

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université Saâd Dahlab de Blida**



**Faculté des Sciences  
Département de chimie**

## **Mémoire de fin d'étude**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

## **Master Académique**

**En chimie Appliquée**

### **Thème**

**Synthèse et caractérisation des nanoparticules  
d'argent par un procédé de chimie verte**

**Réalisé par : LEKHAL Noussaiba & LAIDI Baya**

**Soutenu le 19/09/2021 devant le jury :**

<b>K. Hamza</b>	Maitre Assistant	USDBlida	<b>Présidente</b>
<b>A. Mezrag</b>	Maitre de Conférence	USDBlida	<b>Examineur</b>
<b>A. Bessi</b>	Maitre de Conférence	USDBlida	<b>Promotrice</b>

**Blida, Septembre 2021**

## *Remerciement*

*Avant tous nous tenons à remercier Allah tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens pour accomplir ce travail.*

*A nos parents , merci infiniment pour votre présence, vos conseils ainsi que votre aide morale.*

*Nous tenons à remercier plus particulièrement notre promotrice, Madame **A. Bessi** , pour avoir accepté de nous encadrer, qui depuis le début, n'a cessé de nous faire bénéficier de ses nombreux conseils, de ses critiques, de ses compétences et de son soutien et surtout sa gentillesse. Qu'elle trouve ici nos sincères impressions de gratitude et de respect.*

*Nous tenons à remercier le membre de jury :*

*Madame **K. Hamza** pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.*

*Monsieur **A. Mezrag** pour avoir bien voulu examiner ce travail et pour son aide et sa contribution à la réalisation de ce mémoire .*

*En fin on adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis qui nous ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire .*

## Résumé

L'utilisation de la chimie verte dans la production de particules d'argent a reçu beaucoup d'attention de la part des scientifiques en raison de son protocole rapide, respectueux de l'environnement, non pathogène et économique.

Ce travail se concentre principalement sur la synthèse de nanoparticules d'argent en utilisant différents extraits de *lotus corniculatus L.* . ensuite la caractérisation des nanoparticules synthétisées par différentes méthodes .

Les extraits (aqueux ou par solvants) de *lotus corniculatus L.*, peuvent être utilisées comme agents de bio-réduction pour produire des nanoparticules d'Ag. La formation de nanoparticules d'Ag par l'extrait a été observée par le changement de couleur de l'extrait en jaune brunâtre . Les changements de couleur qui se produisent indiquent que des particules d'Ag sont formées. Les particules d'Ag produites avaient une taille nanométrique. Les nanoparticules d'Ag contenues dans l'extrait ont pu inhiber la croissance des bactéries *S. aureus* et *E. coli*, et la meilleure activité antibactérienne a été présentée pour les NPs Ag synthétisées à partir de l'extrait de n-butanol et de l'extrait aqueux.

**Mots clés** : Nanoparticule, l'Argent , synthèse verte, *lotus corniculatus L.* .

## Abstract

The use of green chemistry in the production of silver particles has received a lot of attention from scientists due to its rapid, environmentally friendly, non-pathogenic, and economical protocol.

This work mainly focuses on the synthesis of silver nanoparticles using different extracts of *lotus corniculatus L.* Then the characterization of the nanoparticles synthesized by different methods.

The extracts (aqueous or by solvent) of *lotus corniculatus L.* , can be used as bio-reduction agents to produce Ag nanoparticles. The formation of Ag nanoparticles by the extract was observed by the color change of the extract to brownish yellow. The color changes that occur as Ag particles are formed. The Ag particles produced were nanometric in size. The Ag nanoparticles contained in the extract were able to inhibit the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria, and the best antibacterial activity was shown for the Ag NPs synthesized from the n-butanol extract and the aqueous extract.

**Key words :** nanoparticles , silvre , green synthesis , *lotus corniculatus L.* .

## ملخص

حظي استخدام الكيمياء الخضراء في إنتاج جزيئات الفضة باهتمام كبير من العلماء نظرًا لبروتوكولها السريع والصديق للبيئة وغير الممرض والاقتصادي .

يركز هذا العمل بشكل أساسي على تصنيع الجسيمات النانوية الفضية باستخدام مستخلصات مختلفة من نبات اللوتس القرمي ، ثم توصيف الجسيمات النانوية التي يتم تصنيعها بطرق مختلفة.

يمكن استخدام مستخلصات *lotus corniculatus L.* (المائية أو باستعمال المذيبات ) كعوامل اختزال بيولوجي لإنتاج جزيئات الفضة النانوية. لوحظ تكوين جزيئات الفضة النانوية بواسطة المستخلص من خلال تغير لون المستخلص إلى اللون الأصفر البني . يتغير اللون الذي يحدث عندما تتشكل جزيئات الفضة , كانت جسيمات الفضة المنتجة بحجم نانومتر قادرة على تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus* و *E. coli* ، وتم عرض أفضل نشاط مضاد للجراثيم لـ جزيئات الفضة النانوية المصنعة من مستخلص 1-بيوتانول والمستخلص المائي.

**الكلمات المفتاحية :** جسيمات النانو ، الفضة ، التوليف الأخضر ، *lotus corniculatus L.*

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Les nano-objets.....	3
<b>Figure 2:</b> Différents formes des nanoparticules .....	4
<b>Figure 3:</b> Méthodes d'élaboration des nanoparticules .....	6
<b>Figure 4:</b> Les 12 principes de la chimie verte .....	13
<b>Figure 5:</b> Les principaux types de bioréducteurs végétaux impliqués dans la synthèse des nanoparticules.....	14
<b>Figure 6:</b> Illustration de l'étape de nucléation .....	15
<b>Figure 7:</b> Répartition géographique mondiale des Fabaceae .....	17
<b>Figure 8:</b> Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce <i>L.tenuis</i> .....	21
<b>Figure 9:</b> Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce <i>L.corniculatus</i> .....	21
<b>Figure 10:</b> Divers composés isolés du genre lotus .....	22
<b>Figure 11:</b> <i>Lotus corniculatus</i> L. ....	22
<b>Figure 12 :</b> Spectrophotomètre SHIMADZU UV-1201.....	24
<b>Figure 13 :</b> Illustration de la loi de Bragg .....	25
<b>Figure 14 :</b> DRX BRUKER D2 PHASER. ....	26
<b>Figure 15 :</b> Spectromètre infrarouge SHIMADZU FTIR-8900 .....	27
<b>Figure 16 :</b> la couleur de la solution de DPPH avant et après l'ajout d'un antioxydant .....	28
<b>Figure 17 :</b> Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent .....	31
<b>Figure 18 :</b> Mécanisme de stabilisation de Ag .....	31
<b>Figure 19 :</b> Protocole de l'extraction .....	32
<b>Figure 20:</b> L'échantillon après calcination .....	34
<b>Figure 21:</b> Spectre UV-Vis des AgNPs synthétisées par l'extrait aqueux.....	38
<b>Figure 22:</b> les spectres UV-Vis des AgNPs synthétisées par les différents extraits .....	38
<b>Figure 23 :</b> Le diagramme de diffraction des rayons X de la poudre de NPs Ag synthétisée. ....	39
<b>Figure 24:</b> Le diagramme de diffraction des rayons X des AgNPs synthétisées .....	41

<b>Figure 25 :</b> Les spectres IR des AgNPs synthétisées par les différents l'extraits.....	41
<b>Figure 26 :</b> Imagerie par microscopie électronique à balayage (MEB). .....	42
<b>Figure 27 :</b> Image EDX pour les AgNPs.....	43
<b>Figure 28 :</b> L'activité antioxydante de l'extrait de 1-butanol .....	44
<b>Figure 29 :</b> L'effet des AgNPs synthétisés par diffèrent extraits à différentes concentrations sur le développement des souches bactériennes.....	46
<b>Figure 30:</b> Résultats de l'activité antimicrobienne à la plus basse concentration testé (200µg/ml).....	47

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Quelque méthodes utilisées pour la synthèse des nanoparticules d'argent.....	10
<b>Tableau 2:</b> Position systématique des Fabaceae selon différentes approches phylogénétique ou morphologique .....	18
<b>Tableau 3:</b> Quelques flavonoïdes isolés du genre lotus .....	20
<b>Tableau 4:</b> Divers composés isolés du genre lotus .....	21
<b>Tableau 5:</b> Classification de Lotus corniculatus .....	23
<b>Tableau 6:</b> Rendement des extraits .....	32
<b>Tableau 7 :</b> Rendement de la synthèse par les différents extraits .....	33
<b>Tableau 8:</b> Rendement de la synthèse .....	34
<b>Tableau 9 :</b> Les souches bactériennes utilisées .....	37
<b>Tableau 10 :</b> Les raies à $2\theta$ de Ag synthétisé.....	40
<b>Tableau 11 :</b> L'absorbance et Calcul d'activité antioxydante des différents extraits. ....	43
<b>Tableau 12:</b> Résultats de l'activité antibactérienne de nos produits par la méthode de diffusion discal. ....	45
<b>Tableau 13 :</b> Concentration minimale d'inhibitrice (CMI) des différentes souches bactériennes testées, pour les différents AgNPs synthétisées. ....	47

## Liste des abréviations

**AFM** : Le microscope à force atomique

**BSA** : Sérumalbumine bovine

**C60** : Les fullerènes

**CNT** : Les nanotubes de carbone

**CVD** : Le dépôt chimique en phase vapeur

**GR** : Les nanofibres de carbone, le noir de carbone, le graphène

**LDPE** : Polyéthylène basse densité

**mV** : Milivolte

**NM** : Nano matériaux

**NPs** : Nanoparticules

**AgNPs** : Nanoparticules d'argent

**PEG** : Polyéthylène glycol

**PMMA** : Polyméthacrylate de méthyle

**PVP** : Polyvinylpyrrolidone

**STM** : Scanning tunneling microscope

**L.tenuis** : Lotus tenuis

**L.corniculatus** : Lotus corniculatus

**ATP** : Adénosine triphosphate

# Sommaire

**Remerciement**

**Résumé**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale**

## **Chapitre I : Recherche Bibliographique**

I.1.	Définitions.....	3
I.1.1.	Nanomatériaux .....	3
I.1.2.	Nano-objets .....	3
I.1.3.	Nanoparticules.....	3
I.2.	Différentes formes des nanoparticules.....	3
I.3.	Classification des nanomtériaux .....	4
I.4.	Procède d'élaboration des nanoparticules.....	5
I.5.	Applications des nanoparticules .....	6
I.6.	Les nanoparticules d'argent .....	8
I.6.1.	Généralité .....	8
I.6.2.	Propriétés des nanoparticules d'argent .....	8
I.6.3.	Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent.....	9
I.6.4.	Les applications des nanoparticules d'argent.....	10
I.6.5.	Effet toxique des nanoparticules d'argent.....	11

## **Chapitre II : Chimie verte**

Introduction .....	12
--------------------	----

II.1.	Synthèse des nanoparticules d'argent par chimie verte .....	13
II.1.1.	Réductions biologiques .....	14
II.1.2.	Le rôle des métabolites des plantes dans liaison et la bio réduction des ions métalliques.....	14
II.1.3.	Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent .....	15
II.2.	Description de la plante ( <i>L.Corniculatus</i> ) .....	17
II.2.1.	La famille des Fabaceae .....	17
II.3.	Etude phytochimique de l'espèce <i>L.Corniculatus</i> .....	22

### **Chapitre III : Techniques d'analyses**

III.1.	La spectroscopie UV-Visible .....	24
III.2.	Diffraction des rayons X (DRX).....	25
III.3.	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier .....	27
III.4.	Activité antioxydante .....	28
III.5.	Activité antibactérienne .....	29

### **Chapitre IV : Matériels et méthodes**

IV.1.	Matériels utilisés .....	30
IV.2.	Synthèse des nanoparticules d'argent .....	30
IV.2.1.	Mécanisme de formation et la stabilisation des AgNPs.....	30
IV.3.	Synthèse des nanoparticules d'argent par les extraits des substances bioactives ..	32
IV.4.	Synthèse des nanoparticules d'argent par l'extraits aqueux .....	33
IV.5.	Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent .....	35
IV.5.1.	La spectroscopie UV-Visible .....	35
IV.5.2.	Diffraction des rayons X (DRX) .....	35
IV.5.3.	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	35
IV.5.4.	L'activité antioxydante.....	35
IV.5.5.	L'activité antimicrobienne .....	36

## **Chapitre V : Résultats et discussions**

V.1. Caractérisation par UV-Vis.....	38
V.2. Caractérisation par DRX.....	39
V.3. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	41
V.4. Etude morphologique par MEB .....	42
V.5. Activités antioxydantes .....	43
V.6. Activité antimicrobienne.....	44

### **Conclusion générale**

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

# **Introduction générale**

## Introduction générale

La nanotechnologie est en train de devenir une technologie multidisciplinaire très avancée faisant intervenir la chimie, la physique, la science des matériaux, la biologie et la médecine, elle s'intéresse aux petites structures ou aux matériaux de petite taille [1]. La dimension typique s'étend du subnanomètre à plusieurs centaines de nanomètres. Un nanomètre (nm) correspond à un milliardième de mètre, ou  $10^{-9}$  m [2][3].

La synthèse de nanoparticules (NPs) a été l'étape la plus importante dans le domaine de la nanotechnologie [4]. Les nouvelles propriétés des NP ont été exploitées dans un large éventail d'applications potentielles en médecine, en cosmétique, dans les énergies renouvelables et dans les sciences de la vie, l'assainissement de l'environnement et les dispositifs biomédicaux [5][6].

La synthèse des nanoparticules s'effectue habituellement par divers procédés physiques et chimiques, la plupart étant coûteux et /ou nécessitant l'utilisation de solvants toxiques [7]. Récemment, de grands efforts sont faits pour utiliser une méthode respectueuse de l'environnement pour la synthèse des nanoparticules [8], c'est la méthode de synthèse verte, utilisant des micro-organismes, des champignons et des plantes, qui ont attiré une grande attention en raison de leurs procédures peu coûteuses, rapides, efficaces, écologiques et biocompatibles [9], qui conduisent généralement à la formation de nanoparticules cristallines avec une variété de formes (sphères, tiges, prismes, plaques, aiguilles, feuilles ou dendrites), avec des tailles comprises entre 1 et 100 nm [10].

Les plantes (leurs extraits) sont considérées comme un système hautement souhaitable pour la synthèse de NPs en raison de leur grande capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires bioactifs à fort potentiel de réduction [11].

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail est d'étudier la possibilité de synthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs) à l'aide d'extrait aqueux et des extractions des substances bioactives d'une plante algérienne *lotus corniculatus L.* ensuite la caractérisation de ces nanoparticules par plusieurs méthodes telles que : la diffraction de rayon X (DRX), l'infrarouge à transformé de Fourier (FTIR).

Le présent manuscrit est entamé par cette introduction générale qui donne une idée globale sur le sujet. Le chapitre I, est consacrée à une étude bibliographique sur les nanomatériaux et nanoparticules, Où nous avons présenté une synthèse sur les nanoparticules, les méthodes de synthèse et les propriétés puis nous avons donné un aperçu sur les NPs Ag ainsi que de son importance.

Le chapitre II, donne un aperçu sur la chimie verte suivi d'une étude de la plante utilisé *lotus corniculatus L.* et de ses utilisations.

Le chapitre III englobe les méthodes d'analyse utilisées dans la caractérisation de nos échantillons.

Chapitre IV présente le matériel et la méthode de synthèse et de caractérisation des NPs.

Le chapitre V englobe les résultats obtenus au cours de ce travail ainsi que la discussion de ces derniers.

A la fin une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus au cours de ce travail.

**Chapitre I :**  
**Recherche**  
**Bibliographique**

## I.1. Définitions

### I.1.1. Nanomatériaux

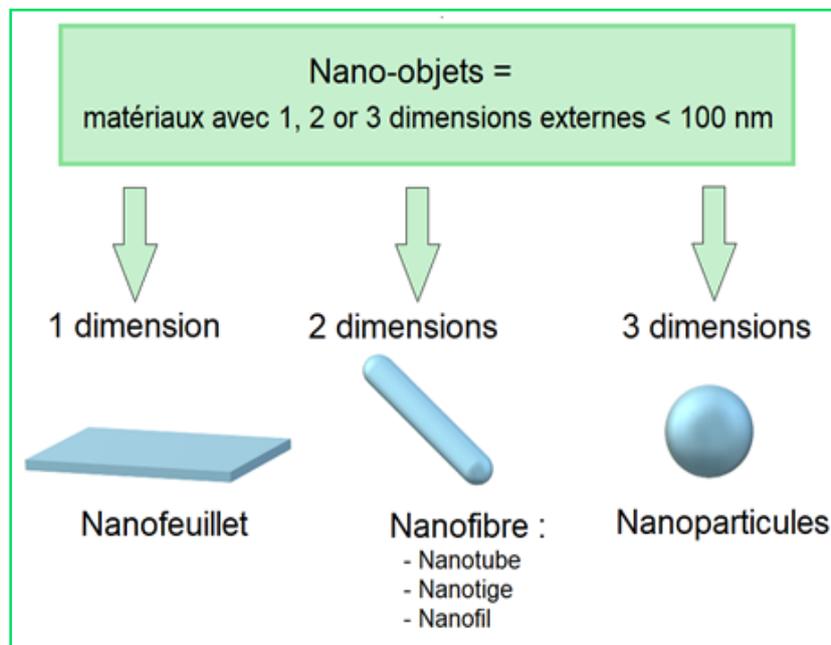
Matériaux avec n'importe quel structures interne ou externe à l'échelle nanométrique.

### I.1.2. Nano-objets

Matériaux possédant une ou plusieurs dimensions nanométriques périphériques.

### I.1.3. Nanoparticules

Nano-objets avec trois dimensions externes nanométriques, Si 2 dimensions externes sont nanométriques, ce sont des nanofibres [12].



*Figure 1 : Les nano-objets*

## I.2. Différentes formes des nanoparticules

Par définition, une nanoparticule est un nano-objet, et ses trois dimensions sont entre 1 et 100 nanomètres.

Ils peuvent se présenter sous la forme de nano sphères, nano prisme, nanofibre, nano fils, nano tiges, nanotubes ou nano feuilles ... [13].

