



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique*
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Synthèse verte de l'argent colloïdal et son activité biologique

Présenté par M.

SAMAR Siham &

DJEMIA Nawel

Devant le Jury :

M GUESSAIBIA N.

MCA

SNV, Blida1

Présidente

M BOKRETA S.

MAA

SNV, Blida1

Examinatrice

M CHEMAT Z. DJENI

Dr

FSTech, Blida1

Promotrice

Session 2020 / 2021

Remerciement :

Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier, et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail, Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Tous Nos Remerciements vont à notre encadreur Pr Z. CHEMAT Our son aide morale et technique, ses conseils et sa patience durant la période de Notre travail.

J'exprime ma profonde gratitude à Pr. Moumene pour leurs aides, leurs orientations, et leurs conseils.

Je tiens également à remercier tous le personnel de laboratoires de contrôle de qualité

Je tiens également à remercier vivement et témoigner toute ma reconnaissance à tous les auteurs, scientifiques, chercheurs..., hommes et femmes, qui m'ont permis, grâce à leurs livres, revues, rapports... de réussir ce travail d'étude , car sans eux, aucune information ne serait bibliographiée dans ce mémoire. Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Nous remercions les membres du jury Madame Guessaibia et Bokreta de nous avoir honorés en acceptant de juger ce travail.

Nous remercions les membres de notre famille et nos amies pour leur présence à nos côtés dans tous les moments.

Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

A la fin, je tiens à me féliciter, non seulement pour ce travail, mais également pour toutes ces années d'études réussies grâce à des efforts, à des encouragements et à ma grande Motivation.

DÉDICACE

*Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux louange
à **ALLAH** le tout puissant.*

Je dédie ce modeste travail,

*A mes très chers parents **MOHAMED** et **SALIHA** qui
ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un
magnifique modèle de labeur et de persévérance, de
tendresse, d'amour et de force et dont je suis fière et
reconnaissante d'avoir comme parents,*

Pour vous :

Mes très chers et irremplaçables,

*Sœurs : **Soumia** ; **Amina** ; et **Ikrem**.*

*Frères : **Mehdi**, et **Abde Arhmane**.*

A mes familles

A mes chères amies

A toutes personnes qui m'aiment et que j'aime.

Nawel



Dédicace

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force, la santé et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail.

*A mes parents : Ma chère mère **Malika** et Mon cher père **Moustapha** qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui m'ont apportés leurs appuis durant toutes mes années d'études, pour leurs sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.*

Et ma cher grand-mère houria.

*A Mes chers sœurs : **Nassima, Imane, Afaf** Pour leur soutien et leur amour illimité.*

*Et ses enfants : **Mouhamed, Abd al-Rahman, Maram et Dania.***

Et ma cher grand-mère houria.

Siham

Résumé

La nanotechnologie est un domaine multidisciplinaire, car elle combine les connaissances de différentes disciplines: la chimie, la physique et la biologie, entre autres. Dans cette étude, la biosynthèse de nanoparticules d'argent est réalisée en utilisant l'extrait des *plants de grenadier et verveine*, ces nanoparticules bio-synthétisées sont caractérisées à l'aide du spectrophotomètre

UV-vis et DLS, pour déterminer leur taille et leur composition, ainsi démontré que les nanoparticules d'argent synthétisés présentent certaines activités

Nos résultats de caractérisation montrent que les nanoparticules d'argent ont été synthétisées avec succès

D'autre côté, les nanoparticules d'argent synthétisées ont été montrés un effet bactéricide très efficace contre les trois types des microbien (*Escherichia coli*, *championne* et levure)

La somme des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que Les nanoparticules d'argent possèdent un potentiel important pour les activités biologiques investiguées. De ce fait, le

bio-ingrédients présents dans l'extrait de plante était efficaces pour la synthèse des nanoparticules

D'Ag avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans la composition des produits alimentaires et pharmaceutiques.

Mots clés : *nanoparticule, l'Argent, synthèse verte, lancéolées de Punica granatum (grenadier), d'Aloysia citriodora (verveine)*

Abstract

Nanotechnology is a multidisciplinary field, as it combines knowledge from different disciplines: chemistry, physics and biology, among others. In this study, the biosynthesis of silver nanoparticles is carried out using the extract of pomegranate and verbena plants, these bio-synthesized nanoparticles are characterized using the spectrophotometer UV-vis and DLS, to determine their size and composition, thus demonstrating that the synthesized silver nanoparticles exhibit certain activities

Our characterization results show that the silver nanoparticles have been successfully synthesized

On the other hand, the synthesized silver nanoparticles have been shown to have a very effective bactericidal effect against all three types of microbial (Escherichia coli, champion and yeast)

The sum of the results obtained during this study clearly shows that silver nanoparticles have significant potential for the biological activities investigated. Therefore, the Bio-ingredients present in the plant extract were effective for the synthesis of nanoparticles Ag with biological efficacy that offers the possibility of incorporating it into the composition of food and pharmaceutical products.

Keywords: nanoparticle, Silver, green synthesis, lanceolate Punica granatum (pomegranate), Aloysia citriodora (verbena).

ملخص

النانو تكنولوجيا هو المجال متعدد التخصصات لأنه يجمع بين المعرفة من مختلف تخصصات: الكيمياء والفيزياء والبيولوجيا..... الخ تم اجراء التركيب الحيوي للجسيمات النانوية للفضة باستخدام مستخلص نبات الرمان واللوزة وقد تم دراسة الخصائص هذه الجسيمات باستخدام الاشعة فوق البنفسجية و (UV-VIS)تم تحليل لتحديد حجمها وتكوينها، وبالتالي إثبات أن الجسيمات النانوية الفضية المركبة تظهر أنشطة معين

تظهر نتائج التوصيف لدينا أن الجسيمات النانوية الفضية قد تم تصنيعها بنجاح من ناحية أخرى، فقد ثبت أن جزيئات الفضة النانوية لها تأثير فعال للغاية ضد الجراثيم ضد جميع أنواع الميكروبات الثلاثة (الإشريكية القولونية، فطريات والخميرة)

يظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة بوضوح أن جسيمات الفضة النانوية لها إمكانات كبيرة للأنشطة البيولوجية التي تم فحصها. لذلك، فإن كانت المكونات الحيوية الموجودة في المستخلص النباتي فعالة في تخليق الجسيمات النانوية بكفاءة بيولوجية تتيح إمكانية دمجها في تركيبات المنتجات الغذائية والصيدلانية

الكلمات المفتاحية الجسيمات النانوية- الفضة - التركيب الأخضر- الرمان - و اللوزة

Tableaux de matière

Remerciements

Dédicace

Tableaux de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction générale.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

I. Nanoparticules d'Argent colloïdal.....4

I.1. Définition d'une nanoparticule.....4

I.2. Origine des nanoparticules.....5

I.2.1. Les nanoparticules naturelles5

I.2.2. Les nanoparticules artificielles (industrielles ou manufacturées).....5

I.2.3. Les nanoparticules accidentelles.....5

I.3. Généralistes sur l'argent colloïdal5

I.3.1. Propriétés de l'Argent6

I.3.2. Formes d'utilisation de l'argent en thérapeutique7

I.4.1. Les colloïdes.....9

I.4.2. L'argent colloïdal.....10

I.5. caractéristiques des solutions d'argent colloïdal.....11

I.6. Mécanismes d'action de l'argent colloïdal.....13

I.7. Méthodes de synthèses de l'argent colloïdal15

I.7.1. Méthode physique.....15

I.7.2. Méthode chimique.....15

I.7.3.Méthode biologique	17
I.7.4.Réductions biologiques.....	20
I.7.5.Molécules responsables de la bio réduction	21
I.8.Mécanisme de formation de nanoparticules d'argent	22
I.9.Stabilisation des nanoparticules d'argent.....	23
I.10.Facteurs influent sur la formation de NPS métalliques dans les plantes.....	24
Chapitre II :Activité biologique et caractérisation	27
II.1. Activités biologiques des nanoparticules d'argent	27
II.1. 1 Activité cancéreuse	27
II.1.2 Anti-inflammatoire.....	28
II.1.3 Antivirale	28
II.1.4 antifongique	29
II.1.5 Anti microbien.....	29
II.2. Applications des nanoparticules d'argent.....	31
II.3. Les Risques liée d' NPAGs	33
II.4. Méthodes de caractérisation des nanoparticules d'argent	34
II.4.1 La spectroscopie UV-Visible	34
II.4.2 La diffusion dynamique de la lumière (DLS)	36
II.5.1.1 Description botanique de la verveine	38
II.5.1.2 Classification botanique	39
II.5.1.3. Principaux pays producteurs de la verveine.....	39
II.5.1. 4. Composition chimique.....	40
II.5.1.5. Effet thérapeutique.....	40
II. 5.2.1 Description botanique de la Grandier.....	40
II.5.2.2. Classification botanique de Grandier	41
II.5.3. Composition chimique.....	41
II.5.2. 4. Composition phénolique	41
II 5.2.5. Composition flavonoïde	42
II.2.6. Effet thérapeutique	42

PARTIE PRATIQUE

Chapitre III : Matériel et méthode	45
III.1 L'étude des plants	45
III.1.1 Récolte et identification du matériel végétal.....	45
III.2. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) des plants.....	46
III.3 Synthèse des nanoparticules d'argent.....	47
III.4 Préparation des dilutions des échantillons d'argent colloïdal des plantes.....	48
III.5 Techniques de caractérisation	49
III.5.1 Spectroscopie UV- visible.....	49
III.5. 2 Diffusion dynamique de la lumière (DLS)	50
III.6 Activité antimicrobienne	51
III.6.1 Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	52
Chapitre IV : Résultats et méthode	
IV.1 Technique Spectroscopie UV- visible	53
IV.2 Technique diffusion dynamique de la lumière (DLS)	54
IV.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des nanoparticules synthétisées.....	55
IV.4 Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent	58
IV.5 Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent.....	59
Conclusion générale	60
Reference	62

Liste des abréviations

AgNPs : Nanoparticules d'argent.

Ag : Argent pur.

Ag⁺ : ion argent.

AgNO₃ : Nitrate d'argent

UV-vis : ultra-violet- visible

DLS ; Diffusion dynamique de la lumière

TDS : technicol système Dat

PPM :Unité Partie Par Million

E.COLI : bactérie Escherichia coli

SPR : résistat de plasmon de surface

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure I.1	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles Des principales structures chimiques et biologiques	04
Figure I.2	Un exemple de dispersion colloïdale stable et instable. Dans le second cas, on observe que les particules s'agrègent (agrégation) et sédimentent (Sédimentation)	09
Figure I.3	Chemical synthesis of nanosilver particles	16
18Figure I.4	Schéma de principe de la synthèse des Ag-NPs en utilisant des bactéries.	18
Figure I.5	Principaux bio-réducteurs présents dans les plantes	22
Figure I.6	Illustration de l'étape de nucléation	23
Figure I.7	Représentation schématique de la stabilisation stérique (A) et électrostatique (B).	24
Figure II.1	Un diagramme schématique des mécanismes anticancéreux des AgNPs.	27
Figure II.2	schéma mécanisme de l'activité antimicrobien	30
Figure II.3	Représentation schématique de l'oscillation du nuage des électrons de conduction (plasmon de surface localisé) pour une sphère métallique soumise à un champ électrique	35
Figure II.4	Spectre d'absorbance de nanoparticules métalliques : (a) nanoparticules d'argent de 20 nm et (b) nanoparticules d'argent de 45 nm avec également des agrégats	36
Figure II.5	Schéma du dispositif de diffusion dynamique de la lumière.	37
Figure II.6	Diffusion dynamique de la lumière hypothétique de deux échantillons : (a) particules plus grandes et (b) particules plus petites.	38
Figure II.7	Feuilles d'Aloysia citriodora (verveine)	39
Figure II.8	Feuilles lancéolées de Punica granatum (grenadier)	41
Figure III.1	Photographies des parties aériennes des plantes de Grenadier Et La Verveine	45

Figure III.2	Feuilles lancéolées de Punica granatum (grenadier)	46
Figure III.3	Synthèse des nanoparticules d'argent réduit par les extraits de Verveine et Grenadier	48
Figure III.4	Appareil de mesure TDS	49
Figure III.5	Schéma de principe d'une DLS	50
Figure IV.1	Spectres UV-Vis d'AgNPs synthétisés en utilisant les extraits de Grenadine et de Verveine	53
Figure IV.2	<i>Diffusion dynamique de la lumière (DLS) des NPs Ag synthétisées par l'extrait de grenadine</i>	54
Figure IV.3	<i>Milieu de culture gélose nutritive vis-a vie le grenadier et verveine</i>	56
Figure IV.4	<i>Les photographies des boites de Pétri des zones d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antimicrobienne.</i>	57
Figure IV.5	<i>Les photographies des boites de Pétri des zones d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antimicrobienne SARM, P. aeruginosa et H. Coronarium.</i>	58
Figure IV.6	<i>Mécanisme de formation</i>	58
Figure IV.7	<i>Mécanisme de stabilisation d'Ag</i>	59

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau I.1	les propriétés caractéristiques de l'argent.	7
Tableau I.2	Caractéristiques des colloïdes	10
Tableau I. 3	Réduction chimique de l'argent en solution	17
Tableau I.4	Principaux réducteurs et stabilisants biologique des nanoparticules	21
TableauIV.1	Résultats qualitatifs de l'activité antimicrobienne de l'extrait grenadier -AgNPs.	55
TableauIV.2	Résultats qualitatifs de l'activité antimicrobienne de l'extrait verveine-AgNPs.	55

Introduction générale

Les nanotechnologies représentent aujourd'hui un domaine scientifique et technique en plein essor. Elles sont en voie de constituer le cœur de la prochaine révolution industrielle. Les progrès récents en nanotechnologie ont conduit à la vaste le développement dans différents domaines contenant une synthèse de nanoparticules, nanotubes et nano-fils, grâce à leur diffusion Raman en surface améliorée (SERS) et à la résonance Plasmon de surface (SPR). Les nanoparticules métalliques ont une large considération en raison de sa demande dans la variété des domaines, y compris les sciences biomédicales, l'industrie chimique, l'électronique, la livraison de médicaments-gène et biocapteur, etc. [1]. Actuellement, un grand nombre des produits chimiques et physiques .Des approches sont disponibles pour synthétiser divers types de Nanoparticules métalliques, mais elles sont seulement limitées. Il y a plusieurs problèmes qui se posent lorsque les nanoparticules sont synthétisées par des méthodes chimiques qui comprennent l'utilisation de produits chimiques toxiques et dangereux par les produits. Cependant, la synthèse de nanoparticules métalliques à travers la voie verte est une méthode écologique et rentable sans utilisation de produits chimiques difficiles [2]. Parmi de nombreuses nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent Colloïdal ont suscité leurs propriétés mécaniques et biologiques avec des technologies de pointe [3]. Spécialement, Les nanoparticules d'argent ont récemment été trouvées potentiellement utiles dans les capteurs de gaz et les cellules solaires à colorant [4]. Cependant, des preuves limitées seulement accessibles pour la synthèse verte des nanoparticules d'argent colloïdal et son rôle dans la dégradation du colorant photocatalytique. Ceci est principalement obtenu par l'utilisation d'extraits de plantes ou de fruits [5] et de bios organismes [6].

Ces méthodes vertes sont peu coûteuses, rapides, efficaces et 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. Ces caractéristiques dépendent principalement des paramètres du processus, tels que la nature de l'extrait végétal et les concentrations relatives de l'extrait et du (s) sel (s) métallique (s), le pH, la température et le temps de réaction, ainsi que le taux de mélange de l'extrait végétal Et sel (s) métallique (s) [7].

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail est d'étudier la possibilité de synthèse de nanoparticules d'argent colloïdal à l'aide d'extrait des feuilles de grenadier et verveine , et caractérisation de ces nanoparticules par, UV visible, diffusion dynamique de la lumière

(DLS) , présentent activités antimicrobienne .

Le mémoire décrivant ce travail est entamé par cette introduction générale qui donne une idée sur l'importance du thème abordé tout en exposant clairement l'objectif visé.

Dans le chapitre I, est consacrée à une étude bibliographique sur Nanoparticule, et argent colloïdale Où nous avons présenté une synthèse sur les d'argent colloïdale : Méthode de synthèse, les propriétés, la caractérisation et applications de l'argent colloïdale. Le chapitre II, traite la synthèse verte des nanoparticules d'argent à partir de l'extrait des feuilles de grenadier et verveine.

Le chapitre III, présente la méthode de préparation et chapitre IV les résultats et discussions obtenus au cours de ce travail. Une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus au cours de ce travail et les perspectives.

CHAPITRE I :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Depuis la découverte des particules fines comme les nanoparticules, l'homme a utilisé ces produits dans plusieurs secteurs industriels et créé une nouvelle technologie. Dans ce chapitre nous allons définir la nanoparticule des exemples utilitaires d'utilisation les nanoparticules l'argent colloïdale et ses secteurs. De plus nous classerons les nanoparticules. Enfin nous définirons les propriétés de nanoparticules Ag colloïdale et citerons leurs applications [8].

I- Nanoparticules d'Argent colloïdal

I.1 - Définition d'une nanoparticule

Selon la commission européenne (2013), le nanomatériau est défini comme un matériau naturel accessoire ou manufacturé contenant des particules ayant au moins une dimension entre 1-100 nm à l'état non lié ou comme agrégat Ces matériaux peuvent être de différentes dimensions : 0D, 1D, 2D ou 3D (Figure I.1) [9]

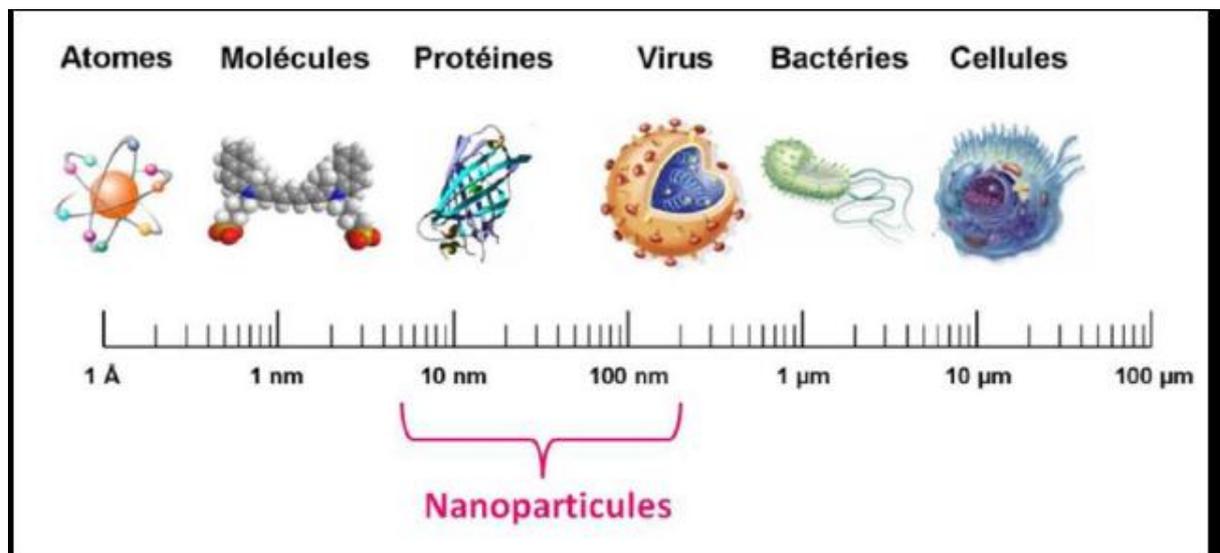


Figure I.1 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques [9].

I.2- Origine des nanoparticules

I.2.1- Nanoparticules naturelles

Un grand nombre de nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans l'environnement (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion). Parmi elles, on note les imogolites et allophanes, nanoparticules naturelles qui se présentent sous la forme de tubes (imogolites) ou une forme décrite comme sphérique mais dont la structure reste imprécise (allophanes). Les imogolites et allophanes sont des aluminosilicates structurés à courte distance résultant de l'altération de verres et de cendres volcaniques [10].

I.2.2- Nanoparticules artificielles (industrielles ou manufacturées)

Elles sont produites intentionnellement à l'échelle industrielle par l'homme .A l'aide de différents matériaux tels que les oxydes métalliques, les métaux, le carbone, les polymères et les lipides [11].

