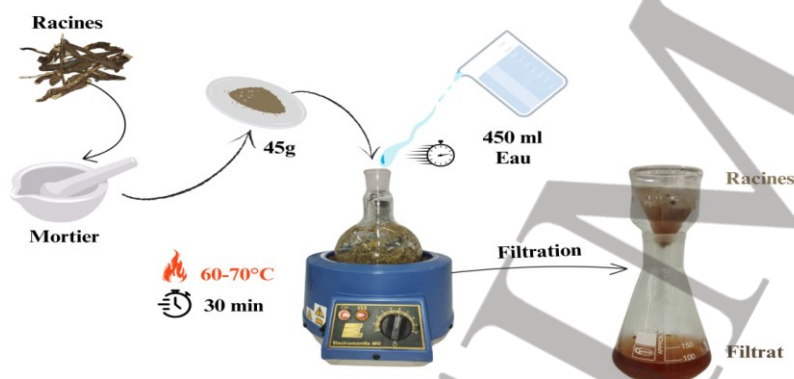


Figure VI.5 : Illustration de la préparation de l'extrait de Carthamus.

▪ Préparation primaire :

Les racines de la plante *Carthamus caeruleus L.* ont été collectées dans la région d'Azeffoun. Elles ont ensuite été coupées en petits morceaux de 5 cm afin de faciliter le séchage et optimiser l'extraction.

▪ Séchage :

Le séchage a été réalisé dans une étuve à 40°C pendant plusieurs heures jusqu'à évaporation totale de l'humidité résiduelle. Cette étape permet de préserver les principes actifs tout en éliminant l'humidité. Le séchage en étuve permet aussi d'éviter le développement de moisissures.

▪ Broyage :

Une fois les racines séchées elles ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier.

▪ Extraction :

L'extraction a été réalisée par la méthode que celle appliquée à l'*Origanum vulgare* ; pour cela 45g de racines séchées et broyées ont été placés dans un ballon à fond rond de 1L puis 450 mL d'eau distillée y ont été versés. La quantité mentionnée permet une extraction adéquate des principes actifs tout en respectant un rapport classique de 1/10 afin d'obtenir un extrait suffisamment concentré. [76]

L'extraction a été réalisée à une température comprise entre 60° et 70°C pendant 30 minutes. Une fois l'extraction finie l'extrait est refroidi puis filtré et conservé de la même manière que l'Origan.

VI.3. Préparation de la solution d'AgNO₃

La solution d'AgNO₃ a été préparée en calculant au préalable la quantité nécessaire à dissoudre pour une solution de concentration 1mM soit 10⁻³ mol/L dans un volume de 500 mL, la masse d'AgNO₃ a été déterminée à travers la formule (VI.1) suivante :

$$C = \frac{n}{V} \equiv \frac{m}{M \times V} \rightarrow m = C \times M \times V \dots (VI.1)$$

D'où la masse requise pour cette préparation est de :

$$m = 1 \times 0.001 \text{ mol/L} \times 169,87 \text{ g/mol} \times 0.5 \text{ L} = 0.0849 \text{ g}$$

Cette quantité de 0.0849 a été pesée avec précision à l'aide d'une balance analytique de la marque KERN_{EG}, puis transférée dans une fiole jaugée de 500 mL. L'eau déminéralisée a été ajoutée jusqu'au trait de jauge et la solution a été agitée à 500 tr/min pendant 10 minutes, comme le montre la figure (VI.6) suivante.

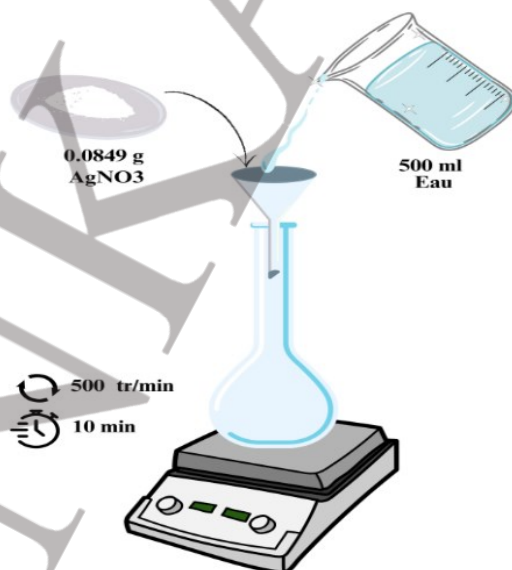


Figure VI.6 : Image démonstrative de la préparation de la solution de nitrates d'argent.

VI.4. Protocole de synthèse des nanoparticules d'argent

La synthèse des nanoparticules d'argent a été réalisée selon le protocole de Vigneshwaranm et al. [28] avec une modification du volume d'extrait comme représenté dans la figure (VI.7) suivante :

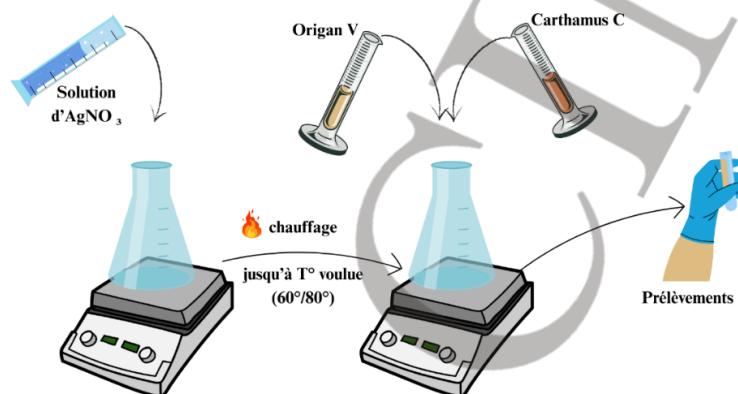
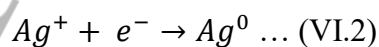


Figure VI.7 : Image démontrant le protocole de synthèse des nanoparticules d'argent.

Dans un erlenmeyer de 250 mL, un volume défini de la solution de nitrates d'argent AgNO₃ préalablement préparée comme mentionnée dans la partie (VI.3) est utilisée comme produit de départ pour la synthèse, cette dernière a été placée sur un agitateur magnétique chauffant et chauffée jusqu'à atteindre la température cible selon l'expérience.

Une fois la température stabilisée, un mélange d'extrait (5ml de chacun) (partie VI.2) ont été ajouté à la solution ; les extraits végétaux contiennent des composés bioactifs réducteurs qui cèdent des électrons aux ions Ag⁺ ce qui les transforme en argent métallique Ag⁰ selon la réaction (VI.2) suivante :



La réaction a été maintenue sous agitation constante (450 tours/min) et à température constante également.

VI.5. Optimisation du procédé de synthèse

L'optimisation du procédé de synthèse a été réalisée en suivant le protocole décrit précédemment et en utilisant un plan d'expérience qui se base sur une approche factorielle avec

un plan imbriqué de trois variables, dont deux à deux niveaux et une hiérarchique à plusieurs niveaux.

▪ Les facteurs étudiés

Les facteurs étudiés sont : le ratio Extrait : AgNO_3 (X_1) à deux niveaux constants 1 : 4 et 1 : 10, la température (X_2) à deux niveaux constants également 60°C et 80°C et le temps (X_3) qui prends 14 niveaux (entre 0 et 130min). Le tableau (VI.3) représente les niveaux des facteurs du plan d'expérience.

Tableau VI.3 : Niveaux des facteurs choisis.

Facteur Type de niveau	Température (°C)	Ratio Extrait : AgNO_3	Temps (min)
Niveau haut (+1)	80	1 : 10	
Niveau bas (-1)	60	1 : 4	
Multi-niveaux			0, 3, 10, 20, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130

Le nombre d'expériences à réaliser est déterminé à l'aide de l'équation (VI.3) suivante :

$$N = L^K \times C \dots (\text{VI.3})$$

Avec :

N : le nombre d'essais à réaliser.

L : le nombre de niveau pour un facteur

K : le nombre de facteur.

C : le nombre de niveau d'un facteur spécial multiniveaux

La substitution des valeurs dans l'expression (VI.3) conduit à :

$$N = 2^2 \times 14 = 56 \text{ essais.}$$

La matrice des essais est donnée dans le tableau (VI.4) suivant :

Tableau VI.4 : Matrice des essais.

Facteur Essai	X ₁		X ₂ (°C)		X ₃ (min)
	Niveau	Valeur	Niveau	Valeur	Valeur
1	-1	1 :4	-1	60	0
2	+1	1 :10	-1	60	0
3	-1	1 :4	-1	60	3
4	+1	1 :10	-1	60	3
5	-1	1 :4	-1	60	10
6	+1	1 :10	-1	60	10
7	-1	1 :4	-1	60	20
8	+1	1 :10	-1	60	20
9	-1	1 :4	-1	60	40
10	+1	1 :10	-1	60	40
11	-1	1 :4	-1	60	50
12	+1	1 :10	-1	60	50
13	-1	1 :4	-1	60	60
14	+1	1 :10	-1	60	60
15	-1	1 :4	-1	60	70
16	+1	1 :10	-1	60	70
17	-1	1 :4	-1	60	80
18	+1	1 :10	-1	60	80
19	-1	1 :4	-1	60	90
20	+1	1 :10	-1	60	90
21	-1	1 :4	+1	80	0
22	+1	1 :10	+1	80	0
23	-1	1 :4	+1	80	3
24	+1	1 :10	+1	80	3
25	-1	1 :4	+1	80	10
26	+1	1 :10	+1	80	10

27	-1	1 :4	+1	80	20
28	+1	1 :10	+1	80	20
29	-1	1 :4	+1	80	40
30	+1	1 :10	+1	80	40
31	-1	1 :4	+1	80	50
32	+1	1 :10	+1	80	50
33	-1	1 :4	+1	80	60
34	+1	1 :10	+1	80	60
35	-1	1 :4	+1	80	70
36	+1	1 :10	+1	80	70
37	-1	1 :4	+1	80	80
38	+1	1 :10	+1	80	80
39	-1	1 :4	+1	80	90
40	+1	1 :10	+1	80	90
41	+1	1 :10	+1	80	100
42	+1	1 :10	+1	80	110
43	+1	1 :10	+1	80	120
44	+1	1 :10	+1	80	130
45	-1	1 :4	+1	80	100
46	-1	1 :4	+1	80	110
47	-1	1 :4	+1	80	120
48	-1	1 :4	+1	80	130
49	+1	1 :10	-1	60	100
50	+1	1 :10	-1	60	110
51	+1	1 :10	-1	60	120
52	+1	1 :10	-1	60	130
53	-1	1 :4	-1	60	100
54	-1	1 :4	-1	60	110
55	-1	1 :4	-1	60	120
56	-1	1 :4	-1	60	130

- Les réponses observées :

La réponse principale dans cette étude est l'absorbance (Y_1), une autre réponse a été prise en considération ; c'est la longueur d'onde (Y_2). Ces résultats sont obtenus après une analyse par UV-Visible.

Dans cette première série d'expériences, le pH brut du mélange (pH = 5), des deux plantes a été utilisé, ce qui pourrait expliquer la variabilité observée dans les longueurs d'onde obtenues et afin de ne pas introduire un facteur supplémentaire et fausser l'interprétation des effets des trois variables initiales, l'influence du pH sera étudiée séparément dans une seconde partie de l'expérimentation.

Après la réalisation des expériences, les valeurs obtenues ont été introduite dans un logiciel (MODDE 6) (cf. Appendice A) qui permet d'étudier l'influence des facteurs sur les réponses et leurs interactions ainsi que le modèle mathématique de type $Y = f(X_i)$ qui représente la relation entre les facteurs et les réponses et qui est donné par l'équation (VI.4) qui suit :

$$y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^n \alpha_i x_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n \alpha_{ij} x_i x_j + \varepsilon \dots \text{(VI.4)}$$

Avec :

' α_0 ' est le terme constant

' α_i ' et ' α_{ij} ' sont les coefficients de régressions

' X_i ' et ' X_j ' sont les variables et n est leur nombre

' ε ' est l'erreur

VI.6. Etude complémentaire de l'influence du pH

D'après Oksana et al. Un pH acide n'est pas optimal pour la synthèse verte des nanoparticules d'argent. [77]

Afin d'étudier son influence sur notre procédé, l'expérience identifiée comme optimale lors de la première série d'essais, a été reproduite dans des conditions identiques, à l'exception du pH, ajusté cette fois ci à une valeur alcaline de 8,5 en ajoutant goutte à goutte une solution de NaCl à 0,1 mol au mélange des deux extraits avant synthèse à l'aide d'un pH mètre de la marque

AQUASEARCHER™. Les nanoparticules obtenues ont ensuite été caractérisées par spectroscopie UV-visible, DLS ainsi qu'une analyse du potentiel Zeta par un Horiba NANOPATRICA SZ-100.

Cette étude complémentaire vise à approfondir la compréhension du procédé de synthèse verte en évaluant l'impact du pH sur la formation, la taille et la stabilité des nanoparticules d'argent.

VI.7. Caractérisation des nanoparticules d'argent et des extraits aqueux

VI.7.1. Infra rouge

L'appareil utilisé pour les analyses FTIR est un spectromètre FTIR-8900, ce dernier permet de mesurer l'absorbance des échantillons dans la gamme des IR ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$).

Une goutte de l'échantillon (en premier ceux des deux plantes et du mélange des deux puis en deuxième celui de la solution d'AgNPs) est placée sur une pastille KBr préalablement fabriquée, puis un faisceau lumineux infrarouge est dirigé sur cette dernière et l'intensité du rayonnement absorbée est mesurée après l'interaction.

Les spectres obtenus permettent d'identifier les groupements fonctionnels afin de déterminer les composés réducteurs et stabilisants dans notre procédé de synthèse.

VI.7.2. UV visible :

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre UV-VISIBLE-1900i de la marque SHIMADZU ; une source polychromatique (émettant dans l'UV ou le visible) est placée devant un prisme qui va décomposer le rayonnement. Le diaphragme en revanche permet d'éclairer l'échantillon avec un faisceau de faible largeur, donc de bonne qualité monochromatique, le photodétecteur quant à lui mesure l'intensité du rayonnement transmis après traversée de la solution échantillon. [78]

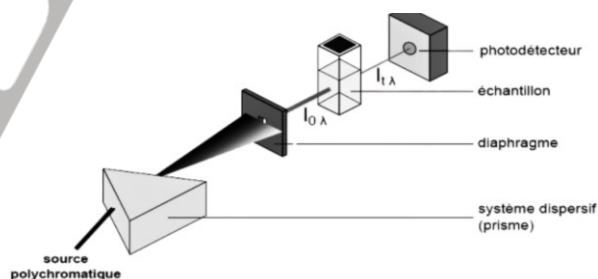


Figure VI.8 : Illustration des constituants d'un appareil UV-Visible. [78]

Les échantillons ont subi une dilution puis ont été directement placés dans une cuve en quartz.

Les spectres résultants permettent de détecter les longueurs d'onde caractéristiques d'absorption des nanoparticules d'argent, notamment dans la gamme de 400-500 nm [79] ; ces pics sont indicatifs de la présence des AgNPs dans la solution et permettent de confirmer leur formation. En analysant ces spectres on peut également suivre l'évolution des nanoparticules d'argent tout le long de leur synthèse.

VI.7.3. DLS

La taille des nanoparticules d'argent synthétisées a été mesurée par diffusion dynamique de la lumière avec un Horiba NANOPARTICA SZ-100, cette technique optique est basée sur le mouvement constant et aléatoire des particules en suspension.

Pour chaque échantillon 1ml est prélevé puis analysé, les valeurs suivantes ont été enregistrées dans l'appareillage préalablement :

- Température : 25°C
- Indice de réfraction : 0.135

Le DLS renseigne sur :

- Le Z-average, qui correspond à un diamètre hydrodynamique calculé à travers la moyenne harmonique de l'intensité.
- L'indice de polydispersité PDI, utilisé pour décrire la distribution de la taille dans la suspension ; plus il est faible, plus la distribution est étroite et plus il est élevé, plus la distribution est large.

VI.7.4. Potentiel Zeta

L'instrument qui a été utilisé est le Horiba NANOPARTICA SZ-100, le même que pour le DLS. Il permet de quantifier le potentiel Zêta, qui représente la charge de surface de nos nanoparticules en solution ; ce dernier nous éclaire sur la stabilité de la suspension colloïdale ; considérée comme stable uniquement si le potentiel Zêta est à ± 30 mV.

VI.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent

L'activité antimicrobienne des AgNPs a été évaluée vis-à-vis de quatre souches microbiennes de référence comprenant trois bactéries :

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Et une levure :

- *Candida albicans*.