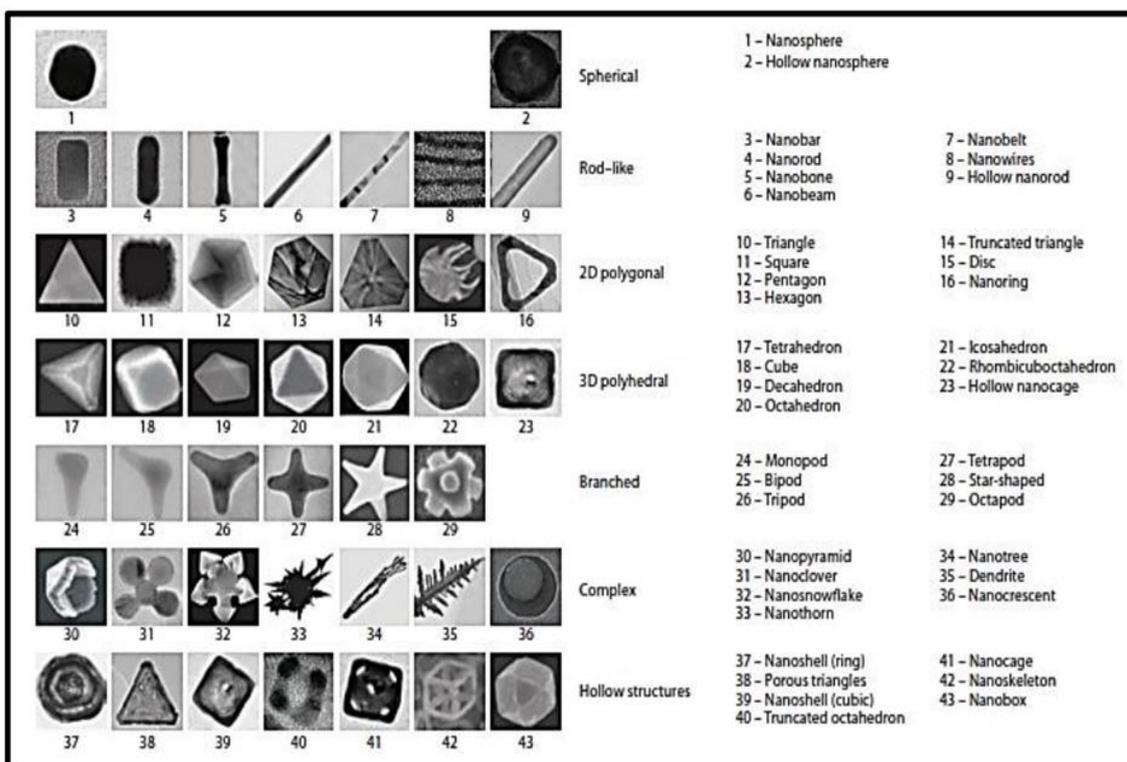


Figure 2: Différents formes des nanoparticules

### I.3. Classification des nanomatériaux

#### I.3.1. Les nanomatériaux naturelles

Les nanoparticules naturelles peuvent être produites par l'activité volcanique, les réactions de photosynthèse ou encore l'activité marine. On peut en retrouver dans les poussières désertiques.

Les nanoparticules sont aussi observées lors du phénomène de combustion. Certaines bactéries et levures peuvent réduire la toxicité d'un environnement polluant en agissant sur les ions métalliques et en formant des complexes insolubles sous forme de nanoparticules [14].

#### I.3.2. Les nanomatériaux de synthèse

La plupart des NP et NM actuels peuvent être organisés en quatre catégories fondées sur le matériel :

##### I.3.2.1. Nanomatériaux à base de carbone

Généralement, ces NM contiennent du carbone et se retrouvent dans des morphologies telles que des tubes creux, des ellipsoïdes ou des sphères. Les fullerènes (C<sub>60</sub>), les nanotubes

de carbone (CNT), les nanofibres de carbone, le noir de carbone, le graphène (Gr) et les oignons de carbone sont inclus dans la catégorie des NM à base de carbone. L'ablation au laser, la décharge à l'arc et le dépôt chimique en phase vapeur (CVD) sont les méthodes de production importantes pour la fabrication de ces matériaux à base de carbone (à l'exception du noir de carbone) [15].

### ***1.3.2.2. Nanomatériaux à base inorganique***

Ces NM comprennent des NPs et des NSM d'oxyde métallique et métallique. Ces NM peuvent être synthétisés en métaux tels que les NP Au ou Ag, les oxydes métalliques tels que les NP TiO<sub>2</sub> et ZnO, et les semi-conducteurs tels que le silicium et les céramiques [15], [16].

### ***1.3.2.3. Nanomatériaux à base organique***

Il s'agit notamment des NM fabriqués principalement à partir de matière organique, à l'exclusion des NM à base de carbone ou inorganiques. L'utilisation d'interactions non covalentes (faibles) pour l'autoassemblages et la conception de molécules aide à transformer les NM organiques en structures souhaitées telles que les dendrimères, les micelles, les liposomes et les NP polymères [17],[18].

### ***1.3.2.4. Nanomatériaux à base composite***

Les NM composites sont des NP et des NSM multi phasés avec une phase à l'échelle nanométrique qui peuvent combiner des NP avec d'autres NP ou des NP combinés avec des matériaux plus grands ou de type en vrac (par exemple, des nanofibres hybrides) ou plus structures complexes, telles que des armatures organométalliques. Les composites peuvent être n'importe quelle combinaison de NM à base de carbone, à base de métal ou à base organique avec n'importe quelle forme de matériaux en vrac métalliques, céramiques ou polymères. Les NM sont synthétisés dans différentes morphologies en fonction des propriétés requises pour l'application souhaitée [18].

## **I.4. Procède d'élaboration des nanoparticules**

De nombreuses techniques permettant de fabriquer des nano-objets, pour lesquels plusieurs paramètres doivent être maîtrisés : particulièrement la taille et la forme.

Deux grandes approches coexistent dans le domaine des nanomatériaux. La première qualifiée de « Top-Down » c'est-à-dire de haut en bas consiste à miniaturiser par les moyens

de réduction de taille des dispositifs existants. Une approche inverse qualifiée de « Bottom-up » ou du bas vers le haut consiste à assembler des motifs atomiques ou moléculaires afin de constituer des objets nanométriques [19][20] (Figure 3).

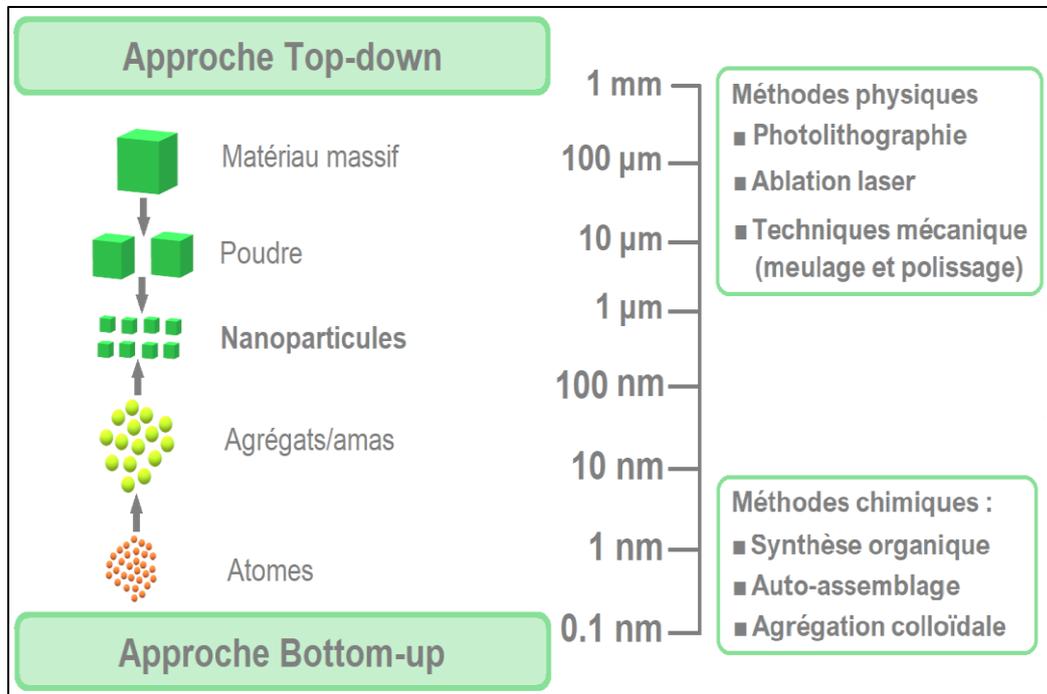


Figure 3: Méthodes d'élaboration des nanoparticules

## I.5. Applications des nanoparticules

- Automobile, aéronautique et aérospatial :

Matériaux renforcés et plus légers peintures extérieures, plus brillantes, anti-rayures, capteurs optimisant les performances des moteurs, additifs pour diesel permettant une meilleure combustion, pneumatiques plus durables et recyclables... [21].

- Electronique et communications :

Cellules solaires, bibliothèques électroniques de poche, ordinateurs, ultrarapides, technologies sans fil, écrans plats... [22].

- Agroalimentaire :

Emballages actifs, additifs, colorants, anti-agglomérants, émulsifiants... [23].

- Chimie et matériaux :

Catalyseurs multifonctionnels, inhibiteurs de corrosion, Pigments, charges, poudres céramiques, textiles et revêtements antibactériens et ultra-résistants... [24],[25], [26].

- Construction :

Ciments autonettoyants et anti-pollution, vitrages autonettoyants et antisalissures, peintures, vernis, colles, mastics ... [22],[23].

- Pharmacie et santé :

Médicaments sur mesure délivrés uniquement à des organes précis, Médicaments et agents actifs, surfaces biocompatibles pour implants, surfaces adhésives médicales anti-allergènes, vaccins oraux, imagerie médicale... [27].

- Cosmétique :

Crèmes solaires transparentes, maquillage avec une meilleure tenue, pâtes à dentifrice abrasives, ... [23].

- Énergie :

Cellules photovoltaïques nouvelle génération, nouveaux types de batteries, fenêtres intelligentes, matériaux isolants plus efficaces, entreposage d'hydrogène combustible... [28],[29].

- Environnement et écologie :

Diminution des émissions de dioxyde de carbone, production d'eau ultrapure à partir d'eau de mer, pesticides et fertilisants plus efficaces et moins dommageables, analyseurs chimiques spécifiques... [21].

- Défense :

Détecteurs d'agents chimiques et biologiques, systèmes de surveillance miniaturisés, systèmes de guidage plus précis, textiles légers et qui se réparent d'eux-mêmes... [21],[22], [23].

## **I.6. Les nanoparticules d'argent**

### **I.6.1. Généralité**

Les nanoparticules d'argents, sont des objets relativement fréquents produites soit à partir du métal naturel, soit à partir de l'argent ionique. Ils existent en effet différentes sources de production des nanoparticules d'argent :

- Les sources naturelles de l'argent est son extraction des gisements miniers contenant de l'argentite ( $Ag_2S$ ) ou en association avec d'autres éléments sulfurés (ex. nickel, cuivre).
- Les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage,).
- Sources industrielles : ex. émissions et rejets industriels.

### **I.6.2. Propriétés des nanoparticules d'argent [30],[31]**

Les nanoparticules d'argent présentent plusieurs propriétés physiques remarquables qui les rendent très importantes dans divers domaines tels que la médecine, l'électronique, etc.

Les propriétés physiques sont discutées sous les thèmes suivants :

#### **a) Diamètre, surface et volume :**

Les nanoparticules ont des propriétés uniques en raison de leur petite taille. Toutes les nanoparticules, quels que soient leurs constituants chimiques, ont des rapports surface / volume extrêmement élevés. De nombreuses propriétés physiques des nanoparticules telles que la solubilité et la stabilité sont dominées par la surface des nanoparticules.

#### **b) Forme et cristallinité :**

Les nanoparticules d'argent peuvent être produites avec différentes tailles et formes en fonction de l'approche de synthèse et de la méthodologie. Typiquement, des formes anisotropes sont formées en présence d'un polymère stabilisant qui se lie préférentiellement à une face cristalline et entraîne une croissance dans une direction cristalline plus rapide que les autres.

#### **c) Stabilisation des nanoparticules d'argent contre l'agglomération :**

Les nanoparticules, puisqu'elles ont de grandes surfaces, s'agglomèrent souvent pour former soit des amas, soit des particules plus grosses afin de minimiser la surface totale ou l'énergie interfaciale du système. Lorsque les particules sont fortement collées ensemble, ces

agglomérats durs sont appelés agrégats. L'agglomération de fines particules peut se produire soit au stade de synthèse, soit pendant le séchage et le traitement ultérieur des particules. L'agglomération de fines particules est provoquée par la force attractive de Vander Waals et / ou la force motrice qui tend à minimiser l'énergie de surface totale du système. Des forces répulsives inter-particules sont nécessaires pour empêcher l'agglomération de ces particules. Il est très important de stabiliser les particules contre l'agglomération à chaque étape de la production des particules et du traitement des poudres. Les nanoparticules sont soit stabilisées en charge, soit stabilisées stérique. Pour les particules à charge stabilisée, le potentiel zêta est une mesure de la stabilité de la particule. En règle générale, les nanoparticules avec des potentiels zêtas supérieurs à 20 mV ou inférieurs à -20 mV ont une répulsion électrostatique suffisante pour rester stables en solution.

Les nanoparticules d'argent peuvent être fonctionnalisées avec une large gamme de rials. Des polymères tels que la polyvinylpyrrolidone (PVP) et l'acide tannique sont des agents de coiffage couramment utilisés pour les applications de nanoparticules d'argent.

Les nanoparticules d'argent utilisées dans des applications biologiques sont généralement enrobées de polyéthylène glycol (PEG), de séralbumine bovine (BSA) ou de nombreuses autres protéines, peptides, oligonucléotides. Pour interagir avec une cible biologique, un revêtement ou une couche biologique ou moléculaire agissant comme une interface bio-organique doit être attaché aux nanoparticules. Des exemples de revêtements biologiques peuvent inclure des anticorps, des biopolymères comme le collagène ou des monocouches de petites molécules qui rendent les nanoparticules biocompatibles. Plusieurs groupes fonctionnels peuvent être attachés à la surface de la nanoparticule, permettant ainsi la nanoparticule.

### **I.6.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent**

Il peut y avoir plusieurs méthodes de fabrication des nanoparticules d'argent (méthodes physiques, chimiques ou biologiques), chacune ayant ses propres avantages et inconvénients. La diversité de ces méthodes est présentée dans le tableau 1.

**Tableau 1: Quelques méthodes utilisées pour la synthèse des nanoparticules d'argent**

Méthodes de synthèse des AgNPs		Avantages	Inconvénients	Réf
<b>Méthodes physiques</b>	Ablation laser	- Absence de solvants - Uniformité de la distribution des NPs	- Peu de contrôle de la taille de NPs	[32]
	Dépôt plasma PVD	- Absence de solvants - Uniformité de la distribution des NPs - Contrôle de la taille des NPs	- Manque de protection des NPs	[33]
	Implantation Ionique	- Absence de solvants - Uniformité de la distribution des NPs - Contrôle de la taille des NPs	- NPs instables - Oxydation (création de canaux dans la matrice à cause de l'implantation ionique)	[34]
<b>Méthodes chimiques</b>	Réduction chimique	- Facile à réaliser	- Utilisation de solvants - Formation de clusters - Coûteuse	
<b>Méthodes biologiques</b>	Bactéries	- Eco-friendly - Économique	- Processus très lent - Faibles quantités	[32][35]
	Champignons	- Stabilité		
	Plantes	- Eco-friendly - Économique - Stabilité - Non toxique - Plus rapide que par les bactéries	- Taille des AgNPs limitée à quelques nanomètres	

#### **I.6.4. Les applications des nanoparticules d'argent**

Les nanoparticules d'argent ont des applications potentielles dans divers domaines techniques tels que la photonique, la microélectronique [36], la photocatalyse, la lithographie [37], comme matériaux de biocapteurs [38].

En raison de leurs propriétés spécifiques, les AgNPs ont été largement utilisées dans les outils ménagers, les industries de la santé, le stockage et l'emballage des aliments, et elles ont également des applications biomédicales.

### **I.6.5. Effet toxique des nanoparticules d'argent**

L'argent sous forme de nanoparticules peut pénétrer dans le corps humain par différentes voies. Après ingestion ou par contact dermique en présence d'une lésion cutanée, les nanoparticules métalliques peuvent se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique et s'accumuler dans les organes, comme les ions  $Ag^+$  [39].

Il a été supposé que le complexe NP-corona serait responsable de cette toxicité puisque c'est lui qui dicte les mécanismes d'internalisation et qui guide la distribution. Ainsi, dans un système biologique complexe, les NPs seraient toxiques d'après leur composition et aussi d'après la nature de leur corona [38],[40]. Aussi, il a été publié que les NPs ont la capacité de passer à travers les différentes barrières dont la barrière hémato-encéphalique et le placenta [41].

Toutefois, l'absorption des NPs semble dépendre de l'exposition puisque certaines études indiquent que les NPs qui pénètrent par contact dermique sont sans danger et que leur internalisation par les cellules est négligeable [42]. La dernière étape est celle de l'excrétion, il s'agit de l'évacuation des NPs par l'organisme [43]. Ont présenté des résultats indiquant que des NPs Ag ingérées étaient retrouvées dans les excréments des rats. Il a aussi été observé que l'excrétion de l'argent aurait aussi lieu via le système biliaire et les urines [41]. Il n'est pas encore déterminé si après un certain temps, les NPs sont complètement évacuées ou si des résidus persistent [30].

En outre, les quantités de nanoparticules d'argent utilisées actuellement dans les différents domaines ne reflètent pas les niveaux auxquels les êtres humains sont pour le moment confrontés [44]. De plus, de nombreuses études montre que l'argent ionique n'induit pas des conséquences négatives pour l'être humain, aux concentrations requises pour obtenir une activité antimicrobienne [30].