I.2.3- Les nanoparticules accidentelles

Elles proviennent des procédés chauds par exemple : Feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage [12].

I.3-Généraliste sur l'argent colloïdal

I.3.1- Propriétés de l'Argent

I.3.1.1- Propriétés chimiques

L'argent est l'un des éléments de base qui composent notre planète. C'est un élément rare, mais naturel, un peu plus que l'or et très ductile et malléable. L'argent pur a la plus haute conductivité électrique et thermique de tous les métaux et a la plus faible résistance de contact [13].L'argent peut être présent dans différents états d'oxydation: Ag^0 , Ag^{2+} , Ag^{3+} . Ces derniers sont les plus abondants, ces derniers étant instables dans l'environnement aquatique

L'argent métallique lui-même est insoluble dans l'eau, mais les sels métalliques tels que l'AgNO₃ et l'AgCl sont solubles dans l'eau [14]. L'argent métallique est utilisé pour la prothèse et les attelles, les fongicides et le calage.

Des composés d'argent solubles tels que des lames d'argent ont été utilisés dans le traitement de la maladie mentale, de l'épilepsie, de l'addiction de nicotine, de la vascularité et ses maladies infectieuses, y compris la syphilis et la gonorrhée [15].

I.3.1.2-Propriétés physiques

L'argent (Ag) est le deuxième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique, c'est un métal noble plus réactif que l'or. Sa résistance mécanique peut être améliorée par addition de cuivre. Il a une excellente conductivité, propriété utilisée en électronique. L'argent métallique se déforme facilement à froid, par martelage ou par étirement et il se cisèle facilement. Les sels d'argent sont photosensibles et sont utilisés en photographie [16] Le Tableau01 montre les propriétés caractéristiques de l'argent.

Propriété	Ag
Configuration électronique	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹
Numéro atomique- poids	47 – 107.87
Structure cristalline	CFC
Densité (g/cm ³)	10.5
Rayon atomique (nm)	0.153
Première énergie d'ionisation (kJ mol ⁻¹)	758
Vitesse de Fermi (m/s)	1.39 10 ⁶
Energie de Fermi (eV)	5.49
Résistivité électrique (μΩcm)	1.59 (20°C)
Température de fusion (K)	1235.43
Température d'ébullition (K)	2485
Conductivité thermique (W m ⁻¹ K ⁻¹)	429
Conductivité électrique (S m ⁻¹)	63 10 ⁶
Potentiel standard (V)	0.779 (Ag ⁺ /Ag)
Electronégativité	1.93

Tableau I.1: Propriétés et caractéristiques de l'Argent [16].

I.3.1.3-Propriétés biologiques

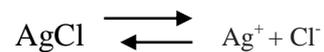
Les composés d'argent ont révélés une efficacité contre les bactéries aérobies et anaérobies en précipitant les protéines cellulaires bactériennes et en bloquant le système respiratoire microbien selon [17].

I.3.2- Formes d'utilisation de l'argent en thérapeutique

On distingue 4 formes principales : les sels d'argents solubles dans l'eau, les solutions de particules d'argent sous forme colloïdale non dissoutes, en suspension stable, les composés organiques peu solubles et l'argent métallique solide en bloc ou pulvérisé (poudre argentique). On s'intéressera particulièrement à la forme colloïdale.

I.3.2.1- Sels d'argent :

Les sels d'argent, au niveau d'une plaie par exemple (pansement, dispositif médical), vont être immédiatement solubilisés par les exsudats. Ces derniers vont précipiter avec les Anions présents dans les plaies (généralement Cl⁻) et former un précipité peu soluble (AgCl). Il se formera alors un équilibre régi par la température :



L'argent sous forme de sel AgCl n'aura aucune action bactéricide.

Les sels d'argent sont essentiellement retrouvés dans les dispositifs médicaux. On les retrouve sous forme de sels de nitrate, d'oxyde, de sulfate, de carbonate, d'acétate, de benzoate, de chlorure, de fluorure, d'iode, de lactate et de phosphate. Ils seront dispersés dans des polymères, des fibres ou juste déposés en film à la surface des dispositifs médicaux. Le relargage des ions Ag⁺ sera différent en fonction du fait qu'ils sont intégrés dans le matériau, ou déposés en film à la surface du dispositif médical [18].

I.3.2.2- Les composés organiques

Il existe de nombreux composés organiques contenant de l'argent sur le marché comme l'oxalate d'argent utilisé dans le traitement. La capacité de l'oxyde d'argent à combattre les infections tout en favorisant de multiples aspects de la cicatrisation in vivo offre une nouvelle alternative aux pansements antimicrobiens actuellement disponibles. Un autre mécanisme par lequel l'oxalate d'argent peut favoriser la cicatrisation des plaies est sa capacité à augmenter les niveaux d'oxygène dans les tissus de la plaie [19].

La sulfadiazine argentique est également un composé organique, La sulfadiazine d'argent s'avère être un agent antimicrobien topique très efficace pour le contrôle des infections des brûlures [20].

I.3.2.3- L'argent sous forme métal

L'argent s'oxyde spontanément à l'air libre ou au contact de l'oxygène qui y est dissous sécrétions; Cette oxydation provoque la formation d'oxyde d'argent, Ag₂O, à partir duquel, il est produit.

Des ions d'argent sont libérés :

L'argent se trouve généralement sous forme de métal sous forme de nanoparticules dans les dispositifs médicaux. Il affiche des propriétés antibactériennes améliorées grâce à sa structure

cristalline et son faible rapport volume/surface. L'argent métal permet une libération contrôlée et continue des ions argent dans le milieu.

Les oxydes d'argent suscitent de plus en plus d'intérêt dans les applications médicales pour leur potentiel antibactérien et antimicrobien exceptionnel. Des études récentes indiquent que le nano oxyde d'argent a des effets anti-inflammatoires remarquables, favorise la cicatrisation des plaies et est un nouvel agent antiulcéreux [21].

I.3.2.4- Solutions d'Argent colloïdal

Un colloïde est un mélange de particules de très petite taille qui sont en suspension dans une solution liquide. La taille de ces particules est mesurée en nanomètres.

Dans le cas de l'argent colloïdal, par exemple, de minuscules particules d'argent « flottent » dans de l'eau ultra-pure. Lorsque les colloïdes sont de vrais colloïdes, les particules ne s'agglutinent pas et ne se déposent pas au fond du flacon.

Cette suspension régulière et constante des particules est un indicateur de la qualité de la solution colloïdale [22].

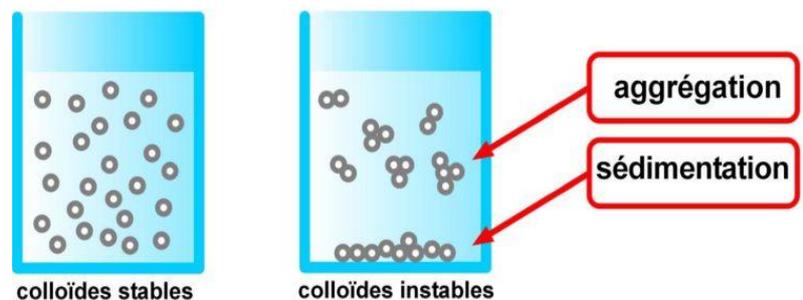


Figure I.2 : Un exemple de dispersion colloïdale stable et instable. Dans le second cas, on observe que les particules s'agrègent (aggrégation) et sédimentent (Sédimentation)

I.4.1 - Les colloïdes

Le terme "colloïde" a été employé pour la première fois par Thomas Graham en 1861. C'est un mot d'origine grecque, kolla, qui signifie "colle". Il désigne une substance composée de particules ultra fines suspendues dans un milieu différent. Ces particules peuvent être gazeuses, liquides ou solides. Le milieu peut lui aussi être gazeux, liquide ou solide. Les colloïdes ont de nombreuses formes : des particules liquides ou solides suspendues dans

un milieu liquide constituent une émulsion (lait, latex, huile dans de l'eau...); des particules liquides suspendues dans un milieu gazeux forment un brouillard ; des particules solides en suspension dans un milieu gazeux forment une fumée. Le sang et les liquides lymphatiques sont aussi des suspensions colloïdales. Pour pouvoir être utilisés par l'organisme, les nutriments doivent passer de l'état cristallin à l'état colloïdal.

Dans un système colloïdal ou une solution colloïdale, les particules doivent être insolubles : elles ne se dissolvent pas dans la solution ou la suspension.

La taille d

es particules joue un rôle essentiel pour définir le type de système dont il s'agit. En dessous de 1 nanomètre, le système tendra vers la solution "vraie" (ou "système moléculaire"). Entre 1 nm et 100 nm, le système peut être qualifié de "colloïdal".

Au-dessus de 100 nm, on aura tout d'abord des systèmes qui présentent encore la plupart des caractéristiques des colloïdes, puis on se dirige ensuite vers des suspensions de plus en plus grossières selon le tableau 1.1. On ne peut pas établir de point précis séparant les solutions vraies des solutions colloïdales parce que la transition se fait insensiblement [23].

Diameters	0,1nm	1nm	100nm	1 μ	100 μ	1 mm
Type de system	Solution varies	Solution colloidal		emulsions et suspensions → particules de plus en plus grossières		
	region de l'ultramicroscope			region du microscope		
	les particules sont animées d'un mouvement brownien**				pas de mouvement brownien visible	
	les particules passent à travers le papier-filtre ordinaire				les particules sont retenues par le papier-filtre ordinaire	
	les particules font preuve d'une solubilité accrue				les particules ont une solubilité normale	

Tableau I.2- Caractéristiques des colloïdes [23].

I.4.2 L'argent colloïdal

L'argent colloïdal est un type de colloïde consistant en particules solides (argent) en suspension dans un liquide (eau distillée ou désionisée). La plupart des produits commerciaux contiennent en fait presque exclusivement (de 80 à 95 %) une autre forme d'argent appelé "ions". Le terme "argent colloïdal" employé pour désigner tous les produits commerciaux courants est donc en fait impropre du point de vue scientifique.

I.4.3- Ion d'argent

L'ion d'argent est un atome d'argent auquel il manque un électron. De ce fait, ayant perdu une charge négative (électron), l'ion d'argent est porteur d'une charge positive et devient soluble (cette solubilité est limitée et peut se mesurer). L'argent dissout n'est plus métallique et demeure invisible même sous le microscope le plus puissant ; contrairement à l'argent colloïdal, il ne reflète pas la lumière. Les particules d'argent métallique qui forment l'argent colloïdal sont porteuses d'une charge négative et non positive comme les ions [23].

I.5- Caractéristiques des solutions d'argent colloïdal

I.5.1-Taille des particules

Le principal critère de qualité et d'efficacité d'une solution d'argent colloïdal est la taille de ses particules. Il y a une relation étroite entre la taille des particules et l'efficacité du produit.

➤ Les particules colloïdales doivent être suffisamment fines pour ne pas s'agglutiner entre elles. En effet, au-delà d'une certaine taille, elles sont attirées les unes vers les autres et cherchent à s'unir. Ce phénomène peut alors faire "boule de neige", jusqu'au moment où l'argent précipite et se dépose au fond de la solution sous l'action de la pesanteur. Bien sûr, plus il y a d'argent qui précipite, plus le produit perd de son efficacité [24].

➤ Outre le phénomène de précipitation mentionné ci-dessus, la taille des particules détermine aussi leur surface de contact avec les micro-organismes, et celle-ci détermine à son tour une grande partie de la valeur thérapeutique du produit. Plus les particules sont fines, plus leur surface de contact est étendue et plus elles seront à même de pénétrer et de se disperser dans les tissus. En d'autres termes, pour augmenter la capacité germicide d'une quantité d'argent donnée, il faut exposer à l'eau une surface de métal maximum. Ceci s'obtient en fragmentant l'argent en particules les plus fines possibles. Ainsi donc, un produit de haute qualité contiendra un maximum de particules de la taille la plus petite possible.

Dans un produit ancien comme le collargol, la taille moyenne des particules était de 20 nm. Les meilleurs produits actuels ont des particules dont la taille descend en dessous du nanomètre. Pour donner une idée de ce que cela représente, l'un des virus les plus minuscules, le virus du rhume (rhinovirus) a une taille de 20 nm.

I.5.2-Concentration

La quantité réelle d'argent dans une solution colloïdale se mesure en milligrammes par

Litre. Dans la pratique, on utilise le plus souvent une mesure équivalente : les parties par million (ppm). Ceci désigne le nombre de parties d'argent (en poids) pour chaque million de parties d'eau. Par exemple, 10 parties par million signifie 10 parties d'argent pour un million de parties d'eau (note 10 ppm), et équivaut à 10 mg/l.

D'après l'expérience des utilisateurs et des fabricants, et d'après les tests effectués en laboratoire, il semble qu'aucune affection ne nécessite de concentrations supérieures à 30 ppm. La plupart des solutions commerciales ont une concentration de 5, 10 ou 20 ppm.

Comme on l'a expliqué précédemment, plus les particules sont petites, plus la solution est Efficace, pour une quantité d'argent équivalente. Ingérer, par exemple un morceau d'argent Métallique d'un milligramme n'aurait pas beaucoup d'effet. Par contre, si ce milligramme Était divisé en un million de particules d'argent, il serait beaucoup plus efficace parce que chaque particule d'argent s'attaque à un micro-organisme pathogène. Donc, à concentration égale, ce produit est un million de fois plus efficace que le précédent. C'est pourquoi il n'est pas nécessaire d'avoir de fortes concentrations si l'argent est divisé en un nombre maximum de particules. En outre, plus la concentration des particules augmentent, plus ces particules ne vont

Avoir tendance à s'agglomérer, et finalement à précipiter. Si bien qu'au-delà de 50 ppm, la Solution nécessiterait un stabilisant qui en réduirait l'efficacité [24].

I.5.3-Qualité de l'eau

L'argent colloïdal doit être préparé avec une eau de haute qualité (double ou triple distillation ou désionisation). En effet, si l'eau utilisée contient trop de solides dissous, les ions d'argent produits vont se combiner avec ces solides pour former des sels d'argent potentiellement toxiques. En outre, une telle eau possède une conductivité trop élevée qui engendre la formation de grosses particules. L'eau du robinet, l'eau minérale et même une eau filtrée par osmose inverse sont donc proscrites.

Les chercheurs qui ont étudié les propriétés et la structure de l'eau ont même conclu que L'eau distillée était une eau "morte" et qu'il fallait lui préférer une eau non dénaturée par la Chaleur, l'eau des ionisée.

I.5.4-Qualité des électrodes

Les électrodes doivent elles aussi être d'un degré de pureté suffisant pour éviter la formation d'ions plus ou moins toxiques. La pureté conseillée est généralement de 99.99 %, mais 99.9 % semble aussi très acceptable comme le montre l'expérience effectuée par Peter Lindemann.

I.5.5-Couleur

Un indicateur simple, mais fondamental, la qualité d'une solution ionique d'argent colloïdal est la couleur qu'elle présente. En fait, il faudrait plutôt dire l'absence de couleur, puisque les meilleurs produits sont parfaitement incolores. A mesure qu'augmente la concentration et/ou la taille des particules, on voit apparaître une certaine teinte : jaune pâle, puis or, brun, rouge et noir. Le brun, rouge et noir indiquent des produits de qualité inacceptable. Il faut noter que les suspensions colloïdales métalliques décrites plus loin (Mesosilver, Advanced Colloidal Silver) présentent naturellement une couleur brune [25].

I.5.6-Stabilité, conservation

Au bout d'un temps plus ou moins long, les particules d'argent finissent par perdre leur charge électrique et précipitent. Pour prolonger la durée de vie du produit, il est bon de le conserver dans des récipients en verre. Le plastique réagit avec les particules porteuses d'une charge électrique qui finissent par précipiter. En outre, l'exposition à la lumière dégrade rapidement la solution. Des récipients en verre colore (brun ou bleu-cobalt) permettent de minimiser ce phénomène [25].

I.6- Mécanismes d'action de l'argent colloïdal

Selon l'Immunologique Research Foundation, « L'argent colloïdal détruit bactéries, virus et autres microbes d'au moins 3 manières menant à la désactivation définitive de l'ADN et des Protéines de la bactérie, sans dommages sur les tissus :

I.6.1-Désactivation des enzymes des bactéries

Les nanoparticules d'argent peuvent se lier à des protéines, formant des complexes avec des donneurs électroniques contenant des atomes d'oxygène, de phosphore, d'azote ou de soufre. C'est l'interaction avec les groupes thiol qui est la mieux décrite dans la littérature. Ainsi, les nanoparticules d'argent conduisent à l'inactivation d'enzymes et de protéines liées à la membrane par interaction avec des liaisons disulfure et le blocage du site actif [26].

I.6.2-Perturbation des protéines membranaires externes des organismes pathogènes :

Les nanoparticules d'argent sont capables d'interagir physiquement avec la surface cellulaire de diverses bactéries. C'est notamment le cas des bactéries Gram-négatives où de nombreuses études ont été observées sur l'adhésion et l'accumulation d'AgNPs à la surface des bactéries. Les nanoparticules d'argent ont la capacité de s'ancrer dans la paroi cellulaire bactérienne et de la pénétrer par la suite, provoquant ainsi des changements structurels dans la membrane cellulaire, ce qui rend les bactéries plus perméables. Les AgNPs s'accumulent sur la cellule membranaire crée des lacunes dans l'intégrité de la bicouche qui la prédispose à une augmentation de la perméabilité et finalement à la mort cellulaire bactérienne [27].

I.6.3-Inhibition de la reproduction des bactéries par association avec leur ADN

Les ions d'argent peuvent également interagir avec des composés contenant du phosphore (par exemple, l'ADN). L'interférence avec les processus de réplication de l'ADN, qui arrête la prolifération bactérienne et diminue le nombre de cellules au fil du temps, est également mentionnée par d'autres auteurs comme conséquence de l'exposition aux ions argent se dissolvant des nanoparticules d'argent [28].

I.7- Méthodes de synthèses de l'argent colloïdal

I.7.1-Synthèse physique des AgNPs

La synthèse physique des AgNPs excelle dans la production d'une distribution uniforme

et équitable des AgNPs préparés sur un film mince en raison de l'absence de contamination par le solvant. Méthode de condensation de vapeur et laser l'ablation sont les approches physiques largement utilisées dans la synthèse des AgNPs. Condensation de vapeur est une méthode en deux étapes impliquant le processus d'évaporation et de condensation qui portent dans un four tubulaire à pression atmosphérique [29].

La gamme de tailles de nanoparticules obtenues à partir de cette méthode sont dans la gamme de 3 nm à 50 nm. Les inconvénients de la synthèse physique des AgNPs est-ce un processus qui prend du temps et nécessite une grande quantité d'énergie, ce qui peut également provoquer la température ambiante à augmenter. Il est également difficile d'atteindre la stabilité thermique en raison de la haute énergie, un four tubulaire typique nécessite une consommation d'énergie élevée supérieure à plusieurs kilowatts et un temps de préchauffage de plusieurs minutes afin d'atteindre une température de fonctionnement stable [30].

I.7.2-Synthèse chimique de nanoparticules d'argent

La méthode de réduction chimique implique la réduction d'AgNO₃ en solution aqueuse par un agent réducteur efficace en présence d'un stabilisant approprié, ce qui est nécessaire pour protéger la croissance des particules d'argent par agrégation. Lors de la formation de nanoparticules d'argent par le procédé de réduction chimique, certains des paramètres tels que la taille des particules et de l'agrégation état de nanoparticules d'argent sont affectées par initial AgNO₃ de concentration, un agent réducteur, AgNO₃ rapports molaires et les concentrations de stabilisant[24]. Tant des méthodes sont suggérées pour la synthèse chimique de la formation de nanoparticules d'argent; méthode de réduction chimique [31].

Méthode aux polyols et procédé radio lytique ont été développés pour la synthèse de nanoparticules d'argent. La méthode la meilleure et la plus simple pour produire des nanoparticules sans agrégation, à haut rendement et à faible coût de préparation est la méthode de réduction chimique [32].