Le protocole expérimental adopté est le suivant :

1. Quatre boîtes de Pétri ont été remplies de gélose MH, ensuite laissées à solidifier.
2. Chaque boîte a étéensemencée en surface avec l'une des quatre souches mentionnées.
3. Chaque boîte a été divisée en quatre sections.
4. Dans chaque section, 10µL de l'une des préparations des AgNPs (10ppm, 1ppm et 0,1 ppm) a été déposée en plus de la solution témoin.
5. Les 3 boîtesensemencées avec des bactéries ont été incubées à 37°C pendant 24 heures, tandis que celle contenant *Candida albicans* a été incubée à 30°C pendant 48h.
6. Après l'incubation, la lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, les résultats permettent d'avoir la sensibilité des couches vis-à-vis des AgNP :
 - Diamètre < 8mm : Non sensible ou résistant.
 - Diamètre compris entre 9 et 14mm : Sensible.
 - Diamètre compris entre 15 et 19mm : Très sensible.
 - Diamètre > 20mm : Extrêmement sensible. [80]

CHAPITRE VII : FORMULATION ET EVALUATION D'UNE EMULSION

VII.1. Conception et mise en point d'une émulsion à effet thérapeutique

VII.1.1. Choix du type d'émulsion

Une émulsion hydrophile est privilégiée pour les raisons suivantes :

- Bonne tolérance cutanée
- Pouvoir pénétrant élevé dû à la présence des substances auxiliaires (les agents de surfaces mouillants et les émulsionnants).

VII.1.2. Matières premières utilisées

Les matières premières utilisées sont illustrées dans le tableau (VII.1) suivant :

Tableau VII.1 : Matières premières utilisées lors de la formulation.

Matière première	Rôle	Quantité	T° fusion
Huile de paraffine	Base de la phase huileuse, hydratant	10 %	
Cire d'abeille	Agent de consistance, protecteur	4.5%	62-65°C
Cérésine	Agent de structure, stabilisant	4%	62-100°C
Vaseline épaisse	Occlusif, protecteur	3%	36-60°C
Glycérine	Agent humectant	2%	20°C
Alcool stéarique	Émulsifiant, épaississant, émollient	5%	57.9°C
Vitamine E	Antioxydant	0.2%	
Alcool benzylique	Conservateur, antiseptique	0.5%	
Ag NPs	PA	1% (30 PPM)	
Tween (80)®	Tensio-actif	3,5%	
Span™ (60)	Tensio-actif		53°C
Eau déminéralisée	Milieu de dispersion	QSP	

La quantité incorporée des AgNPs était de 30ppm, conformément aux études indiquant qu'une concentration de 30ppm est généralement bien tolérée dans des applications topiques. [81]

VII.1.3. Fraction des tensio-actifs nécessaires

Afin de déterminer les proportions nécessaires des deux tensio-actifs pour assurer une bonne stabilité finale de l'émulsion, on procède d'abord au calcul de la HLB requise de la phase huileuse en suivant la formule (VII.1) suivante :

$$HLB_{requis} = \frac{\sum (HLB_i \times m_i)}{\sum m_i} \dots (VII.1)$$

Avec :

HLB_i : la HLB propre de chaque matière première.

M_i : masse de la matière première.

Pour notre formulation la HLB requise est de 11, nous devons ajuster le mélange des deux tensioactifs choisis à savoir le tween 80[®] (avec une HLB de 15) et le span[™] 60 (avec une HLB de 4.7). Le calcul de la proportion adéquate de ces deux derniers se base sur l'équation (VII.2) suivante :

$$HLB_{Requis} = (x_1 \times HLB_{tween80^{\circ}}) + (x_2 \times HLB_{span^{\text{TM}}60}) \dots (VII.2)$$

Avec : x_1 et x_2 , les fractions massiques respectives des deux tensioactifs.

D'où les proportions nécessaires des tensioactifs pour atteindre une HLB requise de 11 sont les suivantes :

- 61.17% de tween 80[®].
- 38.83% de span[™] 60.

VII.1.4. Protocole expérimental

L'ensemble des étapes est résumé dans la figure (VII.1) suivante :

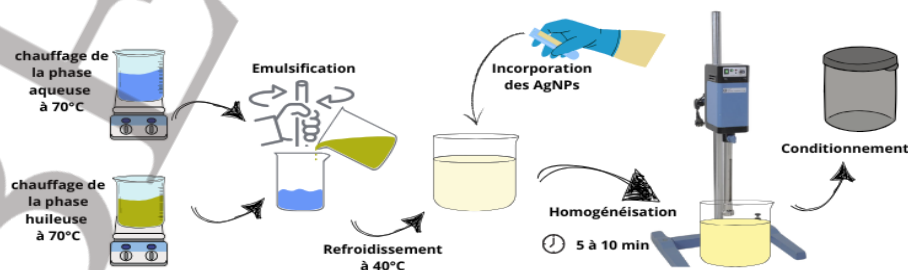


Figure VII.1 : Illustration des étapes du procédé d'émulsification.

- Préparation de la phase huileuse

La phase huileuse a été constituée par le mélange de l'huile de paraffine, de la vaseline épaisse, de la cire d'abeille, de la cérésine et de l'alcool stéarique et du spanTM 60.

Ce mélange a été chauffé à 70°C dans un bain marie de la marque MEMMERT et sous agitation jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

- Préparation de la phase aqueuse

La phase aqueuse a été préparée en dissolvant le tween 80®, la glycérine et l'alcool benzylique dans une quantité d'eau, l'ensemble a été chauffé toujours dans le même bain marie à 70°C sous agitation douce.

- Emulsification

L'émulsification est réalisée en incorporant progressivement la phase huileuse maintenue à 70°C dans la phase aqueuse à la même température sous agitation manuelle.

- Refroidissement

Le système a été refroidi progressivement sous faible agitation. A 40°C les nanoparticules d'argent dispersées dans l'eau ont été incorporées dans l'émulsion.

- Homogénéisation finale

Afin d'affiner la taille des gouttelettes et d'assurer la bonne dispersion des nanoparticules d'argent, l'émulsion a été homogénéisée pendant 5 à 10 minutes l'aide d'un ULTRA-TURRAX IKA L005470 T-25.

- Conditionnement

L'émulsion finale a été conditionnée dans des pots stériles et refroidie complètement à température ambiante puis stockée à 4°C.

VII.2. Caractérisation de l'émulsion

VII.2.1. Examen macroscopique

Les propriétés organoleptiques de l'émulsion ont été évaluées à l'œil nu, en termes de couleur, d'odeur, d'apparence, d'aspect, de consistance et d'homogénéité.

VII.2.2. Sens de l'émulsion

Le sens de l'émulsion est déterminé par la mesure de conductivité ; la conductivité obtenue est celle de la phase aqueuse, une émulsion H/E est beaucoup plus conductrice contrairement à une émulsion E/H. La conductivité de l'émulsion a été mesurée à température ambiante (25°C) en utilisant un conductimètre HI2314 de la marque HANNA_{INSTRUMENTS}.

VII.2.3. Stabilité à la centrifugation

Une masse de 10 g est introduite dans le tube de la centrifugeuse PRO-ANALYTICAL de la marque CENTURION SCIENTIFIC LTD puis soumise à une force de centrifugation pendant 10 minutes à 3000 tr/minutes. A la fin du test on observe si y'a présence d'un déphasage, d'une coalescence, d'un crémage ou bien l'absence de ces phénomènes.

VII.2.4. Examen microscopique

L'examen microscopique de l'émulsion a été effectué directement après le refroidissement, l'échantillon est placé entre une lame et une lamelle puis analysé sous microscope optique de la marque MAGNUS THEIA. Cette analyse permet de déterminer le système obtenu, la forme et la répartition des gouttelettes.

VII.2.5. pH

La mesure du pH est nécessaire, car elle peut affecter la stabilité des nanoparticules d'argent, modifier les propriétés rhéologiques ainsi que provoquer des irritations cutanées. Cette mesure est effectuée en plongeant l'électrode du pH mètre YY-1030 dans l'échantillon, puis en notant la valeur donnée.

VII.2.6. Analyse rhéologique

Les analyses rhéologiques ont été effectuées à l'aide d'un rhéomètre de la marque MCR 302 Anton Paar, les résultats obtenus ont ensuite été traités par le logiciel Rheoplus US200.

Une petite quantité de l'émulsion a été déposée sur le plateau inférieur du rhéomètre puis le plateau a été abaissé. Ce dispositif permet d'appliquer des contraintes mécaniques contrôlées pour étudier le comportement rhéologique du produit.

▪ Test d'écoulement

Les courbes d'écoulement ont été obtenus en faisant varier la vitesse de cisaillement de 10^{-3} à 10^3 s^{-1} à une température de 20°C , ce test nous permet de déterminer le type de fluide ainsi que la viscosité.

▪ Test de viscoélasticité

Ce test est un test non destructif contrairement au test d'écoulement, il se fait en imposant une rampe déformation croissante de 0,01 à 1000 Pa à une température de 20°C , les résultats obtenus permettent de déterminer les deux modules G' et G'' et d'obtenir le domaine LVE (domaine de viscoélasticité linéaire).

VII.3. Qualité microbiologique

Afin d'évaluer la qualité microbiologique de la crème à base de nanoparticules d'argent, un contrôle des germes totaux ainsi que des levures et moisissures a été réalisé ; pour ceci 10g de la crème a été prélevé et introduit dans 90ml de diluant stérile. Après homogénéisation du mélange, un temps de contact d'environ 15 min a été mis, ensuite 2mL de cette solution ont été prélevés et ensemencés :

- 1mL dans une boîte de Pétri contenant le milieu PCA pour le dénombrement des germes totaux.
- 1mL dans une boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud pour le dénombrement des levures.

Pour le milieu PCA, l'incubation a été effectuée à 32°C pendant 3 jours contrairement au milieu Sabouraud avec une incubation à 25°C pendant 5 jours.

A la fin des périodes d'incubation, les colonies développées ont été comptées dans le but de déterminer la charge microbienne et la conformité de cette dernière.

Le même protocole est refait pour le témoin (émulsion sans AgNPs).

VII.4. Amélioration de la formulation

Après la mise au point d'une première formulation de crème topique à base de nanoparticules d'argent, dont l'efficacité antimicrobienne a été démontrée et compte tenu du rôle reconnu des AgNPs dans la stimulation du processus de cicatrisation [2] [3], une amélioration a été envisagée. Celle-ci consiste à extraire l'huile essentielle de *carthamus caeruleus L.*, utilisée

depuis l'antiquité pour le traitement des brûlures et la promotion de la cicatrisation, afin de l'incorporer comme second principe actif dans la formulation.

Cette démarche vise à enrichir la crème d'un complément actif phytothérapeutique naturel, combinant ainsi les propriétés antimicrobiennes des nanoparticules d'argent à l'effet cicatrisant reconnu de la Cardoncelle Bleue.

VII.4.1. Extraction de l'huile essentielle de *Carthamus Caeruleus L.*

L'extraction de l'huile essentielle de *Carthamus Caeruleus L.* a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger comme le montre la figure (VII.2) suivante :

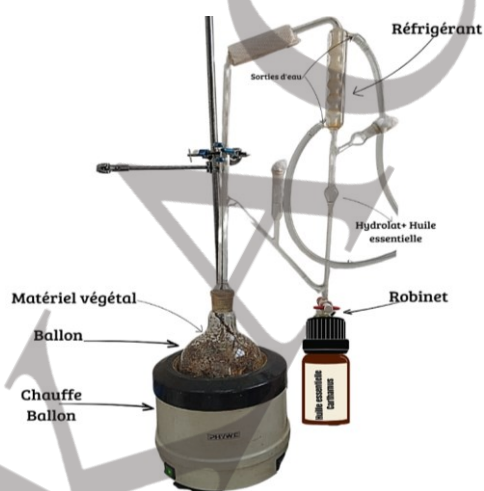


Figure VII.2 : Schéma du montage de l'appareil Clevenger pour l'hydrodistillation.

500g de rhizomes de *Carthamus caeruleus*, préalablement broyées grossièrement ont été introduites dans un ballon de 2 L rempli d'eau distillée au 2/3 de sa capacité.

Le mélange a été chauffé jusqu'à ébullition pendant 3 heures formant ainsi une vapeur qui entraîne avec elle les constituants volatils de la plante vers le réfrigérant où aura lieu la condensation.

Le mélange (eau + huile essentielle) s'accumule dans le tube de l'appareil, l'huile essentielle ayant une densité faible par rapport à l'eau surnage à la surface. Le procédé est ensuite reproduit avec la quantité de rhizome requise afin d'obtenir la quantité nécessaire pour la formulation.

L'huile obtenue est prélevée avec précaution puis conservée dans un flacon en verre opaque à 4°C.

VII.4.2. Caractéristiques de l'huile essentielle de *Carthamus Caeruleus*

VII.4.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques ont été évaluées immédiatement après l'extraction ; la couleur a été observée à l'œil nu et l'odeur a été appréciée directe à courte distance.

VII.4.2.2. Rendement

Le rendement est défini en étant le rapport entre la masse d'huile obtenue (m_{HE}) et la masse de matière végétale sèche utilisée (m_{MV}) selon l'équation suivante (VII.3) :

$$R\% = \frac{m_{HE}}{m_{MV}} \times 100 \dots (VII.3)$$

VII.4.2.3. Masse volumique

Pour calculer la masse volumique de notre huile obtenue (ρ_{HE}) on utilise l'équation (VII.4) suivante :

$$\rho_{HE} = \frac{m}{V} \dots (VII.4)$$

Où :

- m : masse de l'huile en grammes
- V : Volume de l'huile en litres

VII.4.2.4. Densité

La densité de l'huile est calculée par le rapport (VII.5) suivant :

$$d = \frac{\rho_{HE}}{\rho_{Eau}} \dots (VII.5)$$

Avec $\rho_{Eau} = 1000 \text{ g/L}$

VII.4.3. Intégration de l'huile essentielle comme principe actif

La composition de base de l'émulsion précédemment élaborée a été conservée afin de maintenir sa stabilité et ses caractéristique physico-chimiques. L'huile essentielle est ajoutée à une proportion de 0,25 % (cf. Appendice D pour voir la composition détaillée) lors de l'étape de l'incorporation des AgNPs afin de préserver ses composées volatiles.

VII.4.4. Analyse microbiologique de la nouvelle formulation

Le protocole microbiologique appliqué à la formulation améliorée est identique à celui décrit précédemment pour la première formulation. (Cf. page 48)

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE VIII : RESULTAT DE LA SYNTHÈSE DES NANOPARTICULES D'ARGENT

VIII.1. Optimisation du procédé de synthèse

Les valeurs des réponses pour chaque expérience sont données dans le tableau (VIII.1) suivant :

Tableau VIII.1 : Matrice des résultats du plan d'expérience.

	X ₁	X ₂ (°C)	X ₃ (min)	Y ₁	Y ₂ (nm)
1	-1	-1	0	0	0
2	+1	-1	0	0	0
3	-1	-1	3	0	0
4	+1	-1	3	0,218	449
5	-1	-1	10	0	0
6	+1	-1	10	0,450	449
7	-1	-1	20	0	0
8	+1	-1	20	0,483	448
9	-1	-1	40	0	0
10	+1	-1	40	0,493	446
11	-1	-1	50	0	0
12	+1	-1	50	0,436	445
13	-1	-1	60	0	0
14	+1	-1	60	0,514	446
15	-1	-1	70	0	0
16	+1	-1	70	0,618	446
17	-1	-1	80	0,324	440
18	+1	-1	80	0,661	445
19	-1	-1	90	0,353	442
20	+1	-1	90	0,736	445
21	-1	+1	0	0	0
22	+1	+1	0	0,109	456
23	-1	+1	3	0	0

24	+1	+1	3	0,187	456
25	-1	+1	10	0,091	441
26	+1	+1	10	0,399	451
27	-1	+1	20	0,207	452
28	+1	+1	20	0,426	450
29	-1	+1	40	0,320	449
30	+1	+1	40	0,615	449
31	-1	+1	50	0,372	447
32	+1	+1	50	0,540	449
33	-1	+1	60	0,421	446
34	+1	+1	60	0,527	448
35	-1	+1	70	0,311	446
36	+1	+1	70	0,495	448
37	-1	+1	80	0,303	448
38	+1	+1	80	0,449	447
39	-1	+1	90	0,403	451
40	+1	+1	90	0,415	444
41	+1	+1	100	0,461	444
42	+1	+1	110	0,539	453
43	+1	+1	120	0,538	452
44	+1	+1	130	0,428	452
45	-1	+1	100	0,295	451
46	-1	+1	110	0,291	450
47	-1	+1	120	0,247	450
48	-1	+1	130	0,206	450
49	+1	-1	100	0,885	444
50	+1	-1	110	1,017	443
51	+1	-1	120	0,760	444
52	+1	-1	130	0,585	444
53	-1	-1	100	0,367	442
54	-1	-1	110	0,491	449
55	-1	-1	120	0,465	449
56	-1	-1	130	0,442	444

▪ Synthèse à 60°C ratio 1 :4

La figure (VIII.1) suivante, montre les résultats de l'analyse UV-Visible pour la synthèse à 60°C avec un ratio de 1 :4.

