

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

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

Fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Option : PHARMACIE INDISTRIELLE

THEME

**SYNTHÈSES DES NANOPARTICULES D'ARGENT
ET APPLICATION PHARMACEUTIQUE**

Présenté par :

Benddine faouzia

Zitouni sarra

Encadré par :

Pr. Chemat Zoubida

2021/2022

**SYNTHÈSES DES NANOPARTICULES D'ARGENT ET
APPLICATION PHARMACEUTIQUE**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Louange à Dieu, Le tout puissant de la force et la patience offerte qui m'ont permis d'aboutir à cet accomplissement.

Ce travail a été réalisé au sein du L'aboratoire d'Analyse Fonctionnelle des Procédés Chimiques(LAFPC) à l'Université De Saad Dahleb Blida

On tient à remercier d'une façon particulière Pr Chemat zoubida d'avoir initié, dirigé, suivi ce travail avec beaucoup de compétence et pour s'être rendus disponibles quand cela était nécessaire. Merci de votre réactivité lors de la rédaction et de votre intérêt sans faille pour ce travail.

On remercie également Ms Abderrahmane boulaïoune pour l'aide compétent qu'il nous a apporté, Merci de votre réactivité ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils précieux.

Merci au Mme Abed responsable de laboratoire centrale de l'hôpital frantz Fanon blida de nous avoir accueillis dans le laboratoire bactériologie pour la réalisation d'un test expérimental.

On remercie également madame bouchareb djamila pour l'aide et les conseils concernant notre travaille

On exprime nos estimés et nos remerciements a le président de jury et aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nos sincères remerciements aux les enseignants de l'option PHI d'université de Blida, qui ont contribué, par leurs enseignements, au bon déroulement de nos formations.

Merci à tous nos camarades pour leurs encouragements et pour leur appui. Merci aussi pour tous ces bons moments.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire

Dédicaces

Avant tout, je tiens à remercier le dieu, qui m'offre le courage et la
volonté

nécessaire pour affronter les différentes de la vie

Je dédie ce travail aux personnes qui me sont les plus chères, ma très
chère

mère et mon père, je ne serais jamais comment exprimer mes sentiments
pour leurs sacrifice, tendresse et affection qu'ils ont toujours accomplis

avec

développement pour me permettre de réussir à ma vie, je leurs souhaite
une

vie longue et prospère.

A ceux qui m'ont donné joie et bonheur, amour et encouragement, mon
oncle Moubarek, mes sœurs Safia, Hadjer et Yousra, mon frère Yasser et

mon

petit Rashad .

A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs moments de
ma vie, à mes amis les plus fidèles et spécialement : Abir ,Djihhan et

Chifa.

A mon binôme Fouzia qui m'a supporté toute ces années.

A ma famille et tous mes proches.

A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment, je dédie ce travail.

Sarra

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots
ne

sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance.

Je dédie cette Thèse :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Fatima

A MON TRÈS CHER PÈRE : Abdelkader

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me
soutenir

et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chères sœurs, Amina, Nawel, Sabah, Zineb, Imène et Meriem .

Vous avez toujours été présente à mes côtés pour me consoler
quand il fallait, encourager et soutenir tout au long de ma vie. Que

Dieu

vous protège et vous offre la chance et le bonheur

A mes amies, Merci pour vos amours et vos encouragements.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à
maintenant.

A ma chère binôme, Sarra pour son soutien moral, sa patience et sa
compréhension tout au long de ce projet.

Fouzia

Résumé

L'argent colloïdal, défini comme une suspension de particules d'argent, majoritairement de taille nanométrique (<100 nm), dans un liquide, il est connu pour ses propriétés antimicrobiennes, spécifiques à l'argent sous forme de nanoparticules (AgNP) via des mécanismes tels que la déstabilisation de la membrane cellulaire.

Nos travaux portent particulièrement sur la synthèse de la nanoparticule d'argent par réduction chimique ainsi que l'évaluation des conséquences d'une adsorption des AgNPs par l'hydroxyde double lamellaire calciné, puis le travail est orienté vers la formulation d'un émulsion antibactérien.