# **Chapitre II :**

## **Chimie verte**

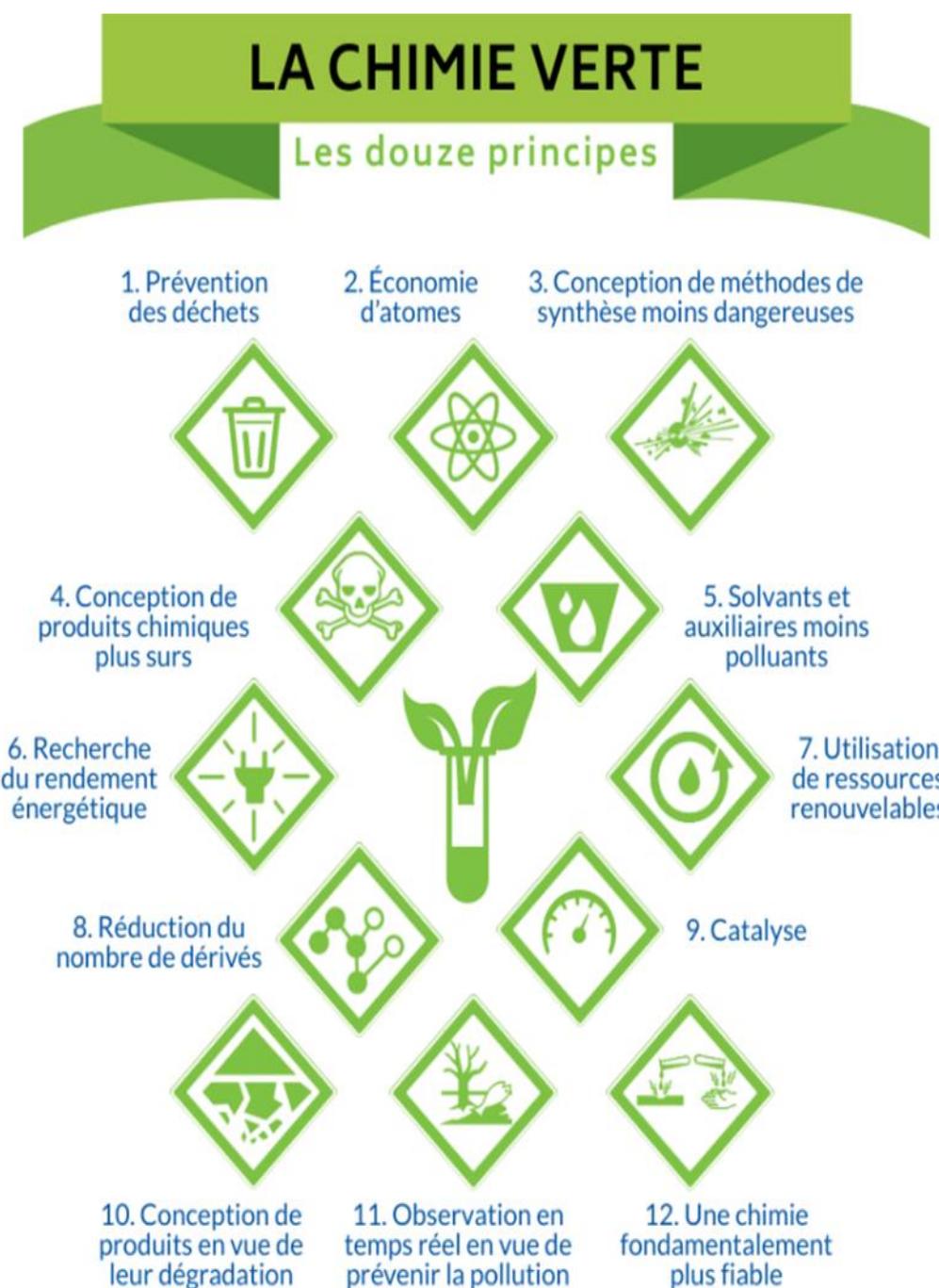
### Introduction

Le concept de chimie verte est apparu pour la première fois aux États-Unis dans les années 1990 [45], lorsque l'objectif était de concevoir des produits et des procédés chimiques susceptibles de réduire, voire d'éliminer, l'utilisation et la synthèse de substances nocives. Mais ce n'est qu'en 1998 que les chercheurs de l'Agence américaine pour l'environnement (EPA), ont jeté les bases théoriques de cette nouvelle discipline [46][47].

La chimie verte représente une véritable avancée dans la chimie entre les 20ème et 21ème siècles. Au 20ème siècle, la conception et le développement de procédés chimiques étaient essentiellement basés sur l'objectif d'optimisation des réactions. Aujourd'hui, le processus chimique est le résultat d'une conception globale qui prend en compte la nature et la quantité des matériaux impliqués (matières premières et solvants), la consommation d'énergie requise (concept de chimie douce) et la quantité de déchets générés par le recyclage. Et la possibilité d'analyser les matériaux utilisés à toutes les étapes tout en réduisant le nombre d'échantillons [48].

La synthèse de nanoparticules par des méthodes chimiques nécessite généralement l'utilisation de produits chimiques toxiques, tels que l'hydrazine et le borohydrure de sodium comme agents réducteurs, ou le toluène, le méthanol et le chloroforme comme solvants volatils [49]. L'utilisation de ces substances toxiques nous permet de produire des nanoparticules de haute pureté. Par conséquent, le développement et la recherche de nouvelles alternatives qui limitent l'utilisation de ces produits sont devenus essentiels. La technologie de synthèse verte des nanoparticules est en avance sur les autres méthodes car elle est simple, rentable et reproductible, et produit généralement des matériaux plus stables, en utilisant des réactifs tels que des micro-organismes et des plantes (feuilles, racines, latex, graines, tige, etc.) peuvent être envisagées pour la synthèse de nanoparticules métalliques [50].

Les matériaux d'origine végétale semblent être les meilleurs candidats, et ils sont adaptés à des applications à grande échelle. Certains des agents actifs clés dans la synthèse sont les polyphénols [51].



*Figure 4: Les 12 principes de la chimie verte [52].*

### II.1. Synthèse des nanoparticules d'argent par chimie verte

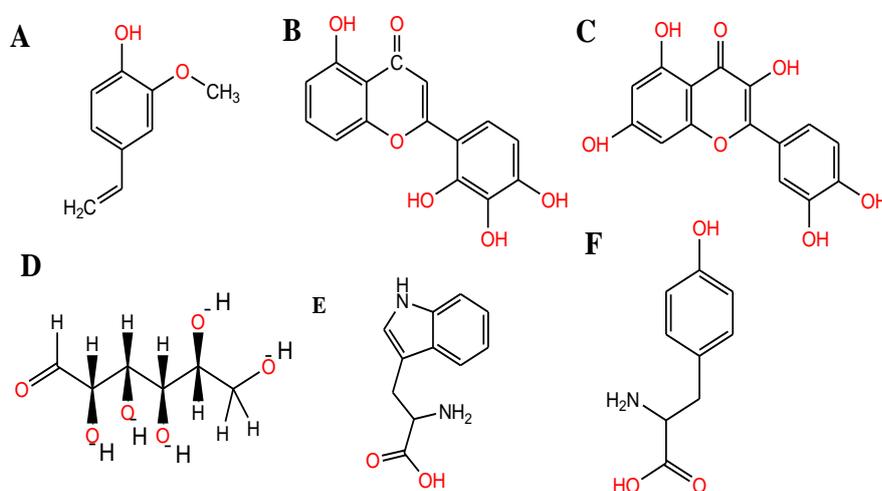
Les nanoparticules métalliques ont été synthétisées grâce à diverses techniques, principalement basées sur la réduction chimique des ions métalliques dans des solvants aqueux ou organiques. Afin de mieux développer l'environnement, les ressources naturelles doivent être utilisées pour produire des nanoparticules afin de minimiser l'utilisation de réactifs toxiques.

### II.1.1. Réductions biologiques

Les produits chimiques utilisés dans la synthèse chimique sont généralement toxiques, coûteux et ne respectent pas l'environnement. Depuis plusieurs années, la communauté scientifique étudie les organismes (bactéries, champignons, plantes, levures, etc.) en tant que doubles réacteurs pour fabriquer des nanoparticules. De plus, en raison des avantages particuliers de la bio réduction, tels que les sources biologiques abondantes, la bio réduction est en cours de développement comme une méthode prometteuse. Matériaux, conditions de réaction modérées, bonne dispersion des nanoparticules et absence d'additifs chimiques et de sous-produits chimiques [53].

### II.1.2. Le rôle des métabolites des plantes dans liaison et la bio réduction des ions métalliques

Les agents de réduction sont largement distribués dans les systèmes biologiques. Les nanoparticules d'argent peuvent être préparées par les bactéries, les champignons, les extraits de plantes et les biopolymères. L'eau est plus souvent le solvant de choix pour extraire les agents réducteurs [54-56].



**Figure 5: Les principaux types de bioréducteurs végétaux impliqués dans la synthèse des nanoparticules : A - Terpénolides (eugénol) ; B, C - Flavonoïdes (lutéoline, quercétine) ; D - Un hexose réducteur à chaîne ouverte ; E, F - Acides aminés (tryptophane (E) et tyrosine (F)).**

Il a été suggéré que le contrôle de la taille et la morphologie des nanostructures peut être connectée à l'interaction de ces biomolécules avec des ions métalliques [57].

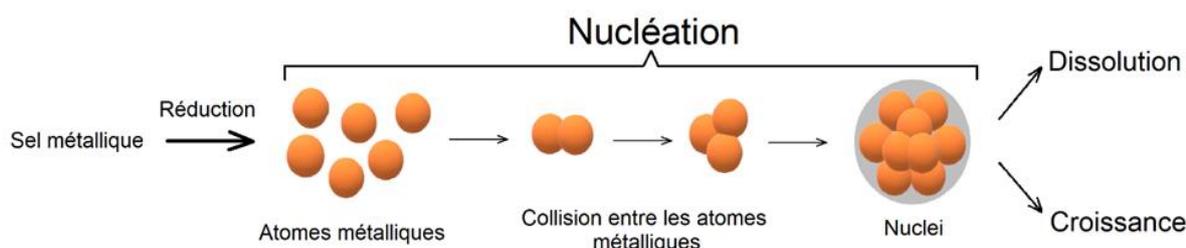
Diverses plantes diffèrent par leurs concentrations en composants biologiquement actifs, Cela peut expliquer en partie la diversité morphologique des nanoparticules décrites : triangles, hexagones, pentagones, cubes, sphères, ellipsoïdes, nano fils, et nano-ronds [58].

### II.1.3. Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent

Dans l'ensemble, le processus de formation des nanoparticules métalliques dans les plantes et les extraits de plantes comprend trois phases principales et de nombreux paramètres peuvent intervenir dans la formation des nanoparticules : température, concentration et nature des réactifs et du réducteur [59].

#### II.1.3.1. La nucléation :

Est une phase d'activation pendant laquelle se produisent la réduction des ions métalliques et la nucléation des atomes métalliques réduits ; Les précurseurs métalliques sont dissous puis réduits pour donner des atomes métalliques de valence zéro [60]. La sursaturation élevée en atomes insolubles conduit à la formation de petits agrégats par collision. Cette seconde étape est appelée 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, la formation de noyaux entraîne une diminution de la sursaturation. Par conséquent, la vitesse de nucléation diminue et le nombre de nucléation augmente. Le nombre de particules du système deviennent constant.



**Figure 6: Illustration de l'étape de nucléation**

#### II.1.3.2. La phase de croissance :

Durant laquelle les petites nanoparticules adjacentes se fusionnent spontanément en particules de plus grande taille (Les nuclei ayant atteint un rayon critique vont pouvoir croître par consommation des monomères se trouvant en solution.), qui s'accompagne d'une augmentation de la stabilité thermodynamique des nanoparticules. Plus la concentration en atomes est importante plus les particules vont croître rapidement [61].

### *II.1.3.3. Le murissement :*

Ou bien la phase de terminaison du processus pour obtenir la forme finale des nanoparticules.

Au fur et à mesure que la réaction se poursuit, le taux de sursaturation continu à diminuer. La croissance ne peut plus se poursuivre, et une dernière étape peut intervenir c'est le phénomène de murissement d'Oswald. Il s'agit de l'inter diffusion des atomes des plus petites particules vers les plus grosses [59].

## II.2. Description de la plante (*Lotus corniculatus L.*)

### II.2.1. La famille des *Fabaceae*

#### II.2.1.1. Aspect générale et distribution

Appelées également légumineuses, les *fabaceae* sont une très vaste famille de plantes herbacées [62]. Originaires d’Afrique, de Chine, d’Indonésie, d’Europe, d’Amérique du Sud et cultivées depuis plus de 6000 an, les *fabaceae* représentent une part importante de l’alimentation de l’humanité. Gaston Bonnier écrivait en 1905 dans son cours de botanique : « La famille des *légumineuses* est une des plus importantes parmi les dicotylédones c’est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d’espèces utiles à l’homme, qu’elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales. » [63]. Cette famille inclut plus de 730 genres et 19400 espèces, Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées [64].



**Figure 7: Répartition géographique mondiale des *Fabaceae***

#### II.2.1.2. Classification systématique de la famille

Le monophylétisme des *fabaceae* est attesté par de nombreux caractères morphologiques. Quatre sous-groupes sont généralement reconnus à l’intérieur des *fabaceae* : les *Caesalpinioideae*, les *Mimosoideae*, les *Bauhinioïdes*, et les *Faboideae* (= *Papilionoideae*). Les *Faboideae* sont cosmopolites, alors que les *Mimosoideae* et les *Caesalpinioideae* sont plutôt tropicales. Dans la plupart des classifications, ces groupes sont considérés comme des sous familles, mais ils sont parfois traités en familles indépendantes [65][66]. La position systématique des *Fabaceae* est présentée dans le tableau 2.

**Tableau 2: Position systématique des Fabaceae selon différentes approches phylogénétique ou morphologique [67,68,69,70].**

	Engler (1887-1915)	Cronquist (1988)	Thorne (1992)	APGIII (2009)
<b>Règne</b>	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
<b>Embranchement</b>	<i>Embryophyta</i>	<i>Magnoliophyta</i>	<i>Spermatophytae</i>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Sous- embranchement</b>	<i>Angiospermae</i>	-	<i>Angiospermae</i>	<i>Angiospermae</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotyledonae</i>	<i>Magnoliopsida</i>	<i>Magnoliidae</i>	<i>Eudicotyledonae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Archichlamydeae</i>	<i>Rosidae</i>	<i>Rutanae</i>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Rosales</i>	<i>Fabales</i>	<i>Rutales</i>	<i>Eurosidiae I</i> (= <i>Fabidées</i> )
<b>Sous-Ordre</b>	<i>Leguminosineae</i>	-	<i>Fabineae</i>	<i>Fabales</i>
<b>Famille</b>	<i>Leguminosae</i>	<i>Fabaceae</i> = <i>Papilionaceae</i> <i>Mimosaceae</i> <i>Caesalpinaceae</i>	<i>Fabaceae</i>	<i>Fabaceae</i> (= <i>Leguminosae</i> )
<b>Sous- Famille</b>	<i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i>		<i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i> <i>Swartzioideae</i>	<i>Faboideae</i> <i>Mimosoideae</i> <i>Caesalpinioideae</i> <i>Bauhinioïdes</i>

### II.2.1.3. Importance économique

Les *Fabacées*, et plus particulièrement la sous-famille des *Faboideae*, ne seraient dépassées que par les *Poaceae* dans un classement des familles par importance économique. De nombreuses plantes alimentaires, mais aussi des plantes fourragères, ornementales ou encore médicinales de premier ordre appartiennent à cette sous-famille. Il est néanmoins important de noter que de nombreux genres sont hautement toxiques [71,72], [65,66].

Une grande quantité de graines et de cosses de diverses espèces herbacées de *Faboideae*, communément appelées *légumineuses* ou légumes secs, sont une source alimentaire universelle autant humaine qu'animale. Ces plantes alimentaires de grande consommation comprennent entre autres *Arachishypogaea L.* (l'arachide ou cacahuète), *Cajanuscajan (L.) Millsp.* (le pois d'Angole), *Cicer arietinum L.* (le pois chiche), *Dolichoslablab L.* (le pois indien), *Glycine max Merr.* (le soja), *Glycyrrhizaglabra L.* (la réglisse), *Lens* (les lentilles), *Phaseolus* (les haricots),

*Pisum* (les pois) et *Vicia* (les fèves). Ces espèces sont cultivées dans le monde entier. Elles sont recherchées pour leur haute teneur en protéines et en minéraux.

Certains genres font l'objet d'un usage ornemental. Les plus connus étant *Cytisus* (les gânets), *Laburnum anagyroides Medik.* (La pluie d'or ou Cytise à grappes), *Lathyrus* (les gesses), *Lupinus* (les lupins), *Wisteria* (les glycines) et *Genista*. Ce dernier possède une espèce très utilisée en industrie pour ses propriétés colorantes, *Genistatinctoria L.* ou genêt des teinturiers, de même que certaines espèces d'*Indigofera* dont est tirée la teinture d'indigo [71],[66].

De nombreuses plantes *Faboideae* ont joué un rôle important dans l'histoire de l'industrie pharmaceutique, notamment comme source de matière première à l'image de la lécithine de *Glycine max Merr.*, présente dans toutes les cellules vivantes et qui est un constituant important des cellules nerveuses et cérébrales. Plusieurs molécules très utilisées en thérapeutique sont extraites de diverses plantes *Faboideae*. On citera la spartéine, cet alcaloïde ganglioplégique utilisé en cardiologie et en obstétrique, isolé de *Cytisus scoparius (L.) Linkou* la rutine, un flavonoïde utilisé en phlébologie, isolé de *Sophora japonica L.* ou encore *laphysos tigmine* issue de *Physostigma venenosum Balf.* Cette dernière qui est un inhibiteur réversible des cholinestérases, est utilisée comme antidote lors de l'intoxication par les parasympholytiques. Elle est aussi testée dans le traitement de la maladie d'Alzheimer [72-74].

#### **II.2.1.4. Toxicité**

Les espèces *Lotus jolyi Batt* et *L. arabicus L.* (vesce d'égypte) sont toxiques pour les animaux (chevaux, moutons, chèvres, dromadaires). Plusieurs cas d'intoxication de bétail par *Lotus jolyi* ont été observés au Maroc. Les symptômes de l'intoxication sont les suivants : météorismes, inappétence, immobilité de l'animal [75].

#### **II.2.1.5. Usage traditionnel**

Les espèces appartenant au genre *Lotus* ne sont pas très utilisées en médecine Traditionnelle si l'on se réfère à la littérature.

L'espèce *Lotus jolyi Batt* est utilisée, en cataplasmes, avec de l'ail haché et de l'huile d'olive, pour faire pousser les cheveux. Cependant, en phytothérapie, il est connu que *Lotus corniculatus* est un antidépresseur naturel qui agit également sur l'hypertension artérielle et

certaines de ses conséquences. Il agit aussi sur la production par le cœur d'une hormone qui augmente la pression artérielle [76].

### II.2.1.6. Caractère chimique du genre *Lotus*

#### a) Les flavonoïdes

Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *lotus*, montre qu'elles sont faites l'objet de nombreuses investigations phytochimiques. Celles-ci ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires, Les flavonoïdes sont des composés largement répandus dans le genre *lotus*.

L'ensemble des flavonoïdes isolés du genre *lotus* est rassemblé dans le tableau 3 ci-dessous.