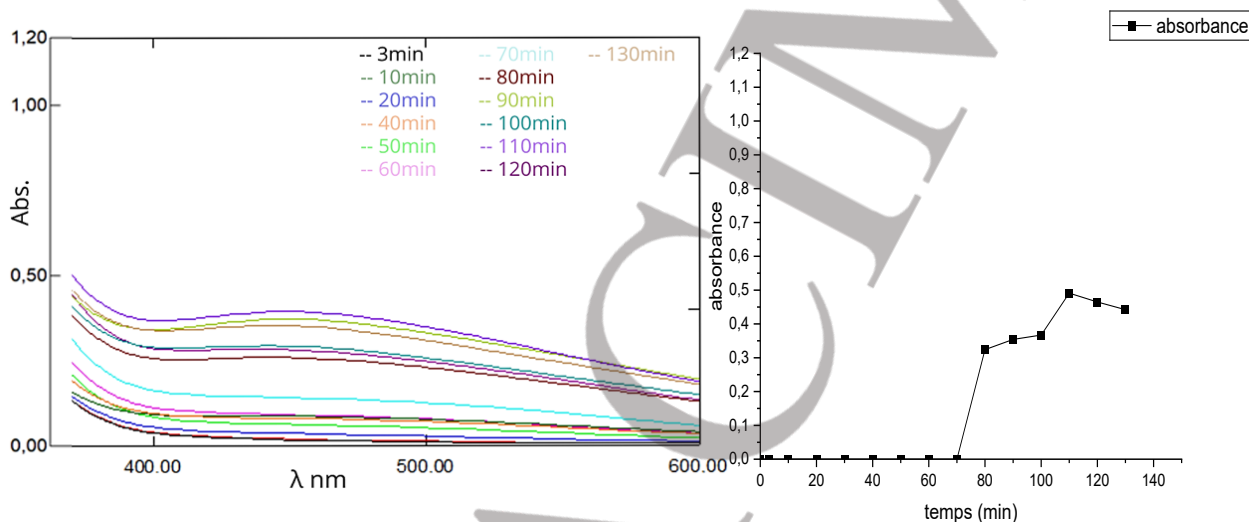


Figure VIII.1 : résultat UV-Visible de la synthèse à 60°C, ratio 1 :4.

Malgré le changement rapide de la couleur du jaune clair au marron clair au bout de 3 minutes, aucun pic n'a été détecté dans la région des 400-500 nm, ce qui est généralement associé à la formation des nanoparticules d'argent.

Cette absence de pic pourrait être expliquée par le fait que la réaction n'est pas encore suffisamment avancée et que la réduction ne soit pas complète à ce stade.

A partir des 80 minutes un pic d'absorbance est signalé à 440 nm, annonçant la formation de nanoparticules d'argent, ce pic augmente ensuite progressivement pour atteindre son maximum à 110 min avec une absorbance de 0,491 à 449 nm ; cependant, après ce pic maximal l'absorbance commence à diminuer bien que la longueur d'onde reste quasiment constante à 449 nm.

L'élévation du temps de la réaction a conduit à une légère augmentation de la longueur d'onde (de 440 nm à 449 nm) indiquant une croissance progressive de la taille des particules.

Cette instabilité de la longueur d'onde est possiblement due à une agglomération partielle des nanoparticules qui est due au pH acide du milieu, étant donné en milieu acide, les nanoparticules deviennent moins chargées ce qui réduit la répulsion électrostatique et entraîne l'aggrégation.

▪ Synthèse à 60°C ratio 1 :10

La figure (VIII.2) suivante, présente les résultats de l'analyse UV-Visible pour la synthèse réalisée à 60°C avec un ratio de 1 :10

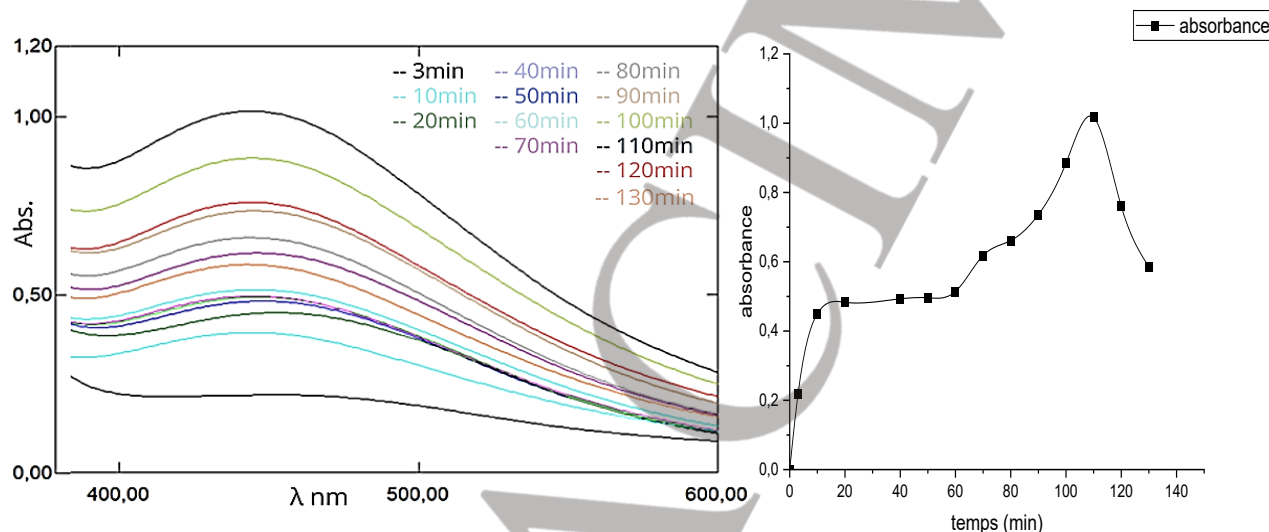


Figure VIII.2 : résultat UV-Visible de la synthèse à 60°C, ratio 1 :10.

A 60°C et un ratio de 1 : 10, la formation des nanoparticules a été plus rapide. En effet, dès 3 minutes un pic d'absorbance est détecté à 449 nm avec une intensité de 0,218.

L'absorbance continue ensuite d'augmenter progressivement ce qui suggère une augmentation de la concentration des nanoparticules d'argent pour atteindre son maximum après 110 minutes de réaction, où il enregistre une absorbance de 1,017 à 443 nm, meilleure qu'avec un ratio 1 :4.

Cette meilleure absorption obtenue indique que ces conditions choisies sont **optimales**.

Après les 110 minutes, une diminution de l'absorbance est observée sous une longueur d'onde de 444 nm.

Cette instabilité de longueur d'onde est due aux mêmes explications que celle observées pour le ratio 1 :4.

▪ Synthèse à 80°C ratio 1 :4

La figure (VIII.3) suivante illustre les résultats de l'analyse UV-Visible pour la synthèse à 80°C avec un ratio de 1 :4

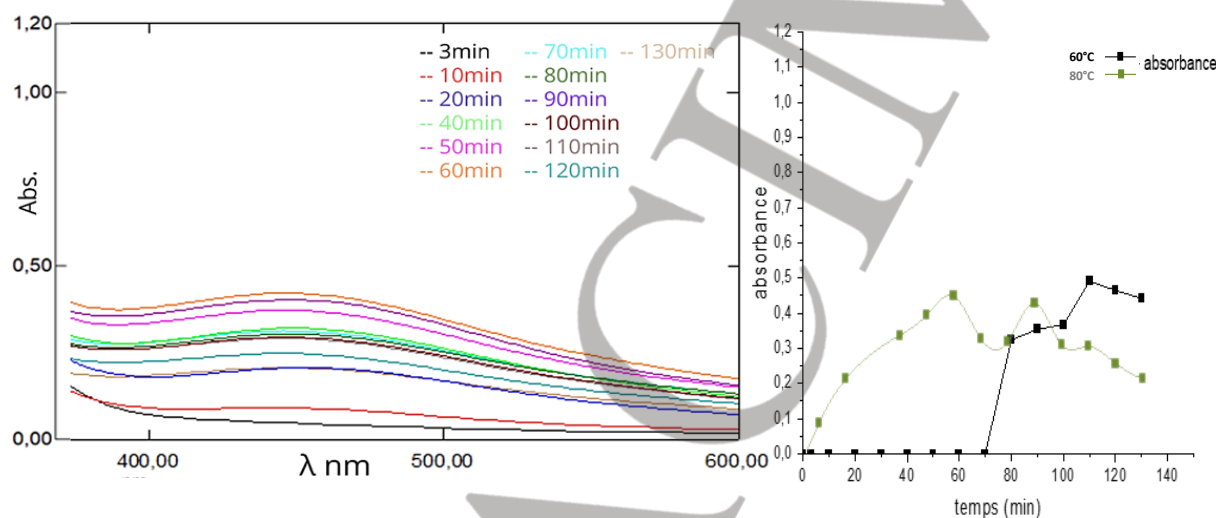


Figure VIII.3 : résultat UV-Visible de la synthèse à 80°C, ratio 1 :4.

A 80°C et un ratio de 1 :4, on remarque qu'à 0,109 directement après le mélange des deux solutions la présence d'un petit pic de 0,109 indiquant le début de la formation des nanoparticules.

L'absorbance maximale était de 0,421 plus basse qu'à une température basse de 60°C, cet écart est probablement dû à une agglomération plus importante ou une dégradation de l'extrait des plantes ou des nanoparticules.

En plus de ces éléments, on observe la présence de deux pics :

Un premier pic après 60 minutes à une longueur d'onde de 446 nm avec une absorbance de 0,421 suivi d'un deuxième pic à 451 nm d'une absorbance de 0,403 après 90 minutes.

La présence de deux pics suggère une possible transformation de la morphologie des nanoparticules synthétisées ; initialement les nanoparticules d'argent formées sont probablement sphériques ce qui explique la première longueur d'onde à 446 nm, cependant avec l'augmentation du temps un second pic apparaît vers une longueur d'onde plus décalée indiquant une modification structurale. Cette explication est en accord avec la recherche menée par Cazayous et al. [82], qui a montré une altération d'un système de nanoparticules Cu-Ag

d'une morphologie cœur/coquille vers une morphologie déformée aplatie sous effet de haute température.

▪ Synthèse à 80°C ratio 1 :10

La figure (VIII.4) suivante, montre les résultats de l'analyse UV-Visible pour la synthèse menée à 80°C avec un ratio de 1 :10.

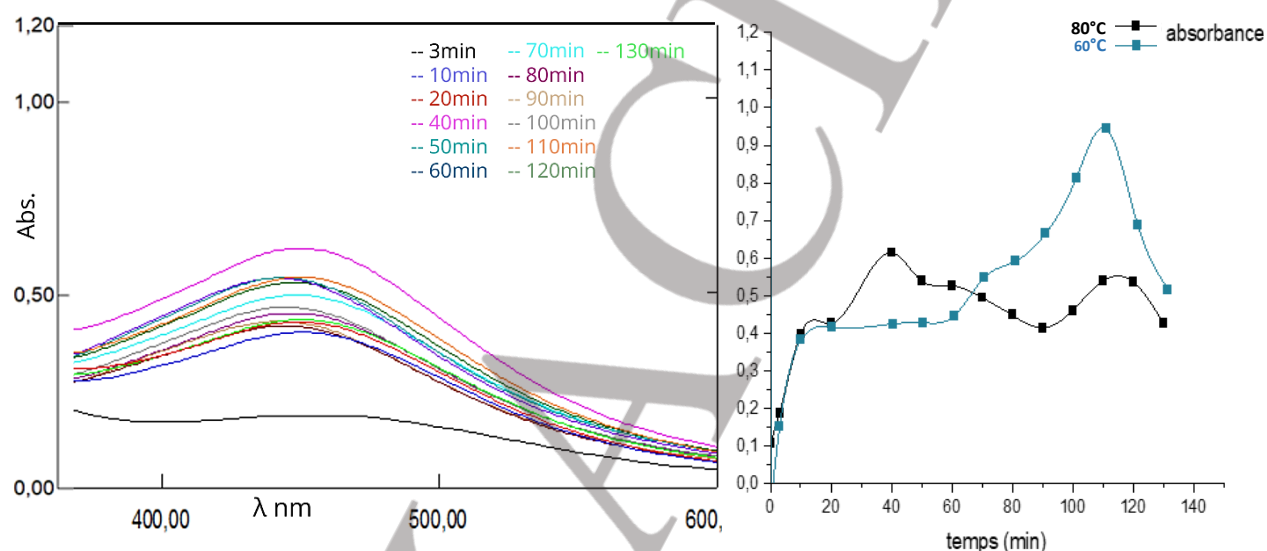


Figure VIII.4 : résultat UV-Visible de la synthèse à 80°C, ratio 1 :10.

A 80°C et un ratio de 1 :10, on observe également la présence de deux pics :

Un premier à 40 min avec un absorbance de 0,615 à une longueur d'onde de 449 nm suivi du deuxième à 453 nm pour une absorbance de 0,539 à 110 minutes.

Ces résultats suivent la même tendance que ceux observées pour la synthèse à 80°C avec un ratio 1 :4 ; suggérant une transformation morphologique au fil du temps.

Cependant on remarque que l'absorbance est globalement plus élevée ce qui pourrait être attribuée à une présence des nanoparticules d'argent plus importante.

VIII.1.1. Evaluation statistique du modèle

L'analyse statistique des résultats a permis d'obtenir les histogrammes présents dans la figure (VIII.5) ci-dessous et qui dévoilent les coefficients de corrélations et de prédictions des deux réponses.

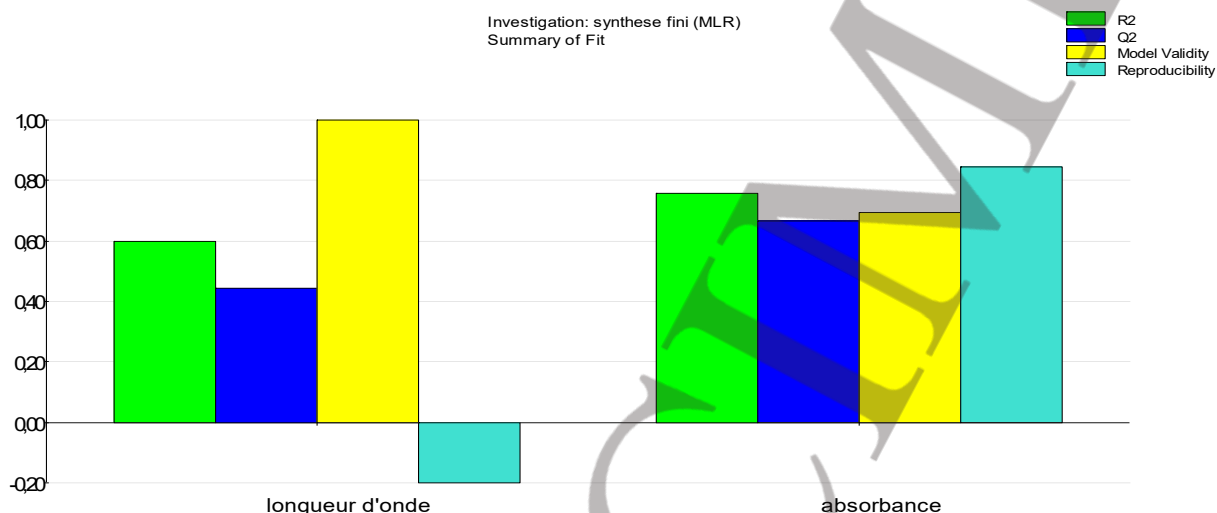


Figure VIII.5 : Histogrammes des coefficients de corrélation et de prédiction.

▪ **Absorbance :**

Le modèle obtenu présente un bon ajustement avec un $R^2 = 0,757$ et un $Q^2 = 0,666$, ces valeurs indiquent que les facteurs choisis influent l'absorbance d'une manière significative et que le modèle prédit assez bien les résultats.

De plus, le taux de reproductibilité élevée (0,851) et la validité correcte (0.7) du modèle suggèrent que les effets des facteurs sont bien représentés et que les expériences ont été réalisées d'une manière rationnelle ce qui confirme la fiabilité des mesures et du modèle.

▪ **Longueur d'onde :**

En ce qui concerne le modèle obtenu pour la longueur d'onde avec un $R^2 = 0,600$ et un $Q^2 = 0,444$ ($< 0,5$), ce dernier présente un ajustement et une capacité de prédiction plus faible que celui de l'absorbance.