L'évaluation des conformités de nos formules repose essentiellement sur le suivi de ses différentes caractéristiques, les nanoparticules d'argent synthétisés exercent une activité antimicrobienne envers les différentes bactéries testées, les émulsion formulés sont également conformes aux normes, ils sont stables, homogènes et appartient des fluides non newtonienne.

Mots clé : Argent colloïdal, adsorption, l'hydroxyde double lamellaire, émulsion, antibactérienne.

Abstract :

Colloidal silver, defined as a suspension of silver particles, mostly of Nano metric size (<100 nm), in a liquid, it is known for its antimicrobial properties, specific to silver in the form of nanoparticles (AgNP) through mechanisms such as the destabilization of the cell membrane.

Our work is particularly concerned with the synthesis of the silver nanoparticle by chemical reduction and the evaluation of the consequences of adsorption of AgNPs by calcined double lamellar hydroxide, then the work is directed towards the formulation of an antibacterial emulsion. The assessment of the conformities of our formulas is essentially based on the monitoring of its various characteristics; the synthesized silver nanoparticles exert an antimicrobial activity towards the various bacteria tested, the formulated emulsions are also in accordance with the standards, they are stable, homogeneous and belong to non-Newtonian fluids.

Keywords: colloidal silver, adsorption, double lamellar hydroxide, emulsion, antibacterial.

ملخص :

الفضة الغروية، التي تعرف بأنها انتشار لجزيئات الفضة، معظمها بحجم نانومتري (> 100 نانومتر)، في السائل، تُعرف بخصائصها المضادة للميكروبات، خاصة حين تكون على شكل جسيمات نانوية (AgNP) من خلال آليات مثل زعزعة استقرار غشاء الخلية. يهتم عملنا بشكل خاص بتوليف جسيمات الفضة النانوية عن طريق الاختزال الكيميائي وتقييم نتائج امتزاز AgNPs بواسطة الطين الأيوني المنقوش، ثم يتم توجيه العمل نحو صياغة مستحلب مضاد للبكتيريا. يستند تقييم صيغنا أساسا إلى رصد مختلف خصائصها، تمارس جسيمات الفضة النانوية المصنعة نشاطا مضادا للميكروبات تجاه مختلف البكتيريا التي تم اختبارها، كما ان المستحلبات المصنعة تتوافق أيضا مع المعايير فهي مستقرة و متجانسة و تنتمي الى السوائل غير النيوتونية.

الكلمات الرئيسية: فضة غروية، امتزاز، الطين الأيوني مستحلب، مضاد للبكتيريا.

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxtriboNucléique

AgNCs :nanoclusters d'argent

AgNps : Argent Nanoparticles

ATCC : American Type collection

DLS : Diffusion Dynamique de lumière

DMF : Tollens, N, N-diméthylformamide

E/H : eau dans huile

EDX : spectroscopie des rayons x

ERV : Endogenous retrovirus

H/E : huile dans eau

HDL : Layered Double Hydroxydes

HLB :Hydrophylic-Lipophilic balance

MEB : Macroscopie électronique a balayage

NM : Nanomatériaux

NP : Nanoparticules

pH : potentiel de l'hydrogène

PVC : polychlorure de vinyle

SPR : résonance plasmode de surface

TA : tensioactif

UV : ultra-violet

UV-VIS : Ultra-violes visible

Listes des figures

CHAPITRE I Les nanoparticules d'argent

Figure I.1: classification des nanomatériaux selon leur forme [7]	4
Figure I.2: les différentes compositions des nanomatériaux [10].....	5
Figure I.3: Différentes formes de nanoparticules	7
Figure I.4: Agglomérats et agrégats	8
Figure I.5: schéma représentatif de mécanisme d'action des NPs [30].....	12
Figure I.6: Schéma récapitulatif illustrant l'interaction de l'argent à l'échelle nanométrique avec des cellules bactériennes [35]	13
Figure I.7: Représentation de la structure de matériaux de type HDL [46]	16
Figure I.8: Divers domaines d'applications des HDLs[52].....	17
Figure I.9: Schéma regroupe les méthodes usuelles de synthèse des HDLs [60].....	19