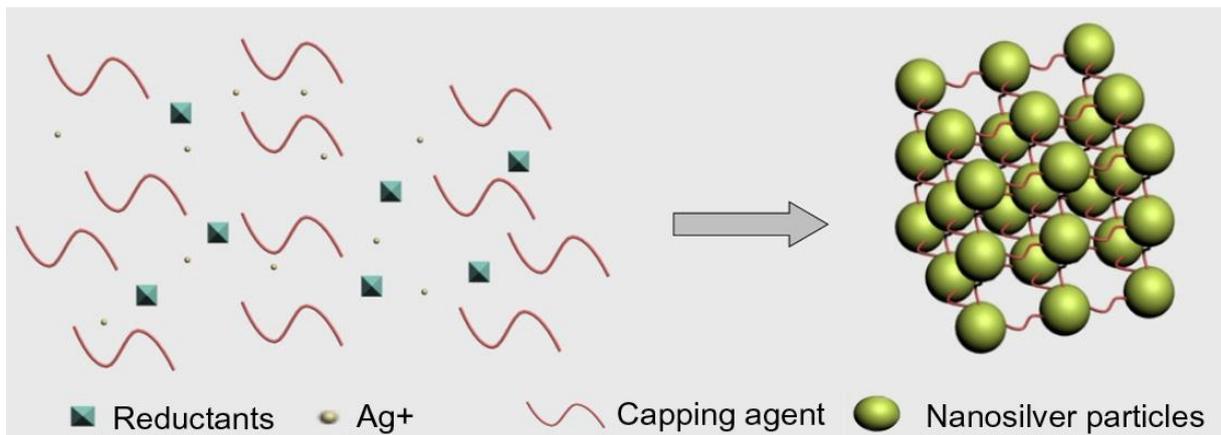
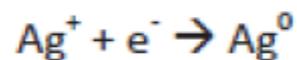


Figure I.3 : Synthèse chimique de nanoparticules d'argent

I.7.2.1-Réduction chimique d'une solution d'ions Ag⁺ :

L'argent métallique s'obtient par réaction d'oxyde réduction de l'ion argent selon la réaction suivante :



Cette réaction de base peut s'effectuer à partir de différents sels, dans différents milieux et selon différentes méthodologies. Le choix de l'agent réducteur est également important. Il peut aussi bien être toxique et présenter des dangers pour l'environnement et la santé.

Le tableau suivant regroupe les différents travaux utilisant la réduction chimique en solution pour synthétiser des nanoparticules d'argent [33].

Solvant	Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et taille des particules
Eau	NH ₂ OH, HCl (Chlorhydrate d'hydroxylamine)		Nanosphères
	Citrate de Sodium	Citrate de Sodium	Nanofils ou nanosphères 50-100 nm
	Réactif de Tollens		Nanosphères
	Nickel de Raney		Structure squelette (porcuse) d'Ag
	NaBH ₄	Dodécane-thiol	Nanosphères 2-7 nm
	Ethylène glycol	PVP	Nanofils 30-60nm
	Ethylène glycol	PVP	Nanocubes
	Genamin T020 (agent tensio-actif non ionique)	Vésicules multilamellaires	Nanosphères 3-9,6 nm
	Ion phosphotungstate	Ion phosphotungstate	Réseau de nanoparticules
Organique	Diméthylacétamide	PEG	Nanosphères
	DMF	PVP	Nanoprismes et nanosphères
	Acétonitrile	Tétrathiafulvalène	Nanoparticules dendritiques
	Acide ascorbique	Micelles sous forme de tige	Nanotriangles
	Radicaux libres obtenus par sonication	AAO	Nanofils

Tableaux I.3 - Réduction chimique de l'argent en solution

I.7.3-Méthode biologique (Synthèse verte)

Pour la production de nanoparticules métalliques, il existe trois composants importants qui sont les suivants : l'agent réducteur, l'agent stabilisant et le milieu solvant pouvant être utilisé pour la stabilisation du métal d'intérêt 24 La biosynthèse des nanoparticules est considérée comme un processus vert, car la biomasse elle-même peut agir à la fois comme agent réducteur et comme agent stabilisant. De plus, la plupart des approches de biosynthèse à médiation végétale pourraient être réalisées en milieu aqueux à la place de solvants organiques, ce qui est un autre avantage et apparemment plus écologique et rentable. La popularité croissante des méthodes vertes a déclenché la synthèse d'AgNPs à l'aide de

différentes sources, comme des bactéries, des champignons, des algues et des plantes, entraînant une production à grande échelle avec moins de contamination. La synthèse verte est un procédé respectueux de l'environnement et biocompatible généralement réalisé en utilisant un agent de coiffage/stabilisant (pour contrôler la taille et empêcher l'agglomération), extraits de plantes, levures ou bactéries [34].

I.7.3.1-Synthèse d'AgNPs en utilisant des bactéries

Les matières inorganiques sont produites par des bactéries extra ou intracellulaires. Cela en fait des bio-usines potentielles pour la formulation de NP de métaux nobles comme l'or et l'argent, comme le montre la figure I.4. Les Ag-NPs sont connues pour être biocompatibles, mais certaines bactéries sont connues pour être résistantes à l'Ag [34].

Par conséquent, ces bactéries peuvent agréger Ag sur les parois cellulaires, recommandant ainsi leur utilisation dans la récupération industrielle d'Ag à partir de minerais. Initialement, Klaus et al ont rapporté que les AgNPs ont été synthétisées en utilisant des souches bactériennes résistantes à l'Ag *Pseudomonas stutzeri* AG259. Ces cellules accumulent des Ag-NPs en grande quantité jusqu'à 200 nm. Les AgNPs ont été synthétisés par Shivaji et al en utilisant des surnageant de culture de bactéries psychrophiles. Kalimuthu et al ont illustré la synthèse d'AgNPs par *Bacillus licheniformis*, où la solution aqueuse d'AgNO₃ ajoutée à la biomasse de *B. licheniformis*, le changement de couleur du jaune blanchâtre au brun indique la formation d'AgNPs avec la gamme de tailles de 50 nm et ont été stabilisés par une enzyme nitrate. Les Ag-NPs ont également été synthétisées par Nanda et Saravanan à l'aide de surnageant de culture de *Staphylococcus aureus*. Cependant, pour une synthèse rapide des AgNPs, les surnageant de culture de diverses bactéries d'entérobactéries peuvent être utilisés. [35].

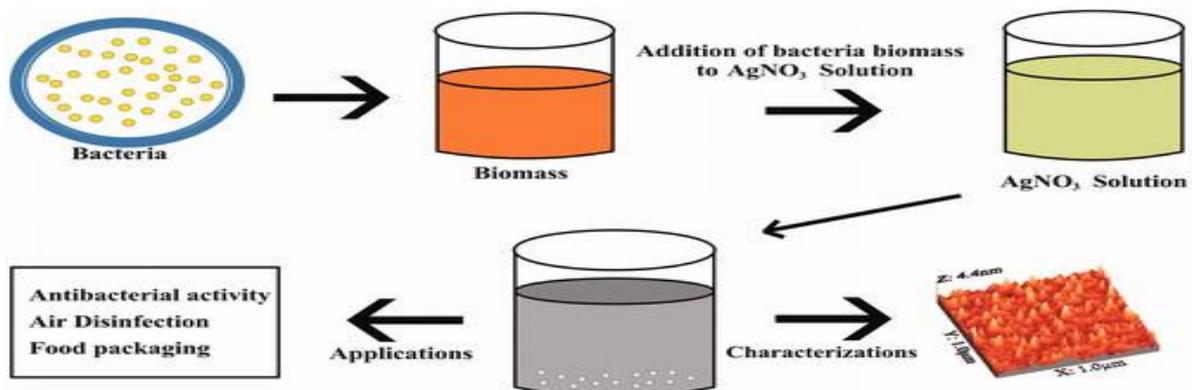


Figure I.4: Schéma de principe de la synthèse des Ag-NPs en utilisant des bactéries

I.7.3.2-Synthèse d'Ag-NPs à l'aide de champignons

Dans la synthèse des nanoparticules, l'utilisation de champignons est un ajout relativement récent à la liste des micro-organismes. En comparaison avec les champignons et les bactéries, les champignons ont la capacité de produire de plus grandes quantités de nanoparticules car ils peuvent sécréter d'énormes quantités de protéines qui se transforment directement en une productivité plus élevée de nanoparticules [36].

La production de nanoparticules d'argent par les champignons suivrait ce qui suit étapes : piégeage des ions Ag^+ à la surface des cellules fongiques et la réduction subséquente des ions argent par les enzymes présentes dans le système fongique. Une synthèse prometteuse de nanoparticules apparaît par l'utilisation d'enzymes spécifiques sécrétées par les champignons. Cela conduirait à la possibilité de modifier génétiquement des micro-organismes pour surexprimer des molécules réductrices spécifiques et des agents de coiffage et, ainsi, contrôler la taille et la forme des nanoparticules biogéniques. Le principal avantage de la production de nanoparticules extracellulaires à partir de champignons est qu'une grande quantité d'enzyme qui est à l'état pur et exempt de protéine cellulaire peut être facilement appliquée pour le processus en aval simple [37].

I.7.3.3-Synthèse d'Ag-NPs à l'aide de plantes et d'extraits de plantes

Ont illustré que la première approche de l'utilisation de plantes pour la synthèse de NP métalliques a été réalisée en utilisant des germes de luzerne, qui était la première description de la synthèse d'Ag-NPs à l'aide d'un système végétal vivant. Les racines de luzerne ont la capacité d'absorber l'Ag du milieu gélosé et de les faire voyager dans les pousses de plantes dans le même état d'oxydation. Dans les pousses, ces atomes d'Ag se sont arrangés pour produire des Ag-NPs.

L'utilisation d'extrait végétal en synthèse verte a stimulé diverses investigations et étudiées jusqu'à présent. Il a été démontré que la formation de NP métalliques à l'aide d'extraits de plantes pouvait être terminée dans la solution de sel métallique en peu de temps à température ambiante en fonction de la nature de l'extrait de plantes. Après la sélection de l'extrait de plante, les principaux paramètres affectant sont la concentration de l'extrait, la température, le sel métallique, le pH et le temps de contact [37].

Outre les paramètres de formation, la question principale est la sélection de la plante à partir de laquelle l'extrait pourra être utilisé. Les avantages de l'utilisation de plantes pour la formation de NP sont que les plantes sont facilement accessibles et sûres à manipuler et ont une large gamme d'agents actifs qui peuvent faire progresser la réduction des ions Ag. Principalement les parties de la plante comme les racines, le latex, la tige, les graines et les feuilles sont utilisées pour la synthèse des NP [38].

Le point intéressant est l'agent actif présent dans ces parties, qui permet la stabilisation et la réduction et les extraits de plantes incorporent des biomolécules qui agissent à la fois comme agent réducteur et stabilisant qui produisent des NP stables et à forme contrôlée. Les principaux composés qui influencent la réduction et le coiffage des NP sont les biomolécules, c'est-à-dire les terpénoïdes, les polysaccharides, les composés phénoliques, les alcaloïdes, les flavones, les acides aminés, les composés alcooliques, les enzymes et les protéines.

Pour la production de nanoparticules métalliques, il existe trois composants importants qui sont les suivants : l'agent réducteur, l'agent stabilisant et le milieu solvant pouvant être utilisé pour la stabilisation du métal d'intérêt [39].

La biosynthèse des nanoparticules est considérée comme un processus vert, car la biomasse elle-même peut agir à la fois comme agent réducteur et comme agent stabilisant. De plus, la plupart des approches de biosynthèse à médiation végétale pourraient être réalisées en milieu aqueux à la place de solvants organiques, ce qui est un autre avantage et apparemment plus écologique et rentable [40].

1.7.3.4-La bioréduction (mécanisme)

Les produits chimiques utilisés lors de ces synthèses sont souvent toxiques, couteux et non respectueux de l'environnement.

Depuis quelques années la communauté scientifique étudie plutôt les organismes vivants

Comme bi-réacteurs pour fabriquer les nanoparticules [41].

La bio réduction est une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que les ressources suffisantes des matières premières, les conditions de réaction bénigne, l'obtention des nanoparticules présentant une distribution fine des tailles des particules ainsi que l'utilisation de peu d'additifs chimiques toxiques. Cette méthode de préparation des

nanoparticules d'argent peut se faire par voie enzymatique ou non enzymatique [42].

Depuis quelques années la communauté scientifique étudie plutôt les organismes vivants (bactéries, champignons, plantes, levures...) comme bi-réacteurs pour fabriquer les nanoparticules. En outre, la réduction biologique est développée comme une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que des sources suffisantes de matériaux, des conditions de réaction modérées, et une bonne dispersion de nanoparticules ainsi que l'absence d'additifs chimiques et de sous-produits chimiques [43].

Réducteur	Agent stabilisant	Morphologie et tailles des particules
Peptide	Peptide	Nanohexagones, nanosphères et nanotriangles
Plantes de luzerne	Tissus de luzerne	Nanosphères et nanofils
Feuille de Géranium	Protéines ou enzymes	Nanosphères et nanotiges
Souche de levure	Protéines	Nanosphères 2–5 nm
Champignon	Protéines ou enzymes	Nanosphères 5–15 nm
Feuille de Neem	Flavanones, terpènes	Nanosphères 5–35 nm

Tableau I. 4 -Principaux réducteurs et stabilisants biologique des nanoparticules.

I.7.5- Molécules responsables de la bio réduction

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 biopolymers. L'eau est le plus souvent le solvant de choix pour extraire les agents réducteurs.

Pour le cas des plantes il a été démontré que les terpenoïdes, les alcaloïdes, les sucres, les protéines et les poly phénols jouent un rôle important dans la bio réduction des ions métallique, La synthèse est généralement effectuée en utilisant l'extrait aqueux des plantes.

La figure suivante illustre les principaux types de composés présents dans les plantes capables de réduire les ions métalliques [44].

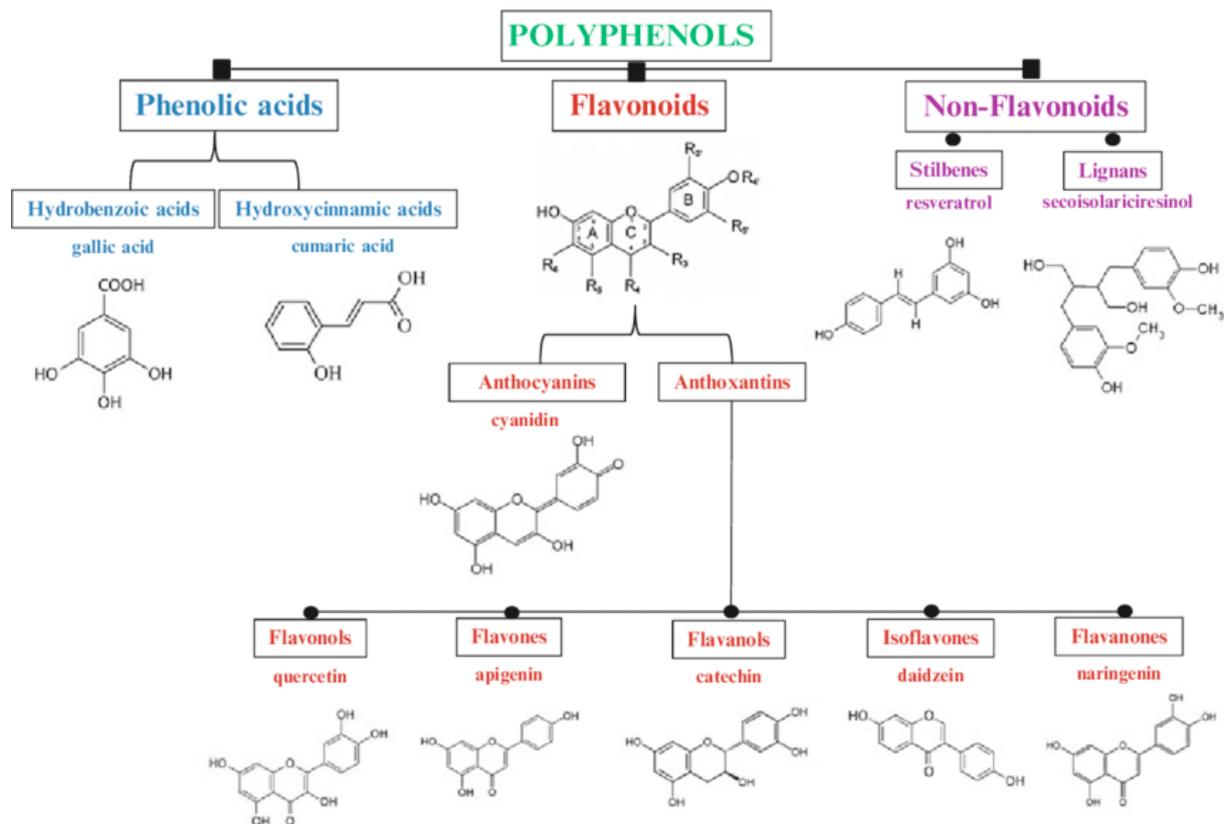


Figure I .5 Principaux bio-réducteurs présents dans les plantes

I.8- Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent

Le processus de formation des nanoparticules en solution est très complexe, de nombreux Paramètres étant susceptibles d'intervenir. Cependant, il est souvent vu comme la succession de plusieurs étapes. Donc il y a plusieurs facteurs impliqués dans la formation de nanoparticules telles que la température, la concentration et la nature des réactifs et du réducteur. [45].

I.8. 1- La nucléation

Les précurseurs métalliques sont dissous puis réduits pour donner des atomes métalliques de valence zéro. 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. La formation de nucléé entraîne après un certain temps, une diminution de la sursaturation. Par conséquent le taux de nucléation diminue et le nombre de particules dans le système devient constant

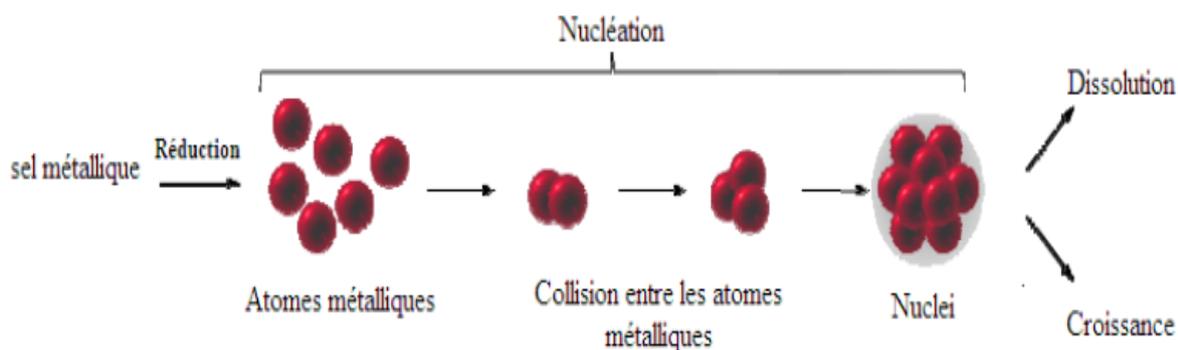


Figure I.6: Illustration de l'étape de nucléation [45].

I.8.2- Le mûrissement

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 mûrissement d'Oswald. Il s'agit de l'inter diffusion des atomes des plus petites particules vers les plus grosses [45].

I.8.3 - La croissance

Les nucléé ayant atteint un rayon critique vont pouvoir croître par consommation des monomères se trouvant en solution. Cette étape de croissance est thermodynamiquement favorisée. Plus la concentration en atomes est importante plus les particules vont croître rapidement [46].

I.9 - stabilisation des nanoparticules d'argent

Mécanismes de stabilisation des nanoparticules d'or Pour éviter l'agrégation des NPs d'argent de leur préparation, l'utilisation d'un agent stabilisant dans le milieu réactionnel est nécessaire. De plus, la présence d'un agent stabilisant à la surface d'or a pour effet de contrôler la taille et la forme des particules. Trois mécanismes de stabilisation sont proposés : la stabilisation électrostatique, la stabilisation stérique et la stabilisation « électro stérique » (la somme des deux mécanismes précédents)

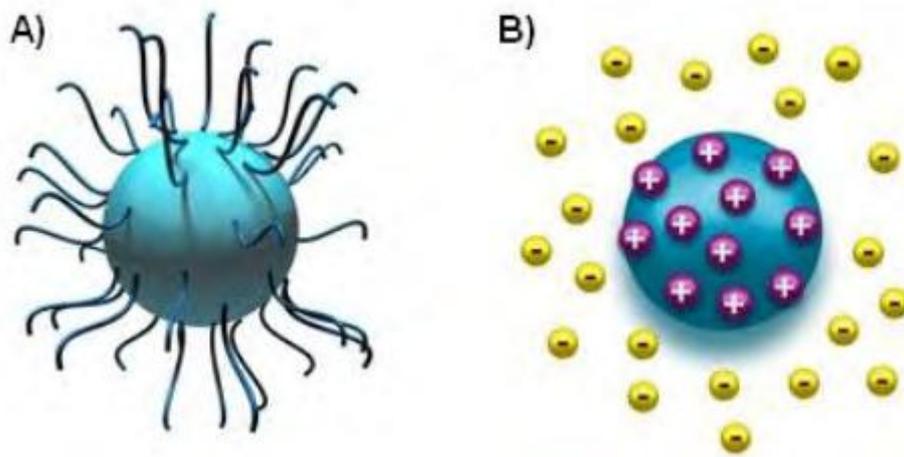


Figure I.7 Représentation schématique de la stabilisation stérique (A) et électrostatique (B).