**Tableau 3: Quelques flavonoïdes isolés du genre *lotus***

Espèces	Structure	Réf
<i>L. tenuis</i>	<u>1</u> Flavone	[76]
	<u>2</u> Flavonole	
	<u>3</u> Kæmpférol-7-O-β- glucoside	
	<u>4</u> Kæmpférol-3-O- β -glucoside	
	<u>5</u> Kæmpférol -3,7-di-O-α- rhamnoside	
	<u>6</u> Kæmpférol -3,7-di-O-α- rhamnoglucoside	
	<u>7</u> Kæmpférol -7-O-α-rhamnoside	
<i>L. corniculatus</i>	<u>8</u> Quercétin-7-O-α-rhamnoside	[77, 78]
	<u>9</u> Quercétin-3-O-α-rhamnoside	
	<u>10</u> Quercétin-3-O-β-galactoside	
	<u>11</u> Quercétin-3,7-di-O-α- rhamnoglucoside	
	<u>12</u> Quercétin-3,7-di-O-α- rhamnoside	
	<u>13</u> Kæmpférol-3-O-β-(6''-O-E-p-coumarylglucoside) -7-O-β-glucoside	
	<u>14</u> Quercétin -3-O-β-(6''-O-E-p-coumarylglucoside) -7-O-β-glucoside	
<u>15</u> Isorhamnétine -3-O-β-(6''-O-E-p-coumarylglucoside) -7-O-β-glucoside		

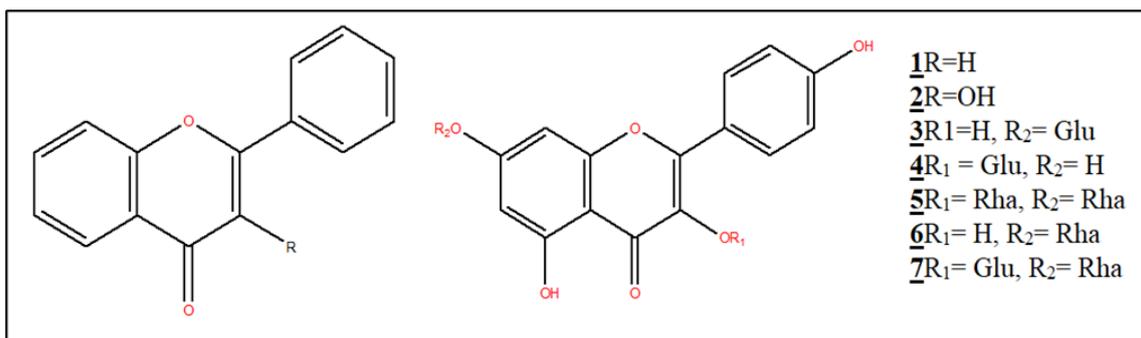


Figure 8: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *L.tenuis*

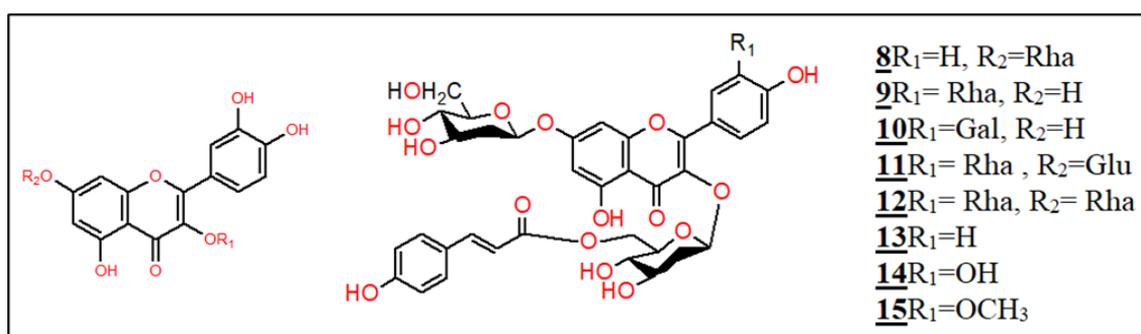


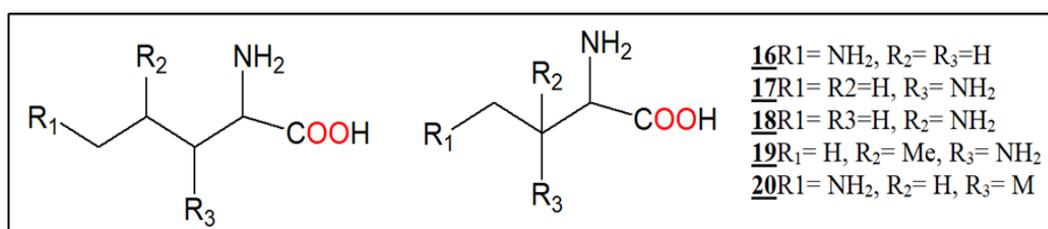
Figure 9: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *L.corniculatus*

b) Autres composés

D'autres types de composés ont été isolés et identifiés dans le genre lotus. Un certain nombre est cité dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4: Divers composés isolés du genre lotus

Espèces	Structure	Référence
<i>L. tenuis</i>	$\underline{16}$ L'acide 2,5-diaminopentanoïque	[79]
	$\underline{17}$ L'acide 2,3-diaminopentanoïque	
	$\underline{18}$ L'acide 2,4-diaminopentanoïque	
	$\underline{19}$ L'acide 2,3-diamino-3-methylbutanoïque	
	$\underline{20}$ L'acide 2,4-diamino-3-methylbutanoïque	



*Figure 10: Divers composés isolés du genre lotus*

### II.3. Etude phytochimique de l'espèce *Lotus corniculatus*

#### II.3.1.1. Description et caractéristiques botanique de l'espèce *L. corniculatus*

Le Lotier corniculé (*Lotus corniculatus* L.) est une plante herbacée vivace de la famille des *Fabaceae* couramment cultivée comme plante fourragère qui entre dans la composition des mélanges de semences pour prairies mixtes graminées-légumineuses.

Lotier vient de *lotos*, un mot qui désignait plusieurs plantes chez les Anciens Grecs, dont le lotier corniculé. Corniculé vient de *cornu* qui signifiait corne, une allusion aux gousses de la plante qui ressemblent à de petites cornes. Le lotier est communément connu sous le nom de pied de poule, pois joli, sabot de la mariée, sabot du petit Jésus, trèfle cornu, cornette, fourcette, pantoufle, pantoufle du petit Jésus, petit sabot...

C'est une plante basse, plutôt couchée, aux feuilles à trois folioles, ovales, les stipules situées à la base y étant semblables.

La tige est pleine, ce qui permet de le distinguer d'un autre Lotier très commun, le Lotier des marais (*Lotus pedunculatus* Cav.).

Les fleurs jaunes ou jaune-orangé sont en petites têtes [80],[81].



*Figure 11: Lotus corniculatus L.*

**II.3.1.2. Place dans la systématique botanique [80]**

**Tableau 5: Classification de *Lotus corniculatus***

<b>Règne</b>	<b>Végétal</b>
<b>Sous-Règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Taxonomie</b>	<i>Lotus corniculatus</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous Classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Rasales (fabales)</i>
<b>Famille</b>	<i>Légumineoseae (fabaceae)</i>
<b>Genre</b>	<i>Lotus</i>
<b>Espèce</b>	<i>corniculatus</i>

# **Chapitre III :**

## **Techniques d'analyses**

### III.1. La spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est l'une des techniques simple, facile, rapide, sensible et la plus couramment utilisée pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées. En effet, les nanoparticules métalliques (argent, or, cuivre) présentent des propriétés optiques particulières liées à un effet classique d'exaltation du champ électrique, souvent appelé confinement diélectrique [82].

- **Le principe**

Il s'agit de quantifier la quantité de rayonnement ultraviolet ou visible absorbée par un constituant en solution. Et mesure le rapport, de l'intensité de deux faisceaux de lumière dans la région UV Visible [83].

La loi d'absorption est valable pour les spectres d'absorption dans les domaines ultraviolet et visible et même dans l'infrarouge. cette loi est donnée par la relation suivante :

$$A = \log I / I_0 = \varepsilon . L . C$$

**A** : L'absorbance

**I** : Faisceau de lumière entrant

**I<sub>0</sub>** : Faisceau de lumière sortant

**L** : Epaisseur de la cuve d'analyse

**ε** : Constante de proportionnalité

**C** : Concentration de la substance absorbante.



*Figure 12 : Spectrophotomètre SHIMADZU UV-1201 (le spectrophotomètre utilisé).*

### III.2. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est une méthode de base pour la caractérisation structurale dans le domaine des matériaux. Cette méthode de caractérisation n'est pas applicable que sur des matériaux cristallins (monocristallins ou polycristallins). En particulier, il peut déterminer la structure du matériau étudié, distinguer les phases, et également déterminer la contrainte résiduelle, la forme et la taille des grains cristallins [24].

- **Le principe**

Le faisceau de rayons X produit par le tube est envoyé à l'échantillon, où il est dévié par des atomes dans le rayon X. Ces faisceaux diffractés interfèrent les uns avec les autres, entraînant un signal fort dans une zone spatiale spécifique [84]. Ce signal est collecté par le détecteur et tracé sous la forme d'une courbe (diagramme de diffraction) qui montre des pics à des angles de diffraction très spécifiques. Les positions de ces pics sont les vraies caractéristiques de la disposition des atomes dans le cristal (la distance entre les atomes et les plans dans le cristal) [85].

La relation empirique reliant l'angle du pic d'observation ( $\theta_{hkl}$ ) et la distance entre le plan atomique ( $d_{hkl}$ ) est la loi de Bragg [86].

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta_{hkl}$$

Où :

$n$  = ordre de diffraction ;

$\lambda(\text{\AA})$  = longueur d'onde des rayons X ;

$d$  = distance inter réticulaire ;

$\theta$  ( $^\circ$ ) = angle de Bragg.

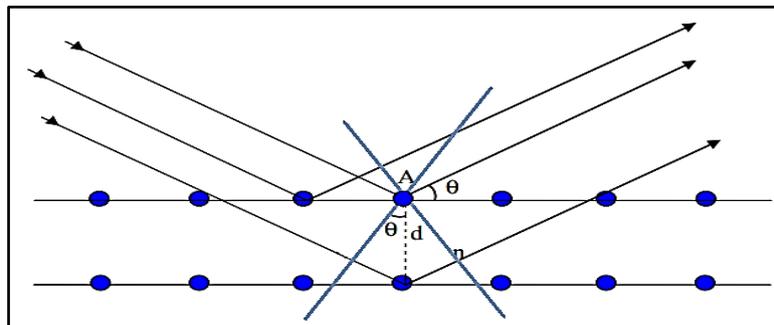


Figure 13 : Illustration de la loi de Bragg [87].

La diffraction des rayons X permet de distinguer des produits ayant la même composition chimique mais dont les arrangements atomiques diffèrent. Par exemple, les carbonates de calcium comme la calcite et l'aragonite, de même formule chimique ( $\text{CaCO}_3$ ), ont des diagrammes de diffraction différents. En revanche, les phases de nature chimique différente mais dont les atomes sont organisés selon le même arrangement présentent de grandes similitudes, à savoir des pics de diffraction localisés aux mêmes positions angulaires [88].

- **Détermination de la taille des grains**

La largeur à mi-hauteur des pics dans un spectre permet de calculer la taille des grains  $\Phi$  en utilisant la formule de Scherrer :

$$\Phi(nm) = \frac{k\lambda(nm)}{\delta(rad) \cos \theta}$$

Où

- $\Phi$  : la taille des grains (nm)
- $\lambda$  : la longueur d'onde des rayons X utilisés ( $\lambda=0.154178$  nm)
- $k$  : constante sans dimension, voisine de l'unité, qui dépend de la forme des cristallites et porte le nom de constante Scherrer.
- $\delta$  : la largeur à mi-hauteur mesurée pour chaque pic de diffraction (rad)
- $\theta$  : l'angle de diffraction de Bragg de chaque pic de diffraction (rad) [89].



*Figure 14 : DRX BRUKER D2 PHASER (le DRX utilisé).*

### III.3. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

Les spectres les plus couramment utilisés en analyse fonctionnelle sont les spectres Infrarouge qui correspondent à la variation simultanée des énergies de vibration et de rotation. Cette technique consiste à irradier un échantillon par une énergie proche de celle de la vibration entraînant une transition directe entre deux niveaux de vibration par absorption de l'énergie du rayonnement incident [90].

Les groupements fonctionnels sont généralement détectés par l'absence ou la présence des bandes d'absorption enregistrées sur un spectre infrarouge. L'absorption de ce rayonnement infrarouge par cette substance, dépend de ses constituants et du type de liaisons qui les relie.

Cette spectroscopie, très sélective, est couramment utilisée pour l'identification de composés mais elle permet également d'obtenir des informations très importantes sur les interactions inter- et/ou intramoléculaires, sur la conformation des molécules et l'organisation de la matière [91].

Dans cette étude, la FTIR est utilisée pour confirmer l'interaction entre l'argent et les bio-réducteurs. La réaction entre les nanoparticules d'argent et les biomolécules peut être identifiée par le déplacement des bandes caractéristiques attribuées aux différents groupes fonctionnels présents dans les biomolécules, comme, les groupements carbonyles, hydroxyles et amines [92].



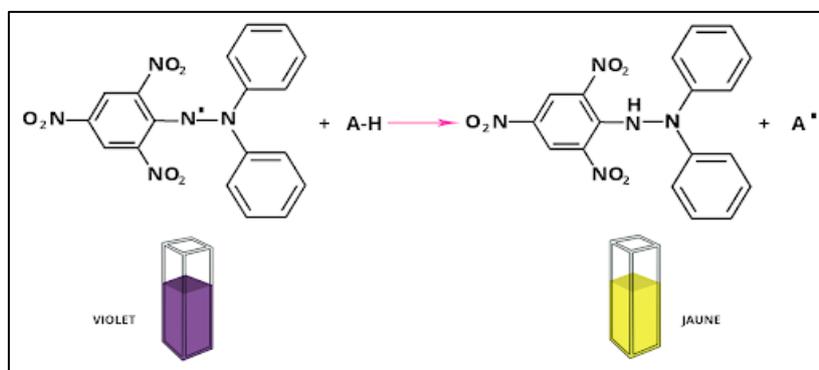
*Figure 15 : Spectromètre infrarouge SHIMADZU FTIR-8900 (le spectromètre utilisé).*

### III.4. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des nanomatériaux est devenue l'une des recherches fondamentales importantes en science pharmaceutique et en nanotechnologie. Les antioxydants jouent un rôle important dans la fonction de chacun Système biologique. Dans les systèmes biologiques, les radicaux libres sont générés en raison de l'interaction des biomolécules avec l'oxygène moléculaire [93],[94], qui sont responsables de la dégradation des biomolécules. L'oxydation est également à l'origine de la dégradation de la qualité nutritionnelle (décoloration des aliments) [95],[96]. La consommation d'aliments oxydés peut produire des peroxydes lipidiques et des composés de faible poids moléculaire, entraînant des maladies graves telles que l'hépatomégalie ou la nécrose des tissus épithéliaux. Dans les systèmes biologiques, les antioxydants jouent un rôle important dans le piégeage de ces radicaux libres toxiques [97],[98].

Le test de piégeage DPPH est considéré comme une des techniques les plus répandues pour étudier la propriété antioxydante des matériaux. Dans cette méthode, l'efficacité antioxydante est mesurée à une température ambiante pour éliminer le risque de la dégradation thermique des molécules testées [99].

Le radical DPPH a une couleur violet foncé en solution avec un pic d'absorption entre 515 et 518 nm et devient progressivement incolore ou jaune pâle en présence du piègeur de radicaux dans le système réactif et lorsque les électrons impairs de l'azote dans le DPPH sont appariés [100],[101]. Cette propriété permet un suivi visuel de la réaction et la concentration des radicaux est contrôlée à partir de la variation du pourcentage d'absorption à 517 nm [102].



*Figure 16 : la couleur de la solution de DPPH avant et après l'ajout d'un antioxydant [103].*

### III.5. Activité antibactérienne

Les nanoparticules de métaux nobles, en particulier celles de l'argent sont largement utilisées en tant qu'agents antibactériens [104], voici quelques exemples de l'utilisation des AgNPs comme agent antibactérien :

- Des chercheurs ont essayé d'incorporer des nanoparticules d'argent dans les matériaux d'emballage tels que du papier filtre, du polyéthylène basse densité (LDPE), et le poly méthacrylate de méthyle (PMMA) [105], est employé dans l'industrie alimentaire pour éviter les contaminations microbiennes et prévenir l'apparition d'un gout métallique [106].
- Les nanoparticules d'argent ont été utilisées dans les stations d'épuration pour le traitement des eaux usées et ont montré une activité antibactérienne intéressante. La dispersion d'argent sur les surfaces de la membrane a amélioré l'activité antimicrobienne contre E. coli, ses résultats ont confirmé que l'argent peut inhiber presque la croissance bactérienne à 100% [107].
- Elles sont utilisées en tant qu'agents antimicrobiens dans les pansements pour empêcher les infections de blessure, et en tant qu'agents anticancéreux [108].
- Les nanoparticules d'argent sont aussi utilisées comme additif antimicrobien dans les ciments osseux poly (méthacrylate diméthyle) (PMMA) [109].
- L'argent imprégnés dans Les dispositifs implantables, et les masques chirurgicaux indiquent une efficacité antimicrobienne importante [110].

**Chapitre IV :**  
**Matériels et**  
**méthodes**

## **IV.1. Matériels utilisés**

### **IV.1.1. Matériel végétal**

La matière première est la plante de lotier corniculé (*Lotus corniculatus L.*) est une plante herbacée vivace de la famille des *Fabacées* couramment cultivée comme plante fourragère.

### **IV.1.2. La Récolte du matériel végétal**

Les parties aériennes de *Lotus corniculatus L.* ont été récoltées durant le mois de Mars 2020 à Constantine (Algérie). La détermination botanique de cette espèce a été réalisée par M. Mohamed Bouheroum. Elles ont été séchées dans un endroit aéré à l'abri des rayons solaires.