CHAPITRE II : Synthèse des nanoparticules d'argent

Figure II. 1: les différentes méthodes de synthèses	24
Figure II. 2: les approches top-down et bottom-up.....	25
Figure II. 3: Synthèse de nanoparticules d'argent par l'acide ascorbique	29

CHAPITRE III : Les émulsions

Figure III. 1 : Les couches de la peau.....	35
Figure III. 2: Les émulsions	37
Figure III. 3 : Différentes phases d'instabilités d'une émulsion.....	40
Figure III. 4 : rôle d'émulsifiant des la stabilisation des émulsions.....	44

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

Figure IV. 1 : l'organigramme de travail expérimental.....	52
Figure IV. 2 : protocole de préparation des colloïdes d'argent par la méthode de réduction	54
Figure IV. 3 : l'adsorption des AgNps par HDL calciné.....	56
Figure IV. 4 : les étapes de la préparation d'émulgel.....	57
Figure IV. 5 : Les étapes de test d'activité antibactérienne.....	62

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Figure V. 1 : Réduction des AgNps	64
Figure V. 2 : le spectre d'absorption UV-visible des nanoparticules de l'argent.	65
Figure V. 3 : le spectre d'absorption UV-visible de filtrat.....	65
Figure V. 4 : Photo prise au microscope optique de l'émulgel d'AgNps	67
Figure V. 5 : Photo prise au microscope optique de l'émulgel d'AgNps/HDL	67
Les résultats de l'étude rhéologique sont représentés dans les figures V. 6 et V. 7 :	68
Figure V. 8 : Rhéogrammes de contrainte et la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement de l'émulgel à base des AgNps	68
Figure V. 9 : Rhéogrammes de contrainte et la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement de l'émulgel à base des AgNps/HDL	69
Figure V. 10 : Illustrations de l'effet des disques imbibés de différents volumes d'AgNps	70

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Propriétés physicochimiques d'argent [22].....	9
Tableau I.2 : Domaines d'application de produits contenant des AgNps [26].....	10
Tableau IV.4 : Produits utilisées dans la formulation d"émulgel	56
Tableau V.5 : tests macroscopiques des émulsion formulés	66
Tableau V.6 chromatogramme des souches bactériennes	71

SOMMAIRE

RESUME.....	I
LISTE DES ABREVIATIONS.....	II
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTE DES TABLEAUX.....	iv
SOMMAIRE.....	V
INTRODUCTION.....	1

CHAPITRE I Les nanoparticules d'argent

1. La nanotechnologie :.....	3
2. les nanomatériaux :.....	3
2.1. Classification des nanomatériaux :.....	4
2.1.1. Classification selon leur forme :.....	4
2.1.2. Classification selon leur composition :.....	4
3. les nanoparticules :.....	5
3.1. Origine des nanoparticules :.....	5
3.2. Propriétés des nanoparticules :.....	6
3.2.1. Caractéristiques des nanoparticules :.....	6
4. L'argent :.....	8
5. les colloïdes:.....	9
6. Les nanoparticules d'argent :.....	9
6.1. Application des nanoparticules d'argents :.....	10
6.2. Propriétés des nanoparticules d'argent.....	11
6.3. Mécanismes d'action des nanoparticules d'argents :.....	12
7. hydroxydes doubles lamellaires (HDL).....	15
Introduction :.....	15
7.1. Les argiles anioniques :.....	15
7.2. Domaines d'applications des HDL :.....	16
7.2.1. Application en adsorption et /ou échange anionique :.....	16
7.2.2. Application en Médecine.....	16
7.2.3. Application en électrochimie :.....	17
7.3. Propriétés des HDL :.....	17
7.3.1. Echange anionique.....	17
7.3.2. Délamination.....	17
7.3.3. Propriétés des HDL calcinés :.....	18