Il est bien connu que les nanoparticules sous leur forme libre sont thermodynamiquement instables en raison de l'énergie de surface élevée. Dû au mouvement brownien, les nanoparticules à haute énergie de surface entrent en collision et l'état final des nanoparticules est dicté par le type d'interaction entre les nanoparticules colloïdales. Lorsque l'interaction entre les nanoparticules est dominée par forces, les particules colloïdales adhéreront les unes aux autres jusqu'à ce que la stabilisation des particules se produit.

Quand les forces répulsives dominent entre les nanoparticules, les particules colloïdales sont plutôt stables dans l'état dispersé. Les forces de Van der Waal sont la principale source d'attraction entre les particules colloïdales. Quand fort répulsif la force (répulsion née) contrecarre l'attraction van der Waal, les nanoparticules restent à l'état dispersé les forces répulsives peuvent être renforcées par la répulsion de charge et l'encombrement stérique [47].

I.10- Facteurs influent sur la formation de NPS métalliques dans les plantes

I.10.1- Effet de la température

La température est un autre paramètre important qui affecte la synthèse des nanoparticules en utilisant les trois méthodes. La méthode physique nécessite la température la plus élevée (>350 °C), tandis que les méthodes chimiques nécessitent une température inférieure à 350 °C. Dans la plupart des cas, la synthèse de nanoparticules utilisant la

technologie verte nécessite des températures inférieures à 100°C ou à température ambiante. La température du milieu réactionnel détermine la nature de la nanoparticule formée [48].

I.10.2- Effet du pH

Le pH est un facteur important qui influence la synthèse de nanoparticules par des méthodes de technologie verte. Les chercheurs ont découvert que le pH du milieu en solution influence la taille et la texture de la nanoparticule synthétisée. Par conséquent, la taille des nanoparticules peut être contrôlée en modifiant le pH du milieu de solution.

L'effet du pH sur la forme et la taille de la nanoparticule d'argent synthétisée a été démontré par Soni et Prakash [49].

I.10.3- Effet du temps de contact

La qualité et le type de nanoparticules synthétisées à l'aide de la technologie verte sont fortement influencés par la durée d'incubation du milieu réactionnel. De même, les caractéristiques des nanoparticules de synthèse ont également été modifiées avec le temps et fortement influencées par le procédé de synthèse, l'exposition à la lumière, et les conditions de stockage, et ainsi de suite. Les variations dans le temps peuvent se produire de plusieurs manières telles que l'agrégation de particules en raison d'un stockage de longue durée; les particules peuvent rétrécir ou croître pendant un stockage prolongé; ils peuvent avoir une durée de conservation, etc., ce qui affecte leur potentiel [50].

I.10.4- Effet de la concentration de l'extrait végétal

Effet de la concentration de l'extrait végétal La concentration de matière végétale et les ions métalliques a joué un rôle critique dans la taille et la dispersion des NPs [51].

Chapitre II :
Activité biologique et caractérisation

II-1. Activités biologiques des nanoparticules d'argents

II.1.1- Activité anticancéreuse

Les AgNPs ont une activité anticancéreuse à large spectre via de multiples mécanismes. Nombreux des expériences in vitro et in vivo ont prouvé que les AgNPs peuvent diminuer la prolifération et la viabilité des cellules cancéreuses. Les AgNPs peuvent provoquer l'apoptose et la nécrose en détruisant l'ultra structure des cellules cancéreuses, induisant la production de ROS et de dommages à l'ADN

Les AgNPs peuvent favoriser l'apoptose par réguler à la baisse l'expression de gènes clés, tels que p53 et régulant les voies de signalisation essentielles, tels que la voie du facteur inductible par l'hypoxie (HIF) Les cellules cancéreuses traitées avec des AgNPs peuvent également montrer des cellules arrêt du cycle .Plusieurs cellules cancéreuses exposées à Les AgNPs subissent un arrêt sous-G1 et une apoptose. Outre, Les AgNPs peuvent également réduire les métastases à distance en inhibant la migration des cellules tumorales et l'angiogénèse.

De multiples mécanismes anticancéreux des AgNPs sont décrits à la **figure II.1**.

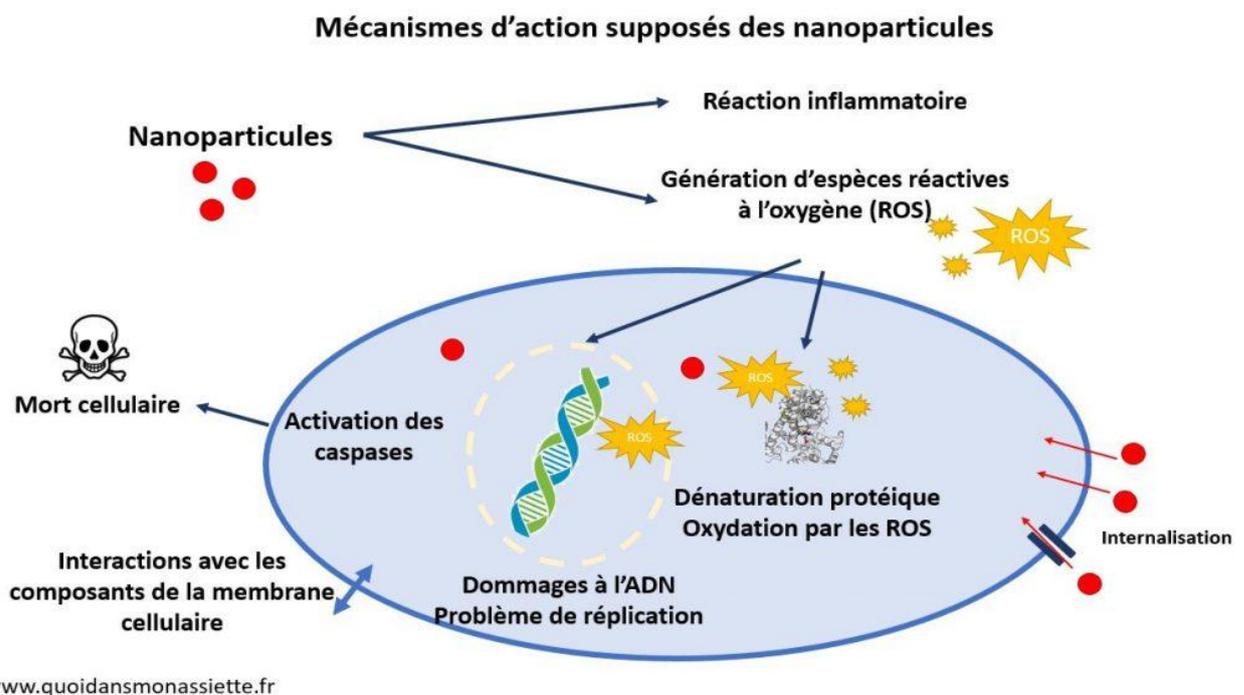


Figure II.1 : Diagramme schématisé des mécanismes anticancéreux des AgNPs. [52].

Les extraits de tige de *Tephrosia tinctoria* médient la synthèse d'AgNPs a été évaluée pour le contrôle de la glycémie. AgNPs récupérés radicaux libres, réduit les niveaux d'enzymes qui apportent sur l'hydrolyse des glucides complexes (α -glucosides et α -amylase), et à la suite de quoi il y a une augmentation en taux de consommation de glucose [53].

II.1.2- Activité anti-inflammatoire

Des études ont montré que l'exposition au NPs conduit à la sécrétion de plusieurs cytokines et chimiokines par les cellules épithéliales, conduisant à l'infiltration de macrophages dans les zones exposées. Ensuite les macrophages déclenchent la libération de cytokines inflammatoires qui induisent à la régulation positive des médiateurs inflammatoires induisent une production accrue de cytokines inflammatoires du système circulatoire vers le site de l'inflammation [54].

II.1.3- Activité antivirale

Les nanoparticules d'argent synthétisées par l'extrait végétal peuvent agir comme agent antiviral puissant pour un large éventail d'infections virales. Ont étudié l'efficacité des biosynthèses nanoparticules d'argent contre les agents pathogènes du VIH. Ils ont trouvé que ces nanoparticules ont une action anti-VIH efficace à un stade précoce du mécanisme de transcription inverse. Il est rapporté que les nanoparticules métalliques peuvent être utilisées comme antiviral puissant agent, car ils inhibent l'entrée de virus dans l'hôte système.

Le mécanisme de l'activité anti-VIH est trouvé que le métal les nanoparticules ont plusieurs sites de liaison avec lesquels se lier protéines gp120 de la membrane virale pour contrôler la fonction de virus. Ces nanoparticules bio sources se révèlent actives contre les virus acellulaires ainsi que les virus associés aux cellules. Récemment, il a été découvert que les nanoparticules d'or et d'argent sont utilisées avec succès pour l'inhibition de la post-entrée stade du cycle de vie du VIH-1, de sorte que les nanoparticules métalliques peuvent être utilisé comme médicament antiviral efficace contre les rétrovirus [55].

II.1.4- Activité antifongique

Les AgNPs ont une forte activité antifongique sur *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Trichophyton mentagrophytes* *Bipolaris sorokiniana* par l'inhibition de la germination des conidies.

Par exemple L'activité antifongique des AgNPs contre *C.albicans* pourrait être exercée en perturbant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus de bourgeonnement normal en raison de la destruction de l'intégrité de la membrane [56].

II.1.5- Activité antimicrobienne

Les AgNPs se sont avérés présenter une activité antimicrobienne prometteuse.

Les chercheurs ont utilisé plusieurs romans techniques pour confirmer et quantifier l'activité antimicrobienne des AgNPs.

II.1.5.1- Mécanisme d'activité antimicrobien :

Les quatre voies les plus importantes de l'action antimicrobienne des AgNPs :

- 1- Les AgNPs adhèrent à la surface des cellules microbiennes et entraînent des dommages membranaires et une activité de transport altérée.
- 2- les AgNPs pénètrent à l'intérieur des cellules microbiennes et interagissent avec les organites cellulaires et les biomolécules, et affectent ainsi la machinerie cellulaire respective
- 3- les AgNPs provoquent une augmentation des ROS à l'intérieur des cellules microbiennes, entraînant des dommages cellulaires.
- 4- les AgNP modulent le système de signal cellulaire, provoquant finalement la mort cellulaire. [57].

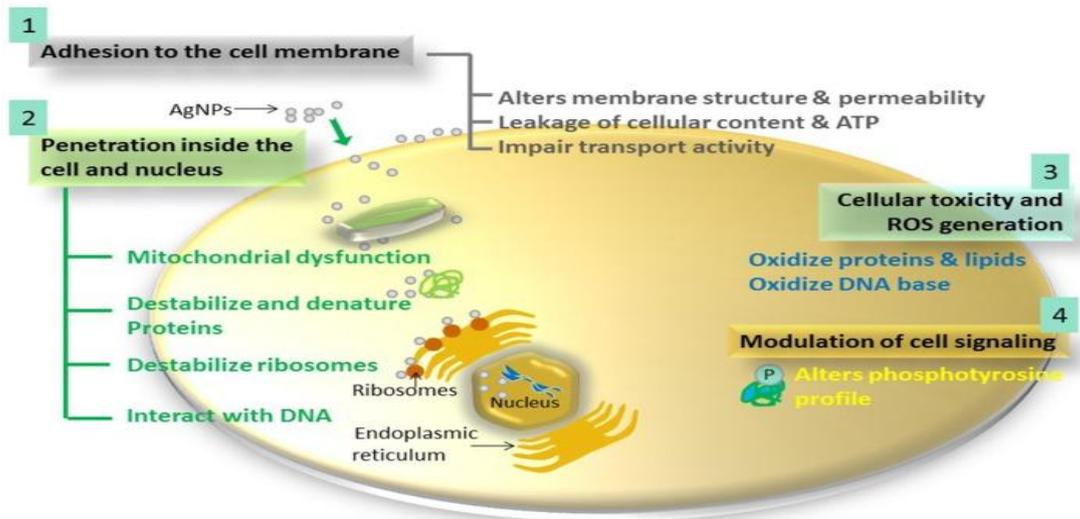


Figure II.2 : schéma mécanisme de l'activité antimicrobien. [57].

1- Adhésion des AgNPs à la surface de la paroi cellulaire et de la membrane

L'exposition des AgNPs aux micro-organismes provoque l'adhésion des nanoparticules sur la paroi cellulaire et la membrane. La charge de surface positive des AgNPs est cruciale pour l'adhésion. La charge positive confère une attraction électrostatique entre les AgNPs et la membrane cellulaire chargée négativement des micro-organismes, facilitant ainsi la fixation des AgNPs sur les membranes cellulaires. Des changements morphologiques deviennent évidents lors d'une telle interaction et peuvent être caractérisés par un rétrécissement du cytoplasme et un détachement de la membrane conduisant finalement à la rupture de la paroi cellulaire.

2- Pénétration des AgNPs à l'intérieur de la cellule et déstabilisation des structures intracellulaires et des biomolécules

Il existe plusieurs dysfonctionnements cellulaires qui résultent de l'interaction des AgNPs avec la membrane cellulaire microbienne. En premier lieu, les AgNPs ne se fixent qu'à la membrane cellulaire et modifient la structure, la perméabilité et l'activité de transport de la membrane. Dans d'autres cas, après adhésion à la membrane cellulaire, les AgNPs peuvent également pénétrer à l'intérieur des cellules et affecter le fonctionnement cellulaire vital

3- Toxicité cellulaire et stress oxydatif induits par les AgNPs

L'augmentation du stress oxydatif cellulaire chez les microbes est une indication des effets toxiques causés par les ions de métaux lourds, tels que Ag (+). Par conséquent, une concentration accrue d'ions Ag (+) devrait provoquer une augmentation du stress oxydatif cellulaire. La puissante activité antibactérienne, antifongique et antivirale des AgNPs est due à leur capacité à produire des ROS et des espèces radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion super oxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($OH\bullet$), l'acide hypochloreux ($HOCl$) et l'oxygène singlet

4- la modulation des voies de transduction du signal

Les AgNPs modulent le système de signal cellulaire, provoquant finalement la mort cellulaire [58].

II.2. Applications des nanoparticules d'argent

II.2.1- Anesthésiologie

Revêtement du masque respiratoire et du tube endotrachéal pour l'assistance vésicatoire mécanique [59].

II.2.2- Dentisterie

Les NSP ont également des applications dans les instruments dentaires et les bandages. Yoshida et al ont montré qu'un composite de résine incorporé avec des matériaux contenant du NSP avait un effet inhibiteur à long terme contre *Streptococcus mutans*. Yamamoto et al ont également montré qu'un composite de résine contenant des charges implantées d'ions d'argent libérait des ions d'argent avec des effets antibactériens sur les streptocoques oraux. De plus, Magalhães et al ont montré que l'incorporation de NSP dans les matériaux d'obturation endodontique a fourni un effet antibactérien considérablement amélioré contre *Streptococcus millier*, *S. aureus* et *Entérocoques faecalis*. Les NSP dans les adhésifs dentaires sont également très efficaces contre les streptocoques sans affecter les propriétés mécaniques de l'adhésif, permettant ainsi leur utilisation dans les traitements orthodontiques [59].

II.2.3-Diagnostique

Pyramides de nano argent pour une bio détection améliorée Plate-forme ultrasensible et ultrarapide pour les tests cliniques pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde Détection d'ARN basée sur la fluorescence Noyau/enveloppe magnétique Nanoparticules Fe₃O₄/Au/Ag avec propriétés plasmonique orientables [59].

II.2.3-Imagerie

Nano composite de dendromètre d'argent pour le marquage cellulaire Nano billes AgSiO₂ coré-Shell fluorescentes pour l'imagerie cellulaire Imagerie moléculaire des cellules cancéreuses [60].

II.2.4 - Orthopédie

Additif dans le ciment osseux Matériau implantable utilisant des couches d'argile avec des nanoparticules d'argent stabilisées par l'amidon Revêtement du clou centromédullaire pour les fractures des os longs Revêtement de l'implant pour le remplacement des articulations Bas orthopédiques[61].

II.2.5- Pharmaceutique

Traitement de la dermatite Inhibition de la réplication du VIH-1 Traitement de la rectocolite hémorragique Traitement de l'acné [61].

II.2.6- Pansements

Les pansements Ag ont été utilisés pour traiter cliniquement différentes blessures, telles que les brûlures, les ulcères chroniques, le pemphigus et la nécro lyse épidermique toxique. Les Ag-NPs utilisés dans les pansements ont considérablement réduit le temps thérapeutique des blessures d'une norme de 3,35 jours tout en augmentant la clairance bactérienne des blessures contaminées sans effets néfastes par rapport à l'Ag Sulfadiazine et au pansement de gaze standard (Huang et al. Par rapport à la crème de sulfadiazine Ag à 1 % conventionnelle ou à la gaze de vaseline ordinaire, les Ag-NPs utilisés dans les pansements peuvent améliorer le traitement des brûlures superficielles et ne font aucune différence dans

les brûlures profondes thérapeutiques, accélèrent la réépithélialisation bien qu'aucune nouvelle formation de tissu, c'est-à-dire angiogenèse et expansion [62].

II.2.7- Emballages alimentaires antibactériens

Récemment, des emballages alimentaires produits avec des nanoparticules, des «emballages de nano-aliments», sont devenus plus disponibles sur le marché actuel.

Les nanomatériaux ont suscité un grand intérêt au cours des dernières années en raison de leurs propriétés extraordinaires qui les rendent avantageux dans les applications d'emballage alimentaire. Spécifiquement, les nanoparticules peuvent conférer des propriétés de barrière significatives, ainsi que des propriétés mécaniques, optiques, catalytiques et antimicrobiennes dans l'emballage. Les nanoparticules d'argent (AgNPs) représentent la majorité des emballages alimentaires nano-activés sur le marché. Dans les emballages alimentaires actuels, ces nanomatériaux sont principalement utilisés pour conférer une fonction antimicrobienne et pour améliorer les propriétés de barrière, prolongeant ainsi la durée de conservation et la fraîcheur des aliments emballés [63].

II.2.8- Traitement de l'eau

Amélioration de qualité du traitement si les AgNPs sont supportés sur les fibres de charbon actif Limitation de l'apparition d'un bio film sur les parois des canalisations

Filtres de système de traitement de l'air

Lutte contre les micro- organismes à l'origine des mauvaises odeurs émises au cours du fonctionnement [63].

II.3-Risques liés à l'utilisation de nanoparticules d'argent

La plupart des études montre que l'argent ionique n'induit pas des conséquences négatives pour l'être humain, aux concentrations requises pour obtenir une activité antimicrobienne [64].

Toutefois, lorsque l'argent ionique est appliqué sur une lésion corporelle sous forme de crème ou de pansement, il se lie à la sueur, au sébum et aux protéines présentes. Il peut ensuite passer dans la circulation sanguine, ce qui se traduit par une augmentation de la concentration en argent dans le sérum. Selon certains auteurs, il est alors excrété dans les urines en 2 à 5

jours, alors que d'autres chercheurs ont montré une bioaccumulation des granules métalliques dans différents organes : le foie, les reins, l'intestin, les glandes surrénales et, dans des rares cas, la moelle épinière [65].

Les quantités de nanoparticules d'argent utilisées dans les différentes expériences exposées ici sont très importantes et ne reflètent pas les niveaux auxquels les êtres humains sont pour le moment confrontés [66].