De plus, la reproductibilité est négative (-0,2) confirmant l'hypothèse déjà posée ; la présence d'un ou plusieurs facteurs non pris en compte et qui pourraient influencer cette réponse, le pH du milieu réactionnel ; on exploitera ce point plus tard.

Enfin, la validité de modèle dans le cas de la longueur d'onde est élevée (=1), ce qui signifie que le modèle statistique est robuste malgré une corrélation plus faible.

VIII.1.2. Corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs observées

■ Absorbance :

La figure (VIII.6) suivante, illustre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales de la réponse Y_1 .

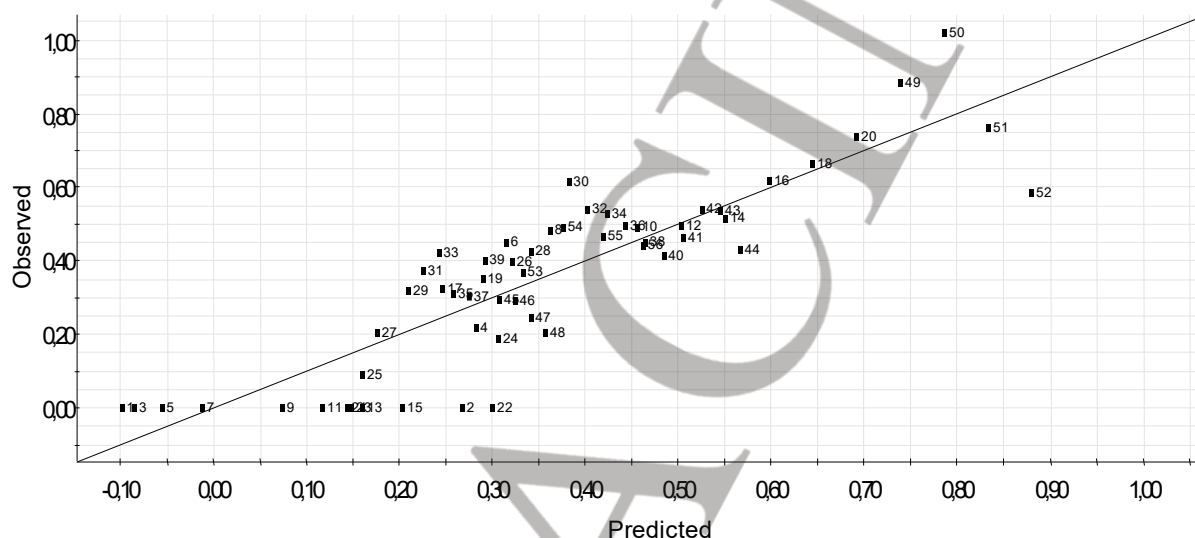


Figure VIII.6 : Graphique des valeurs observées et valeurs prédites pour l'absorbance.

D'après la figure on observe que :

- ✓ La majorité des points sont proches de la ligne diagonale ou bien l'idéal, ceci indique une assez bonne corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales.
- ✓ Il y'a une certaine dispersion surtout pour les valeurs à faible absorbance ainsi que des points un peu éloignés, suggérant la présence de valeurs aberrantes due à des erreurs expérimentales.

Le RSD est de 0.101 confirmant une variabilité relativement faible.

Ces résultats confirment le coefficient de corrélation 0,757 trouvé ; notre modèle est globalement fiable et explique une grande partie de la variabilité de l'absorbance et la reproductibilité de 0,851 confirme la cohérence des mesures.

■ Longueur d'onde :

La figure (VIII.7) suivante, présente les valeurs observées et les valeurs prédites pour la réponse Y_2 .

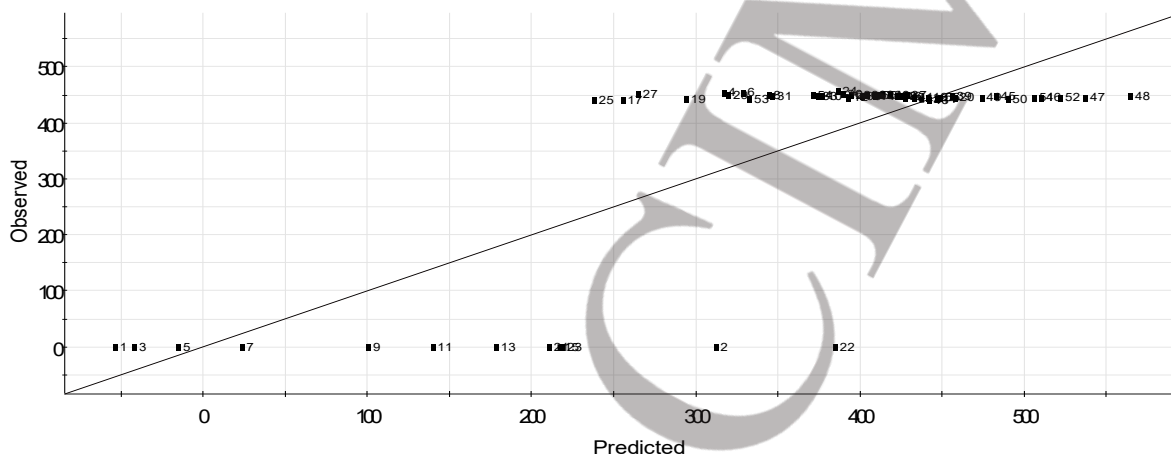


Figure VIII.7 : Graphique des valeurs observées et valeurs prédites pour la longueur d'onde.

Le graphique montre une haute dispersion par rapport à l'idéal surtout avec un coefficient de corrélation de 0,6 qui explique seulement 60 % la variabilité des données. De plus, la valeur élevée du RSD (root standard deviation) 123,8611 confirme la faible précision.

VII.1.3. Effets principaux et interaction des facteurs sur les réponses

■ Absorbance :

Les effets principaux des facteurs et interactions sur l'absorbance sont représentés dans la figure (VIII.8) suivante :

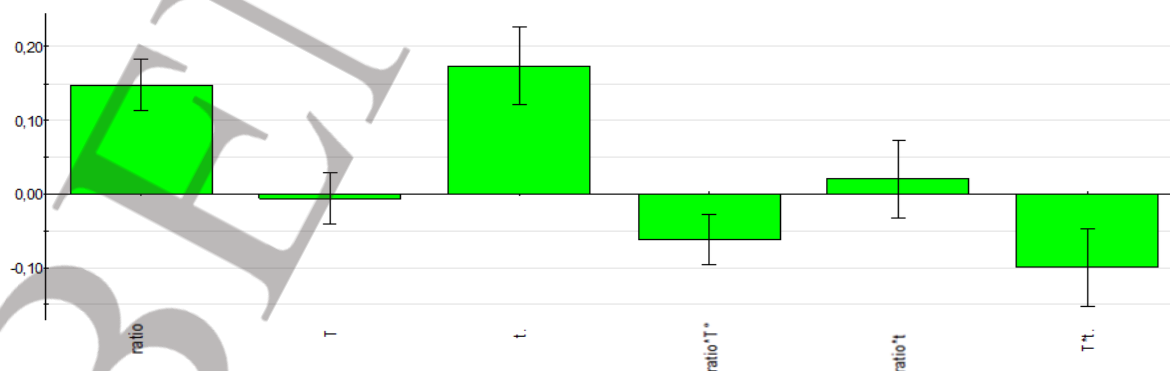


Figure VIII.8 : Diagramme des effets des facteurs et interactions sur l'absorbance.

D'après les résultats obtenus on conclut que :

- Une augmentation du ratio extrait : AgNO_3 entraîne une élévation significative de l'absorbance (effet positif 0,148)
- Un allongement du temps de réaction favorise l'absorbance (effet positif 0,174)
- La température présente un effet négatif léger sur l'absorbance (effet négatif -0,00609)
- Lorsque le ratio augmente en même temps que la température, une diminution de l'absorbance s'observe (effet négatif -0.069)
- Une augmentation concomitante du ratio et du temps favorise l'absorbance (effet positif 0,0214)
- Une augmentation simultanée de la température et du temps semble entraîner une diminution importante de l'absorbance (effet négatif -0.1).

Ces résultats indiquent que les principaux facteurs influençant l'absorbance sont le ratio Extrait : AgNO_3 et le temps de la réaction or que la température joue un rôle secondaire. Cependant l'effet négatif entre la température et les autres facteurs pourrait être contreproductif.

▪ Longueur d'onde :

Les histogrammes de la figure (VIII.9) suivante, présente les effets des facteurs et interactions sur la longueur d'onde.

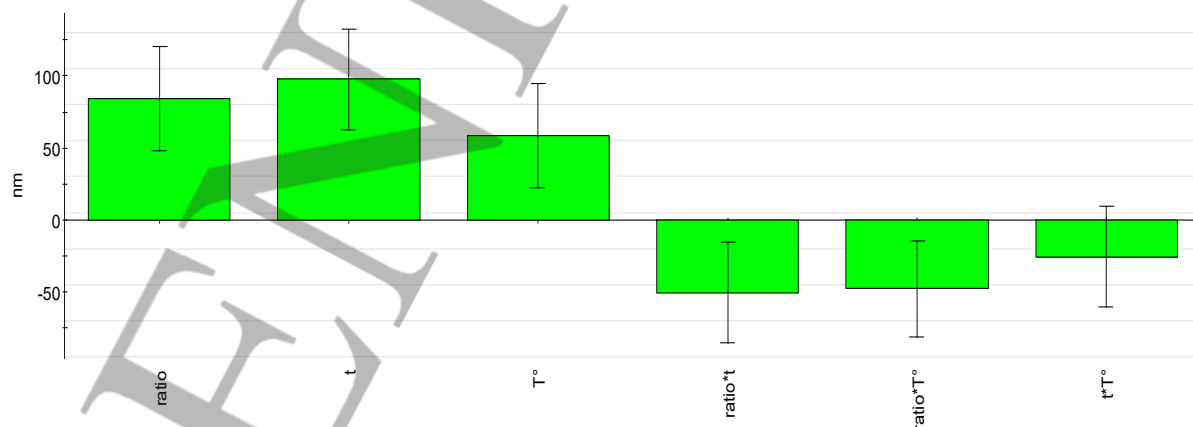


Figure VIII.9 : Diagramme des effets des facteurs et interactions sur la longueur d'onde

En analysant la figure précédente on conclut que :

- ✓ Tous les facteurs influencent positivement la longueur d'onde dans notre protocole à première vue (84,8 ; 97,7 ; 58,3)
- ✓ L'augmentation simultanée de deux facteurs à la fois réduit la valeur de la longueur d'onde.

D'après ces résultats, on peut dire que le temps à l'effet le plus fort suit le rapport Extrait ; AgNO₃. En ce qui concerne les interactions, ces dernières sont négatives ce qui signifie si deux facteurs augmentent ensemble, cela réduit la longueur d'onde par rapport à l'effet attendu individuellement.

A des températures élevées, la réaction est plus rapide mais l'absorbance maximale est faible contrairement à une température plus basse où la formation est plus lente, probablement dû à cause d'une dégradation des nanoparticules d'argent ou des composés actifs des extraits ainsi que d'une agglomération des AgNPs. De plus, une température élevée modifie la morphologie des nanoparticules.

Un volume plus grand d'AgNO₃ par rapport à l'extrait favorise une synthèse plus productive et une plus grande concentration des nanoparticules d'argent en raison d'une disponibilité accrue en ions Ag⁺.

Ainsi pour une bonne formation des nanoparticules en grande quantité, une forte présence des ions d'Ag⁺ et une température basse semblent être efficace.

VII.1.4. Modèle mathématique

Les modèles mathématiques des deux réponses suivant l'équation (VI.4) sont donnés par les équations (VIII.1) et (VIII.2) suivantes :

▪ **Absorbance :**

$$A = 0,373 + 0,1485 X_1 + 0,1745 X_3 - 0,006 X_2 + 0,0213 X_1X_3 - 0,0622 X_1X_2 - 0,1 X_2X_3 \dots \text{(VIII.1)}$$

▪ **Longueur d'onde :**

$$A = 311,46 + 84,429 X_1 + 97,6586 X_3 + 58,5627 X_2 - 50,6043 X_1X_3 - 47,8928 X_1X_2 - 25,6799 X_2X_3 \dots \text{(VIII.2)}$$

VIII.2. Etude complémentaire de l'influence du pH

La figure (VIII.10) suivante, montre les résultats de l'analyse par UV-Visible pour la synthèse des nanoparticules à pH alcalin (pH=8,5).

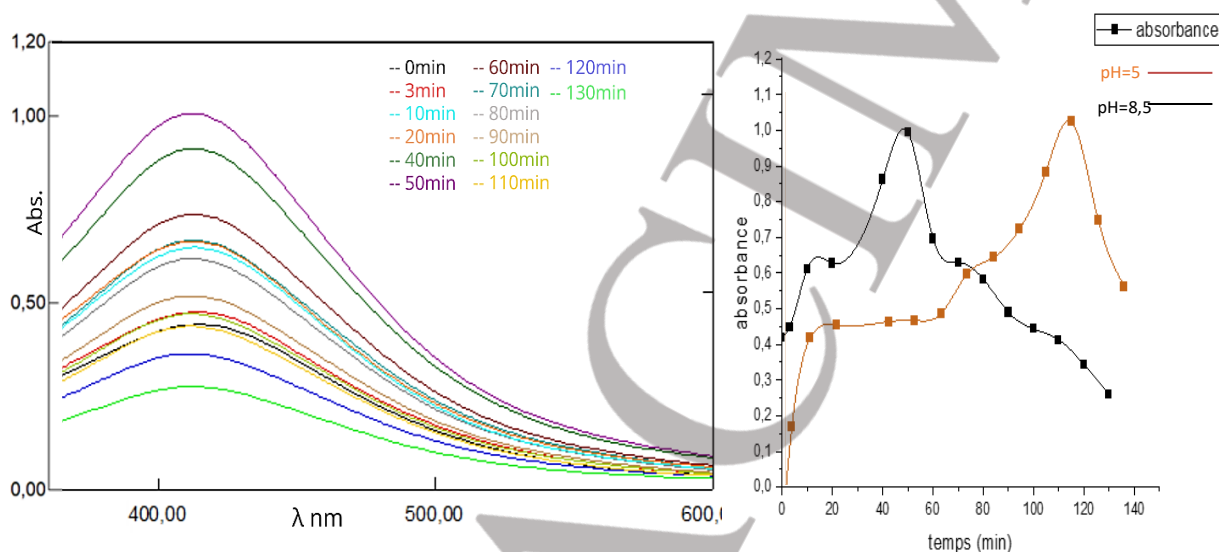


Figure VIII.10 : Résultat UV-Visible de la synthèse à un pH 8,5.

Lorsqu'on refait la même expérience dans les conditions optimales, à savoir avec une température de 60°C et un ratio 1 :10 mais en augmentant le pH jusqu'à 8.5, on remarque que l'absorbance suit la même tendance que celle observée sous pH brut. Cependant le temps nécessaire pour atteindre l'absorbance maximale est réduit :

- Sous pH brut (pH=5) l'absorbance maximale est atteinte après 110 minutes.
- Sous pH alcalin (pH=8.5) l'absorbance maximale est atteinte en seulement 50 minutes après le début de la réaction.

Cette accélération suggère que le pH joue un rôle clé dans la cinétique de la réaction, ce dernier étant alcalin favorise la formation des nanoparticules d'argent sous un temps réduit.

En ce qui concerne la longueur d'onde, on observe une stabilité accrue. Depuis le début de la réaction jusqu'à 20 minutes, la longueur d'onde est de 413 nm. Ensuite elle diminue légèrement à 412 nm, puis reste stable pour le reste du temps.

Cette stabilité spectrale indique que les nanoparticules formées sous pH alcalin sont plus homogènes limitant ainsi les phénomènes d'aggrégation, reste à confirmer avec une analyse DLS et Potentiel Zeta.

VIII.3. Caractérisation des nanoparticules d'argent et des extraits aqueux

VIII.3.1. Infra rouge

VIII.3.1.1. Extrait aqueux

▪ Origan

Le graphe (VIII.11) suivant représente le spectre FTIR obtenu de l'origan.