CHAPITRE II : Synthèse des nanoparticules d'argent

1. Introduction	24
2. L'approche descendante (top down) et ascendante (bottom up).....	24
3. Les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent.....	26
3.1. Synthèse chimique des nanoparticules d'argent (Réduction chimique):.....	27
3.1.1. Synthèse de nanoparticules d'argent par l'acide ascorbique	28
4. Paramètres de synthèse influençant la réduction d'un sel d'argent	29

CHAPITRE III : Les émulsions

1. Introduction	34
2. La peau :.....	34
3. Les émulsions:.....	35
3.1. Gel.....	36
3.2. Les émulsions	36
3.2.1. Les différents systèmes sous le terme « émulsion » :	37
3.2.2. Les différents types d'émulsions :	37
3.2.3. Caractères des émulsions :	38
3.2.4. Formation, stabilisation et déstabilisation des émulsions:.....	38
4. Formulation :	42
4.1. Les matières premières :	42
4.1.1. La phase lipophile :	42
4.1.2. La phase hydrophile :.....	42
4.1.3. Les émulsionnants :	43
4.1.4. Les additifs :.....	45
4.3. Contrôle d'une émulsion :	47
4.3.1. Détermination du sens de l'émulsion :.....	47
4.3.2. Taille des gouttes :	48
4.3.3. Détermination du pH :	49
4.3.4. Viscosité des émulsions :	49
4.3.5. Essais microbiologiques :	49
4.3.6. Evaluation de la stabilité :	50

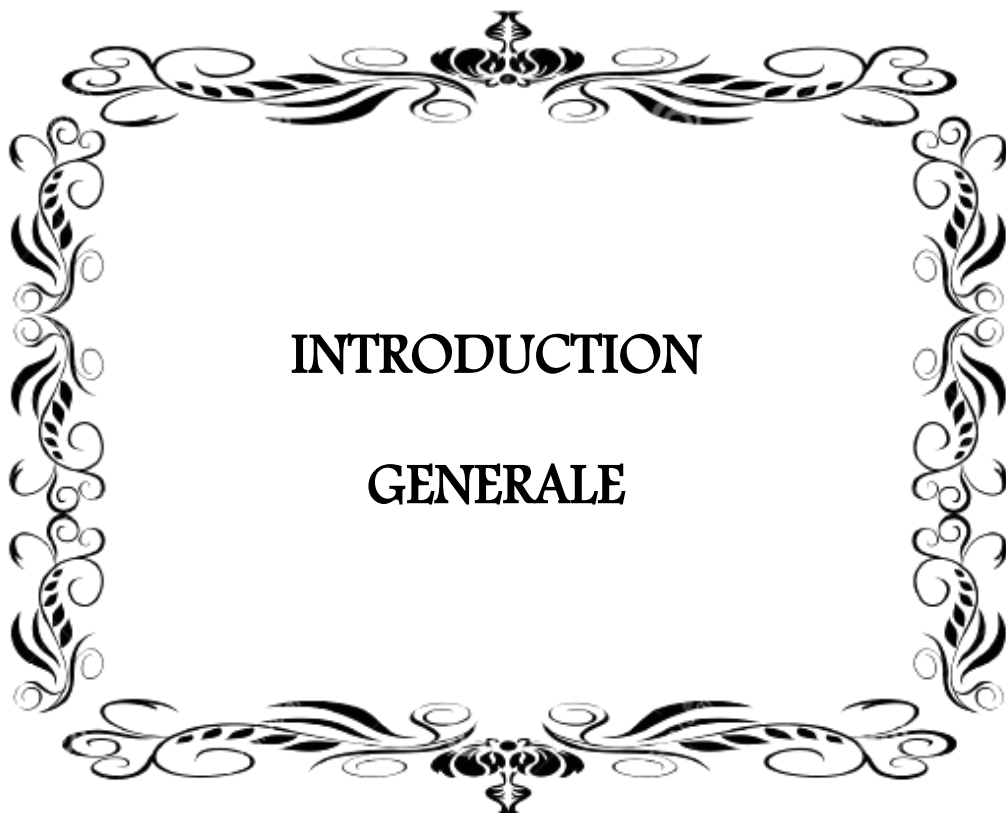
CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