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

II.4.1. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible est la méthode incontournable et la plus simple d'utilisation dans l'identification des nanoparticules d'argent. En effet, les nanoparticules métalliques (argent, or, cuivre) présentent des propriétés optiques particulières liées à un effet classique d'exaltation du champ électrique [67]. Souvent appelé confinement diélectrique. Les spectres d'absorbance d'échantillons contenant des nanoparticules d'argent sont systématiquement observés dans les études.

a. Absorbance des nanoparticules

Les nanoparticules disposent d'un plus grand nombre d'atomes, et donc d'électrons libres en surface par rapport à des objets macroscopiques. L'excitation de la surface métallique par la lumière provoque la vibration collective des électrons en surface. L'excitation des électrons provoque une vibration, une résonance à une certaine longueur d'onde. Les électrons résonnent et la longueur d'onde concernée est ainsi absorbée : c'est ce que l'on observe en spectroscopie UV-Visible (résonance plasmon de surface) [68].

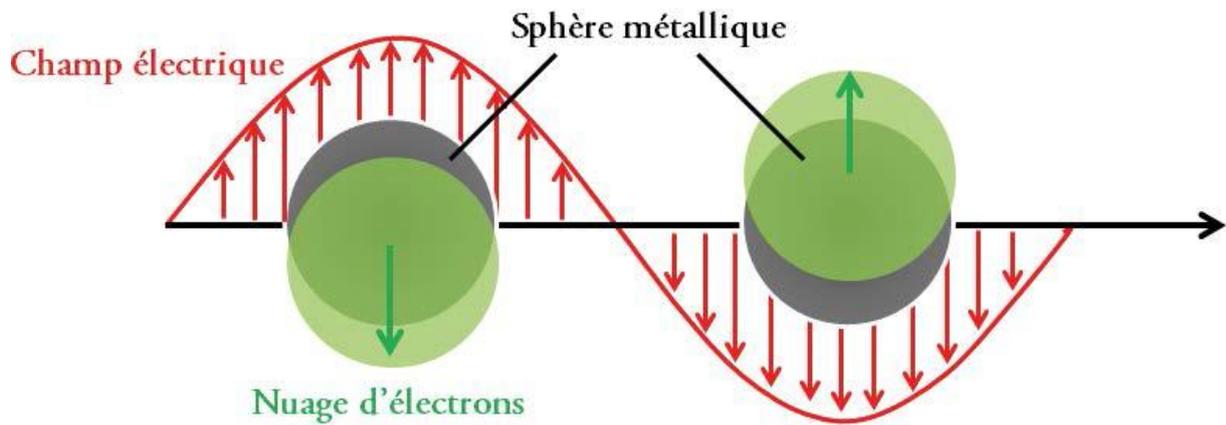


Figure II.3.: Synthèse et Représentation schématique de l'oscillation du nuage des électrons de conduction (plasmon de surface localisé) pour une sphère métallique soumise à un champ électrique [68].

L'absorption de rayonnement ultra-violet-visible par les nanoparticules d'argent dans se traduit généralement par une bande d'absorption électronique entre 550 et 450 nm caractéristique de ces nanoparticules.

La longueur d'onde est principalement dépendante de l'élément chimique (Ag, Au, Cu, ...). De plus, une nanoparticule plus petite aura une vibration de plus grande énergie, c'est-à-dire de longueur d'onde plus faible. On parle alors de « bleu-shift », décalage vers les petites longueurs d'ondes pour de plus petites nanoparticules et de « Redshift » dans le cas inverse. La distribution de nanoparticules de différentes tailles ne donne pas qu'une seule raie d'absorption mais une distribution de raies qui forment ainsi un pic d'absorbance sur une gamme de longueurs d'ondes. Ainsi les bandes d'absorbance dépendent également de la forme et de la taille des nanoparticules [68].

b. Morphologie des nanoparticules d'argent

De manière générale, les nanoparticules sphériques d'argent sont caractérisées par une bande située entre 400 et 450 nm,

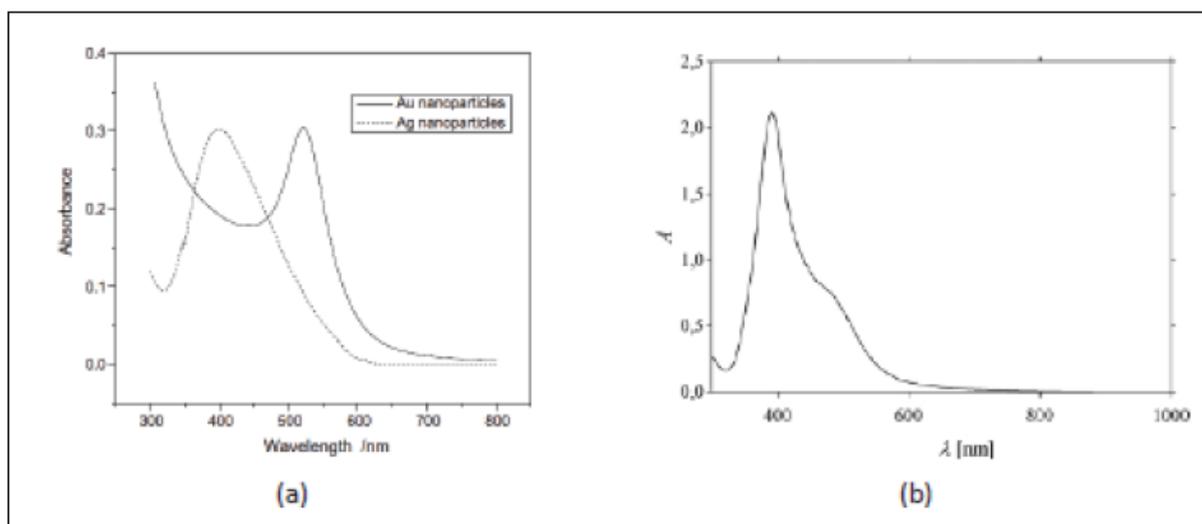


Figure II.4 : Spectre d'absorbance de nanoparticules métalliques : (a) nanoparticules d'argent de 20 nm et (b) nanoparticules d'argent de 45 nm avec également des agrégats.

Les nanoparticules sont de géométrie sphérique ou proche d'une sphère [69].

Enfin, la présence d'un maximum d'absorption au-delà de 450 nm indique la formation de particules de taille supérieure à 100 nm.

II.4.1.1-Conditions et appareillages

Les mesures spectrophotométriques ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau UV-visible Lambda 25 PERKIN ELMER en utilisant des cuves en quartz de 10 mm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostat à 25°C.

L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, commercialisé par PERKIN-ELMER, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons analysés.

II.4.2.Technique diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Diffusion dynamique de la lumière (DLS) La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est une technique d'analyse spectroscopique permettant d'analyser la taille de particules submicroniques par mesure des variations aléatoires d'intensité de la lumière diffusée par une suspension ou une émulsion. Les particules en suspension sont soumises à un mouvement aléatoire, appelé mouvement brownien, dû à l'agitation thermique. Ce mouvement aléatoire est modélisé par la relation de Stokes-Einstein

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_t}$$

où D_h est le diamètre hydrodynamique
 k_B est la constante de Boltzmann
 T est la température
 η est la viscosité du milieu
 D_t est le coefficient de diffusion

Le coefficient de diffusion est mesuré par diffusion dynamique de la lumière et peut être directement relié au rayon hydrodynamique des particules. Ce rayon correspond au rayon d'une sphère théorique qui diffuserait la lumière de la même manière que la particule. Dans le cas de polymère, il s'agit du rayon dans lequel le solvant ne peut pas pénétrer et pour les particules chargées, le rayon hydrodynamique comprend la couche de diffusion de la particule. Structure et caractéristique de l'appareil La Figure II.6. Illustre le dispositif optique de diffusion dynamique de la lumière. L'échantillon est illuminé par une source lumineuse monochromatique, généralement un laser, et le signal lumineux diffusé est collecté par un détecteur à un angle en rétrodiffusion ($\theta = 173^\circ$) [70].

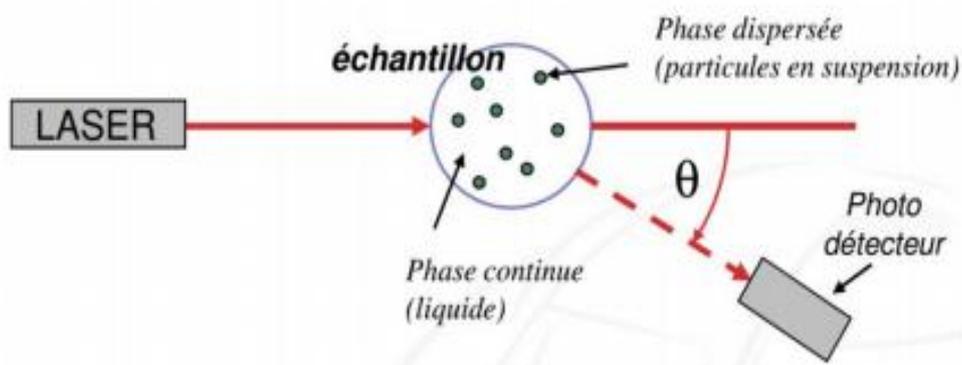


Figure II.5. : Schéma du dispositif de diffusion dynamique de la lumière [70].

Le signal optique obtenu présente des fluctuations temporelles d'intensité dues au mouvement brownien des particules. Il en résulte des interférences constructives ou

destructives et par conséquent, une variation de l'intensité totale mesurée à l'angle de diffusion. Si les fluctuations sont importantes, cela signifie que les particules se déplacent rapidement et sont donc de diamètres plus faibles. A l'inverse, l'intensité diffusée par des grosses particules, donc moins mobiles, fluctue moins vite au cours du temps comme illustré à la **Figure II.7**.

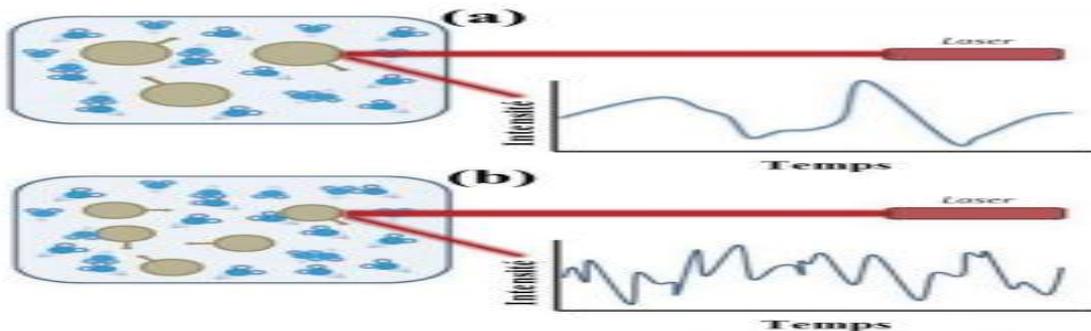


Figure II.6 : Diffusion dynamique de la lumière hypothétique de deux échantillons :

(a) particules plus grandes et (b) particules plus petites [70].

II .5 Etude Botanique des plants

II.5.1. 1. Description botanique de la verveine

La verveine odorante, *Aloysia citriodora* ou *Lippia citriodora* (Kunth.), est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbenaceae mesurant 1,50 à 3,00 m de hauteur (De Figueiredo et al. 2002). Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées, portant des feuilles vertes pâles, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètres, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher

Elles dégagent une odeur caractéristique de citron lorsqu'elles sont froissées

Les fleurs longues, disposées en épis, possèdent quatre pétales soudées à la base en un tube et étalés en quatre lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (Figure N1) [71].



Figure II.7 : Feuilles d’Aloysia citriodora.

II.5 .1.2 Classification botanique :

- Règne : plante (végétal)
- Super-division : Embryophyta
- Division : Tracheophyta
- Subdivision : Spermatophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Superordre : Asteranae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Verbenaceae
- Genre : Aloysia Juss.
- Espèce : Aloysia citriodora Paláu

II.5 .1. 3 Principaux pays producteurs de la verveine :

Les pays producteurs sont le Mexique, le Chili, le Brésil, le pourtour Méditerranéen (Algérie, Maroc, Turquie et France), l’Afrique du sud et l’Inde.

Le marché est réservé principalement pour la consommation en herboristerie mais aussi pour la production de l’huile essentielle.

Dénominations vernaculaires internationales :

- Français : verveine vraie, verveine citronnée ou verveine du Pérou
- Anglais : lemon verbena, lemon beebrush
- Allemand : Zitronenstrauch, Zitronenduftstrauch
- Italien : Verbena odorosa
- Espagnol : Cedrón, hierba luisa, verbena d’Indias
- Portugais : Lúcia-lima, bela-lucia, erva-cidreira, cidró, cidrão, etc.
- Guarani : Cedrón
- Arabe : ليمونية لويزة (Louiza laymunia)

II.5 .1.4 Composition chimique de la verveine odorante :

Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, fraîches ou séchées. Bien que l'infusé de feuilles de verveine odorante soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue. Les feuilles contiennent des composés phénoliques à une concentration de 675 mg/l: dérivés hydroxy cinnamique avec verbacoside (5,3%), flavonoïdes tel que luteoline 7-glucoside et luteolin 7-diglucuronide (0,8%) et du potassium 440 mg/ml. D'un point de vue quantitatif, la concentration en polyphénols de l'infusion de verveine odorante a été évaluée à 675 mg/l dont 24% de flavonoïdes et 76% d'acides phénoliques . Les feuilles de la verveine contiennent aussi des huiles essentielles (0, 2- 1%): les principaux composés (10-40%) sont : citral, géraniale et limonène [72].

II.5.1.5- Effet thérapeutique d'Aloysia citriodora :

Aloysia citriodora est une herbe largement utilisée à des fins alimentaires. Elle a connu une longue histoire dans la médecine traditionnelle tel que le traitement de l'asthme, du rhume, de la fièvre et de la grippe, elle est utilisée pour lutter contre les flatulences, les coliques, la diarrhée, l'indigestion, l'insomnie et l'anxiété.

La verveine odorante est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges, elle est également utilisée pour baisser le taux de glycémie. Les huiles essentielles de cette plante sont utilisées dans le traitement des cancers.

Des analyses menées in vitro à l'aide de différents tests ont permis de montrer les propriétés antioxydante, antispasmodiques et anti-inflammatoires de l'infusé. Des chercheurs ont montré que l'huile essentielle d'Aloysia citriodora possède une activité antibactérienne vis-à-vis d'Escherichia coli, de Mycobactérie tuberculosis, de Staphylocoques aureus et d'Helicobacter pylori .

II.5.2.1- Description botanique de- grenadier :

Le grenadier est un petit arbre à port arbustif des régions méditerranéennes qui peut atteindre 6 m de haut. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. Ses fruits, les grenades, contiennent en moyenne 600 graines pulpeuses. La grenade est une grosse baie ronde, de la taille d'une grosse orange, à écorce dure et coriace, de couleur rouge ou jaune beige, qui renferme de nombreux pépins de couleur rose à rouge. Seuls ses pépins sont comestibles, soit environ la moitié du fruit. Dans chaque pépin, la graine est enrobée d'une pulpe gélatineuse de chair rouge transparente, sucrée chez les variétés améliorées, sinon d'un goût plutôt âcre [73].



Figure II.8 : Localisation géographique du lieu de récolte.

II.5.2.2- Classification :

Embranchement Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones vraies

Sous Classe : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille : Lythracées

Genre : Punica

Espèce : Punica granatum

II.5.2.3- Composition chimique des différents organes du grenadier :

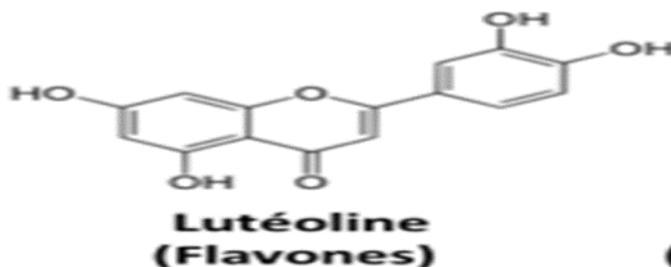
Déjà au XIX^{ème} siècle, le grenadier suscite un intérêt chez les chercheurs qui, avec des moyens très rudimentaires, ont ainsi mis en évidence certains principes actifs de cet arbre, tels que la pelletierine. Grâce aux relativement récents procédés d'analyse chimique, comme les techniques de chromatographie, de résonance magnétique ou encore de spectrométrie de masse, il a été possible d'identifier avec précision la composition des différents organes du grenadier.

II.5.2.4- Les composés phénoliques :

Connus pour leur activité antioxydant, sont des molécules qui se caractérisent par la présence d'un groupement phénol. Les flavonoïdes, les coumarines et les quinones sont des exemples d'éléments de cette famille.

II.5.2.5- Les flavonoïdes:

Parmi les nombreux phytonutriments, appelés aussi composés photochimiques, présents dans les plantes. Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés phénoliques. Ce groupe contient plus de huit mille composés connus et il est en croissance en raison de leur grande diversité structurale [73] .



Les flavonoïdes

sont les pigments responsables des nuances jaune, orange et rouge dans les **plantes** florales et ils sont aussi des facteurs importants pour la croissance, le développement et la défense des plantes. Plusieurs flavonoïdes sont dotés d'activités biologiques telles que des propriétés anti oxydantes entre autres.

Les composés terpéniques : ont un squelette caractéristique qui est l'isoprène. Plusieurs familles de composés terpéniques sont distinguables : les mono-, di-, tri-, tétraterpènes, les iridoïdes, les stéroïdes et les caroténoïdes.

Les composés azotés :

Sont des composés chimiques qui contiennent un ou des atomes d'azote. Ils peuvent se subdiviser en alcaloïdes.

Les hétérosides :

Sont une famille de métabolites secondaires qui peuvent se diviser en plusieurs catégories comme les saponines ou les hétérosides cyanogénétiques

Les dénominations communes dans différentes langues. Selon les langues parlées dans chaque pays, le nom vernaculaire de Punica granatum varie. Ainsi le nom de cet arbre sera :

- En anglais : Pomegranate ou Pome Granate.
- En allemand : Granatapfelbaum, Granatbaum, Gemeine Granat, Balluster.
- En espagnol : Granado coltivatedo, Mangrano.
- En italien : Granato. –

En chinois : Ngan Che Lieou, Shi Liu [74].

II.5.2.6-Effet thérapeutiques de grenadier :

Feuilles et écorce des Rameaux

Tonique agréable. - La débilité de l'estomac, le manque d'appétit, les nausées, la faiblesse générale, la chlorose, l'anémie, la migraine.

Peau de grenade (malicorium) :

Effets astringents pour l'intestin, pour "arrêter le sang" et pour "chasser les parasites", diarrhée et dysenterie chroniques, présence de sang dans les selles, prolapsus rectal, spermatorrhée, hyperménorrhée, pertes blanches, accumulation de parasites, douleurs abdominales.

Graines de grenade :

Soulager les ulcères atoniques

Suc de grenade :

- Rafraîchissant, diurétique, adoucissant [75].

Partie pratique

Chapitres III

Matériel et méthodes

Le but de cette partie est de présenter la méthode de synthèse des nanoparticules d'Argent à partir des extraits de plantes et de nitrate d'argent. Le contrôle des tailles et des formes de ces nanoparticules restent toujours un défi majeur. Dans ce contexte, nous cherchons à développer de nouvelles stratégies de synthèse simples, reproductibles en utilisant le minimum possible de réactifs chimiques non toxiques, afin de limiter les sous-produits de réactions et/ou ions résiduels qui risqueraient d'inhiber les propriétés intrinsèques du matériau final.