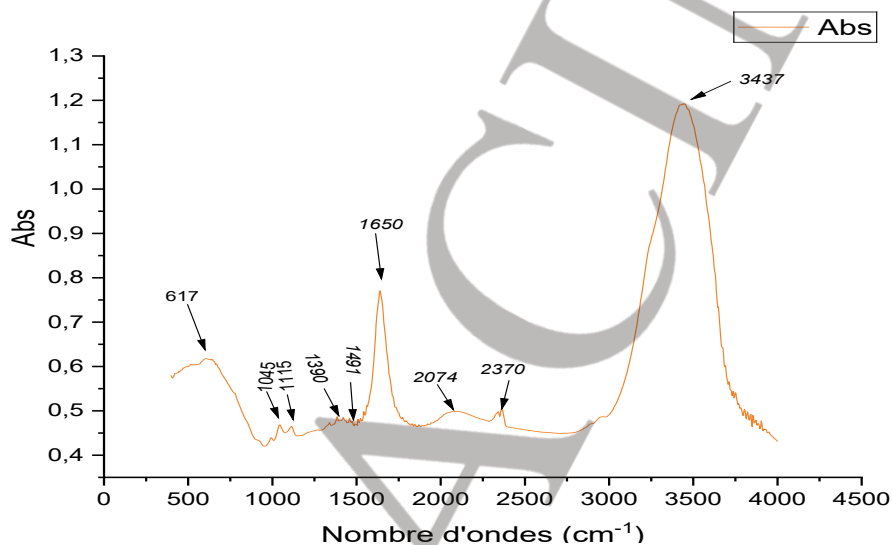


Figure VIII.11 : Spectre FTIR de l'Origan.

Les résultats des pics ainsi que les rôles potentiels de chaque groupement, sont résumés dans le tableau (VIII.2) suivant :

Tableau VIII.2 : Résultats des pics FTIR de l'Origan et rôles potentiels de chaque groupement. [83] [84] [85]

Plage	Groupes fonctionnels	Composées associés	Rôles potentiels
617 cm ⁻¹	C-H	Composés aromatiques	Stabilisants via interactions avec les cycles aromatiques
1045 cm ⁻¹	C-C	Alcènes et alcanes	Stabilisants
1115 cm ⁻¹	C-O (Ethers et Alcool)	Flavonoïdes, acides phénoliques et tanins	Réducteurs et stabilisants
1390 cm ⁻¹	CH ₃ (Déformation)	Hydrocarbures	Réducteurs et stabilisants
1491 cm ⁻¹	Vibrations de cycle	Composés aromatiques	Renforçant de la stabilité
1650 cm ⁻¹	C=O (Amides)	Protéines et polypeptides	Réducteurs et stabilisants
2074 cm ⁻¹	C≡C	Alcynes monosubstitués	Réducteurs et stabilisants
2370 cm ⁻¹	C≡X	Alcynes, nitriles	Réducteurs
3437 cm ⁻¹	N-H	Amine secondaire et amides	Réducteurs et stabilisants

▪ Cardoncelle Bleue

Le graphe (VIII.12) suivant représente le spectre FTIR obtenu de la Cardoncelle Bleue.

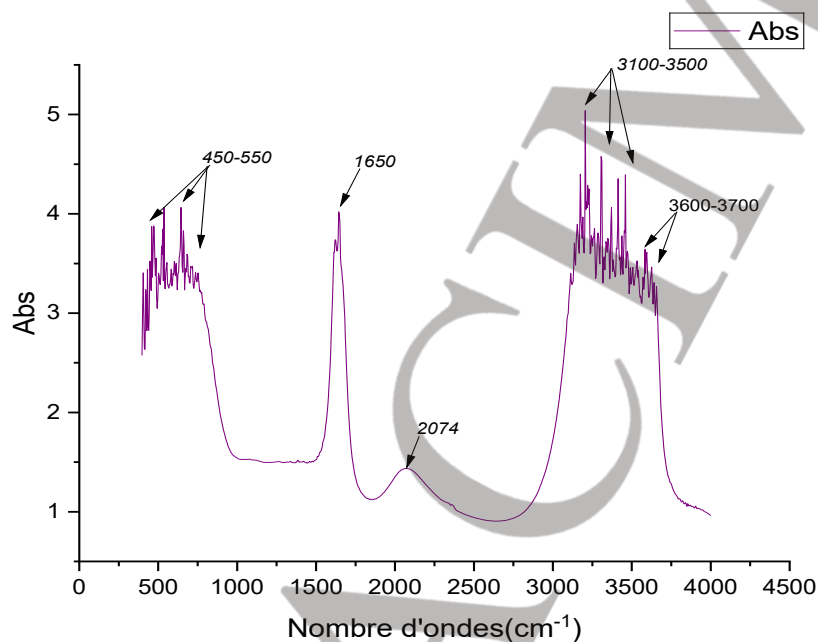


Figure VIII.12 : Spectre FTIR de *Carthamus Caeruleus L.*

Les résultats des pics du spectre FTIR ainsi que les rôles potentiels de chaque groupement, sont résumés dans le tableau (VIII.3) suivant :

Tableau VIII.3 : Résultats des pics FTIR du Carthamus et rôles potentiels de chaque groupement. [83] [84] [85]

Plage	Groupes fonctionnels	Composées associés	Rôle potentiel
450-550 cm ⁻¹	Vibrations métalliques	Flavonoïdes et tanins	Stabilisants des nanoparticules d'argent
1650 cm ⁻¹	C=O (Amides)	Protéines et polypeptides	Réducteurs et stabilisants
2074 cm ⁻¹	C≡C	Alcynes monosubstitués	Réducteurs et stabilisants
3100-3500 cm ⁻¹	N-H	Acide aminés et amides	Réducteurs et stabilisants
3600-3700 cm ⁻¹	O-H	Flavonoïdes, polyphénols, acide phénolique	Renforçant de la stabilité

▪ Mélange des deux extraits

Le spectre du mélange des deux plantes est représenté dans la figure (VIII.13) suivante :

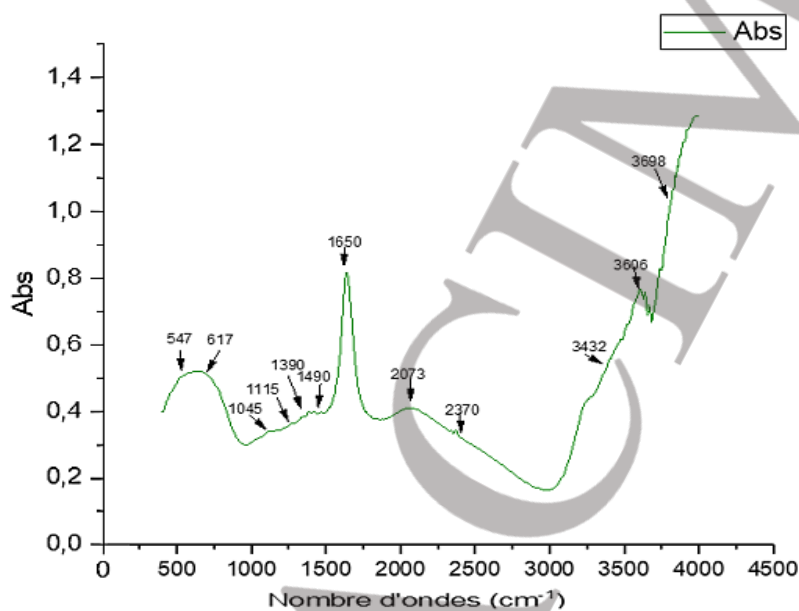


Figure VIII.13 : Spectre FTIR du mélange des deux extraits.

Le spectre FTIR du mélange de l'origan et de la Cardoncelle Bleue montre la présence combinée des bandes caractéristiques des deux extraits, illustrant la synergie entre ces deux derniers.

VIII.3.1.2. Solution AgNPs à pH=5

La figure (VIII.14) suivante représente le spectre IR de la solution optimale des AgNPs à pH=5.

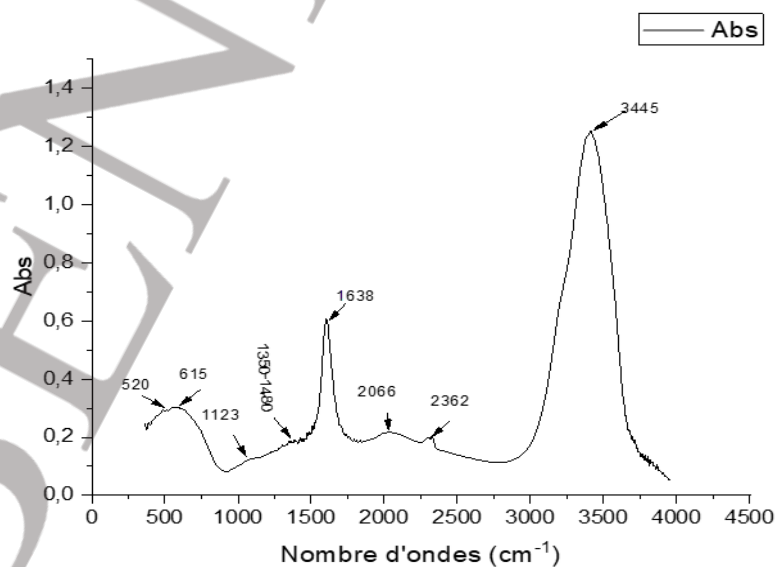


Figure VIII.14 : Spectre FTIR des AgNPs à pH=5.

Lors de l'analyse du spectre Infra Rouge de la solution optimale des AgNPs à pH=5, plusieurs observations ont été faites :

- ✓ Présence de certains pics dans le spectre de la solution d'AgNPs qui appartiennent à l'Origan et à la Cardoncelle Bleue, cela montre que des composés végétaux sont encore présents après la synthèse. Cependant on observe un léger décalage vers des nombres d'ondes plus faibles, ce qui suggère qu'il y a eu une interaction entre les ions Ag^+ et certaines molécules de la solution.
- ✓ Absence de quelques pics dans le spectre de la solution contenant les AgNPs, notamment à 3600 cm^{-1} et à 3700 cm^{-1} ; leur disparition pourrait indiquer qu'elles ont été consommées et transformées complètement en tant qu'agent réducteurs des cations Ag^+ .
- ✓ Diminution de l'absorbance pour certains pics, cela pourrait suggérer que certaines liaisons chimiques ont été modifiées ; par exemple les groupements hydroxyles, carbonyle (amides) ou composées phénoliques ont formés des complexes avec les nanoparticules d'argent afin de contribuer à leur stabilité.

VIII.3.1.3. Solution AgNPs à pH=8,5

Pour le spectre infra rouge de la solution optimale synthétisée à pH 8,5, le résultat est le même que celui à pH 5 (cf. Appendice B).

VIII.3.2. UV-Visible

Les résultats obtenus par spectroscopie UV-Visible, bien qu'ayant été utilisées pour la caractérisation sont présentés donc la section 'Optimisation' en raison de leur rôle dans l'obtention des réponses ainsi que dans l'étude de l'influence du pH.

VIII.3.3. DLS

▪ pH=5

La figure suivante, présente les résultats de l'analyse DLS des AgNPs synthétisées à pH=5.

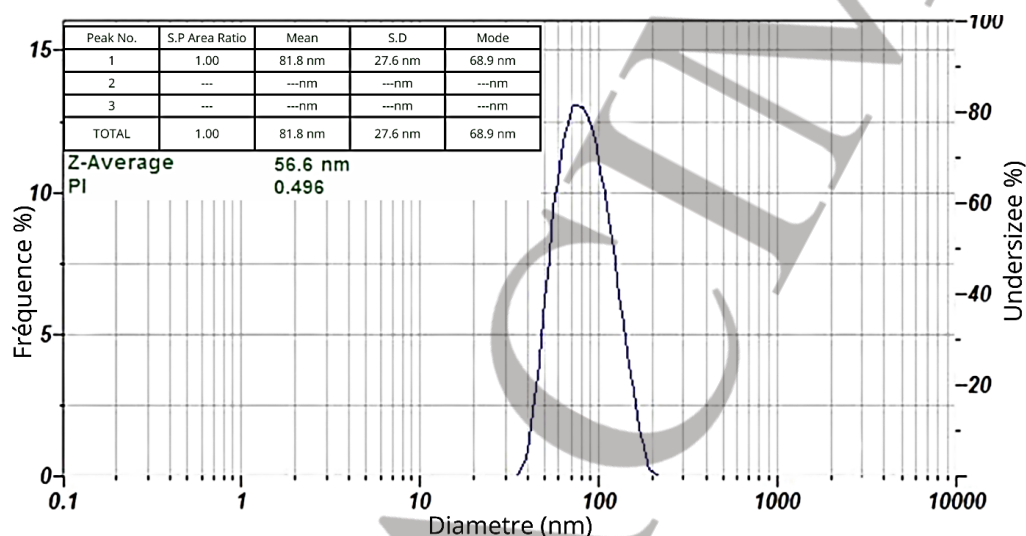


Figure VIII.15 : Résultats de l'analyse DLS pour le pH=5.

Les résultats montrent que les nanoparticules d'argent synthétisées à pH=5, présentent une taille moyenne de 56.6 nm, avec un indice de polydispersité relativement élevé (0,496) supérieure à 0.25, ceci indique que la dispersion de nos AgNPs est hétérogène, ce qui suggère une tendance à l'aggrégation et donc une potentielle instabilité.

▪ pH=8.5

La figure suivante, présente les résultats de l'analyse DLS des AgNPs synthétisées à pH=8,5.

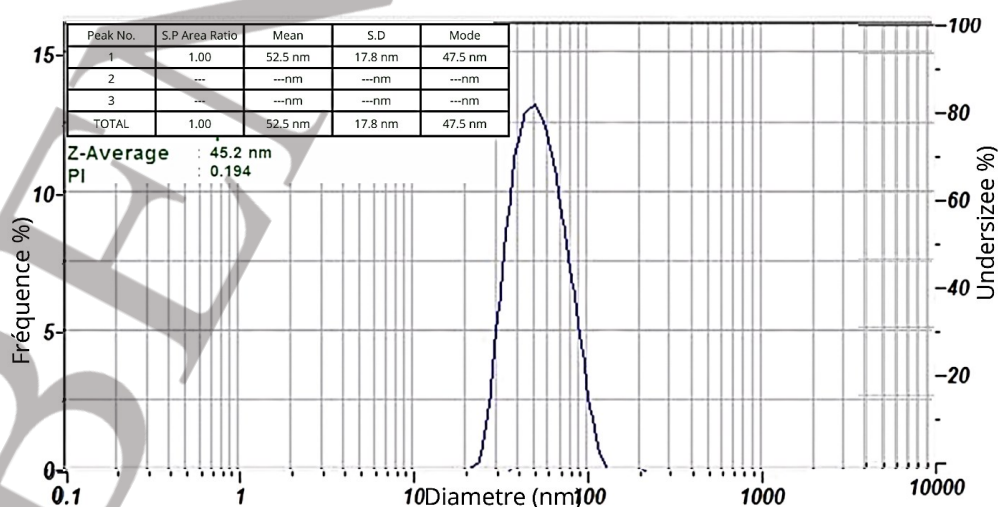


Figure VIII.16 : Résultats de l'analyse DLS pour le pH=8.5.

A pH=8.5, la taille des nanoparticules d'argent est plus faible (45.2 nm) avec un PDI beaucoup plus bas (0.194), ce qui indique une dispersion plus homogène.

Un PDI faible est synonyme d'un système mon dispersé ; les nanoparticules sont bien séparées et de tailles proches. L'écart type de 17.8 nm bien que non négligeable reste modéré et confirme la meilleure homogénéité

La taille des nanoparticules obtenues pour les deux pH est conforme aux attentes, une taille inférieure à 100 nm, cependant une taille inférieure à 50 nm est idéale pour les applications pharmaceutiques et dermatologiques.

VIII.3.4. Potentiel Zêta

La figure (VIII.17) suivante compare les valeurs du potentiel Zeta des AgNPs synthétisées à pH=5 et à pH=8,5.

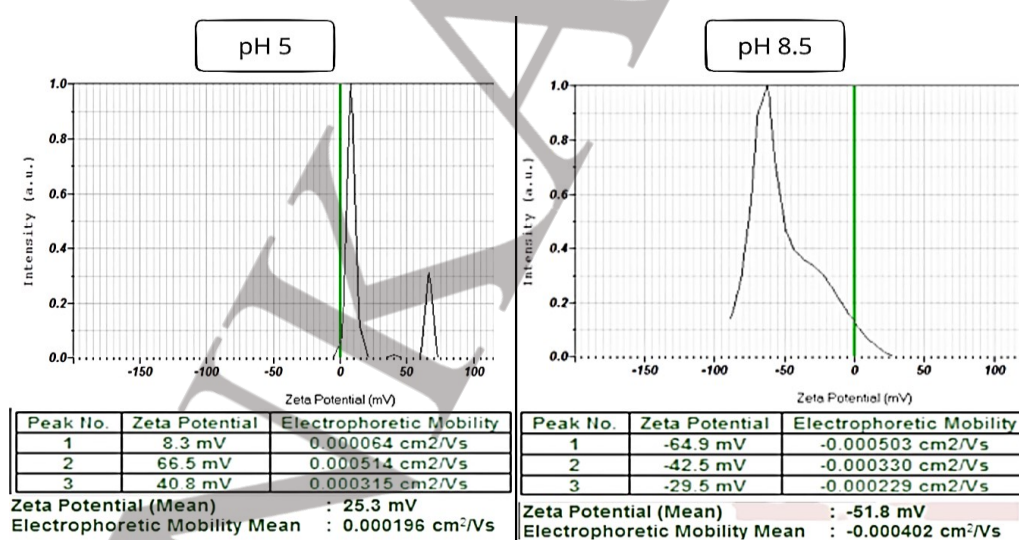


Figure VIII.17 : Résultats du potentiel Zêta.