1. Synthèse des nanoparticules d'argent	52
1.1. Produits utilisées :	52
1.2. Préparation des nanoparticules d'argent colloïdales :	53
2. Techniques de caractérisation	54
2.1. Spectrophotométrie d'absorption (UV-VIS).....	54
3. Adsorption des nanoparticules d'argent AgNps par l HDL	55
4. Formulation d'émulgel :	56
4.1. Produits utilisées.....	56
4.2. Formulation	57
4.2.1. Formulation de l'émulsion.....	58
4.2.2. Formulation de gel.....	58
4.2.3. Incorporation d'émulsion dans la base du gel :	58
5. Caractérisation de l'émulgel.....	58
5.1. Propriétés organoleptiques :	58
5.2. Le sens de l'émulsion :	59
5.3. Stabilité à la centrifugation	59
5.4. Etude microscopique:.....	59
5.5. Détermination du pH :	59
5.6. Étude rhéologique :	59
5.7. Activité antibactérienne :	60

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Caractérisations de l'argent colloïdal :	64
1.1. Caractérisation par changement de couleur de la solution d'argent colloïdal:	64
1.2. Caractérisation par spectroscopie UV-Visible d'argent colloïdal :	64
2. Caractérisation de la formulation d'émulgel :	66
2.1. Tests macroscopiques.....	66
2.2. Test microscopique :	66
2.3. Stabilité à la centrifugation :	67
2.4. Sens d'émulsion :	67
2.5. Test Rhéologique :	67
2.6. Activité antibactérienne :	69
CONCLUSION ET PRESPECTIVES	73

REFERANCES



INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION

De nos jours, les progrès de la nanotechnologie ont ouvert la voie en offrant l'opportunité d'utiliser les nanoparticules métalliques comme moyen efficace de contrôler les différentes bactéries pathogènes impliquées dans les maladies infectieuses [1]. Parmi les nanomatériaux prometteurs, les nanoparticules d'argent (AgNps) jouent un rôle essentiel de par leurs propriétés antibactériennes. Par ailleurs, plusieurs questions restent en suspens compte tenu de leur utilisation comme une nouvelle génération d'agents antimicrobiens pour le traitement et la prévention des micro-organismes multi-résistants [2]. La distribution des tailles et les propriétés morphologiques des NP les rendent source indiscernable de matériel pour diverses applications dans le domaine de l'électronique, magnétique, stockage de l'information, administration de médicaments, biomoléculaire détection, diagnostic et traitements antimicrobiens

Les propriétés optiques des nanoparticules d'argent dépendent fortement de leur taille, de leur forme, de leur état d'agrégation et de leur environnement local. Parmi les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules sphériques de tailles contrôlées, la plus courante pour les particules d'argent est la méthode chimique en raison de sa commodité et de l'équipement simple. Contrôle sur la croissance des nanoparticules métalliques est nécessaire pour obtenir des nanoparticules de petite taille avec une forme sphérique et une distribution étroite de diamètre. Il est bien connu que les nanoparticules d'argent peuvent être produits par réaction chimique à faible coût et à haut rendement [3].

L'introduction de nanoparticule métallique telle que l'argent dans l'argile anionique a fait l'objet de nombreux travaux de recherche en raison de leurs excellentes propriétés optiques et antimicrobiennes [4].

En raison de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent, les crèmes et les gels AgNps sont formulées et commercialisées pour traiter les brûlures et les blessures. Ils présentent un spectre rapide et large d'activité antibactérienne contre Gram positif organismes à Gram négatif.