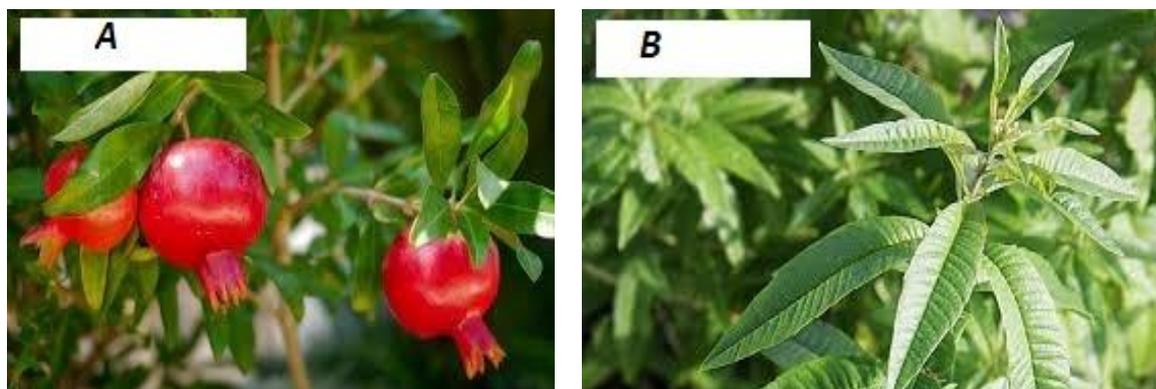
III.1 L'étude des plantes

Pour une meilleure préservation de l'environnement, il est primordial d'exploiter les ressources naturelles pour la production de nanoparticules afin de minimiser l'utilisation des réactifs toxiques. Nous présentons dans ce travail une méthode de synthèse de nanoparticules d'AgNO₃ en utilisant l'extrait des Feuilles des plants La verveine -odorante et Grenadier - Punica géranium.

III.1.1 Récolte et identification du matériel végétal :

Les parties aériennes des feuilles des plantes étudiées sont la verveine -odorante, *Aloysia citriodora* ou *Lippia citriodora* (Kunth.) Et le Grenadier -*Punica granatum*. Dans les figures ci-dessous (**Figure III.1**) ont été récoltées dans la station expérimentale du département de Biotechnologies, au niveau Université de Blida 1, (**figure III.2**) Loin de tout impact de pollution.

Les deux plantes ont été choisies sur la base de leur rentabilité, disponibilité et propriétés médicinales. L'identification botanique des plantes a été réalisée par **Dr. Moumene** du Laboratoire d'environnements dans la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.



**Figure III.1 : Photographies des parties aériennes des plantes de Grenadier
Et La Verveine**



Figure III.2 : Feuilles lancéolées de *Punica granatum*

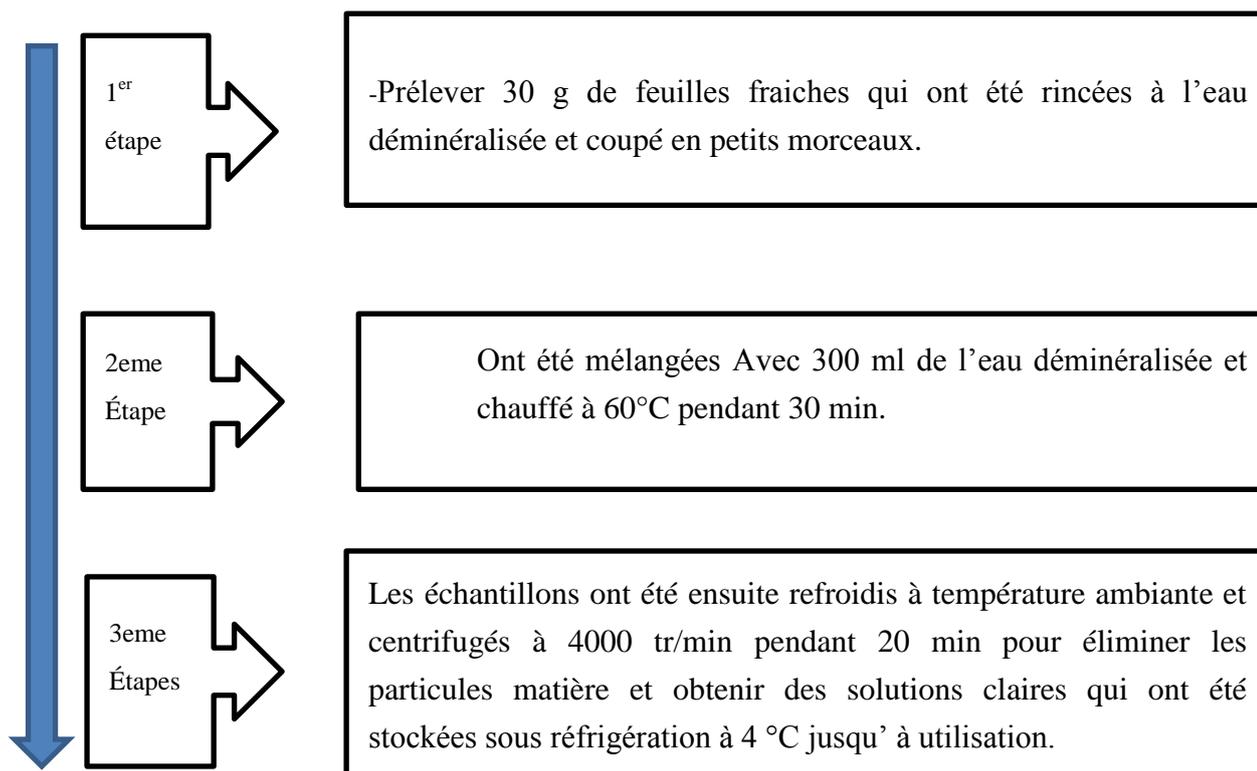
III .2 . Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) des plantes

Des échantillons de feuilles des plantes étudiées avec **Dr Moumene** au niveaux labo de recherche de l'université :

La verveine -odorante, *Aloysia citriodora* ou *Lippia citriodora* (Kunth.),

Grenadier -*Punica granatum*

- [1] Chaque solution d'extrait a été préparée pour chacune des plantes citées précédemment, selon l'organigramme suivant [76]:



III.3- Synthèse des nanoparticules d'argent :

Pour les AgNPs synthétisés, 10 ml d'extrait aqueux de feuilles ont été mélangés avec 40 ml de solution AgNO_3 1mM dans un Erlenmeyer de 100 ml et chauffée à 60 °C pendant 15 min. Le virement de la couleur de la solution en jaune et brun, révèle l'identification préliminaire de la formation d'AgNPs,

Les AgNPs ont été purifiés par centrifugation à 10 000 tr/min pendant 15 min pour enlever les ions d'argent en excès Les différents échantillons (contenant les extraits de Grenadier -*Punica granatum* Verveine-odorante, *Aloysia citriodora* ou *Lippia citriodora* (Kunth.)) sont préparés séparément par une addition lente l'extrait aqueux à la solution de d'argent.

Les échantillons ont été exposés à la lumière naturelle du soleil irradiation pendant 1 h. À ce stade, la solution incolore du mélange a pris une couleur jaune-brun intense, comme s'est mentionné sur la **figure III.3**.

Les deux extraits de fleurs végétales montrent une réduction et capacité de stabilisation pour la synthèse de nanoparticules d'argent à température ambiante [76].

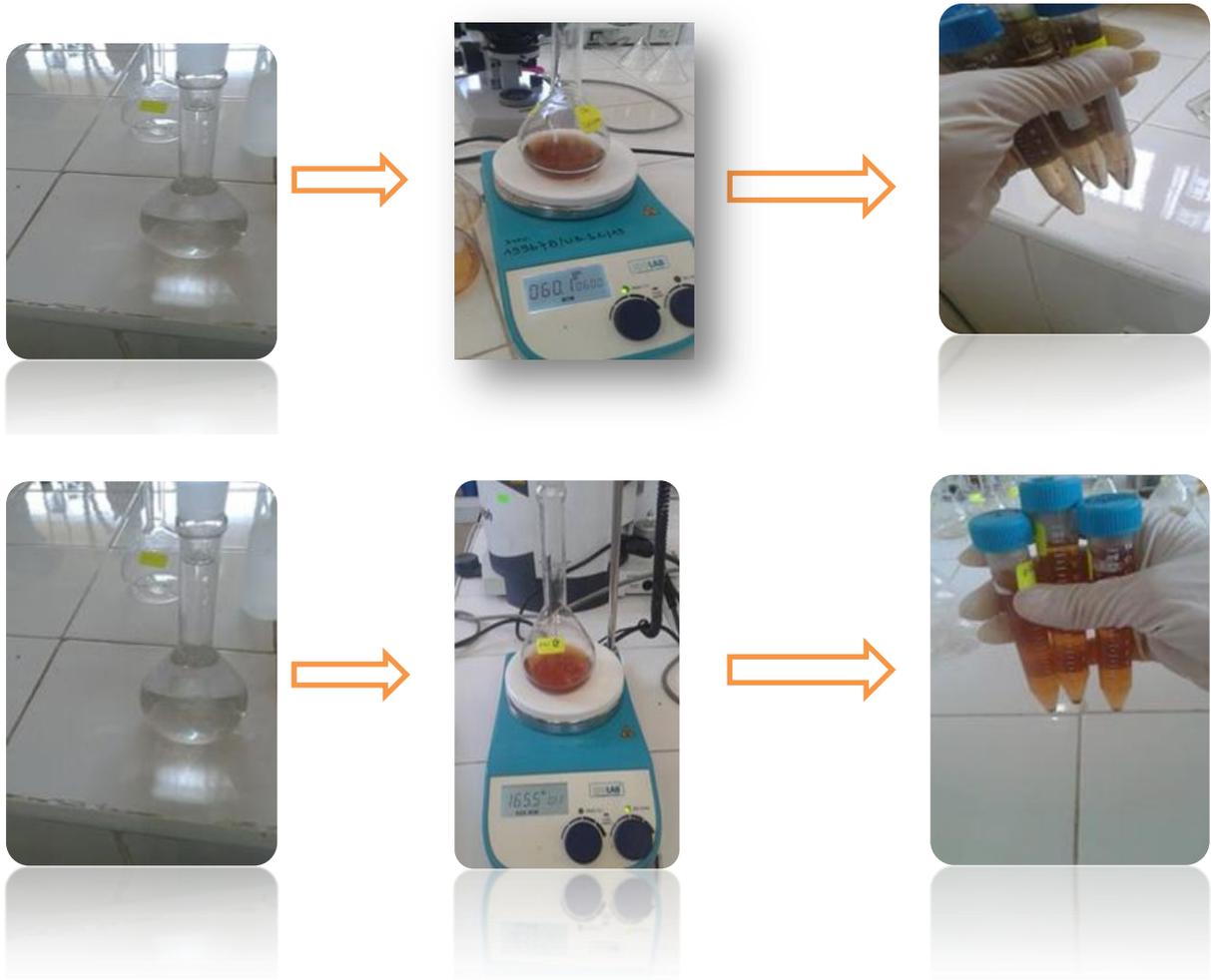


Figure III.3 : Synthèse des nanoparticules d'argent réduit par les extraits de Verveine et Grenadier

III.4- Préparation des dilutions des échantillons d'argent colloïdal des plantes :

Les échantillons de nanoparticules d'argent préparés ont fait l'objet de dilution et d'ajustement de la concentration comprise entre 20-15 ppm par le biais d'un TDS.



Figure III.4 : Appareil de mesure TDS .

III.5- Techniques de caractérisation :

III.5.1- Spectroscopie UV- visible

III.5.1.1- Principe

La spectroscopie UV-Visible est une technique très utilisée pour les substances organiques et minérales, elle repose sur la transition d'électrons de valence qui passent de l'état Fondamental à l'état excité grâce à une onde électromagnétique. Cette transition s'accompagne Des propriétés rotationnelles et vibrationnelles des molécules qui requiert une énergie assez forte Qui correspond à la longueur d'onde de l'UV-visible [77].

III.5.1.2- Mode opératoire

Les mesures spectrophotométries ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre À double faisceau UV-visible (Thermo) pour les deux extraits préparés en utilisant une cuve En quartz de 10 mm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostatée à 25°C. L'analyse est effectuée entre 250 et 500 nm.

L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons analysés.

III.5 .2. Diffusion dynamique de la lumière (DLS) :

III.5.2.1- Principe

La diffusion dynamique de la lumière est utilisée pour déterminer la taille des particules. La diffusion dynamique de la lumière est la mesure des fluctuations d'intensité de la lumière diffusée avec le temps. Ces dernières sont dues au mouvement Brownien aléatoire des nanoparticules. Par conséquent, le comportement statistique de ces fluctuations d'intensité diffusée peut être lié à la diffusion des particules. Étant donné que les grosses particules diffusent plus lentement que les petites particules, il est facile d'établir une relation entre la taille des particules et les fluctuations mesurées de l'intensité de la lumière. L'analyse par DLS a été l'outil de base pour caractériser les nanoparticules. [78]

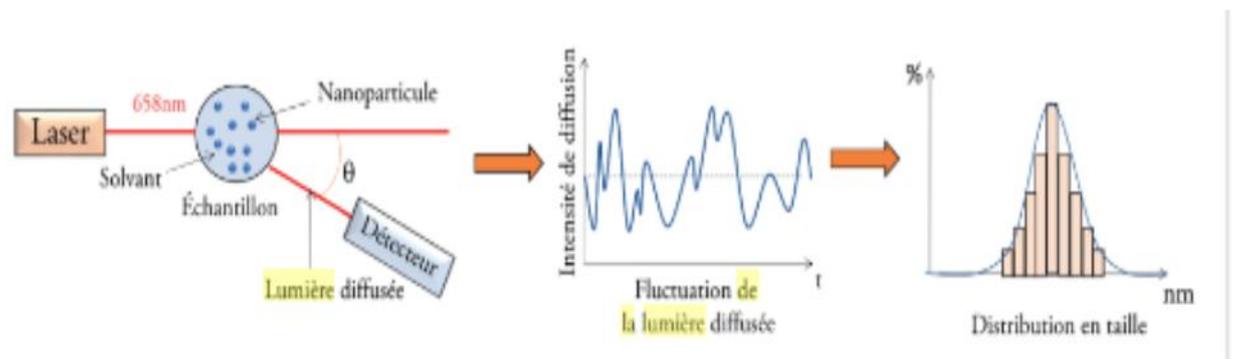


Figure III.5 : Schéma de principe d'une DLS

III.5.2.2- Mode opératoire :

Cette méthode utilise la caractéristique ondulatoire de la lumière. Un faisceau lumineux Avec une longueur d'onde donnée est envoyé sur une particule. Cette onde électromagnétique Module les charges et la particule se comporte ainsi comme un dipôle électromagnétique qui à Son tour génère une nouvelle onde électromagnétique de manière isotrope. Lorsque la particule Est grande, plusieurs dipôles sont générés, chacun émettant une onde électromagnétique. Ces

Ondes émises peuvent interférer entre elles, et sont caractéristiques de la particule étudiée [79].

III.6- Activité antimicrobienne :

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques. Ces derniers sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis les microorganismes. Le mécanisme de toxicité est lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrase) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [80].

III.6.1- Évaluation de l'activité antimicrobienne :

III.6.1.1- Principe

L'activité antimicrobienne consiste à estimer l'inhibition de la croissance antimicrobienne. D'un produit synthétisé par la « méthode de diffusion sur gélose par puits ». Les extraits de Plantes et les produits synthétisés (nanoparticules d'argent (Ag) sont testées pour leur activité Antimicrobienne en **laboratoire de contrôle de qualité cité aichée n°12 pendant une semaine** vis -à-vis des souches :

Une souche bactériennes (*E. coli* ATEC8739) et champignons : une moisissure (*penicillium aurantiogriseum*16025) et une germe aérobie

III.6.2.2- Mode opératoire

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne est réalisée selon la méthode d'écrite (Mollick and others, 2015) Par comme le montre le schéma ci-dessous [80].

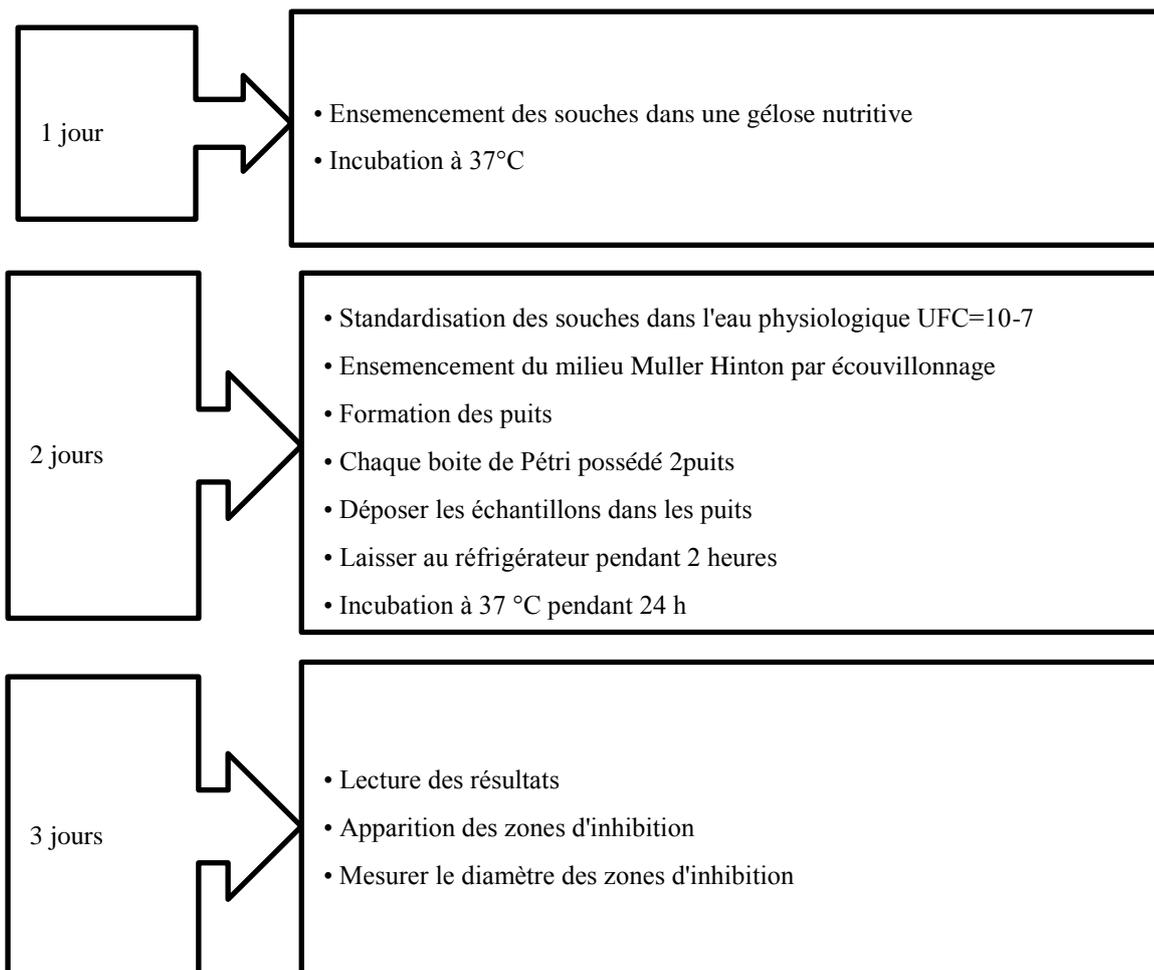


Schéma Général de l'activité antibactérien

Les échantillons ont été déposés dans deux puits comme suit :

- a) Puits N°1 : solution de Ag ; b) Puits N°2 : solution d'extrait de plante.

À l'aide d'une pince stérile, placer les disques imprégnés d'extrait de la plante médicinale (différentes dilutions : 1/2, 1/4, 1/8)

IV- Résultats et discussion

La synthèse verte des nanoparticules métalliques (NPs) a attiré l'attention de la communauté scientifique ces dernières années, car ces protocoles sont peu coûteux et plus respectueux de l'environnement que les méthodes de synthèse standard. Dans ce chapitre, nous rapportons une méthode simple et respectueuse de l'environnement pour la synthèse des NPs d'argent en utilisant une solution aqueuse d'extrait des feuilles de verveine et grenadier en tant que bio réducteur.

IV.1- Technique Spectroscopie UV- visible

Les UV-Vis correspondants les spectres d'absorption montrent un pic de surface bandes d'absorption avec des maxima à environ 475nm, 450nm, respectivement. Ils correspondent à la résonance plasmonique de surface typique (SPR) des électrons conducteurs des nanoparticules d'argent surface.