Le potentiel Zêta des nanoparticules synthétisées à pH=5 est de +25.3 mV, ce qui reste en dessous du seuil de stabilité confirmant l'idée posée dans la partie DLS.

Cette valeur suggère que les nanoparticules ont une répulsion électrostatique présente mais insuffisante pour empêcher leur agrégation. En revanche, à pH=8.5 la valeur du potentiel Zêta atteint -51.8 mV, synonyme d'une excellente stabilité sur le long terme ; cette forte charge négative favorise les répulsions électrostatiques ce qui maintient la dispersion homogène comme conclue précédemment.

VIII.4. Influence du pH

Les résultats montrent que le pH joue un rôle important dans le procédé de synthèse verte des nanoparticules d'argent, que ça soit pour la taille, la distribution, la stabilité ou la cinétique.

Un pH acide peut conduire à une mauvaise stabilité favorisant ainsi une distribution large et une agrégation des nanoparticules. A l'inverse un pH alcalin améliore la stabilité colloïdale tout en permettant d'obtenir des tailles plus petites et une meilleure homogénéité. De plus, un pH basique accélère la réaction de synthèse, réduisant ainsi le temps nécessaire à la formation complète des AgNPs. Ainsi pour obtenir rapidement des nanoparticules bien dispersées, de taille contrôlée et stables sur le long terme, un pH alcalin est favorable.

VIII.5. Activité antibactérienne des AgNPs

Le tableau (VIII.4) suivant présente les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des AgNPs..

Tableau VIII.4 : Résultat de l'activité antimicrobienne des AgNPs.

Souche	Concentration d'AgNPs	Diamètre (mm)	Interprétation
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ppm	15	Très sensible
	1 ppm	9	Sensible
	0,1 ppm	0	Résistant
<i>Escherichia coli</i>	10 ppm	14	Sensible
	1 ppm	0	Résistant
	0,1 ppm	0	Résistant
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ppm	14	Sensible
	1 ppm	0	Résistant
	0,1 ppm	0	Résistant
<i>Candida albicans</i>	10 ppm	-	Pas de zone apparente
	1 ppm	0	Résistant
	0,1 ppm	0	Résistant

S. aureus s'est avéré très sensible à la solution contenant 10 ppm d'AgNPs et sensible même à plus faible concentration avec 1 ppm, alors que *E. coli* et *P. aeruginosa* étaient modérément sensibles à 10 ppm. *Candida albicans* n'a montré aucune zone distincte mais une légère diminution de croissance a été remarquée pour la solution pure suggérant un effet très faible (cf. Appendice C).

CHAPITRE IX : RESULTATS DE LA FORMULATION, CARACTERISATION ET EVALUATION DE LA CREME

IX.1. Caractérisation de l'émulsion obtenue

IX.1.1. Examen macroscopique

Comme le montre la figure (IX.1) suivante, La crème obtenue présente une texture homogène et lisse, avec une couleur beige légèrement jaunâtre probablement due à la présence des nanoparticules d'argent et de la cire d'abeille. Elle est consistante tout en restant facilement étalable. L'odeur est non désagréable caractérisée par des notes de cire d'abeille.



Figure IX.1 : Photographie de l'émulsion obtenue.

IX.1.2. Sens de l'émulsion

La mesure de la conductivité de la formulation a donné une valeur de $164 \mu\text{S}/\text{cm}$, confirmant la nature huile dans eau (H/E) de l'émulsion, où l'eau constitue la phase majoritaire et continue.

IX.1.3. Stabilité à la centrifugation

Aucune séparation de phase n'a été observée après centrifugation, synonyme d'une bonne stabilité physique de l'émulsion.

IX.1.4. Examen microscopique

Les observations au microscope optique ont été réalisées à deux grossissements différents, la figure (IX.2) suivante représente les images obtenues.

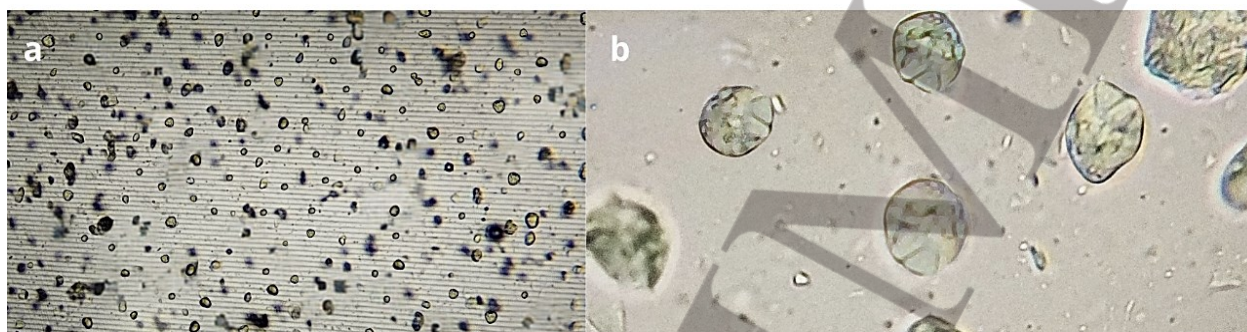


Figure IX.2 : Image du microscope optique à un grossissement de $\times 4$ (a), et de $\times 100$ (b).

L'image (a) avec un grossissement de $\times 4$, montre une dispersion homogène des gouttelettes huileuses de petite taille (μm) et bien réparties dans la phase aqueuse, ce qui reflète une bonne stabilité et une distribution monomodale.

L'image (b), à plus fort grossissement de $\times 100$ montre des gouttelettes de morphologie globalement sphérique et ne présentent pas d'adhérence ni de regroupement, confirmant une bonne dispersion de la phase interne dans le système émulsionné.

IX.1.5. pH

La mesure du pH de la crème a donné une valeur de 5,1 légèrement acide mais conforme au pH de la peau. Cette acidité modérée est bénéfique pour un effet thérapeutique cicatrisant, car elle maintient l'intégrité du film hydrolipidique et inhibe la croissance des micro-organismes ce qui peut prévenir les infections secondaires.

IX.1.6. Analyse rhéologique

▪ Test d'écoulement

La figure (IX.3) suivante, montre comment varie la viscosité apparente de l'émulsion en fonction du cisaillement.

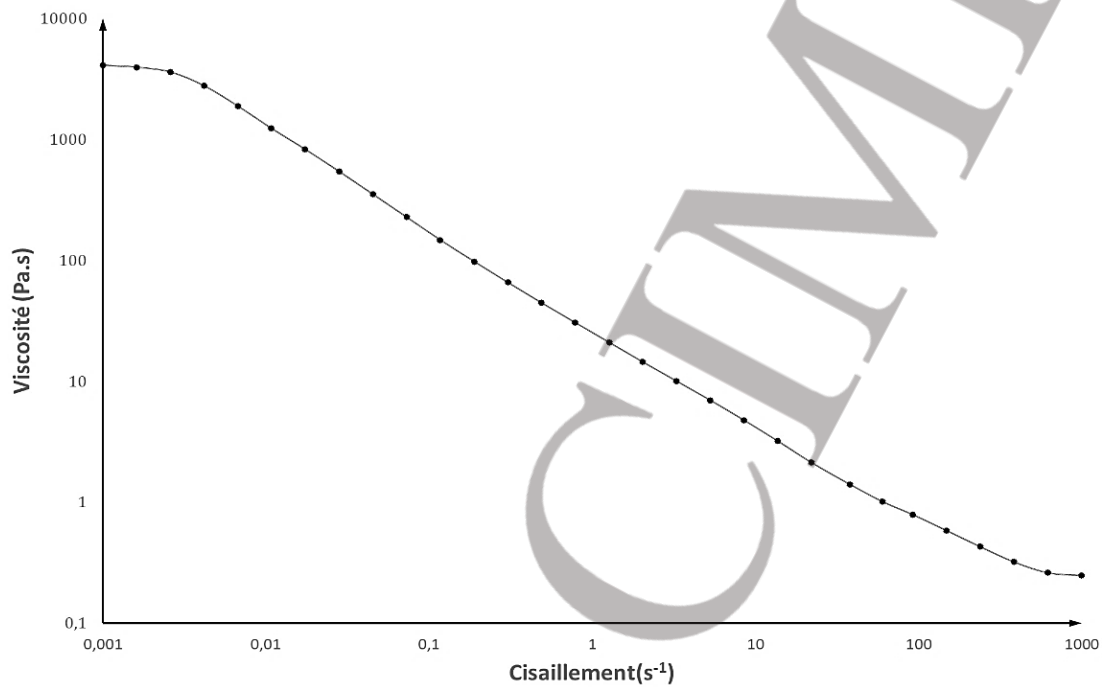


Figure IX.3 : courbe d'écoulement de l'émulsion formulée à 20°C.

On peut remarquer la présence de trois zones :

- Une première zone avec un plateau newtonien ($\dot{\gamma} < 0,01 \text{ s}^{-1}$) :

Dans cette plage, la viscosité η reste pratiquement constante au tour de 5000 Pa.s. Cette stabilité traduit un comportement newtonien, où deux phénomènes antagonistes co-existent en l'occurrence, une destruction partielle de la structure due à un faible cisaillement et une réorganisation partielle des macromolécules sous l'effet des forces d'attraction de Wan Der Walls.

- Une deuxième zone rhéofluidifiante (jusqu'à 1000 s^{-1}) :

Dans cette seconde partie, La valeur de la viscosité commence à chuter progressivement, l'augmentation de la vitesse de cisaillement met en jeu des forces de répulsions qui surpassent les forces attractives ; le système adopte alors un comportement rhéofluidifiant facilitant l'étalement sur le corps.

- Une troisième zone avec un deuxième plateau newtonien ($\dot{\gamma} > 1000 \text{ s}^{-1}$) :

Dans cette zone, la viscosité redevient quasi-constante ($\eta_{\infty} \approx 0,2 \text{ Pa.s}$) à très fort cisaillement, traduisant une rupture complète de la structure interne, cette phase assure une bonne régularité d'application en cas de frottement prolongé sans coulure et désagrégation.

▪ Test de viscoélasticité

La figure (IX.4) suivante, illustre l'évolution des deux modules de conservation G' et de perte G'' de l'émulsion en fonction de la déformation.

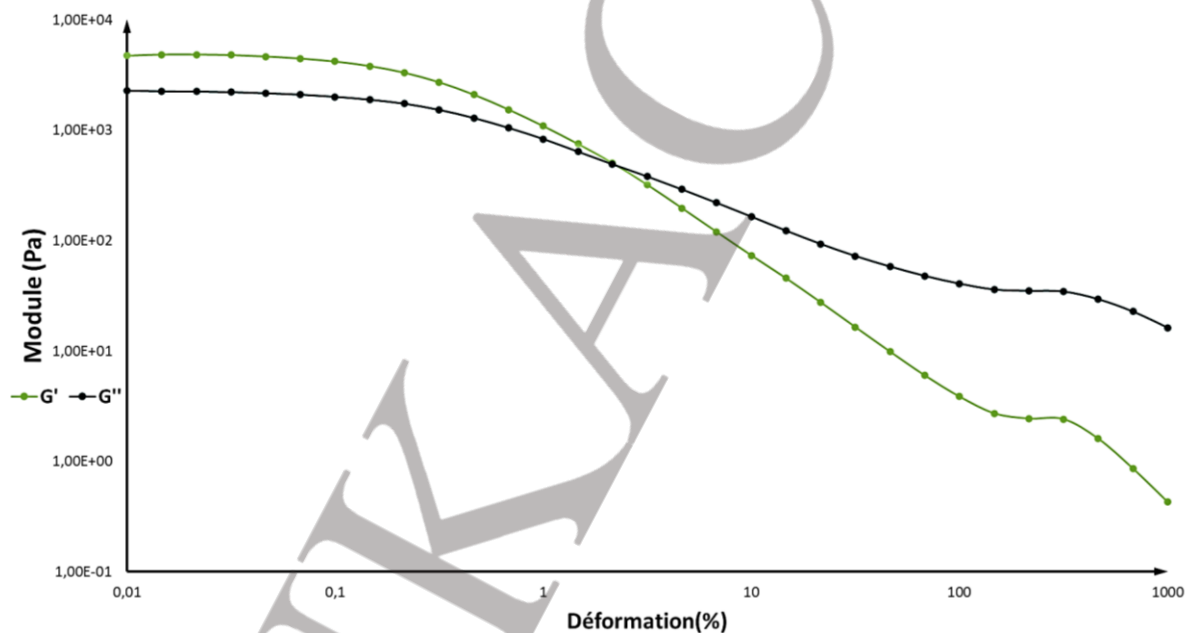


Figure IX.4 : Courbe de variation des deux modules G' et G'' typique de l'émulsion en fonction de la déformation (%) à 20°C.

On remarque la présence de deux zones distinctes :

- ✓ Une première zone linéaire (LVE) $< 0,8\%$
- ✓ Une deuxième zone non linéaire descendante avec intersection entre les deux.

Dans le domaine LVE, $G' > G''$, notre émulsion présente le comportement d'un solide viscoélastique, insensible aux déformations imposées et capable d'enregistrer complètement son énergie.

Hors LVE, G' diminue progressivement jusqu'à croiser G'' , ce point d'intersection à 3,5 % correspond à la contrainte seuil. Au-delà de ce point, G'' devient supérieur à G' , le comportement s'inverse alors et devient liquide plastique, dans ce cas les déformations ne sont plus réversibles.

IX.1.8. Qualité microbiologique

Contrairement au témoin qui a présenté un développement de colonies bactériennes et fongiques dans les deux milieux avec une charge de 510 UFC/mL dans le milieu Sabouraud et 120 UFC/ml dans le milieu PCA, la formulation contenant les AgNPs n'a montré aucune croissance microbienne ; aucun germe total ni moisissure ou levure n'a été détecté. Ces résultats conformes indiquent que la formulation est adaptée à un usage cutané en toute sécurité. (Voir appendice F pour les clichés des boîtes pétris correspondantes).

IX.2. Formulation améliorée

IX.2.1. Caractérisation de l'huile essentielle de la Cardoncelle Bleue

Après 3 heures d'hydrodistillation 0.05mL d'huiles essentielle ont été obtenus. La masse de cette dernière mesurée à l'aide d'une balance analytique était de 0,047g.

IX.2.1.1. Caractéristiques organoleptiques

L'huile obtenue se présente sous forme d'un liquide limpide de couleur jaune clair. Concernant l'odeur, l'huile dégage une odeur forte cependant elle n'est pas désagréable et présente des notes terreuses.

IX.2.1.2. Rendement

En appliquant l'équation (VIII.3) on obtient :

$$R\% = \frac{0,047}{500} \times 100 = 0.0094\%$$

Le rendement <0.01 % est faible mais reste cohérent car les rhizomes sont des organes sous terrains généralement pauvres en substances volatils comparés aux parties aériennes.

IX.2.1.3. Masse volumique

La masse volumique calculée à partir de l'équation (VIII.4) est comme suit :

$$\rho = \frac{0.047}{0.00005} = 940g/L$$

IX.2.1.4. Densité

La relation (VIII.5), permet de déterminer une densité égale à :

$$d = \frac{940}{1000} = 0.94$$

La densité calculée est inférieure à celle de l'eau (1,00) ce qui explique pourquoi l'huile surnage à la surface de l'hydrolat dans le tube du Clevenger, par ailleurs la densité obtenue est proche de celle des huiles essentielles classiques.

IX.2.2. Analyse microbiologique de la nouvelle formulation

De la même manière pour la première formulation, aucun développement bactérien n'a été détecté, contrairement au témoin. La formulation améliorée répond également aux normes de conformité microbiologique. (Voir appendice F)

CONCLUSION

Ce travail a permis en premier lieu d'optimiser le procédé de synthèse verte des nanoparticules d'argent à partir d'un mélange de deux plantes locales : *L'origanum vulgare* et le *Carthamus Caeruleus L.*, il s'est avéré que la température, le ratio et le temps de réaction sont des facteurs clés dans ce procédé. Il a également été démontré que le pH du milieu réactionnel influence fortement la stabilité finale des AgNPs vertes.