### **IV.1.3. Les Produits chimiques**

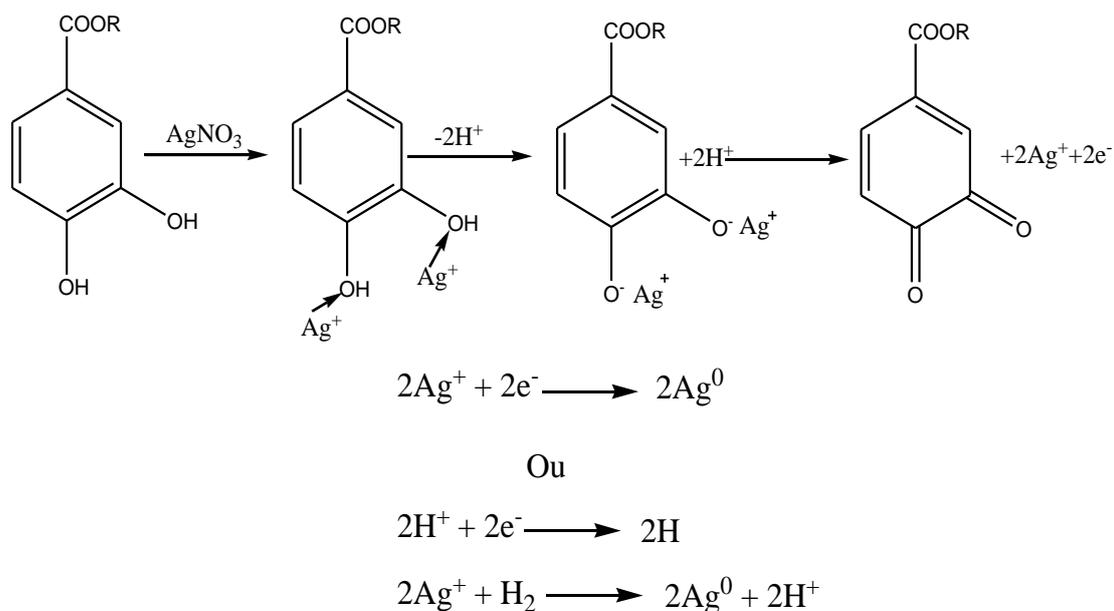
- L'hexane
- Le chloroforme
- L'acétate d'éthyle
- Le 1-butanol
- L'éthanol
- Le nitrate d'argent

## **IV.2. Synthèse des nanoparticules d'argent**

### **IV.2.1. Mécanisme de formation et la stabilisation des AgNPs**

#### ***IV.2.1.1. Mécanisme de formation des AgNPs***

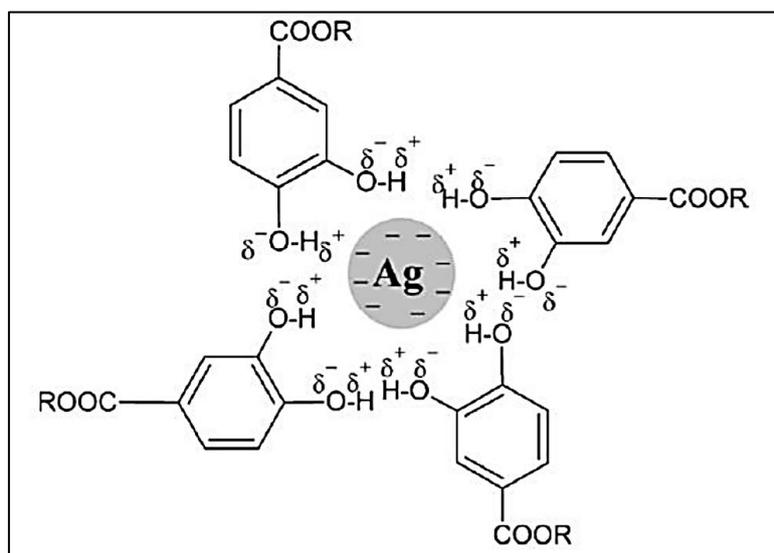
Le mécanisme de formation des nanoparticules est tiré de la littérature [111], la présence de  $Ag^+$  provoque l'oxydation des groupement hydroxyles pour former un complexe d'argent intermédiaire puis une quinone et des ions  $Ag^+$ , ces dernier sont réduit en Ag métallique en présence d'électrons libres.



*Figure 17 : Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent*

#### IV.2.1.2. Mécanisme de stabilisation des AgNPs

La stabilité colloïdale des nanoparticules est assurée par l'interaction entre les hydrogènes des groupement phénoliques de l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent chargées négativement (figure 18).



*Figure 18 : Mécanisme de stabilisation de Ag*

### IV.3. Synthèse des nanoparticules d'argent par les extraits des substances bioactives

#### IV.3.1. Préparation des extraits

Après broyage, toutes les parties aériennes (100 g) ont été extraites dans de l'hexane pendant quatre jours (96 h).

Après filtration, cette opération est renouvelée 3 fois avec 3 solvants différents (d'abord avec le chloroforme puis avec l'acétate d'éthyle et en fin avec le 1-butanol ).

Les filtrats obtenus par les quatre extraction ont été ensuite évaporés à sec sous vide à une température inférieure à 35 °C ( sauf l'extrait du n-butanol qu'il a été évaporé sous vide à 70 °C et avec l'ajout de 40% d'eau pour booster l'évaporation ) , pour conduire aux extraits sec suivants : hexane (0.26 g) , chloroforme (0.41 g) , acétate d'éthyle (1.1 g) et 1-butanol (3.72 g).



**Figure 19** : *Protocol de l'extraction : (a)- Macération ; (b)- Filtration ; (c)- Distillation sous-vide ; (d)- L'extrait sec.*

Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau 6 :

**Tableau 6: Rendement des extraits**

Matière végétale	Phase	Masse (g)	Rendement (%)
100 g	E. Hexane	0,26	0,26
	E. Chloroforme	0,41	0,41
	E. Acétate d'éthyle	1,1	1,1
	E. 1-butanol	3,73	3,73

L'extrait sec est ensuite dissout dans de l'éthanol (environ 10 ml) , pour obtenir à la fin 4 extraits de plante de différents polarité (l'extrait de 1-butanol est le plus polaire).

### IV.3.2. La synthèse des AgNPs

- Un volume de l'extrait 1 (10 ml) est mis dans un bécher, sous agitation une solution de nitrate d'argent (5mM) a été ajouter goutte à goutte (40 ml), jusqu'au changement de couleur .
- Le mélange été mis sous agitation pendant 24 h.
- Après 24 h la couleur du mélange devienne marronne.
- Le mélange a été laisser jusqu'à l'apparitions d'un précipité.
- Cette opération est renouvelée 3 fois avec les 3 extraits restants .
- **Filtration :**
  - Après précipitation de la phase solide ,cette dernière est séché dans l'étuve à une température de 70°C, afin d'obtenir un produit sec.
  - Ce produit est calcinée pendant 3 heures à une température de 400 ° C avec une montée de 2 °C par minute.

*Tableau 7 : Rendement de la synthèse par les différents extraits*

	Masse avant calcination (g)	Masse après calcination (g)	Rendement ( % )
<b>E. Hexane</b>	<b>0.1934</b>	<b>0.0034</b>	<b>1.76</b>
<b>E. Chloroforme</b>	<b>0.8224</b>	<b>0.0624</b>	<b>7.59</b>
<b>E. Acétate d'éthyle</b>	<b>0.4212</b>	<b>0.0312</b>	<b>7.41</b>
<b>E. 1-butanol</b>	<b>0.2176</b>	<b>0.0276</b>	<b>12.7</b>

## IV.4. Synthèse des nanoparticules d'argent par l'extraits aqueux

### IV.4.1. Préparation de l'extrait aqueux

30 g de la plante a été pesé et mise dans un bécher avec 200 ml d'eau, le tous été mis sur une plaque chauffante, en surveillant la température du mélange qui ne doit pas dépasser 60 C° .

Après refroidissement du mélange a l'aire libre , l'extrait résultant a été filtré à travers du papier filtre.

#### IV.4.2. La synthèse des AgNPs

- Un volume de l'extrait (96 ml) est mis dans un bécher, sous agitation une solution de nitrate d'argent (1mM) a été ajouter goutte à goutte, le mélange obtenu a une couleur jaune orangé.
  - Le mélange été mis sous agitation pendant une nuit
  - Après une nuit la couleur du mélange devienne marronne.
  - Le mélange a été laisser jusqu'à l'apparitions d'un précipité.
- **Filtration :**
    - Après précipitation de la phase solide ,cette dernière est séché dans l'étuve à une température de 80 °C, afin d'obtenir une poudre .
    - Cette poudre est calcinée pendant 3 heures à une température de 400 ° C avec une montée de 2 °C par minute.



*Figure 20: L'échantillon après calcination*

Le rendement de cette synthèse est dans le tableau 8.

*Tableau 8: Rendement de la synthèse*

Masse avant calcination (g)	Masse après calcination (g)	Rendement ( % )
1,12	0,96	85,71

## **IV.5. Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent :**

### **IV.5.1. La spectroscopie UV-Visible**

La bio-réduction des ions  $Ag^+$  purs a été suivie par absorption à UV-visible, en scannant les extraits après l'addition de nitrate d'argent, à  $T_0$  et à des temps différents du mélange réactionnel (après 1h puis 24h d'agitation) dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 800 nm.

Un spectromètre SHIMADZU (UV-1201) a été utilisé pour les mesures.

### **IV.5.2. Diffraction des rayons X (DRX)**

Les analyses ont été effectuées par la technique de diffraction sur poudre, à l'aide d'un diffractomètre de marque (BUKER D2 PHASER) lié à un microordinateur. Les mesures ont été réalisées à l'Université Blida 1 par le service d'analyse de laboratoire de recherche Chimie Physique Moléculaire et Macromoléculaire (LCPMM). Le faisceau des rayons X est généré par une anticathode de cuivre de longueur d'onde  $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ , en utilisant la radiation  $K\alpha$  dans l'intervalle d'angle  $2\theta$  situé entre  $5^\circ$  à  $120^\circ$ .

### **IV.5.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)**

La technique d'échantillonnage utilisée est la technique de pastillage, elle consiste à former des pastilles des poudres à analyser. Les pastilles sont constituées de 10 % en masse des échantillons produits préalablement broyés et dispersés dans du bromure de potassium (KBr), ensuite elles ont été compactées sous une très forte pression de façon à obtenir des pastilles translucides de 13 mm de diamètre.

Les analyses FTIR ont été réalisées à l'Université Blida 1 par le service d'analyse de département de génie des procédés à l'aide d'un spectromètre SHIMADZU (FTIR-8900).

### **IV.5.4. L'activité antioxydante**

L'activité antiradicalaire de DPPH a été déterminée en se basant sur les essais décrits par Brand-Williams [112], avec quelques modifications. Ainsi, dans un volume de 1 ml, on prépare différentes concentrations des extraits à tester dans l'éthanol (100  $\mu\text{l}$  ; 200 $\mu\text{l}$  ; 300  $\mu\text{l}$  ; 400  $\mu\text{l}$  ; 500  $\mu\text{l}$  ; 600  $\mu\text{l}$  ; 700  $\mu\text{l}$  ; 800  $\mu\text{l}$ ), on ajoute ensuite 1 ml de la solution de DPPH de concentration 1mg/10ml. Après agitation, le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre

UV-vis. Une solution contenant 1 ml d'éthanol et 1 ml de DPPH considérée comme blanc analytique est préparée en parallèle.

L'estimation de l'activité antiradicalaire est donnée par la valeur du pourcentage d'inhibition (%I) calculé à l'aide de la formule suivante :

$$I(\%) = (A_0 - A_1)/A_0 \times 100$$

Avec :  $A_0$  : Absorbance du blanc et  $A_1$  : Absorbance de l'échantillon.

La courbe donnant la variation du (%I) en fonction des différentes concentrations des extraits, permet de déterminer l'activité antiradicalaire ou EC50 (Efficient Concentration 50%), définie comme étant la quantité d'extrait nécessaire pour diminuer de moitié la concentration initiale de DPPH.

### **IV.5.5. L'activité antimicrobienne**

Les activités antimicrobiennes des nanoparticules d'argent ont été testées par la méthode de diffusion discale, la culture des plaques ont été préparées en versant 20 ml de gélose Muller-Hinton, les surfaces d'agar des plaques ont été tamponnées avec *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *pseudomonas aeruginosa* isolats, et la croissance confluite était souhaitable pour des résultats précis.

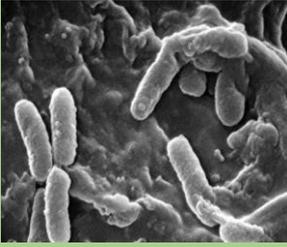
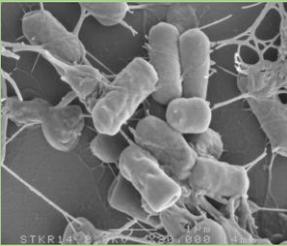
Des disques stériles (6 mm) ont été utilisés pour charger les suspensions AgNPs, cinq différentes concentrations ont été préparées (200, 400, 600, 800, 1000) µg/ml en dissolvant dans du diméthyle sulfoxyde (DMSO), et ont été chargés dans des disques appropriés pour déterminer le minimum concentration inhibitrice (CMI), définie comme étant la plus petite concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu.

Les disques séchés ont été placés sur la surface du milieu échancre, à égale distance, pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Les disques ont été pressés doucement sur la surface du milieu et ont été placés à au moins 25 mm du bord. Ils étaient alors incubés à 37°C pendant 24 h dans un incubateur, au cours de laquelle l'activité a été mise en évidence par la présence de zones d'inhibition entourant les disques. Les diamètres des zones de l'inhibition ont été mesurées en mm à la fin de la période d'incubation, et ont été enregistrées.

• **Préparation des suspensions bactériennes**

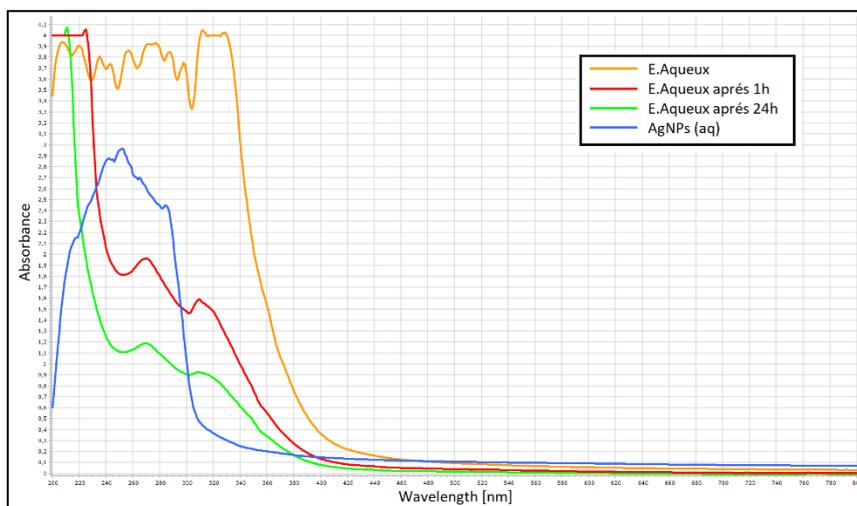
Une anse de colonies bien isolées (deux à trois colonies) est mise dans un tube stérile à vis contenant 10 ml de Bouillon Muller-Hinton puis laissé incubé à 37 °C pendant 30 min au minimum, pour favoriser leur croissance bactérienne.

**Tableau 9 : Les souches bactériennes utilisées**

Les Souches testées	Caractères bactériologiques	Habitats	Pouvoir pathogène	Réf
<p>Escherichia coli</p> 	Gram –	Le tube digestif	-Septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastroentérites. -Douleurs abdominales et des diarrhées sanglantes.	[113], [114]
<p>Pseudomonas aeruginosa</p> 	Gram –	-Eau et sols humides -Surface des végétaux	-Infections nosocomiales (personnes fragilisées ou immunodéprimées) -Infections urinaires, oculaires et pulmonaires	[115]
<p>Bacillus subtilis</p> 	Gram +	Eau et sols humides	Elle n'est pas pathogène pour l'homme, mais elle peut contaminer des aliments et provoquer des intoxications alimentaires.	[116], [117]

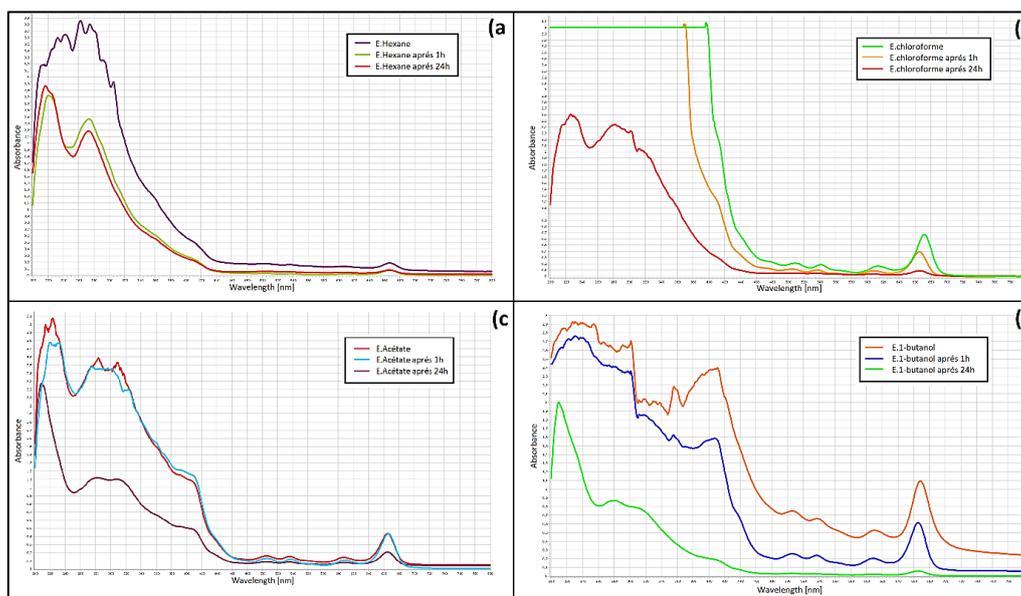
**Chapitre V :**  
**Résultats et**  
**discussions**

## V.1. Caractérisation par UV-Vis



**Figure 21: Spectre UV-Vis des AgNPs synthétisées par l'extrait aqueux**

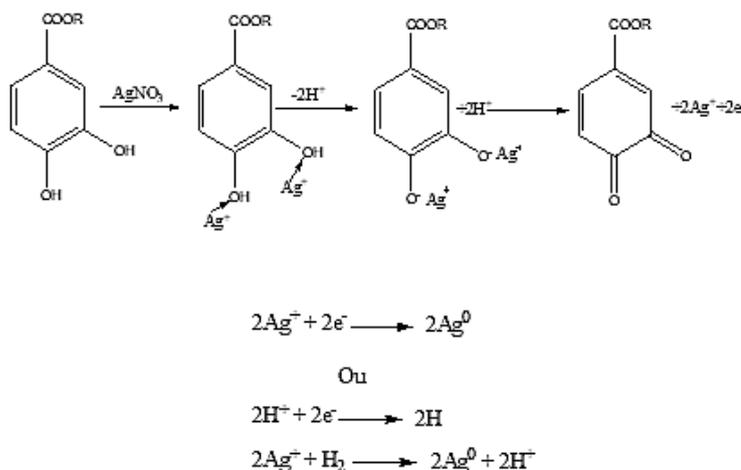
Comme illustré sur la figure 21, un changement sur les bandes d'absorption caractéristiques de l'extrait aqueux après l'addition du précurseur  $\text{AgNO}_3$ . Ce dernier est le réactifs responsable de la formation des Ag NPs. Le spectre des Ag NPs synthétisé présente un pont d'absorption à partir de  $\lambda = 380\text{nm}$ , ce qui confirme la formation des nanoparticules d'Ag.