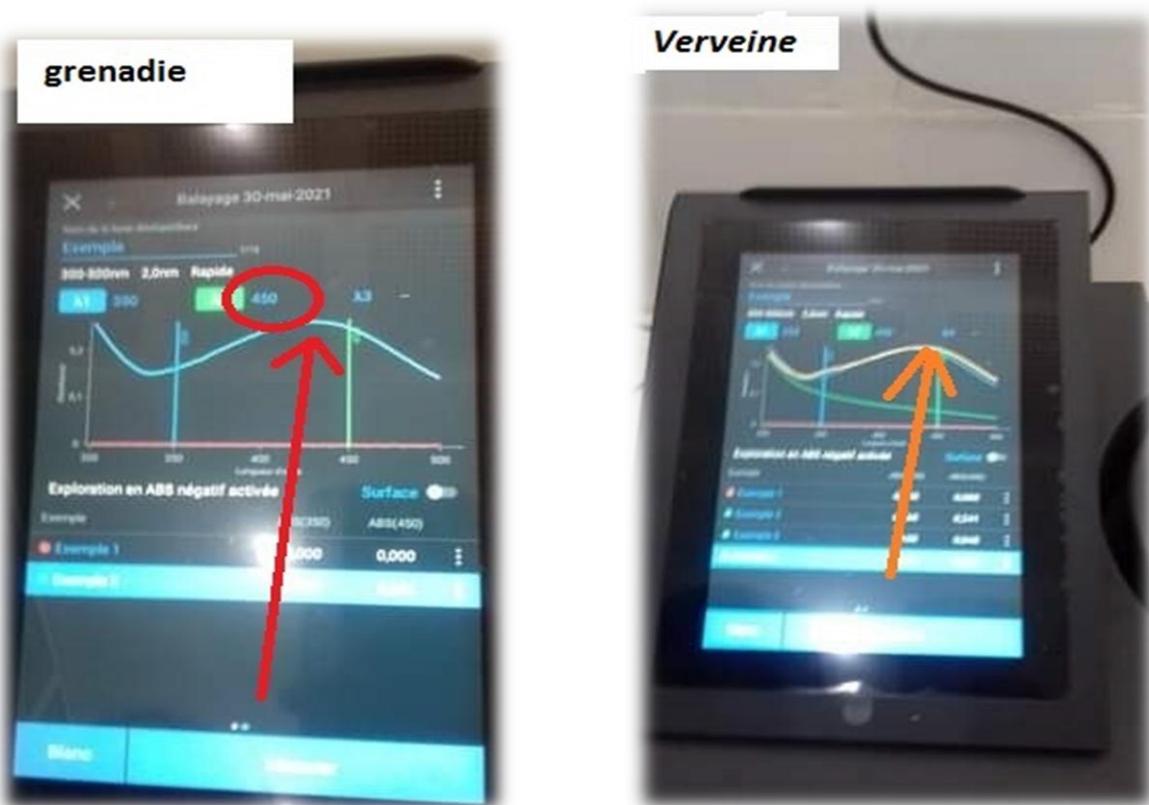


Figure IV.1 : Spectres UV-Vis d'AgNPs synthétisés en utilisant les extraits de Grenadine et de Verveine

Plus la concentration de l'extrait ajouté était élevée, plus la possibilité d'un mécanisme de réduction à l'état vert du nitrate d'argent se produirait, ce qui conduirait à la formation de nanoparticules d'argent bien définies et stables.

Selon la théorie de Mie, une seule bande SPR est attendue dans les spectres d'absorption des nanoparticules métalliques sphériques, alors que les particules anisotropes pourraient donner naissance à deux bandes SPR ou plus, selon la forme des particules. Dans notre cas, un seul pic de SPR a été observé, ce qui suggère que nos AgNPs étaient de forme sphérique.

IV.2- Technique diffusion dynamique de la lumière (DLS) :

La diffusion dynamique de lumière est une méthode capable de mesurer la taille des particules et des molécules en suspension dans un milieu liquide.

La figure IV.2 représente la représentation graphique de la distribution granulométrique de la solution d'argent colloïdal. Nous constatons que La distribution granulométrique de l'échantillon présente une distribution de taille inférieure à 100 nm. De l'ordre de 68 nm. Ce qui confirme la bonne formation et la stabilité des nanoparticules d'argent colloïdal.

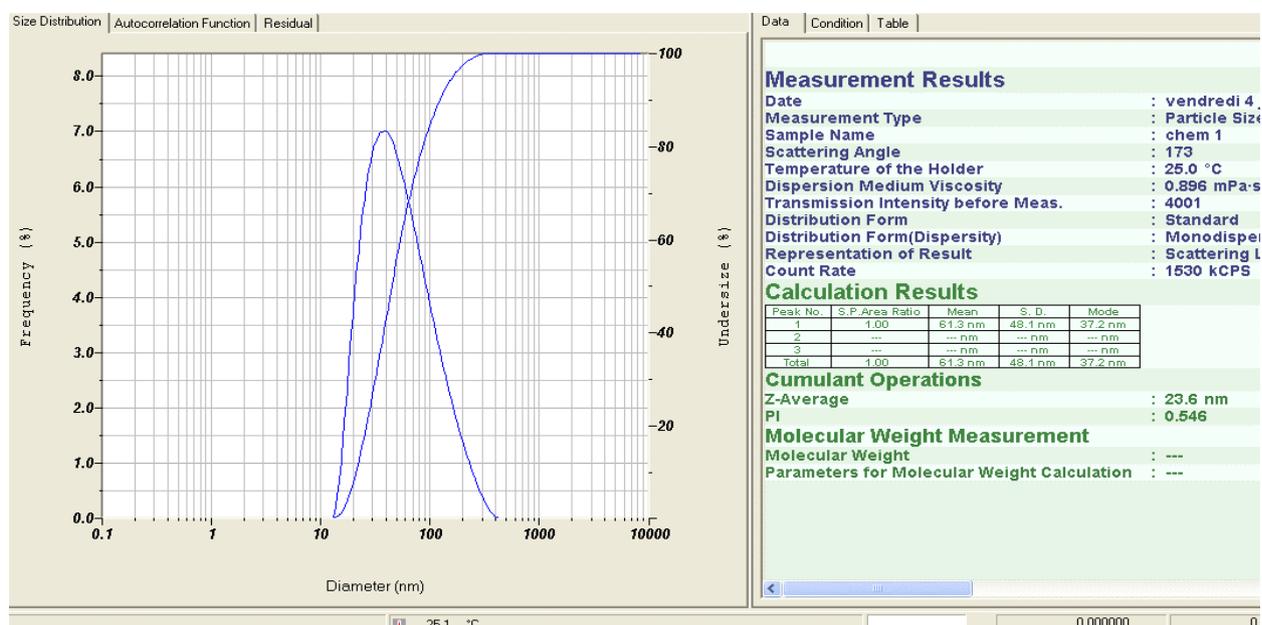


Figure IV.2 : représentation graphique de la distribution granulométrique de la solution d'argent colloïdal

IV.3- Evaluation de l'activité antimicrobiene des nanoparticules synthétisées

Dans cette partie du travail nous avons testé l'activité antimicrobiene des NPsAg, de la solution de nitrate d'argent, ainsi que les extraits aqueux des deux plantes étudiées (verveine et granadie) sur la souches bactérienne

Il s'agit de :

- *Escherichia coli* ATEC :8739

- *chompigone et moisissure :penicillium aurantiogriseum*16025

- les germe aerobie

Ce test a été développé pour déterminer l'activité antimicrobienne d'un échantillon en mesurant une zone d'inhibition de la croissance de microbiologie autour de l'échantillon.

Cette zone d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antimicrobienne.

Les photographies des boites de Pétri sont illustrées dans la **figure IV.4**.

Tableau IV.1: Résultats qualitatifs de l'activité antimicrobienne de l'extrait granadier - AgNps.

Dillution	Dilluton 1/2	dillution1/4	dilution1/5	dillution1/7
souches				
E.coli	30mm	30mm	27mm	25mm
Moisissure	30mm	30mm	26mm	25mm
Germe aerobie	10mm	10mm	9mm	7.5mm

Tableau IV.2 : Résultats qualitatifs de l'activité antimicrobienne de l'extrait verveine-AgNps.

dillution	Dillution1/2	Dillution1/4	Dillution 1/7
Les Souches			
E.coli	30mm	27mm	25mm
Moisissure	30mm	25mm	25mm

Les nanoparticules argentées synthétisés à partir de *granadier* ont montré une forte inhibition de la croissance de *E.coli* (25±30 mm). Elles ont également inhibé la croissance de moisissure(25±30mm). et les germe aerobie avec des zones d'inhibition respectivement de (10±7.5mm).

Quant aux nanoparticules argentées synthétisées avec granadier selon la **figure IV.4**,

elles ont montré une zone d'inhibition élevée chez *verveine* (20±19 mm). Les diamètres de zones d'inhibition pour *E. coli* et *moisissure* sont de 25±30 mm, respectivement.

Selon **Mollick et Nayak (2015)**, les nanoparticules d'argent ont une excellente activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli*.

En comparésire par d'autre travaille Les nanoparticules argentées synthétisés à partir de *S. oleraceus*(**Figure V.5**)ont

montré une forte inhibition de la croissance de *S. aureus* ($18,33 \pm 1,52$ mm). Elles ont également inhibé la croissance de *SARM*, *E. coli* et *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibition respectivement de 17 ± 1 , $16,33 \pm 1,52$ et $15,66 \pm 1,15$ mm.

Quant aux nanoparticules argentées synthétisées avec *H. Coronarium* (Figure .V), elles ont montré une zone d'inhibition élevée chez *S. aureus* (19 ± 0 mm). Les diamètres des zones d'inhibition pour *SARM*, *P. aeruginosa* et *E. coli* sont de $17,33 \pm 2,51$, $16,33 \pm 0,57$ et $15,33 \pm 1,15$ mm, respectivement.

Selon Mollick et Nayak (2015), les nanoparticules d'argent ont une excellente activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli* et *P. aeruginosa*[81].

En outre, il a été signalé d'une part que les nanoparticules argentées synthétisées à partir ; des deux plantes utilisées ont montré une forte zone d'inhibition par rapport à la solution d'AgNO₃ (Figure IV.3) (Figure IV.4).

D'autre part, les extraits de plantes seuls n'ont pas montré d'activité et par comparésone avec les *S. aureus* et *P. aeruginosa*. On trouvé que le grenadie a la une forte inhibition

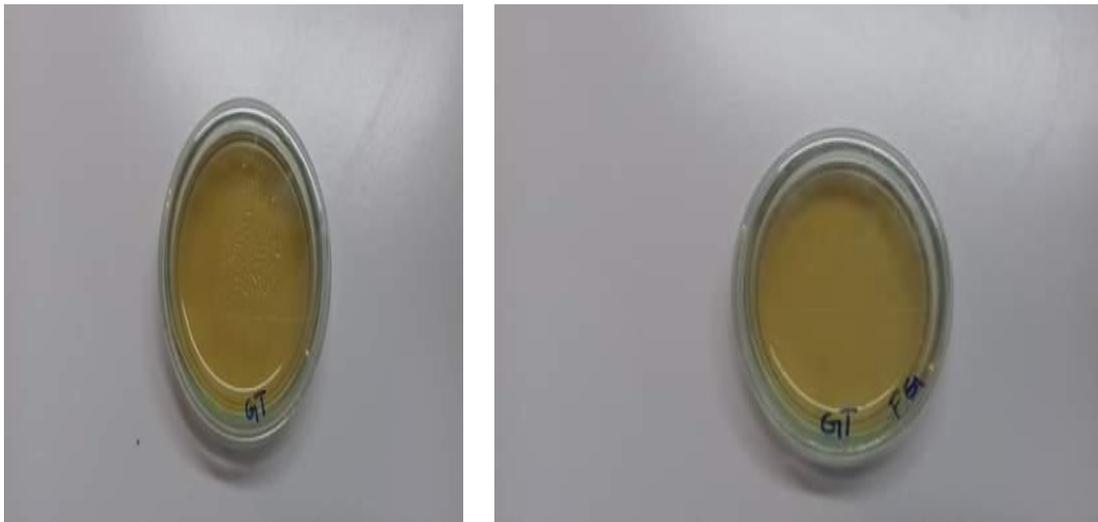


Figure IV.3 : Milieu de culture gélose nutritive vis-a vie le grenadier et verveine

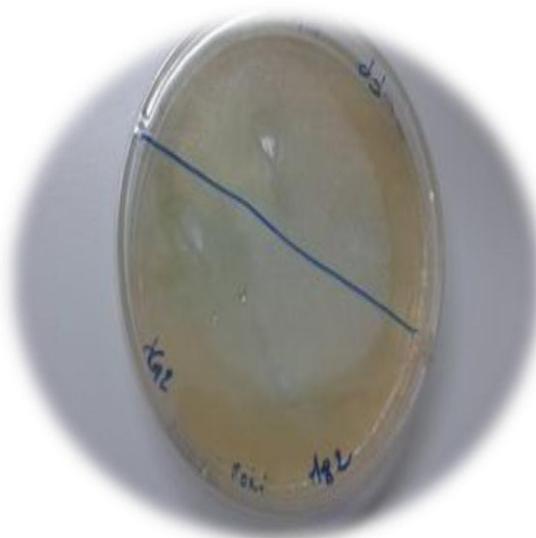
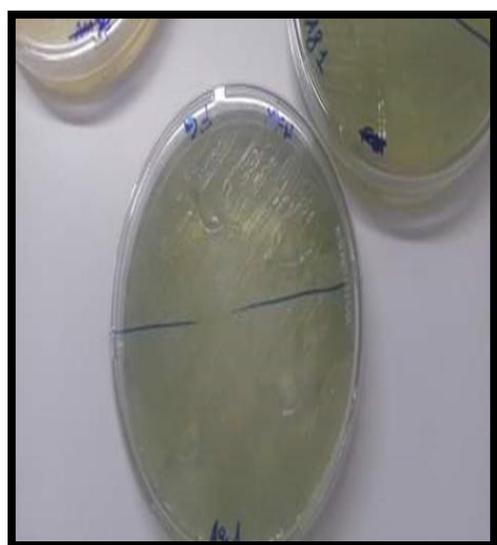
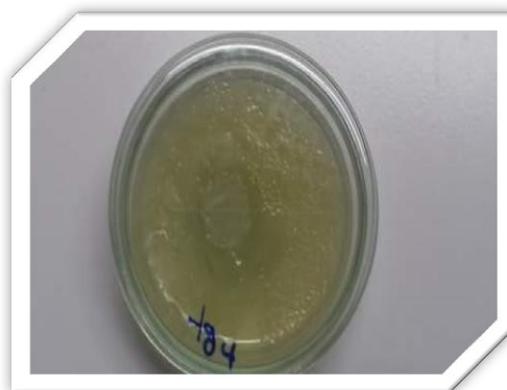
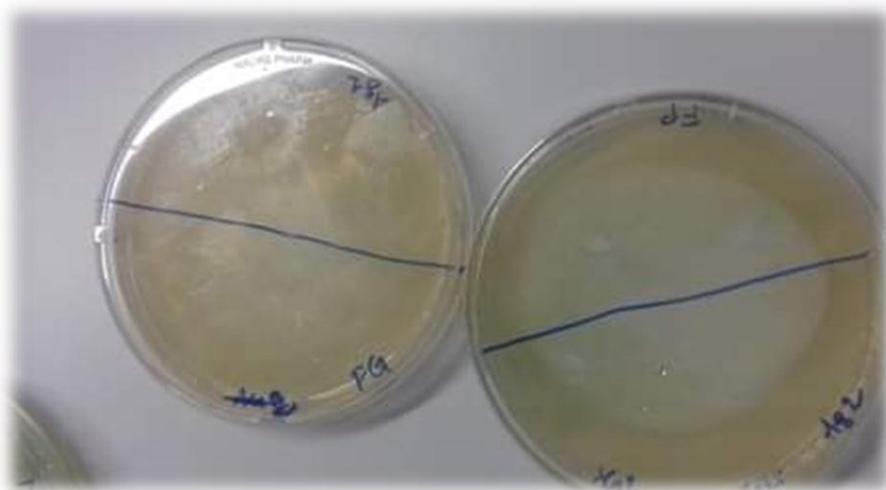


Figure IV.4 : Les photographies des boîtes de Pétri des zones d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antimicrobienne.

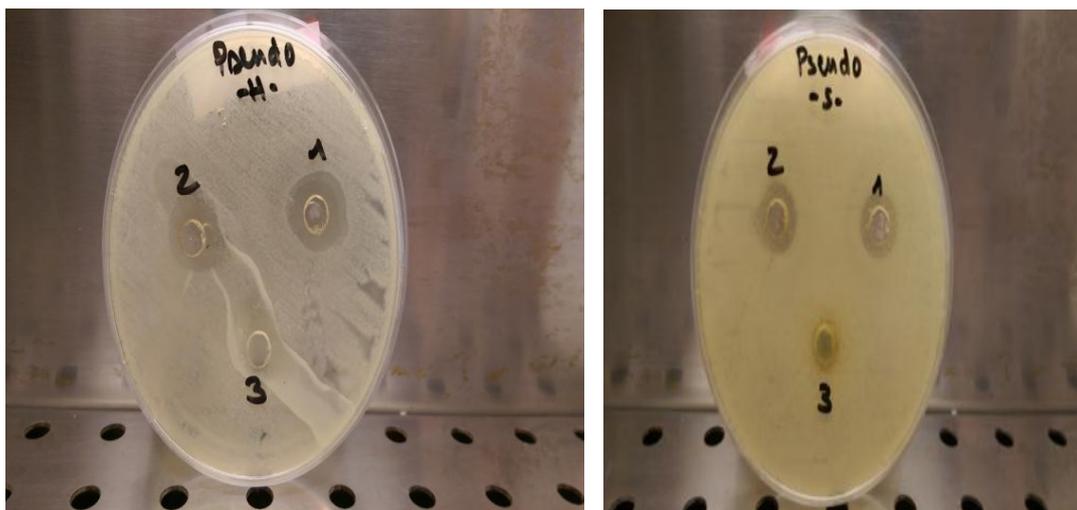


Figure IV.5 : Les photographies des boîtes de Pétri des zones d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antimicrobienne.

SARM, *P. aeruginosa* et *H. Coronarium*

IV.4- Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent :

Le mécanisme de formation des nanoparticules selon nom , représenté sur la figure IV.6 tiens compte du fait que l'extrait de la plante est très riche en polyphénols. 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 derniers ont réduit en Ag métallique en présence d'électrons libres.

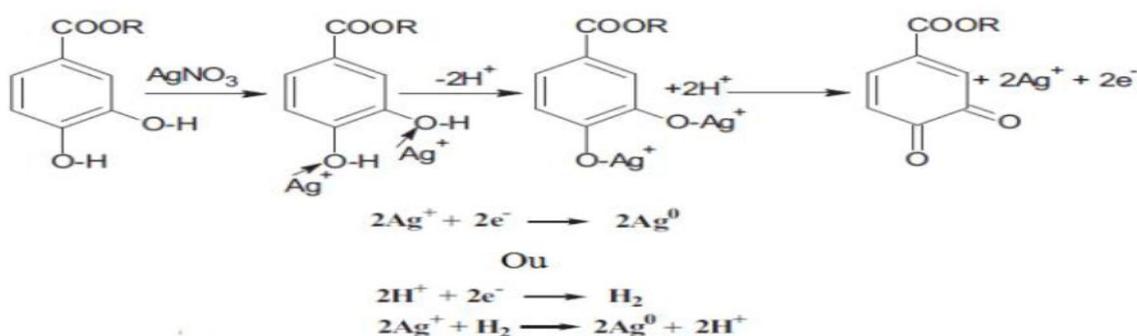


Figure IV.6 : Mécanisme de formation

La stabilité colloïdale des nanoparticules est assurée par l'interaction entre les hydrogènes des groupements phénoliques de l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent chargées négativement représenté la figure IV.7

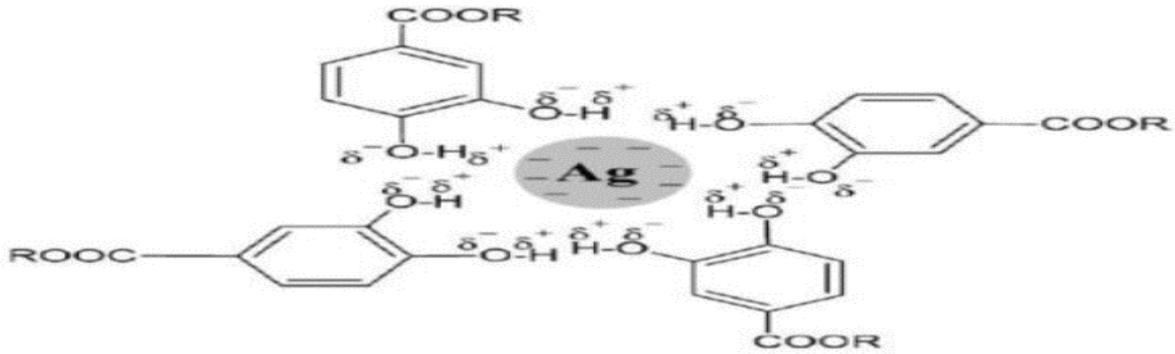


Figure IV.7: Mécanisme de stabilisation d'Ag

IV.5- Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent :

IV.5.1- Influence de la concentration de d'AgNO₃ sur la formation des AgNPs

Conformément à la figure 2, l'augmentation de la concentration d'AgNO₃ augmente la densité optique des AgNPs. L'augmentation de la densité optique peut être comprise sur la base de la concentration accrue du monomère (espèce de croissance AgNO₃ dans ce cas) dans un volume de réaction fixe [82].