Les conditions optimales ont été définies comme suit : une synthèse de 50 minutes à pH 8,5, à une température de 60°C et avec un ratio extrait : AgNO₃ de 1 :10. Les AgNPs obtenues présentaient une absorbance maximale à une longueur d'onde de 412 nm, un diamètre de 45,2 nm ainsi qu'un potentiel Zêta de -51,4 mV, indiquant une bonne stabilité colloïdale et une dispersion homogène. Toutefois, il serait pertinent, dans une étude future, d'optimiser également la vitesse d'agitation pendant le procédé car ce paramètre peut fortement influencer la cinétique de la réaction, l'homogénéité du mélange ainsi que la taille et la forme finale des nanoparticules.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a révélée une forte activité contre *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 15mm ainsi qu'une sensibilité modérée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Ce résultat suggère un potentiel antimicrobien intéressant, toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer la concentration minimale inhibitrice de ces NPs.

L'incorporation des AgNPs dans une émulsion de type huile dans eau a permis de développer une formulation stable et adaptée aux applications topiques. L'ajout de l'huile essentielle reconnue pour ses propriétés cicatrisantes, permet de créer une synergie où les AgNPs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes, peuvent prévenir et traiter les infections secondaires, tandis que l'HE favorise la régénération des tissus cutanées. Afin de confirmer l'efficacité clinique de cette formulation des tests in vivo sont nécessaires pour valider ces propriétés thérapeutiques dans un contexte pratique.

APPENDICE A

PRESENTATION DU LOGICIEL MODDE 6

Cet appendice a pour but de présenter brièvement le logiciel MODDE 6 utilisé pour l'optimisation.

Le logiciel MODDE 6 développé par la société SARTORIUS est un outil spécialisé dans la planification expérimentale et l'analyse statistique des résultats.

Il permet de concevoir et d'interpréter des résultats dans le but d'une optimisation, ce dernier est largement utilisé dans des domaines tels que la chimie, la pharmacie, la cosmétologie ou encore plusieurs autres domaines afin de comprendre l'influence des facteurs sur des réponses mesurables ainsi que les interactions entre ces paramètres.

Grace aux nombreux outils que le logiciel propose, il permet de réduire le nombre d'expériences nécessaires, tout en obtenant des résultats fiables et statistiquement valides.

Dans ce travail, MODDE 6 a été utilisé pour optimiser la synthèse verte des nanoparticules d'argent, avec pour objectif de déterminer les facteurs influençant ce procédé ainsi que leurs interactions afin d'obtenir une synthèse efficace, reproductible et qui représente un bon rendement.

APPENDICE B

SPECTRE INFRA ROUGE DE LA SOLUTION DES AgNPs SYNTHETISEE A pH 8,5

Cet appendice est ajouté afin de soutenir les résultats obtenus par spectroscopie infrarouge.

La solution des AgNPs synthétisée à pH 8,5 à été analysée par infra rouge, et le résultat obtenu s'est révélé identique à celui observé à pH 5, indiquant que le pH n'influence pas la nature des groupement fonctionnels.

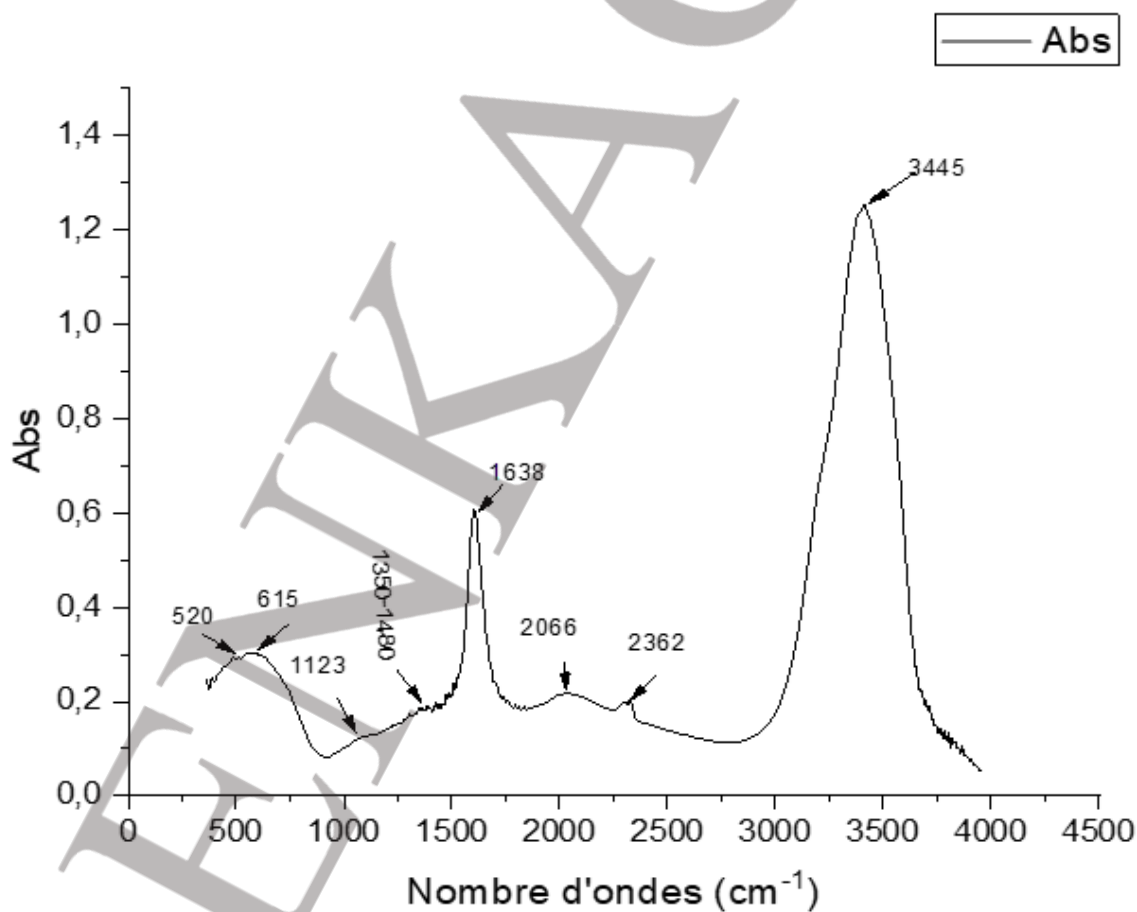


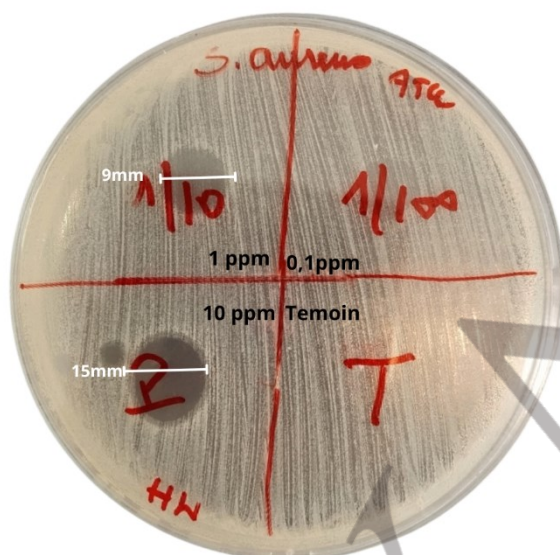
Figure A1 : Spectre FTIR des AgNPs à pH 8,5.

APPENDICE C

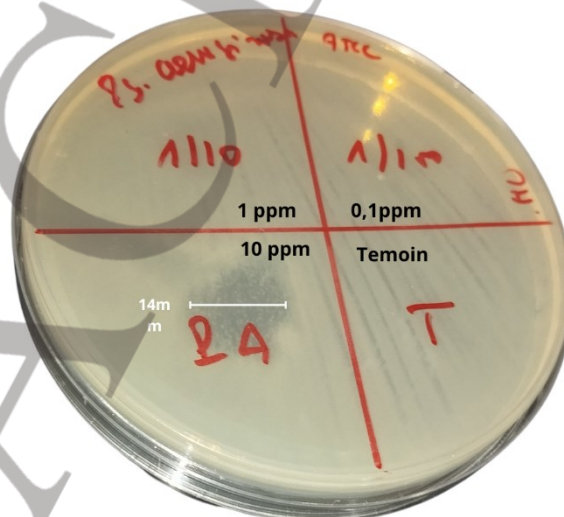
PHOTOGRAPHIE DES BOITES DE PETRI DES AgNPs

Cet appendice est ajouté afin d'illustrer les résultats des boites de pétri incubées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des AgNPs.

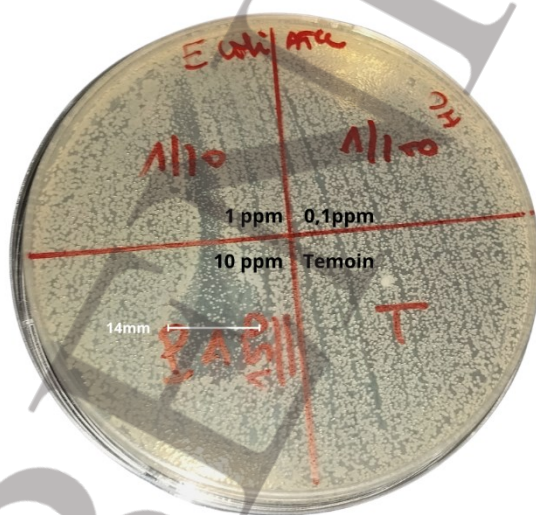
Staphylococcus aureus ATCC 25923.



Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.



Escherichia coli ATCC 25922.



Candida albicans.

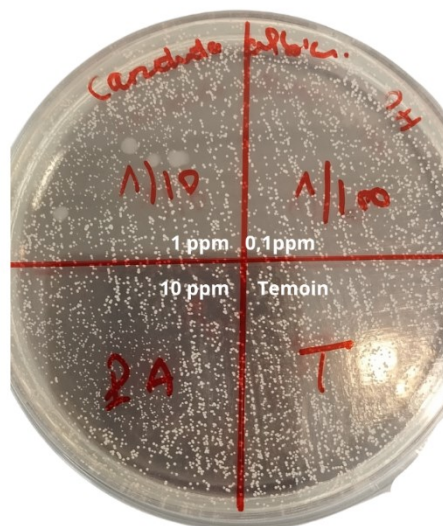


Figure A2 : Photographies des boites de Pétri des AgNPs.

APPENDICE D

TABLEAU DES MATIERES PREMIERES DE LA FORMULATION AMELIOREE

Cet appendice présente la composition détaillée de la formulation topique améliorée.

Tableau A1 : Composition détaillée de la formulation améliorée.

Matière première	Rôle	Quantité	T° fusion
Huile de paraffine	Base de la phase huileuse, hydratant	10 %	
Cire d'abeille	Agent de consistance, protecteur	4.5%	62-65°C
Cérésine	Agent de structure, stabilisant	4%	62-100°C
Vaseline épaisse	Occlusif, protecteur	3%	36-60°C
Glycérine	Agent humectant	2%	20°C
Alcool stéarique	Émulsifiant, épaississant, émollient	5%	57.9°C
Vitamine E	Antioxydant	0.2%	
Alcool benzylique	Conservateur, antiseptique	0.5%	
AgNPs	PA	1% (30 PPM)	
HE Cardoncelle Bleue	PA	0.25%	
Tween (80) [®]	Tensio-actif	3,5%	
Span [™] (60)	Tensio-actif		53°C
Eau déminéralisée	Milieu de dispersion	QSP	

APPENDICE E

SURFACE DE REPONSE EN 3D DE L'ABSORBANCE A 60°C

Cet appendice présente la surface de réponse en 3D qui illustre l'effet combiné du temps de réaction et du ratio extrait : AgNO_3 sur l'absorbance des nanoparticules d'argent à 60°C, elle est ajoutée afin d'appuyer les résultats des interactions entre les facteurs sur l'absorbance.

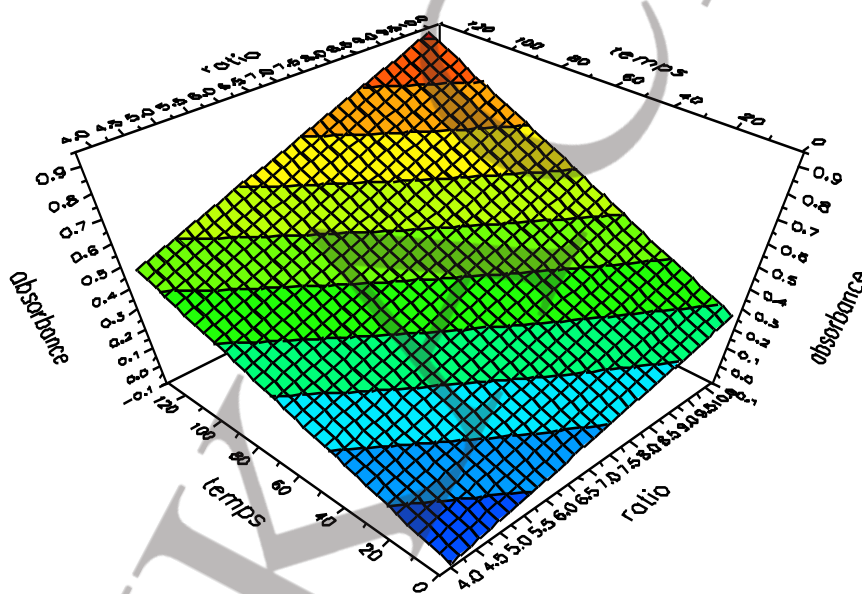


Figure A3 : Surface de réponse illustrant l'effet du temps de réaction et du ratio sur l'absorbance des AgNPs à 60°C.

La surface de réponse montre une élévation progressive allant du bleu (faible absorbance) vers le rouge (forte absorbance) avec l'augmentation du temps et du ratio en même temps, signe d'une interaction entre ces deux facteurs.

L'augmentation du temps de la synthèse favorise l'absorbance indiquant la progression de la synthèse des AgNPs.

De même le ratio a montré un effet semblable que le temps, ce qui pourrait signifier qu'un rapport faible en extrait végétal favorise la formation des AgNPs.

APPENDICE F

PHOTOGRAPHIES DES BOITES DE PETRI POUR LES FORMULATIONS

Cet appendice est ajouté afin d'illustrer les résultats des boites de pétri incubées pour l'évaluation microbiologique des deux émulsions.

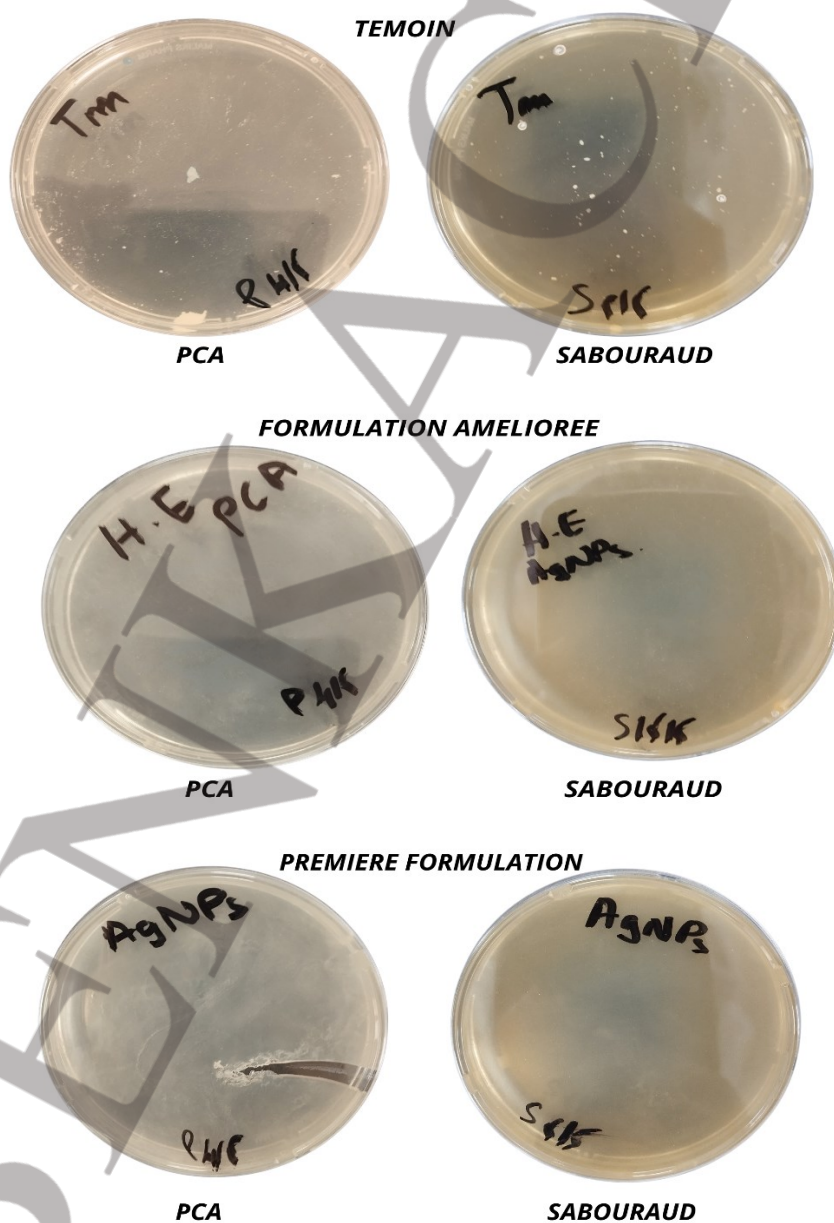


Figure A4 : photographies des boites de Pétri des émulsions.