**Figure 22: les spectres UV-Vis des AgNPs synthétisées par les différents extraits : a) l'extrait à base de l'hexane, b) l'extrait à base de chloroforme, c) l'extrait à base d'acétate d'éthyle, d) l'extrait à base de 1-butanol**

La figure 22 représente l'étude de la réaction de synthèse des nanoparticules Ag par UV-Vis. Après l'addition de la solution d' AgNO<sub>3</sub> au différents extraits , nous constatons un changement sur les spectres par un effet hypochrome, ce qui confirme le déroulement d'une réaction chimique entre les molécules actives existantes dans l' extrait ( polyphénols et flavonoïdes hydroxylique ) et le précurseur AgNO<sub>3</sub>. Cette réaction est responsable de la formation des nanoparticules d'Ag selon un procédé vert .

Le mécanisme proposé pour cette synthèse est le suivant :



## V.2. Caractérisation par DRX

### V.2.1. Le spectre DRX

Le spectre de diffraction des rayons X de la poudre de NPs Ag élaboré par l'extrait aqueux de *L.corniculatus* est présenté sur la figure suivante :

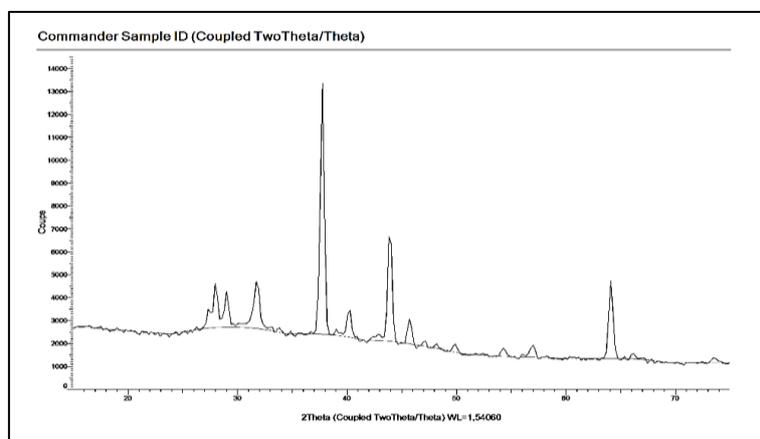


Figure 23 : Le diagramme de diffraction des rayons X de la poudre de NPs Ag synthétisée

Le diagramme de diffraction montre la présence des raies à  $2\theta$  qui sont classé dans le tableau ci-dessous.

Ces pics caractéristiques pour l'argent a été observé à  $37,75^\circ$  ; $43,81^\circ$  ; $64^\circ$  de  $2\theta$  sont attribués aux plans (1 1 1), (2 0 0) et (2 2 0) respectivement ( les pics les plus intenses). En comparant les positions des pics de ces spectres avec celles rapportés sur la fiche JCPDS(04-0783) relative au Ag , on a pu déduire que la poudre synthétisée présente une structure cubique face centrée .

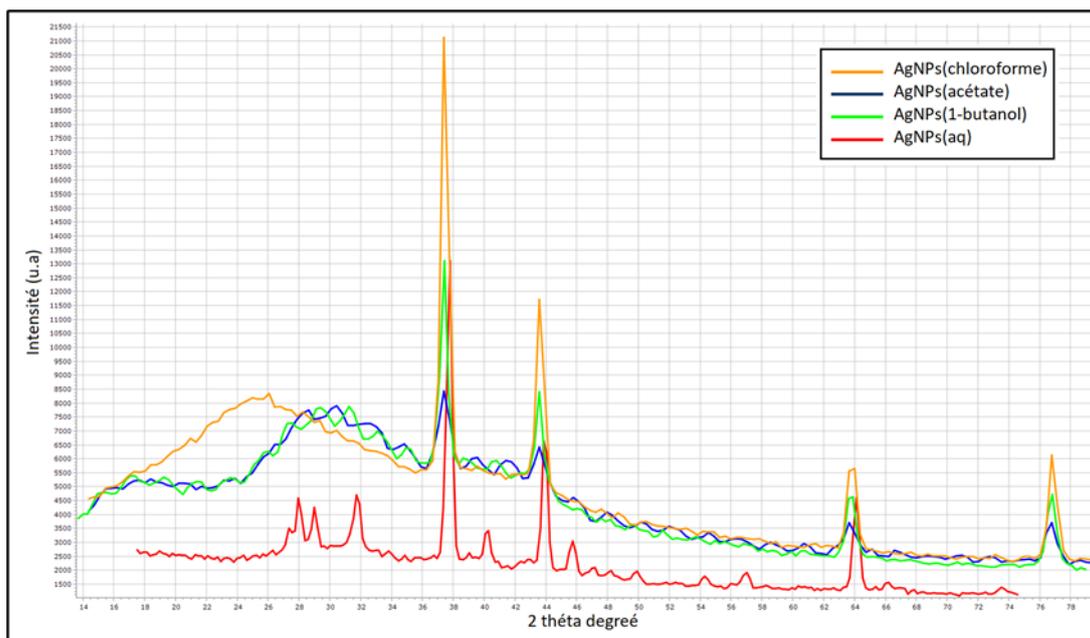
De plus il y a des pics à des valeurs  $2\theta$  :  $28,0^\circ$ et  $31,4^\circ$ . Certains chercheurs ont justifié que ces pics sont dus à l'interaction du nitrate d'argent avec les composés biologiques matrices. Il révèle le nitrate d'argent cristallin pur de synthèse AgNPs. Ces pics pourraient être dus à la présence des agents de coiffage qui stabilise la nanoparticule. Les résultats de la DRX suggèrent également que la cristallisation de la phase bio-organique se produit sur la surface des nanoparticules d'argent [118].

Par conséquent, la présence de ces pics peut être attribués à des complexes minéraux tels que  $Ag_3PO_4$ [119].

Concernant l'intensité des pics, on observe clairement sur les spectres que le pic le plus intense de Ag est situé à  $2\theta=37,759^\circ$ . Il correspond à la raie (1 1 1) ce qui montre que la majorité des cristallites de Ag sont orientées selon cette direction.

**Tableau 10 : Les raies à  $2\theta$  de Ag synthétisé**

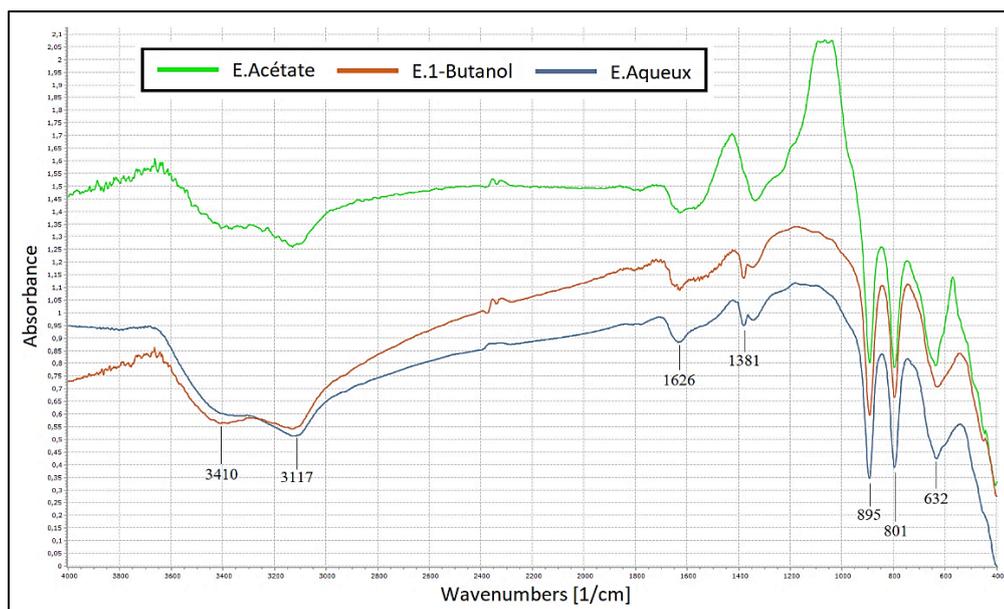
Angle	Valeur de $d_{hkl}$	Intensité Rel.
<b>28,323</b>	3,14849	5,4%
<b>31,536</b>	2,83463	11,6%
<b>37,759</b>	2,38058	96,7%
<b>39,803</b>	2,26291	1,9%
<b>43,810</b>	2,06477	38,2%
<b>45,731</b>	1,98236	9,5%
<b>47,251</b>	1,92210	1,2%
<b>56,815</b>	1,61917	3,7%
<b>64,105</b>	1,45149	30,5%
<b>66,029</b>	1,41378	1,8%



**Figure 24:** Le diagramme de diffraction des rayons X des AgNPs synthétisées

Sur la figure 24 , nous pouvons voir que tous les extraits utilisés pour la synthèse des NPs d' Ag, ont donné des spectres DRX proches de celui de la fiche JCPDS(04-0783) relative au NPS Ag [118] , mais les intensités des pics sont différentes .cela peut être expliquer par l'efficacité de chaque extrait ainsi que la quantité de la poudre utilisé pour l'analyse DRX.

### V.3. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)



**Figure 25 :** Les spectres IR des AgNPs synthétisées par les différents l'extraits.

Les études spectroscopiques FTIR ont été réalisées pour identifier les biomolécules possibles dans les différents extraits de *L. corniculatus* responsables du coiffage ce qui conduit à une stabilisation efficace des nanoparticules d'argent. Comme montré dans la figure 25, les bandes larges et fortes à 3410 et 3117  $\text{cm}^{-1}$  attribuées à la vibration d'élongation des groupements O–H des composés polyphénoliques ou des flavonoïdes [120]. Les pics d'absorption à 1626 et 1381  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la fonction amide I et II respectivement. Les pics à 895 et 801  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués aux vibrations de déformation =C-H hors du plan [121]. Le pic existant à 632  $\text{cm}^{-1}$  peut être attribué à la vibration de déformation de CH des alcynes [122]. Les résultats FTIR ont confirmé la participation des composés bioactifs présents dans l'extrait de *L. corniculatus* comme les flavonoïdes et les polyphénols dans la bio réduction du nitrate d'argent et par conséquent la biosynthèse des AgNPs.

Nos résultats sont en accord avec des études déjà publiés sur la synthèse des AgNPs en utilisant divers extraits de plantes [123].

### V.4. Etude morphologique par MEB

Pour étudier la morphologie des nanoparticules de Ag synthétisées ,on s'est servie de la microscopie électronique à balayage.

Comme le montre la figure 26 les microphotographies de nanoparticules des échantillons d'Ag présentent une nanostructure sphérique parfaite constituée d'une collection de cristallites. Cependant, la taille des grains des nanoparticules caractérisées par DRX et calculée en utilisant la formule de Debye-Sherrer est plus petite que les résultats observés par MEB. Ceci peut s'expliquer par l'agglomération de nanoparticules.

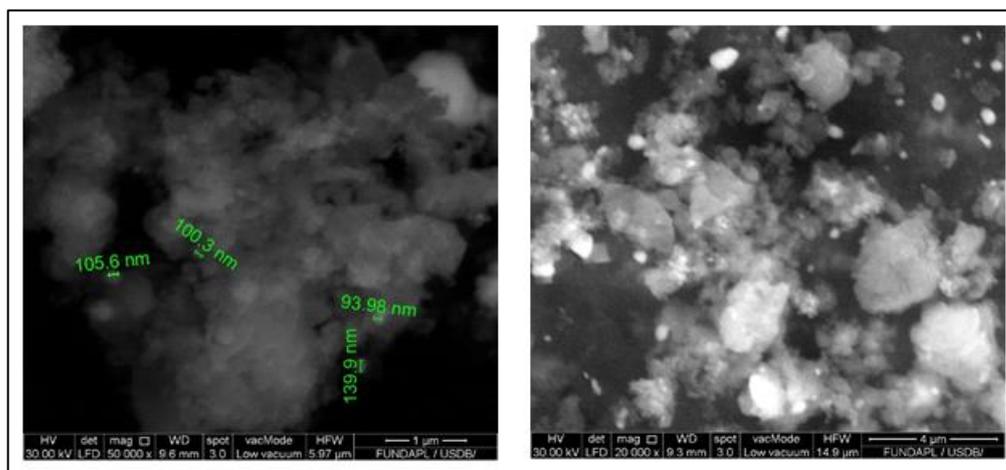


Figure 26 : Imagerie par microscopie électronique à balayage (MEB).

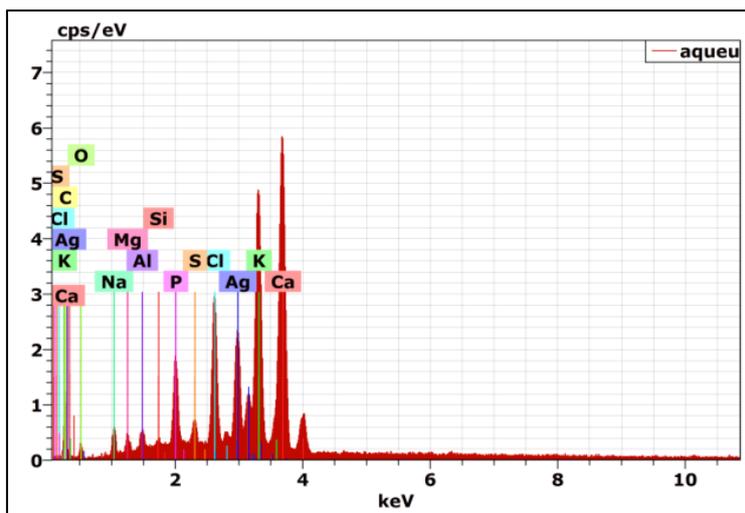


Figure 27 : Image EDX pour les AgNPs

Composition chimique et nature cristalline du biosynthétisé des AgNPs ont été obtenus par l'analyse EDX . En général, on sait que les AgNPs affichent des pics d'absorption optique typiques dans la plage de 2,7 à 3,4 KeV due à la résonance plasmon de surface [124],[125]. La figure 27 a noté la présence d'un signal d'argent élémentaire à 3 keV qui assurait la présence des AgNPs [126],[127].

### V.5. Activités antioxydantes

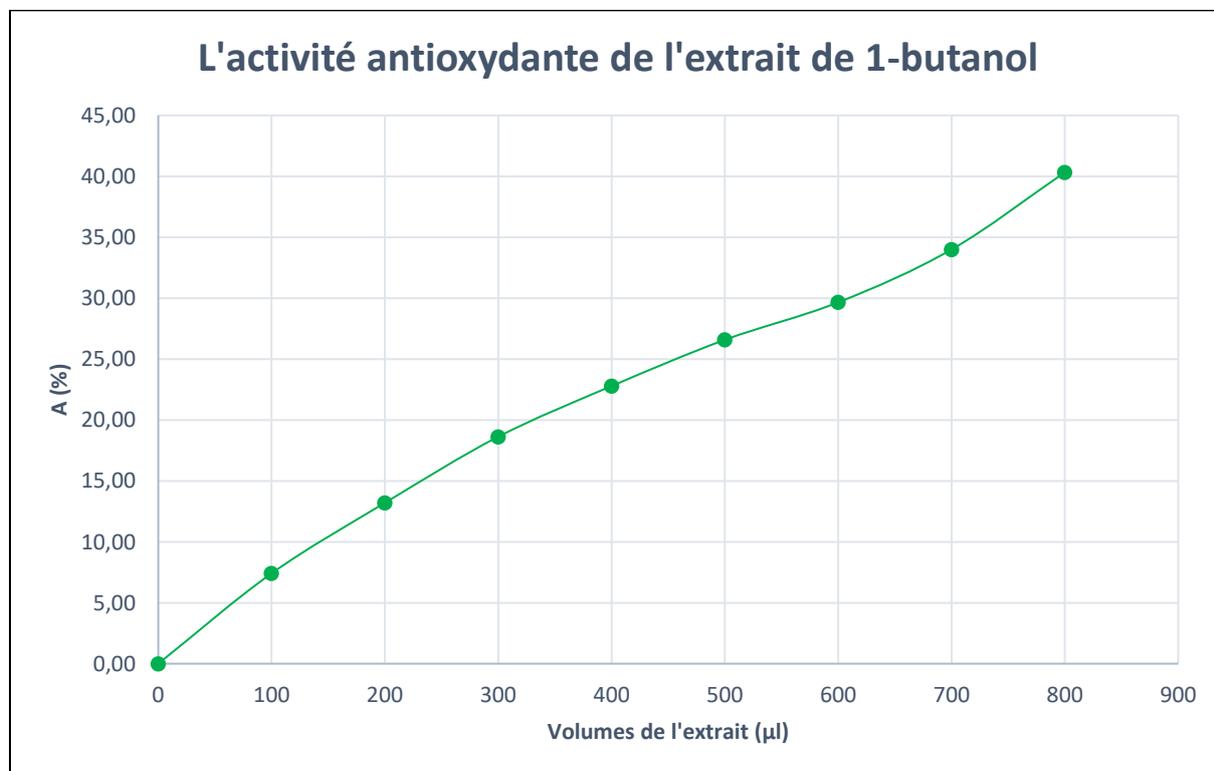
L'absorbance et l'activité antioxydant des différents extraits est donnée dans le tableau 11.