IV.5.2-Influence de la concentration de l'extrait sur la formation des AgNPs

La figure 3 montre que l'augmentation du volume d'extraction des plantes augmente également la densité optique des AgNPs. L'augmentation de la densité optique peut s'expliquer par l'augmentation de la quantité de tensioactif (extrait de plante), plus de molécules d'oléate réagissent avec le précurseur (AgNO₃) et des monomères plus stables avec une réactivité réduite se forment. [82] Selon le modèle de La Mer [83] pour la nucléation et la croissance, une concentration réduite de monomère actif réduit le taux de nucléation et empêche la formation d'un grand nombre de noyaux et donc favorise la croissance de nanoparticules plus grosses

Conclusion générale :

L'objectif principal de ce travail est de proposer de nouvelles voies de biosynthèse des nanoparticules métalliques d'argent (Ag) en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques. A cet effet, nous avons choisi deux plantes médicinales qui sont **Grenadier (Punica granatum)** et **Verveine-odorante (Aloysia citriodora)**; afin de mettre en œuvre la fabrication de nanoparticules biologiques.

La teneur en eau a été déterminée au départ où les deux plantes ont montré une richesse hydrique.

L'extraction des composés actifs a été réalisée par la séparation par une addition lente l'extrait aqueux à la solution de d'argent, en utilisant l'eau comme solvant d'extraction.

La caractérisation des nanoparticules d'argent synthétisées a été réalisée en associant des méthodes de caractérisation de surface telles que l'UV-visible, diffusion dynamique de la lumière. Ensuite une étude de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag à base d'extrait de plantes a été effectuée.

Les nanoparticules d'argent synthétisées avec **Grenadier et Verveine** présentent des pics de surface bandes d'absorption UV-VIS caractéristiques avec des maximums à environ 475nm et 450nm respectivement. Ces bandes UV-Vis correspondent à la norme de formation de NPgs qui est entre 400-500 nm

L'étude microbiologique a révélé que les nanoparticules d'argent synthétisées avec **Grenadier** ont donné des zones d'inhibition avec des diamètres respectivement de (25±30mm) pour *E. coli*. Elles ont également inhibé la croissance de moisissure (25±30mm) et les germe aérobie avec des zones d'inhibition respectivement de (10±7.5mm).

En outre, les nanoparticules fabriquées à base de **verveine** révélée des zones avec des diamètres (20±19 mm). Les diamètres de zones d'inhibition pour *E. coli et moisissure* sont de (25±30mm), respectivement.

En perspectives certains points restent à approfondir, il serait donc intéressant de compléter cette étude par l'étude antimicrobienne à d'autres souches et déterminer le mécanisme et la cinétique d'inhibition de la croissance bactérienne par ces nanoparticules.

Par conséquent,

Cela conduit à des méthodes biologiques qui pourraient être plus respectueuses de l'environnement et ne causent aucun dommage à la santé des animaux humains et domestiques.

Références bibliographiques

- 1- [1] K.M. Kumar, M. Sinha, B.K. Mandal, A.R. Ghosh, K.S. Kumar, P.S. Reddy,, *Spectrochim. Acta A 91* , pp. 228-233, 2012.
- 2- [2] Auffan M, Rose J, Bottero JY, Lowry GV, Jolivet JP, Wiesner MR, Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat Nanotechnol* 4, 634–641, (2009).
- 3- [3] Y. He, *Mater. Res. , Bull. 42* , pp. 190-195, 2007.
- 4- [4] N.S. Baik, G. Sakai, N. Miura, N. Yamazoe, , *J. Am. Ceram. Soc.* 83, p. 2983–2987, 2000.
- 5- [5] Badary O. A., Taha R. A., Gamal El-Din A. M., Abdel-Wahab M. H. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology.* 2003; **26**: 87-98.
- 6- [6] Silver S, Phung LT, Silver G, “Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds”, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 33, 627, (2006).
- 7- [7] M. Noruzi ,D. Zare ,K. Khoshnevisan , D. Davoodi , «RAPID GREEN SYNTHESIS OF GOLD NANOPARTICLES USING ROSA HYBRIDA PETAL EXTRACT AT ROOM TEMPERATURE,» *Spectrochim Acta A* , p. 79:1461–5, 2011.
- 8- [8] BELFENACHE, D. E. (2012). ELABORATION ET ETUDE DE NANOPARTICULES Au/TiO₂ ET Ag/TiO₂ (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1),pp5-6 2012
- 9- [9] Sinouvassane, D. J. E. A. R. A. M. A. N. E., Wong, L. S., Lim, Y. M., & Lee, P. (2016). A review on bio-distribution and toxicity of silver, titanium dioxide and zinc Oxide nanoparticles in aquatic environment. *Pollut Res*, 35, 701-712.
- 10- [10] Chauvel, R. (2018). Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique (Doctoral dissertation) Faculté de pharmacie université claud bernard lyon , France, p.23. 2018.
- 11- [11] Reyes-Estebanez, M., Ortega-Morales, BO, Chan-Bacab, M., Granados-Echegoyen, C., Camacho-Chab, JC, Pereañez-Sacarias, JE, & Gaylarde, C. (2018). Nanoparticules modifiées antimicrobiennes dans le contexte du patrimoine culturel bâti et leur impact écotoxicologique sur les animaux et les plantes : une brève revue. *Sciences du patrimoine*, 6 (1), 1-11
- 12- [12] Zeyons, O. (2008). Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI) p 330.
- 13- [13] Huang H, Yang X, «Synthesis of Polysaccharide-Stabilized Gold and Silver

Nanoparticles: A Green Method», Carbohydr. Res., 339, 2627–2631, (2004).

14- [14] MeiLing .Zou., MingLiang .Du., Han. Z., CongSheng Xu, Ni Li, YaQin FuPolymer engineering and science, 2013

15- [15] subapriyal, m. r. a. m. s, « green synthesis of silver nanoparticles»;international journal of pharma medicine and biological sciences vol. 1, (1), 2278– 5221, (2012).

16- [16] Huang H, Yang X, “Synthesis of Polysaccharide-Stabilized Gold and Silver

17- [17] Elham .A., Milani .M. Fikri. A. “ Silver nanoparticles: Synthesis methods, bioapplications and properties”. J Critical Reviews in Microbiology, 42 (2), 173-180, (2016).

18- [18] Chernousova, S., & Eppele, M. (2013). Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(6), 1636-1653.

19- [19] Matthew J. HardmanHelen A. Thomason PhD, Jodie M. Lovett BSc, Carla J. Spina PhD, Christian Stephenson BSc, Andrew J. McBain PhD, PhD .Silver oxysalts prompte cutaneous wound healing independent of infection . Original Research-Basic Science, (2018).

20- [20] Fox, C. L., Rao, T. V., Azmeth, R., Gandhi, S. S., & Modak, S. (1990). Comparative Evaluation of Zinc Sulfadiazine aims Silver Sulfadiazine in Burn Wound Infection. *The Journal of burn care & rehabilitation*, 11(2), 112-117

21- [21] Salem, N. A., Wahba, M. A., Eisa, W. H., El-Shamarka, M., & Khalil, W. (2018). Silver oxide nanoparticles alleviate indomethacin-induced gastric injury: a novel antiulcer agent. *Inflammopharmacology*, 26(4), 1025-1035.

22- [22] Medix la nature. Prend soin de moi. Medix la nature [en ligne].2016. [Consulté le1 juillet 2021]. url : <https://medix.fr/solutions-colloïdales/>

23-[23] Freundlich, H. (1924). *The Elements of Colloidal Chemistry...* EP Dutton and Company.

24- [24] Franck Goldman. *Une Arme Secrète Contre la Maladie l'argent colloïdal.* Première édition France.DG. ,2004

25- [25] Do Kim, K., Han, D. N., & Kim, H. T. (2004). Optimization of experimental conditions based on the Taguchi robust design for the formation of nano-sized silver particles by chemical reduction method. *Chemical Engineering Journal*, 104(1-3), 55-61.

26- [26] Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. (2020). The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: a mechanism of action. *Nanomaterials*, 10(8), 1566.

27- [27] Singh, J., Kaur, G., Kaur, P., Bajaj, R., & Rawat, M. (2016). A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *World J Pharm Pharm Sci*, 7, 730-762.

28- [28] Holt .KB., Bard. AJ, *Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio- Application.*Biochemistry,44(39), 13214-23, (2005).

29- [29] Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X., & Xing, M. M. (2014). Nanosilver

particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International journal of nanomedicine*, 9, 2399.

30- [30] Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. (2020). The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: a mechanism of action. *Nanomaterials*, 10(8), 1566

31- [31] Song, K. C., Lee, S. M., Park, T. S., & Lee, B. S. (2009). Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26(1), 153-155.

32- [32] Chou, K. S., Lu, Y. C., & Lee, H. H. (2005). Effect of alkaline ion on the mechanism and kinetics of chemical reduction of silver. *Materials Chemistry and Physics*, 94(2-3), 429-433.

33- [33] Shin, H. S., Yang, H. J., Kim, S. B., & Lee, M. S. (2004). Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in γ -irradiated silver nitrate solution. *Journal of colloid and interface science*, 274(1), 89-94.

34- [34] Luo, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng, Y., & Wang, Y. (2005). The role of poly (ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 288(2), 444-448.

35- [35] Ahmad, S., Munir, S., Zeb, N., Ullah, A., Khan, B., Ali, J., ... & Ali, S. (2019). Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. *International journal of nanomedicine*, 14, 5087

36- [36] SLAWSON, Robin M., TREVORS, Jack T., et LEE, Hung. Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri*. *Archives of microbiology*, 1992, vol. 158, no 6, p. 398-404.

37- [37] GUDIKANDULA, Krishna et CHARYA MARINGANTI, Singara. Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties. *Journal of Experimental Nanoscience*, 2016, vol. 11, no 9, p. 714-721.

38- [38] KHARISSOVA, Oxana V., DIAS, HV Rasika, KHARISOV, Boris I., et al. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 2013, vol. 31, no 4, p. 240-248.

39- [39] VIJAYARAGHAVAN, Krishnan et NALINI, SP Kamala. Biotemplates in the green synthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology journal*, 2010, vol. 5, no 10, p. 1098-1110.

40- [40] Lukman, A. I., Gong, B., Marjo, C. E., Roessner, U., & Harris, A. T. (2011). Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. *Journal of colloid and interface science*, 353(2), p 433-444.

41- [41] Liu, Y., Chen, S., Zhong, L., & Wu, G. (2009). Preparation of high-stable silver nanoparticle dispersion by using sodium alginate as a stabilizer under gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(4), p 251-255

- 42- [42] Durán, N., Marcato, P. D., Alves, O. L., De Souza, G. I., & Esposito, E. (2005). Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of nanobiotechnology*, 3(1), p 1-7.
- 43- [43] Liu, Y., Chen, S., Zhong, L., & Wu, G. (2009). Preparation of high-stable silver nanoparticle dispersion by using sodium alginate as a stabilizer under gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(4), p251-255
- 44- [44] Hassan, P. A., & Kulshreshtha, S. K. (2006). Modification to the cumulant analysis of polydispersity in quasielastic light scattering data. *Journal of colloid and interface science*, 300(2), p744-748.
- 45- [45] Sista Kameswara Srikar et all *Green and Sustainable Chemistry*, 2016, 6, 34-56
- 46- [46] Andrieux-Ledier, A. (2012). Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques: contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- 47- [47] Zewde, B., Ambaye, A., Stubbs Iii, J., & Raghavan, D. (2016). A review of stabilized silver nanoparticles—synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications. *Nanomed*, 4(1043), 1-14
- 48- [48] A. Rai, A. Singh, A. Ahmad, M. Sastry, «Role of halide ions and temperature on the morphology of biologically synthesized gold nanotriangles, » *Langmuir*. 2006, 22, 736–741.
- 49- [49] Soni, N., & Prakash, S. (2011). Factors affecting the geometry of silver nanoparticles synthesis in *Chrysosporium tropicum* and *Fusarium oxysporum*. *Am J Nanotechnol*, 2(1), p112-121.
- 50- [50] Darroudi, M., Ahmad, M. B., Zamiri, R., Zak, A. K., Abdullah, A. H., & Ibrahim, N. A. (2011). Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, p 6, 677.
- 51- [51] Baghizadeh, A., Ranjbar, S., Gupta, V. K., Asif, M., Pourseyedi, S., Karimi, M. J., & Mohammadinejad, R. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Calendula officinalis* in liquid phase. *Journal of molecular liquids*, 207, p159-163.
- 52- [52] Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), p8996.
- <https://quoidansmonassiette.fr/nanotechnologies-nanomedecine-nanoparticules-danger-sante-alimentation-emergeant-espoirs-dioxyde-titane-traitements-progresµ>
- 53- [53] Abbasi, E., Milani, M., Fekri Aval, S., Kouhi, M., Akbarzadeh, A., Tayefi Nasrabadi, H., ... & Samiei, M. (2016). Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. *Critical reviews in microbiology*, 42(2), p173-180.
- 54- [54]Mortezaee, K., Najafi, M., Samadian, H., Barabadi, H., Azarnezhad, A., & Ahmadi, A. (2019). Redox interactions and genotoxicity of metal-based nanoparticles: A

comprehensive review. *Chemico-biological interactions*, p312, 108814.

55- [55] Khandel, P., Yadaw, R. K., Soni, D. K., Kanwar, L., & Shahi, S. K. (2018). Biogenesis of metal nanoparticles and their pharmacological applications: present status and application prospects. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(3), p217-254.

56- [56] Li, W. R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Duan, S. S., Ouyang, Y. S., & Chen, Y. B. (2011). Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Biometals*, 24(1), p135-141.

57- [57] Tikam.Ch. D ., Kumar . A ., Rita .S. M ., Yadav .V ,Base mécanistique des actions antimicrobiennes des nanoparticules d'argent, 7,1831,(2006).

58- [58] Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X., & Xing, M. M. (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International journal of nanomedicine*, 9, 2399.

59-[59] Skirtach, A. G., Munoz Javier, A., Kreft, O., Köhler, K., Piera Alberola, A., Möhwald, H., ... & Sukhorukov, G. B. (2006). Laser-induced release of encapsulated materials inside living cells. *Angewandte Chemie International Edition*, 45(28), 4612-4617.

60- [60] Bayston, R., Ashraf, W., & Fisher, L. (2007). Prevention of infection in neurosurgery: role of "antimicrobial" catheters. *Journal of Hospital Infection*, 65, 39-42.

61- [61] Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., & Suidan, M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of the total environment*, 408(5), p 999-1006.

62- [62] Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(7), p1272-1291.

63- [63] Smith, G. D., & Zysk, E. (1987). Corrosion of the noble metals. *ASM Handbook.*, 13, 793-807.

64- [64] Savary, B. (2015). Nanoargents: de la production à l'utilisation, quels sont les risques ?. *Hygiène et sécurité du travail*, p58-62

65-[65] Drake, P. L., & Hazelwood, K. J. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *The Annals of occupational hygiene*, 49(7), p575-585.

66- [66] Hussain, S. M., & Schlager, J. J. (2009). Safety evaluation of silver nanoparticles: inhalation model for chronic exposure. *Toxicological sciences*, 108(2), 223-224.

67- [67] Alarcon, E. I., Griffith, M., & Udekwu, K. I. (2015). Silver nanoparticle applications. Springer International Publishing. doi, 10, 978-3

68-[68] Alam, M. N., Das, S., Batuta, S., Roy, N., Chatterjee, A., Mandal, D., ... & koenegii Spreng, M. (2014). Leaf extract: an efficient green multifunctional agent for the

- controlled synthesis of Au nanoparticles. ACS Sustain. Chem. Eng., 2,p 652-664.
- 69-[69] Mahendra .R., Clemens. P. “Green Biosynthesis of Nanoparticules Mechanisms and Applications”. CABI(Edit), 2012, pp
- 70- [70] Caroline De Vos Synthèse de nanoparticules d’or et d’argent par micro plasma à pression atmosphérique. Thèse de Doctorat; Etat en Service de Chimie Analytique et Chimie des Interfaces, université libre de Bruxelles, Belgique. P.66. . , (2017).
- 71- [71] Djenad, F., Aziri, H., & Boulekbache, L. E. (2017). Etude comparative De la composition phénolique et de l’activité antioxydante de quelques Infusions (Tisane et thé).
- 72- [72] Carnat, A. P., Fraisse, D., & Lamaison, J. L. (1999). The aromatic and Polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*, 70(1),p 44-49.
- 73-[73] Wald, E. (2009). *Le grenadier (Punica granatum): plante historique et évolutions thérapeutiques récentes* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré)
- 74- [74] Rice-Evans, C. A., & Packer, L. (Eds.). (2003). *Flavonoids in health and Disease*. CRC Press.
- 75- [75] BAYOU, S., KERROUM, A., & Boutabet, K. (2020). Le grenadier (Punica granatum L): Usage traditionnel, étude phytochimique et évolutions Thérapeutiques récentes (Doctoral dissertation, University of Jijel).
- 76- [76] Ruiz-Romero, P., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., & Mendez-Trujillo, V. (2018). Antifungal effects of silver phytonanoparticles from Yucca Shilerifera against strawberry soil-borne pathogens: Fusarium solani and Macrophomina phaseolina. *Mycobiology*, 46(1), 47-51.
<https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454011>
- 77- [77] Huang, H., & Yang, X. (2004). Synthesis of polysaccharide-stabilized Gold and silver nanoparticles: a green method. *Carbohydrate research*,339(15), 2627-2631.
- 78- [78] AGGOUNE. ; Ferial, AHMED. ; BENYAHIA Chemissa., (2019).
SYNTHESE ET VALORISATION DANS LE DOMAINE MEDICAL
DES NANOCOMPOSITES DE « Ag-TiO₂ », THESE DE FIN D’ETUDE
PRESENTEE EN VUE DE L’OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR
EN PHARMACIE, BLIDA.p.50.
- 79- [79] : SCHÄRTL. Wolfgang, Light scattering from polymer solutions and Nanoparticle dispersions, Springer Science and Business Media, (2007).
- 80- [80] Bidwell, M., Won, S., Barbulescu, R., & Mollick, E. (2015). I used to work At Goldman Sachs! How firms benefit from organizational status in the Market for human capital. *Strategic Management Journal*, 36(8), 1164-1173. Mollick and Others, (2015).

- 80- [80]** Sherman, M. B. (1998). The identification of non-adjacent vertices in critical graphs. North Dakota State University.
- 81- [81]** Cherief, F., Chebbi, A., & Brahmi, F. E. (2018). Biosynthèse de Nanoparticules a base d'extrait de plantes et la caractérisation de leurs Activités biologiques.
- 82-[82]** Yokoyama T, Basic properties and measuring methods of nanoparticles. In: Hosokawa M, Nogi K, Naito M, Yokoyama T (eds) Nanoparticle technology handbook. Elsevier, Amsterdam, pp 3–48, (2008).
- 83-[83]** H. Sharifi Dehsari, A. Halda Ribeiro, B. Ersöz, W. Tremel, G. Jakob, and K. Asadi .“Effect of precursor concentration on size evolution of iron oxide Nanoparticles ”, CrystEngComm, vol. 19, no. 44, pp. 6694–6702. (2017).