REFERENCES

- [1] C. Boyer, le développement des nanoparticules d'argent comme agent antibactérien : quels risques pour la santé et l'environnement ?, Université de Picardie Jules Verne, 2021.
- [2] O. A. Adeleye, A. O. Badru, O. E. Oyinloye, A. B. Fabohun, L. G. Bakre, O. A. Bamiro, C. O. Babalola et A. Lateef, « Green synthesized silver nanoparticles for cream formulation : its anti-inflammatory and healing activities » chez IOP Conference Series material science and engineering, 2020.
- [3] G. Tirumurugan, N. Tadele et D. D. Magharla, « Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing » Journal of the American College of Clinical Wound Specialists, vol. 3, n° 14, pp. 82-96, Decembre 2011.
- [4] R. Manjumeena, D. Duraibab, J. Sudh et P. Kalaichelvan, « Biogenic nanosilver incorporated reverse osmosis membrane for antibacterial and antifungal activities against selected pathogenic strains: an enhanced eco-friendly water disinfection approach » Environ SciHealth Part A, vol. 49, p. 1125–1133, 2014.
- [5] Z. Villagrán, L. M. Anaya-Esparza, C. A. Velázquez-Carriles, J. M. Silva-Jara, J. M. Ruvalcaba-Gómez, E. F. Aurora-Vigo, E. Rodríguez-Lafitte, N. Rodríguez-Barajas, I. Balderas-León et F. Martínez-Esquivias, « Plant-Based Extracts as Reducing, Capping, and Stabilizing Agents for the Green Synthesis of Inorganic Nanoparticles » Resources, vol. 13, n° 16, p. 70, 2024.
- [6] F. Mohd, A. Shahzaib, N. Nishat, J. Afroz, T. A. Bhat et A. Inam, « Green synthesis of silver nanoparticles: A comprehensive review of methods, influencing factors, and applications » JCIS Open, vol. 16, p. 100125, 2024.
- [7] R. Dumpala et C. Patil, « Trends of Nanotechnology in pharmaceutical » International journal of trend in scientific research and development IJTSRD, vol. 5, n° 12, 2012.
- [8] G. Chuto et R. Chaumet, « Les nanoparticules » Médecine Nucleaire, vol. 34, n° 16, pp. 370-376, 2010.

- [9] M. Nasrollahzadeh, S. M. Sajdi et Z. Issaabadi, « Application of nanotechnology » vol. 28, pp. 113-143, 2019.
- [10] B. Karadbhajane, Y. Vivek, P. Pande, A. Sawsakde et P. Karadbhajane, « Nanoparticles » International journal of advanced research in science, communication and technology, vol. 10, n° 16, 2013.
- [11] S. L. Sun, « Nanoparticles » chez Induced Mutation Breeding, 2022, pp. 177-178.
- [12] S. Lanone et J. Boczkowski, « Les sources de nanoparticules » Revue Française d'Allergologie, vol. 50, n° 13, pp. 211-213, 2010.
- [13] A. Baulig, J. Poirault, P. Ausset, R. Schins, T. Shi et D. Baralle, « Physicochemical characteristics and biological activities of seasonal atmospheric particulate matter sampling in two locations of Paris Augustin » vol. 33, n° 122, 2004.
- [14] J. M. Antonini, « Health effects of welding » Crit Rev Toxicology, vol. 33, p. 61, 2003.
- [15] D. K. Tiwari, J. Behari et P. Sen, « Application of nanoparticles in waste water treatment » World applied science journal, vol. 3, 2008.
- [16] T. P. Yadav, R. M. Yadav et D. P. Sing, « Broyage mécanique : une approche descendante pour la synthèse de nanomatériaux et nanocomposites » 2012.
- [17] S. A. M. Ealia et M. P. Saravanakumar, « A review on the classification, characterization, synthesis of nanoparticles and their application » IOP conference series : material science and engineering, vol. 263, n° 13, 2017.
- [18] E. M. Bhaviripudi, S. A. Steiner, M. S. Zare, A. M. Dresselhaus et J. K. Belcher, « Journal of the American chemical society, » vol. 129, p. 1516, 2007.
- [19] M. Marchioni, « Eco conception de nouveaux agents biocides à base de nanoparticules d'argent à enrobage bio-inspiré » Université de Grenoble Alpes, 2018.
- [20] W. Li, W. Gou, T. Zhang, Q. Yu et J. Shi, « Environmental applications of metal stable isotopes : Silver, mercury and zinc » Environmental Pollution, Vols. 1 sur 2252, partie B, p. 1344, 2019.

- [21] M. Nasrollahzadeh, Y. Mahmoudi-Gom et N. Motahharifar, « Recent developments in the plant mediated green synthesis of Ag-Based Nanoparticles for environmental and catalytic applications » pp. 1-15, 2019.
- [22] A. Andrieux Ledier, « Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques, Paris : Université Pierre et Marie Curie, 2012, p. 165.
- [23] A. Elham, M. Milani et A. Fikri, « Silver nanoparticles: Synthesis methods, bioapplications and properties » *Critical reviews in microbiology*, vol. 42, n° 12, pp. 173-180, 2016.
- [24] S. Galdaneo, « Influence des conditions de broyage sur la distribution de nanoparticules magnétiques (Fe, Co) dans une matrice de cuivre., Université Paris 7, 2001.
- [25] T. Gouasmi, « Caractérisations des Poudres Nanocristallines à Base de Fer Elaborées par Broyage à Haute Energie, 2024.
- [26] D. Lakeufack, « Synthèse et fonctionnalisation des nanoparticules d'or pour des applications en optique : perspective en photocatalyse, 2010, pp. 29-42.
- [27] P. Mohanpuria, N. K. Rana et S. K. Yadav, « Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications » *Journal of nanoparticles research*, vol. 10, n° 13, pp. 507-517, 2008.
- [28] N. Vigneshwaranm, N. M. Ashtaputre, P. V. Varadarajan, R. P. Nachane, K. M. Paralikar et R. H. Balasubramanya, « Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus* » *Materials letter*, vol. 61, n° 16, pp. 1414-1418, 2007.
- [29] M. Zargar, A. Abdulhamid, F. Abubakar, M. N. Shamsudin, K. Shameli, F. Jahanshiri et F. Farahani, « Green Synthesis and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Using *Vitex Negundo* L. » *Molecules*, vol. 16, n° 18, 2011.
- [30] R. S. Kalimuthu, D. Babu, M. Venkataraman et S. Gurunatan, « Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis* » *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 65, n° 11, pp. 150-153, 2008.

- [31] M. Rafique, M. S. Rafique et M. B. Tahor, « A Review on Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications. » *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 45, pp. 1272-1291, 2017.
- [32] Y. Gumulya, N. Boxall, N. K. Himel, V. Santala, P. R. Carlson et A. H. Kaksonen, «Gumulya, Y., Boxall, NJ., Khaleque, HN., Santala, V., Carlson, RP., Kaksonen, AH. « In a quest for engineering acidophiles for biomining applications : challenges and opportunities », *Genes*, vol. 21, n° 19, p. 116, 2018.
- [33] R. Chauvel, « Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique » p. 105, 2018.
- [34] S. Rajeshkumar et L. V. Bharath, «Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity » *Chemico-biological interactions*, vol. 273, pp. 219-227, 2017.
- [35] R. Boumaraf et S. Kemouguette, « Biosynthèse des nanoparticules d'argent et application » p. 6, 2020.
- [36] S. S. Kameswara, D. Giril, P. Bahadur, K. M. Paradeep et N. S. Upadhyayl, « Green synthesis of silver nanoparticles : A review » *Green sustainable chemistry*, vol. 6, n° 11, pp. 34-56, 2016.
- [37] J. C. Marambio et E. M. V. Hoek, « A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. » *Journal of nanopartcles research*, vol. 15, n° 15, pp. 1531-1551, 2010.
- [38] S. Tang et J. Zheng, « Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. » *Advanced Healthcare Materials*, vol. 7, n° 113, 2018.
- [39] A. Kedziora, M. Speruda, A. Krzyzewska, J. Rybka, A. Lukowiak et G. Bulga-Ploskonska, « Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in Nanoforms as Antibacterial Agents. » *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, n° 12, p. 444, 2018.
- [40] K. Soohie et D. Ryu, « Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues » *Journal of applied Technology*, vol. 33, n° 12, pp. 78-89, 2013.

- [41] E. Comission, Catalogue of nanomaterials used in cosmetic products, 2018.
- [42] D. V, M. Nicole et H. Akhondi, Emulsions, 2023.
- [43] A. Sweeta et A. H. Nour, « Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review » International Journal of Innovative Research and Scientific Studies, vol. 1, n° 11, pp. 14-21, Septembre 2018.
- [44] M. Protat, Formation d'émulsions multiples stimulables en une, Paris, 2016, p. 9.
- [45] Pharmacopée française, Paris : Ministère des Affaires Sociales et de la Solidarité Nationale, 1987.
- [46] C. I. Oseghale, E. J. Akpabio et G. Udotong, « Breaking of Oil -Water Emulsion for the Improvement of Oil Recovery Operations in the Niger Delta Oilfields » International Journal of Engineering and Technology, vol. 2, pp. 1854-1860, 2012.
- [47] A. Hutin, Les tensioactifs, 2019.
- [48] A. M. C. Le Vacher, La peau structure et physiologie, 2e édition éd., Céline Poiteaux, 2012, p. 1.
- [49] « Cours commun résidanat, sujet 10 : brulures cutanées » pp. 2-6, Juillet 2019.
- [50] G. Espinoza, V. B. Aguilar-Aragon, E. H. Ortiz-Villalobos, R. Armando, G. Manzo et M. G. Gonzalez, « Burns : defintion, cassification, pathophysiology and initial approach » International journal of general medicine, vol. 5, n° 15, p. 2327, 2020.
- [51] R. K. Thapa, D. J. Margolis, K. L. Kiick et M. O. Sulivan, « Enhanced wound healing via collagen-turnover-driven transfer of PDGF-BB gene in a murine wound model » ACS Applizsd bio materials, vol. 3, n° 16, p. 3501, 2020.
- [52] R. Mateta et A. Sanford, Cicatrisation et plantes utilisées dans la médecine traditionnelle polynésienne, 2022, pp. 31-33.
- [53] H. Ren, F. Zhao, Q. Zhang, X. Huang et Z. Wang, « Autophagy and skin wound healing » Burns and trauma, vol. 10, 2022.
- [54] R. Moatti, La phytothérapie. Revue des Deux Mondes, Revue des deux mondes, 1990.

- [55] J. Y. Chabier, *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.*, 2010.
- [56] V. Hammiche, R. Merad et M. Azzouz, « Risque toxique lié à la phytothérapie » chez Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, 2013, pp. 17-18.
- [57] C. Monnier, *Les plantes médicinales - vertus et traditions*, Paris : Privat, 2002, p. 155.
- [58] D. Oregon et J. Filshie, « Acupuncture and cancer. Autonomic Neuroscience » *Autonomic neuroscience : basic and clinical*, vol. 157, n° 11, pp. 96-100, 2010.
- [59] Y. Boutoumi, *Cours pharmacie industrielle*.
- [60] J. C. Létard, J. M. Canard, V. Costil, P. Dalbiés, B. Grunberg et J. Lapuelle, « Commissions nutrition et thérapies complémentaires du CREGG. Phytothérapie » *Principes généraux Hege*, vol. 5, n° 11, pp. 29-35, 2015.
- [61] M. L. Fauconnier, « Les huiles essentielles : applications en agronomie » *Congrès des professeurs de science*, 2021.
- [62] L. Vidal, VIDAL, 2021.
- [63] S. M. Criollo-Mendoza, A. L. Contreras-Angulo, N. Leyva-López, E. P. Gutiérrez-Grijalva, L. A. Jiménez-Ortega et J. B. Heredia, « Wound Healing Properties of Natural Products: Mechanisms of Action » *MDPI*, vol. 28, n° 12, p. 589, 2023.
- [64] A. Herman et A. P. Herman, « Herbal Products for Treatment of Burn Wounds » *Journal of burn care and research*, vol. 41, n° 13, p. 457–465, 2020.
- [65] O. V. Slata, « Application of nanoparticles in biology and medecine » *Journal of nanobiotechnology*, vol. 2, n° 13, 2004.
- [66] J. Natsuki, T. Natsuki et Y. Hashimoto, « A review of silver nanoparticles : Synthesismethodes, Properties and Applications » *International journal of materials science and applications*, vol. 4, n° 15, pp. 325-332, 2015.
- [67] L. Pham, D. V. Doan, Q. Le Dang, T. A. Nguyen, T. L. Nguyen, T. D. Thuy, V. O. Anh et D. L. Tran, « Stable biogenic silver nanoparticles from syzygium nervosum bud extract for enhanced catalytic antibacterial and antifungal properties » *RCS advances*, vol. 13, n° 130, pp. 20994-21007, 2023.

- [68] P. Teodora, I. Ignatov, E. P. Toshka, D. K. Mila, F. Hueter et D. K. Stoil, « Antimicrobial activity in vitro of cream from plant extracts and nanosilver and clinical research in vivo on veterinary clinical cases » *Cosmetics*, vol. 9, n° 16, 2022.
- [69] D. B. Warheit, C. M. Sayes, K. L. Reed et K. A. SwaIN, « Health effects related to exposures: environmental health and safety considerations for assessing hazards and risks » *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 120, n° 11, pp. 35-42, 2008.
- [70] M. M. Dahmani, « Phytochemical screening of bioactive constituents of *Carthamus caeruleus* L. (Asteraceae) : Assessment of toxicological effects » chez 1st Colloquium of Animal Ecophysiology and Biodiversity (CIEAB2016), 2016.
- [71] M. Atlan, *Les labiées : études botaniques, économiques, chimiques et pharmacologiques*, Bordeaux.
- [72] M. Antoinette, *Secret d'une herboriste, dauphin*, 2005.
- [73] L. N. Mahfouf, *Etude de l'espèce *Origanum vulgare**, Metz, 2018, pp. 18-98.
- [74] M. M. Damani, «E valuation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L. » 2018.
- [75] J. M. A-Khayri, S. G. Ravikumar, N. Praveen, V. J. Bilgo, F. M. Alessa et M. Q. Al-Mssalelm, « Flavonoïdes as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review » *Molecules*, vol. 27, n° 19, p. 2901, 2022.
- [76] A. Shakeel, A. Mudasir, L. S. Babu et I. Saiqa, « Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract » *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 9, n° 11, pp. 1-7, 2016.
- [77] V. Oksana , A. Mražíková et R. Marcinčáková, « Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles » *Materials Letters*, vol. 180, pp. 336-339, 2016.
- [78] A. E, « Introduction à la spectroscopie UV-Visible » *Science photo library*, 2012.
- [79] K. Harmanpreet, K. Harvinderjeet et S. Anjana, « Study of SPR peak shifting of silver nanoparticles with change in surrounding medium » *Materialstoday: PROCEEDINGS*, vol. 37, n° 12, pp. 3574-3576, 2021.

- [80] A. G. Ponce, R. Fritz, C. Delvalle et S. I. Roura, « Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard » *Labens wissens technology*, vol. 36, pp. 679-684, 2003.
- [81] M. E. Samberg, S. J. Oldenburg et N. A. Monteiro-Riviere, « Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro » *Environmental Health Perspectives*, vol. 118, n° 13, pp. 407-416, 2010.
- [82] M. Cazayous, C. Langlois, T. Oikawa, C. Ricolleau et A. Sacuto, « Confocal Raman and TEM measurements at the same area on nanoparticles » *Microelectronic Engineering*, vol. 84, n° 13, 2007.
- [83] A. K. Mittal, Y. Chisti et U. C. Banerjee, « Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts » *Biotechnology advances*, vol. 31, n° 12, pp. 346-356, 2013.
- [84] B. Kumar, K. Smita, L. Cumbal et A. Debut, « Green synthesis of silver nanoparticles using ocimum sanctum (Tulsi) leaf extract and screening their antimicrobial activity » *journal of Nanoparticles research*, vol. 13, p. 2981–2988, Janvier 2011.
- [85] S. S. Shankar, A. Rai, B. Ankamwar, A. Singh, A. Ahmad et M. Sastry, « Biological synthesis of triangular gold nanoparticles » *Nature Materials*, vol. 3, n° 17, pp. 482-488, 2004.