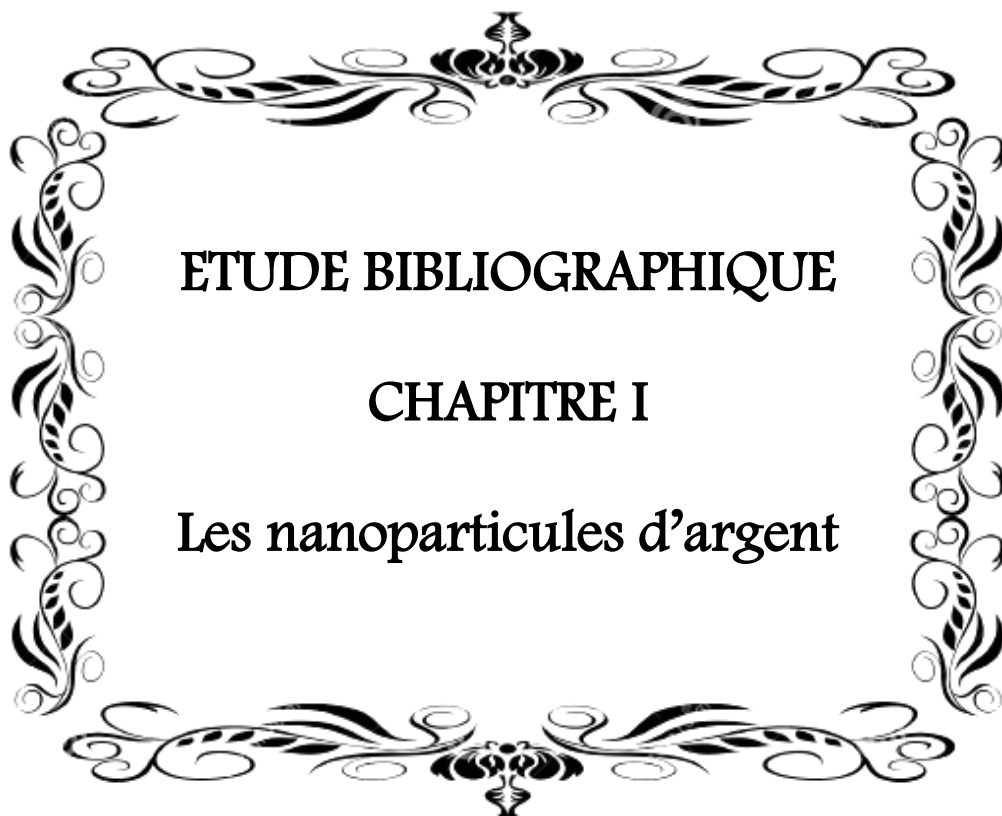
L'objectif de notre travail est de formuler un émulsion antibactérien à base des nanoparticules d'argent et des nanoparticules d'argent adsorbent par les hydroxydes doubles lamellaires, il est structurée en trois parties :

la première constitue l'étude bibliographique qui est composée de trois chapitres dans lesquels nous évoquerons d'abord les notions générales des nanoparticules d'argent et leur utilisation, Dans le deuxième chapitre, nous exposerons la méthode de synthèse des nanoparticules d'argent et la technique d'adsorption des AgNps par les hydroxydes doubles lamellaires ainsi que ses différentes caractérisations, dans le troisième chapitre nous mettrons en lumière les notions générales sur les émulsions, leurs caractéristiques et leurs modes de déstabilisation.

Dans la seconde, nous décrirons les différentes méthodes suivies et le matériel utilisé tout au long de ce travail. La troisième partie sera consacrée à la présentation des principaux résultats obtenus et leur discussion.

Enfin nous ferons une conclusion générale de ce travail et présenterons quelques perspectives pour les prochaines études semblables.

En espérant que ce travail vous donne satisfaction, nous vous souhaitons une excellente lecture émaillée de découvertes fascinantes et passionnantes.



ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Les nanoparticules d'argent

1. La nanotechnologie :

La nanotechnologie est une nouvelle approche liée à la compréhension et à la maîtrise des propriétés de la matière à l'échelle nanométrique, un nanomètre (un milliardième de mètre) correspondant à la longueur d'une petite molécule. À ce niveau, la matière présente des propriétés différentes et souvent étonnantes, et les frontières entre les disciplines scientifiques et techniques établies s'estompent. D'où la dimension interdisciplinaire forte associée à la nanotechnologie.