Tableau 11 : L'absorbance et Calcul d'activité antioxydante des différents extraits.

volumes des extraits ( $\mu$ l)	E. Hexane		E. Chloroforme		E. Acétate d'éthyle		E.1-butanol	
	Abs	I (%)	Abs	I (%)	Abs	I (%)	Abs	I (%)
0	0,553	0	0,553	0	0,553	0	0,553	0
100	0,433	21,70	0,273	50,63	0,292	47,20	0,512	7,41
200	0,385	30,38	0,296	46,47	0,329	40,51	0,480	13,20
300	0,353	36,17	0,374	32,37	0,287	48,10	0,450	18,63
400	0,334	39,60	0,500	9,58	0,264	52,26	0,427	22,78
500	0,347	37,25	0,595	-7,59	0,261	52,80	0,406	26,58
600	0,337	39,06	0,707	-27,85	0,286	48,28	0,389	29,66
700	0,321	41,95	0,823	-48,82	0,332	39,96	0,365	34,00
800	0,307	44,48	0,917	-65,82	0,369	33,27	0,330	40,33

l'extrait de l'hexane, le chloroforme et l'acétate d'éthyle présentent un faible activité antioxydante, tandis que l'extrait de 1-butanol a une activité antioxydante remarquable.

Les activités de l'extrait de 1-butanol sont représentées dans la figure 28.



*Figure 28 : L'activité antioxydante de l'extrait de 1-butanol*

On remarque que l'évolution de l'activité anti-radicalaire est dépendante de la concentration de l'extrait de 1-butanol (elle augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel), cette activité est due à la présence des polyphénols.

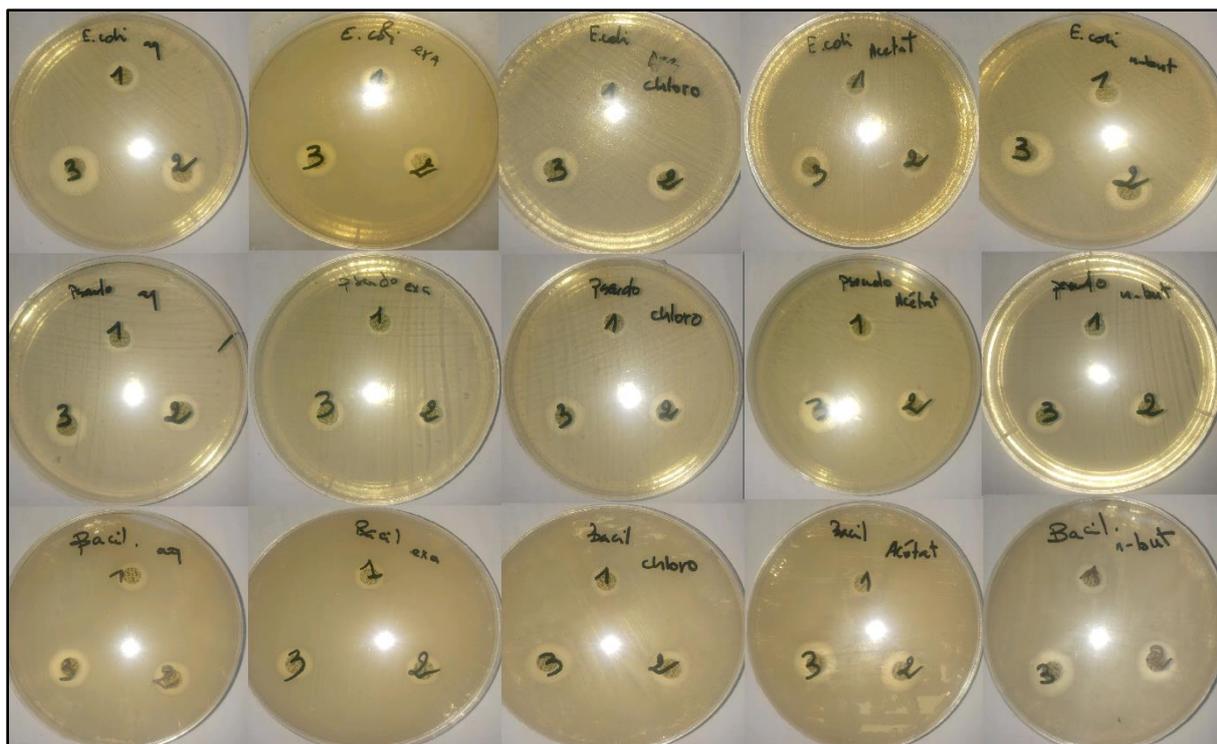
La diminution des absorbances du radical DPPH montre clairement le pouvoir réducteur de l'extrait de 1-butanol.

### **V.6. Activité antimicrobienne**

Le potentiel antibactérien des AgNPs est bien établi dans la littérature en raison de leurs propriétés uniques telles que la perturbation des membranes cellulaires et des parois cellulaires, interruption de la production de l'ATP et le blocage du transport et de la réplication cellulaires [128],[129]. La zone d'inhibition pour la croissance bactérienne autour de chaque échantillon a été mesurée et récapitulée dans le tableau 12 et illustrée dans la figure 29 .

**Tableau 12: résultats de l'activité antibactérienne de nos produits par la méthode de diffusion discal.**

Concentrations( $\mu\text{g/ml}$ )		Zone d'inhibition (mm)		
		Gram -		Gram +
		Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Bacillus subtilis
AgNPs (1-butanol)	200	11	11	13
	400	12	11	13
	600	12	12	13
	800	14	13	15
	1000	19	14	16
AgNPs (acétate d'éthyle)	200	10	9	11
	400	12	12	11
	600	13	12	11
	800	16	14	15
	1000	17	16	19
AgNPs (chloroforme)	200	10	11	8
	400	10	13	10
	600	11	13	10
	800	12	14	11
	1000	13	15	12
AgNPs (hexane)	200	10	11	9
	400	12	13	12
	600	12	13	14
	800	12	14	14
	1000	13	14	20
AgNPs (aqueux)	200	13	12	10
	400	14	13	9
	600	15	13	12
	800	20	14	12
	1000	22	15	14



**Figure 29 : L'effet des AgNPs synthétisés par différents extraits à différentes concentrations sur le développement des souches bactériennes : (1)200µg/ml ;(2)600µg/ml ;(3)1000µg/ml .**

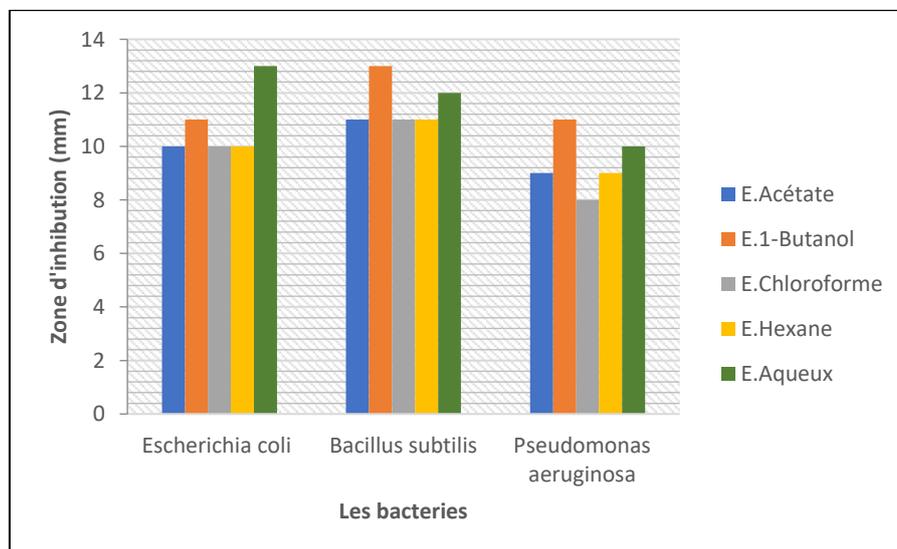
Les diamètres des zones d'inhibition renseignent sur la sensibilité d'une bactérie [130], donc les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

- Souche résistante ( $D < 8$  mm)
- Souche sensible ( $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$ )
- Souche très sensible ( $15\text{mm} \leq D \leq 19$  mm)
- Souche extrêmement sensible ( $D > 20$  mm)

Afin d'examiner l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent synthétisées des différents extraits, On observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment, même s'il s'agit de deux souches d'un même gram bactérien.

La concentration la plus élevée (1000µg/ml) des AgNPs a montré le diamètre maximal de la zone d'inhibition pour les différents extraits.

les AgNPs de E. aqueux et E.1-butanol montre une efficacité antimicrobienne plus élevée par rapport aux autres AgNPs à la concentration la plus basse (200µg/ml) et aux différentes bactéries testées. d'autre part les AgNPs de E. Acétate, E. Hexane et E. chloroforme ont presque la même efficacité antimicrobienne a la même concentration (figure 30).



**Figure 30: Résultats de l'activité antimicrobienne à la plus basse concentration testé (200µg/ml).**

les résultats concernant les CMI des différentes souches bactériennes testées par les AgNPs synthèses par différents extraits sont regroupées dans le tableau 13.

**Tableau 13 : Concentration minimale d'inhibitrice (CMI) des différentes souches bactériennes testées, pour les différents AgNPs synthétisées.**

Les souches bactériennes		AgNPs (aqueux)	AgNPs (1-butanol)	AgNPs (acétate d'éthyle)	AgNPs (chloroforme)	AgNPs (hexane)
Gram -	Escherichia coli	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml
	Pseudomonas aeruginosa	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml
Gram	Bacillus subtilis	<200µg/ml	<200µg/ml	<200µg/ml	≤200µg/ml	<200µg/ml

l'analyse des résultats du tableau 13 montre que les concentrations minimales inhibitrices des AgNPs présentent des valeurs de CMI inférieure à 200µg/ml. Ces valeurs varient d'une souche à une autre.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Durant ce travail nous avons réussi à produire des nanoparticules d'argent à partir d'une solution de  $\text{AgNO}_3$  en utilisant l'extrait de *L. Corniculatus* comme alternative verte .

Plusieurs techniques d'analyse ont été utilisées pour la caractérisation de nos échantillons: la diffraction des rayons X, la spectroscopie infra rouge ,MEB EDX et la spectroscopie UV.

La spectroscopie UV-Visible montre une diminution de l'énergie de gap optique suite a l'effet du confinement quantique par rapport au cristal massif.

Les diffractogrammes de DRX ont révélé une structure cubique face centré des nanoparticules d'argent avec une taille nanométrique.

Les spectres FTIR ont confirmé la participation des composés bioactifs présents dans l'extrait de *L.corniculatus* comme les flavonoïdes hydroxylique et les polyphénols dans la bio réduction du nitrate d'argent et par conséquent la biosynthèse des nanoparticules d'argent .

L'étude morphologique par MEB montre une nanostructure sphérique parfaite constituée d'une collection de cristallites des nanoparticules synthétisées.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de piégeage des radicaux DPPH, les résultats prouve le pouvoir antioxydant de l'extrait de *L.corniculatus* . L'étude de l'activité antimicrobienne montre une activité anti microbienne remarquables des nanoparticules d'argent synthétisées.

Le protocole suivi pendant notre étude pour la synthèse des NPs d'Ag peut être étendu à d'autres NPs métalliques.

**Références  
bibliographiques**

## Références

1. P. Mohanpuria, N. K. Rana, and S. K. Yadav, “ Biosynthesis of nanoparticles : technological concepts and future applications ”, *J. Nanopart. Res.*, vol. 10, pp. 507–517, 2008.
2. Boverhof, D. R.; Bramante, C. M.; Butala, J. H.; Clancy, S. F.; Lafranconi, M.; West, J.; Gordon, S. C. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015, 73,137–150. doi:10.1016/j.yrtph.2015.06.001
3. V. K. Sharma, R. A. Yngard, and Y. Lin, “Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities”, *Adv. Colloid Interfac Sci.*, vol., pp. 145, 83–96, 2009.
4. Albrecht, M. A., Evans, C. W., and Raston, C. L. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chem.* 2006; 8: 417-432
5. De M, Ghosh P S and Rotello V M 2008 *Adv. Mater.* 20 4225
6. Ghosh Chaudhuri R and Paria S 2012 *Chem. Rev.* 112 2373
7. Park HH, Choi YJ. Direct patterning of SnO(2) composite films prepared with various contents of Pt nanoparticles by photochemical metal-organic deposition. *Thin Solid Films* 2011;519:6214–8.
8. Hubenthal F. Noble metal nanoparticles: synthesis and optical properties. In: Andrews DL, Scholes GD, Wiederrecht GP, editors. *Comprehensive Nanoscience and Technology. Nanomaterials* Elsevier Science; 2011. p. 375–435.
9. Muhammad R., Sadaf I., Rafique M., et al., (2016). A Review on Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal.* ; 45(7) : 12721291 .doi.org/10.1080/21691401.2016.1241792.
10. Noruzi M, Zare D, Khoshnevisan K, Davoodi D. Rapid green synthesis of gold nanoparticles using *Rosa hybrida* petal extract at room temperature. *Spectrochim Acta A* 2011;79:1461–5.
11. Sharma G., Ju-Suk N., Ashish R.S., et al., (2018). Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles Synthesized Using Medicinal Herb *Coptidis rhizome*. *Journal of Molecules.* ; 23 ;2268. doi :10.3390/molecules23092268.

12. S. PIMBERT, “Nanomatériaux manufacturés, quelle prévention en entreprise ?,” Inrs, 2018.
13. B. Khodashenas and H. R. Ghorbani, “Synthesis of silver nanoparticles with different shapes,” Arab. J. Chem., 2015, doi: 10.1016/j.arabjc.2014.12.014.
14. B. Izzeddine, “Synthèse et caractérisation optique des nanoparticules d’argent pour des applications médicales (antibactériennes),” pp. 2014–2015, 2015.
15. J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y. S. Chan, A. Dufresne, and M. K. Danquah, “Review on nanoparticles and nanostructured materials : history , sources , toxicity and regulations,” pp. 1050–1074, doi: 10.3762/bjnano.9.98.
16. V. D. Nguyen, “Étude De La Classification Des Bactériophages,” p. 248, 2019.
17. H. A. L. Id, “Croissance et morphologie de nanoparticules coeur-coquille Fe@Au facettées : une étude expérimentale et théorique,” 2021.
18. I. Khan, K. Saeed, and I. Khan, “Nanoparticles: Properties, applications and toxicities,” Arab. J. Chem., vol. 12, no. 7, pp. 908–931, 2019, doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
19. H. Gleiter, “Nanostructured materials: basic concepts and microstructure,” Acta Mater., vol. 48, no. 1, pp. 1–29, 2000.
20. “Les Nanomatériaux : Effets sur la santé de l’homme et sur l’environnement.” [https://www.researchgate.net/publication/255977416\\_Les\\_Nanomateriaux\\_Effets\\_sur\\_la\\_sante\\_de\\_l'homme\\_et\\_sur\\_l'environnement](https://www.researchgate.net/publication/255977416_Les_Nanomateriaux_Effets_sur_la_sante_de_l'homme_et_sur_l'environnement) (accessed Jun. 01, 2021).
21. S. B. Sant, “Nanoparticles: From Theory to Applications,” Mater. Manuf. Process., vol. 27, no. 12, pp. 1462–1463, Dec. 2012, doi: 10.1080/10426914.2012.663137.
22. E. Noel, “Etude prospective de,” Rev. Rhum., vol. 73, no. 10–11, pp. 1166–1167, 2006.
23. T. Mohammed, M. L. TEDJANI, and B. O. TOUATI, “Synthèse de nanoparticules de ZnO par l’extrait des feuilles de Phoenix Dactylifera. L,” mémoire master, Univ. Echahid Hamma Lakhdar-Eloued, 2018.
24. M. De Fin, “Synthèse et caractérisation des nanoparticules de dioxyde de titane ( TiO<sub>2</sub> ) par un procédé de chimie verte . Blida 2020,” 2020.

25. R.M. Cornell, U. Schwertmann. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
26. J.E. Hofer, E.M. Cohen, 81, (1959), *J. Am. Chem. Soc.*, p.1576.
27. C. Li, Y. Shen, M. Jia, S. Sheng, M.O. Adebajo, H. Zhu, *Catalysis Communications*, 9 (3), (2008), p.355.
28. M. Azhar Uddin, H. Tsuda, S. Wu, E. Sasaoka, *Fuel*, 87 (4-5), (2008), p. 451..
29. J.L.Wilson,P.Poddar,A.N.Frey,H.Srihanth,K.Mohomed,J.P.Harmon,S.Kotha, J.Wachsmuth,95,(2004),*J.Appl.Phys.*,p.1439.
30. M.H. Kim , K. Kim, C.Y. Lee, J. Joo, S.J. Cho, H.S. Yoon, D.A. Pejakovic , J.W.Yoo ,A.J. Epstein, 84, (2004), *Appl. Phys. Lett.*, p.589.
31. M. A. Busquets, R. Sabaté, and J. Estelrich, “Potential applications of magnetic particles to detect and treat Alzheimer’s disease,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2014, doi: 10.1186/1556-276X-9-538.
32. M. J. Firdhouse and P. Lalitha, “Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications,” *J. Nanotechnol.*, vol. 2015, no. September 2014, 2015, doi: 10.1155/2015/829526.
33. S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, and B. Zolfaghari, “Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods,” *Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 6. Isfahan University of Medical Sciences(IUMS), pp. 385–406, Dec. 01, 2014, Accessed: Jun. 01, 2021. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26339255/>.
34. B. Despax and P. Raynaud, “Deposition of ‘polysiloxane’ thin films containing silver particles by an RF asymmetrical discharge,” *Plasma Process. Polym.*, vol. 4, no. 2, pp. 127–134, Feb. 2007, doi: 10.1002/ppap.200600083.
35. P. Benzo et al., “Stability of Ag nanocrystals synthesized by ultra-low energy ion implantation in SiO<sub>2</sub> matrices,” in *Journal of Applied Physics*, May 2011, vol. 109, no. 10, p. 103524, doi: 10.1063/1.3592254.
36. G. Schmid, *Chem. Rev.* 92, 1709. 1992.
37. A. N. Shipway, M. Lahav, and I. Willner, *Adv. Mater.* 12, 993. 2000.

38. H. Q. Jiang, S. Manolache, A. C. Wong, and F. S. Denes, *J. Appl. Polym. Sci.* 93, 1411. 2004.
39. Z. E. Allouni, M. R. Cimpan, P. J. Høl, T. Skodvin, and N. R. Gjerdet, "Agglomeration and sedimentation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in cell culture medium," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 68, no. 1, pp. 83–87, 2009, doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.09.014.
40. L. Liebaut, "Nanoparticules et toxicologie pulmonaire," 2018.
41. M. Neagu et al., "Protein bio-corona: critical issue in immune nanotoxicology," *Arch. Toxicol.*, vol. 91, pp. 1031–1048, 2017, doi: 10.1007/s00204-016-1797-5.
42. N. Hadrup and H. R. Lam, "Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver - A review," *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 68, no. 1, pp. 1–7, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002.
43. S. E. Cross, B. Innes, M. S. Roberts, T. Tsuzuki, T. A. Robertson, and P. McCormick, "Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation," *Skin Pharmacol. Physiol.*, vol. 20, no. 3, pp. 148–154, 2007, doi: 10.1159/000098701.
44. K. Loeschner et al., "Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate," 2011. doi: 10.1186/1743-8977-8-18.
45. S. E. Cross, B. Innes, M. S. Roberts, T. Tsuzuki, T. A. Robertson, and P. McCormick, "Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation," *Skin Pharmacol. Physiol.*, vol. 20, no. 3, pp. 148–154, May 2007, doi: 10.1159/000098701.
46. *Green Chemistry : Theory and Practice* - Anastas, P. T.; Warner, J. C., Oxford University Press: New York, 1998.
47. Repris par Stéphane Sarrade dans "La chimie d'une planète durable" (Editions du pommier, 2011).
48. F. Legrand, "Chimie Verte : Repenser La Chimie Pour Le Monde De Demain," 20 Janvier 2015, vol. 33, no. 0, 2015, [Online]. Available: [WWW.CEA.FR/PRESSE %7C LE-FIL-SCIENCE.CEA.FR](http://WWW.CEA.FR/PRESSE%7C%20LE-FIL-SCIENCE.CEA.FR).

49. J. A. A. ABDULLAH and M. SOLTANI, “Synthèse verte et caractérisation des nanoparticules d’oxyde de fer (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) par l’extrait des feuilles de Phoenix Dactylifera.L et évaluation de leur activité catalytique,” 2017.
50. A. FLOURAT, “Valorisation de co-produits agricoles: De la chimie verte aux applications (Thèse de doctorat),” Université De ReimsChampagne-Ardenne, 2020.
51. J. Stajdohar, M. Ristić, and S. Musić, “The effect of experimental conditions on the microstructure of hematite particles precipitated by the forced hydrolysis of FeCl<sub>3</sub> solutions,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1044, pp. 290–298, Accessed: Jun. 01, 2021. [Online]. Available: [https://www.academia.edu/30229291/The\\_effect\\_of\\_experimental\\_conditions\\_on\\_the\\_microstructure\\_of\\_hematite\\_particles\\_precipitated\\_by\\_the\\_forced\\_hydrolysis\\_of\\_FeCl<sub>3</sub>\\_solutions](https://www.academia.edu/30229291/The_effect_of_experimental_conditions_on_the_microstructure_of_hematite_particles_precipitated_by_the_forced_hydrolysis_of_FeCl3_solutions).
52. S. Li, G. Qin, X. Meng, Y. Ren, and L. Zuo, “Chemical synthesis of faceted  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> single-crystalline nanoparticles and their photocatalytic activity,” *J. Mater. Sci.*, vol. 48, no. 17, pp. 5744–5749, Sep. 2013, doi: 10.1007/s10853-013-7366-x.
53. “Introduction a la chimie verte | Parlons sciences.” <https://parlonsscience.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/introduction-a-la-chimie-verte> (accessed Apr. 08, 2021).
54. Y. Liu, S. Chen, L. Zhong, and G. Wu, “Preparation of high-stable silver nanoparticle dispersion by using sodium alginate as a stabilizer under gamma radiation,” *Radiat. Phys. Chem.*, vol. 78, no. 4, pp. 251–255, 2009, doi: 10.1016/j.radphyschem.2009.01.003
55. A. R.Vilchis-Nestor, V.Sánchez-Mendieta, M.A.Camacho -López, R.M.GómezEspinosa, J.A.Arenas-Alatorre , Synthèse sans solvant et propriétés optique de nanoparticules AU et d’Ag à l’aide de l’extrait de Camellia Sinensis , *Mater. Lett.*, vol. 62, pp. 3103-3105, 2008.
56. J.Y.Song, E.Y.Kwon, B.S.Kim, Synthèse biologique de nanoparticules de plante de l’extrait de feuille de Diopyros Kaki, *Bioprocess. Biosyst. Eng*, Vols. 159-164, p. 33, 2010.
57. J.Y.Song, B.S.Kim, Synthèse biologique rapide de nanoparticules d’argent à l’aide d’extraits de feuilles de plante, *Bioprocess. Biosyst. Eng*, vol. 32, pp. 79-84, 2009.
58. S. S. Shankar, A. Ahmad, R. Pasricha, and M. Sastry, “Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes,” *J. Mater. Chem.*, vol. 13, no. 7, pp. 1822–1826, Jul. 2003, doi: 10.1039/b303808b.

59. M. N. Nadagouda and R. S. Varma, "Green synthesis of silver and palladium nanoparticles at room temperature using coffee and tea extract," *Green Chem.*, vol. 10, no. 8, pp. 859–86, 2008, doi: 10.1039/b804703k.
60. S. Rajawat and M. M. Mailk, *Silver Nanoparticles: Properties, Synthesis Techniques, Characterizations, Antibacterial and Anticancer Studies*. 2018.
61. Bönemann, H. N., K.S. (2004). "Tunable synthetic approaches for the optimization of nanostructures fuel cell catalysts: an overview." *Chemistry and Industry* 58(6): 271-279.
62. Guignard J.I., 1994. *Abrégé de botanique*. 9ème édition Ed Masson, 276.
63. Wojciechowski M.F., Lavin M., Sanderson M.J.A., 2004. Phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*. 91(11), 1846-1862.
64. Dupont F., Guignard J.L., 2007. *Abrégé de Botanique* 14ème édition Editions Masson. Paris, 285.
65. Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., 2002. *Botanique Systématique Une perspective phylogénétique*. 1ère édition. DeBoeck Université, Paris, 283-288, 292-299.
66. Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M., Jeanmonod D., 2004. *Botanique systématique des plantes à fleurs: Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales*. 3ème édition, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 202-211.
67. Engler A., Prantl K., 1889. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. First edition, Wilhelm Engelmann, Leipzig.
68. Cronquist A., 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. Second edition, The New York Botanical Garden, New York.
69. Thorne R.F., 1992. An updated phylogenetic classification of the flowering plants. *Aliso*, 13, 365-389.
70. Thorne R.F., 1992. Classification and geography of the flowering plants. *Bot. Rev.* 58, 225-348.

71. The Angiosperm Phylogeny Group, 2009.
72. Heywood V.H., 1996. Flowering Plants of the World. Third edition, Oxford University Press, 141-145, 149-152.
73. Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales 3ème. Édition éditeur Technique et Documentation, Paris.
74. Allan G.J., Francisco-Ortega J., Santos-Guerra A., Boerner E., Zimmer E.A., 2004. Molecular phylogenetic evidence for the geographic origin and classification of Canary Island Lotus (Fabaceae: Loteae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 32, 123-138.
75. Bellakhdar J., 1997. La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, Ibis Press.
76. Strittmatter C.D., Wagner M.L., Kade M., Crurni A.A., 1992, Identification of Lotus tenuis Flavonoids parts III . *Biochemical Systematics and Ecology* . 20,685-687.
77. Reynaud J., Lussignol M., 2005. The Flavonoids of Lotus corniculatus. *Lotus Newsletter*.35, 78-82.
78. Koelzer J., Pereira D.A., Dalmarco J. B., Pizzolatti M.G., Frode T.S., 2009. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of Lotus corniculatus. *Food Chemistry*.117, 444-450.
79. John Shaw G., Ellingham P.J., Nixon L.N., 1981. 2,4-Diamino-3 Methylbutanoic Acid, A Novel Amino Acid in Root Nodule Hydrolysates from Lotus tenuis. *Phytochemistry*.20, 1853-1855.
80. Quezel P., Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, vol.1 .CNRS, Paris.
81. Wink M, Mohamed GIA.2003. Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae : mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the rbcL gene. *Bioch. System. Ecol.* 31(8):897-917.
82. A.A. Ayachi, Synthèse des nanoparticules d'oxydes métalliques pour des applications photocatalytiques solaires, Thèse de doctorat, Département De Physique, Université MENTOURI, CONSTANTINE, 2015, pp. 9-10.
83. Rajeshkumar S., Bharath L.V., (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation

- and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions Journal*. doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019.
- 84.** H. H. Eddine, "Synthèse de la CZTS en couches minces, étude de leurs propriétés optiques," MOHAMED SEDDIK, 2020.
- 85.** A. CHEBBI and F. CHERIEF, "Biosynthèse de nanoparticules a base d'extrait de plantes et la caractérisation de leurs activités biologiques," 2018.
- 86.** Serna F, Lagneau J, Carpentier J-M. "La diffraction des rayons X : une technique puissante pour résoudre certains problèmes industriels et technologiques. *Diffraction des rayons X Catal* ". 2014;(1):1–11.<http://chimienouvelle.be/CN116web/CN166serna.pdf>.
- 87.** X. Oudet, "La loi de Bragg, le continu et le discontinu," *Ann. la Fond. Louis Broglie*, vol. 38, no. 1, pp. 33–39, 2013.
- 88.** Messouri R, Oumeriche SR." Elaboration des nanocomposites à base de cellulose extraite de plantes et de déchets "mémoire de master, Université Saad Dahlab Blida1; 2019.
- 89.** A. de l'Afset, R.d.E. Collective, Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, *La Doc. Fr*, 3 (2010) 36-37.
- 90.** A. L. Patterson, *PhysRev* 56, 978 (1939).
- 91.** Servant L, Le Bourdon G, Buffeteau T. "Comprendre la spectroscopie infrarouge : principes et mise en oeuvre. *Photoniques*. 2011;(53):68–73.
- 92.** S. Lanone, J. Boczkowski, Applications utilisant les nanotechnologies, par secteur d'activité *Questions de santé publique, France*, (2010), pp. 1-4.
- 93.** Antoine Eloi. (2012) "Introduction à La Spectroscopie UV-Visible." *Culturesciences*. Ed. Nicolas Lévy. [en ligne] Disponible:<http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/introduction-%C3%A0-laspectroscopie-uv-visible> (accessed Jun. 03, 2021).
- 94.** K.J. Davies, Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects, *Journal of Biological Chemistry*, 262 (1987) 9895-9901.
- 95.** J.M. Gutteridge, D.A. Rowley, B. Halliwell, Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts. Detection of 'free'iron in biological

- systems by using bleomycin-dependent degradation of DNA, *Biochemical Journal*, 199 (1981) 263-265.
- 96.** P. Rea, J. Crowe, Y. Wickramasinghe, P. Rolfe, Non-invasive optical methods for the study of cerebral metabolism in the human newborn: a technique for the future?, *Journal of medical engineering & technology*, 9 (1985) 160-166.
- 97.** R. Baldwin, Estimation of theoretical calorific relationships as a teaching technique. A review, *Journal of Dairy Science*, 51 (1968) 104-111.
- 98.** G.W. Winston, F. Regoli, A.J. Dugas Jr, J.H. Fong, K.A. Blanchard, A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids, *Free Radical Biology and Medicine*, 24 (1998) 480-493.
- 99.** S. Banerjee, J.P. Saikia, A. Kumar, B. Konwar, Antioxidant activity and haemolysis prevention efficiency of polyaniline nanofibers, *Nanotechnology*, 21 (2009) 045101
- 100.** Yassa A, Oudjellaba S. "Activité antioxydante des graines de quelques variétés de figue de barbarie (*Opuntia ficus-indica* L.) de la région de Béjaia." , Mémoire de fin de cycle (diplôme d'ingénieur d'état) de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia; 2012.
- 101.** Deng J, Cheng W, Yang G." A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chem* , 2011;125(4):1430–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>.
- 102.** D. Das, B.C. Nath, P. Phukon, S.K. Dolui, Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111 (2013) 556-560.
- 103.** AgroParisTech. L'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement . <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe> . (accessed Jun. 30, 2021).
- 104.** T. Textor, M.M.G. Fouda, B. Mahltig, *Appl. Surf. Sci.* 256, 2337-2342. 2010.
- 105.** MTIMET Issam, "Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent", thèse de doctorat, INSA de Rouen, 156, 2011.
- 106.** Smith MW, Ambudkar IS, Phelps PC, Regec AL, and Trump BF: HgCl<sub>2</sub>-induced changes in cytosolic Ca<sup>2+</sup> of cultured rabbit renal tubular cells. *Biochem. Biophys. Acta* 931: 130. 1987.

107. Jain P and Pradeep T, “Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter”, *Biotechnology and Bioengineering*, 90(1), 59–63, 2005.
18. M. Jannathul Firdhouse, P. Lalitha, "Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Applications", *Journal of Nanotechnology*, vol. 2015, Article ID 829526, 18 pages, <https://doi.org/10.1155/2015/829526>, 2015.
109. Alt V, “An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement”, *Biomaterials*, 25, 4383–4391, 2004.
110. Fu J, Ji J, Fan D and Shen J,” Construction of antibacterial multilayer films containing nanosilver via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan-silver ions complex”, *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*,79A (3), 665–674, 2006.
111. MeiLing Zou, MingLiang Du, Han Zhu,CongSheng Xu, Ni Li, YaQin Fu *Polymer engineering and science* , 2013
112. W.Brand-Williams;Cuvelier M.E; Berset C; Use of a free radical method to Evaluate Antioxydant Activity. *lebensm-Wiss uTechnol* 28: 25-30. 1995.
113. “Escherichia coli — Wikipédia.” [https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli) (accessed Jul. 02, 2021).
114. W. Sybesma et al., “Bacteriophages as potential treatment for urinary tract infections,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. APR, Apr. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00465.
115. “Pseudomonas aeruginosa — Wikipédia.” [https://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa) (accessed Jul. 02, 2021).
116. J. C. Zweers et al., “Towards the development of Bacillus subtilis as a cell factory for membrane proteins and protein complexes,” *Microbial Cell Factories*, vol. 7, no. 1. BioMed Central, pp. 1–20, Apr. 04, 2008, doi: 10.1186/1475-2859-7-10.
117. “Bacillus subtilis — Wikipédia.” [https://fr.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_subtilis](https://fr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis) (accessed Jul. 02, 2021).
118. S. N. Kharat and V. D. Mendhulkar, “synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using Elephantopus scaber leaf extract,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, no. November 2018, pp. 719–724, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.02.024.
119. A. Ebrahiminezhad, M. Bagheri, S. M. Taghizadeh, A. Berenjian, and Y. Ghasemi, “Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using microalgal secretory

- carbohydrates as a novel anticancer and antimicrobial,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 1, Mar. 2016, doi: 10.1088/2043-6262/7/1/015018.
- 120.** M.S. Bethu, V.R. Netala, L. Domdi, V. Tartte, V.R. Janapala, Potential anticancer activity of biogenic silver nanoparticles using leaf extract of *Rhynchosiasuaveolens*: an insight into the mechanism, *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology* 46 (2018) 104e114, <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1414824>.
- 121.** S. Salehi, S.A.S. Shandiz, F. Ghanbar, M.R. Darvish, M.S. Ardestani, A. Mirzaie, M.Jafari, Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Artemisia marschalliana* Sprengel aerial part extract and assessment of their antioxidant, anticancer, and antibacterial properties, *Int. J.Nanomed.* 11 (2016) 1835, <https://doi.org/10.2147/IJN.S99882>.
- 122.** Mochochoko T, Oluwafemi OS, Jumbam DN, Songca SP. *Carbohydr. Polym.* 2013, 98, 290–294.
- 123.** Abbasi Z, Feizi S, Taghipour E, Ghadam P. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dried *Juglans regia* green husk and examination of its biological properties. *Green Process Synth.* 2017;26:477–85.
- 124.** M.M. Zangeneh, S. Bovandi, S. Gharehyakheh, A. Zangeneh, P. Irani, Green synthesis and chemical characterization of silver nanoparticles obtained using *Allium saralicum* aqueous extract and survey of in vitro antioxidant, cytotoxic, antibacterial and antifungal properties, *Appl. Organomet. Chem.* 33 (2019) 4961–4972.
- 125.** S. Muthukrishnan, S. Bhakya, T.S. Kumar, M.V. Rao, Biosynthesis, characterization and antibacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using *Ceropegia thwaitesii*—An endemic species, *Ind. Crop. Prod.* 63 (2015) 119–124.
- 126.** M.M. Zangeneh, Green synthesis and chemical characterization of silver nanoparticles from aqueous extract of *Falcaria vulgaris* leaves and assessment of their cytotoxicity and antioxidant, antibacterial, antifungal and cutaneous wound healing properties, *Appl. Organomet. Chem.* (2019) 4963–4976.
- 127.** S. Hemmati, Z. Joshani, A. Zangeneh, M.M. Zangeneh, Biosynthesis and chemical characterization of polydopamine-capped silver nanoparticles for the treatment of acute myeloid leukemia in comparison to doxorubicin in a leukemic mouse model, *Appl. Organomet. Chem.* 34 (2020) 5277–5289.
- 128.** Saravanan M, Barik SK, MubarakAli D, Prakash P, Pugazhendhi A. Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microb Pathog* 2018;116:221–6.

- 129.** Munteanu D. Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles, biosynthesized using *Bacillus* species 2017.
- 130.** Ponce A.G; Fritz.R; Del Valle. C; et Roura.S.I. Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. *Society of food science and technology* (Elsevier). 36: 679-984, 2003.

# **Annexes**

## **Fiche JCPDS (04-0783)**

### **Name and formula**

Reference code: 96-901-3048  
Mineral name: Silver  
Compound name: Silver  
Common name: Silver  
Chemical formula: Ag<sub>4</sub>.00

### **Crystallographic parameters**

Crystal system: Cubic  
Space group: F m -3 m  
Space group number: 225  
a (Å): 4,1170  
b (Å): 4,1170  
c (Å): 4,1170  
Alpha (°): 90,0000  
Beta (°): 90,0000  
Gamma (°): 90,0000  
Calculated density (g/cm<sup>3</sup>): 10,27  
Volume of cell (10<sup>6</sup> pm<sup>3</sup>): 69,78  
RIR: 18,68

### **Subfiles and Quality**

Subfiles: User Inorganic  
User Metallic  
User Mineral  
Quality: None ( )

### **References**

Structure: Suh, I.-K., Ohta, H., Waseda, Y., *Journal of Materials Science*,  
**23**, 757 - 760, (1988)

### **Peak list**

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	1	1	1	2,37695	37,819	100,0
2	2	0	0	2,05850	43,950	47,7
3	2	2	0	1,45558	63,904	28,0
4	1	3	1	1,24132	76,712	31,2
5	2	2	2	1,18848	80,803	8,9
6	0	4	0	1,02925	96,905	4,5
7	1	3	3	0,94450	109,286	16,5
8	0	4	2	0,92059	113,596	16,6
9	2	4	2	0,84038	132,871	20,2