La nanotechnologie est souvent décrite comme potentiellement «perturbatrice» ou «révolutionnaire» en termes d'impact possible sur les méthodes de production industrielle. Elle apporte des solutions possibles à toute une série de problèmes actuels par le biais de matériaux, composants et systèmes plus petits, plus légers, plus rapides et plus efficaces. Ces possibilités ouvrent de nouvelles perspectives pour la création de richesse et l'emploi. La nanotechnologie devrait également apporter une contribution essentielle à la résolution de problèmes mondiaux et environnementaux en réalisant des produits et des processus destinés à un usage plus spécifique, en économisant des ressources et en réduisant le volume des déchets et des émissions [5].

2. les nanomatériaux :

la Commission Européenne a proposé en octobre 2011 la définition d'un NM comme étant « un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm », précisant que « lorsque cela se justifie pour des raisons tenant à la protection de l'environnement, à la santé publique, à la sécurité ou à la compétitivité, le seuil de 50 % fixé pour la répartition numérique par taille peut être remplacé par un seuil compris entre 1 % et 50 % ». De plus, la Commission Européenne intègre à cette définition tout matériau présentant « une surface spécifique en volume supérieure à 60 m²/cm³ » [6]

2.1. Classification des nanomatériaux :

Les NM peuvent être classifiés en fonction de leur composition ou de leur forme.

2.1.1. Classification selon leur forme :

- Les nanoparticules : ce terme désigne des nano-objets dont les trois dimensions se situent à l'échelle nanométrique et inclut des nanoparticules métalliques telles que l'argent (AgNPs), le fer, le dioxyde de titane (TiO_2), etc.
- Les nanofibres et nanotubes : deux dimensions sont à l'échelle nanométrique et la troisième dimension est significativement supérieure à 100 nm (nanotubes de carbone, nanofibres de polyester, nanotubes de nitrure de bore, etc.).
- Les nano-feuillets : une dimension caractéristique de l'objet se situe à l'échelle nanométrique et les deux autres dimensions sont significativement supérieures à 100 nm (nano-feuillets d'argile, etc.)

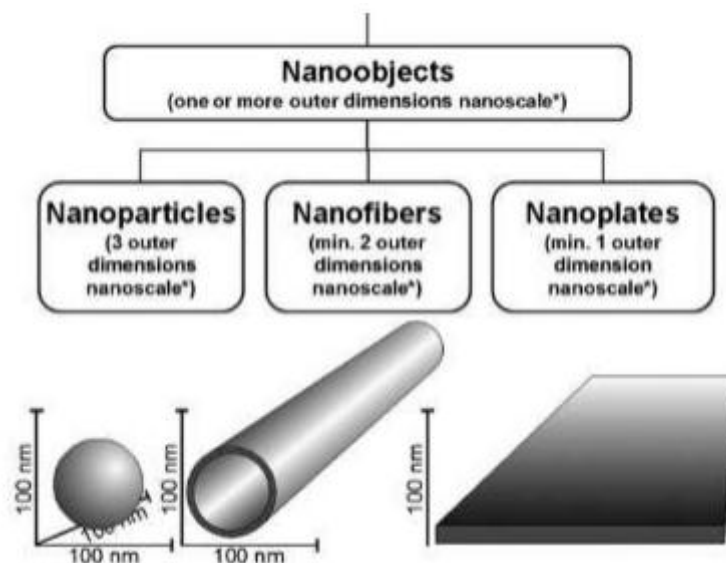


Figure I.1: classification des nanomatériaux selon leur forme [7]

2.1.2. Classification selon leur composition :

- Les NM inorganiques : ils incluent les argiles, les NM carbonés (graphènes, fullerènes, nanotubes de carbone) et également les métaux tels que l'argent (Ag), l'or (Au) et les oxydes métalliques comme le dioxyde de titane (TiO_2) ou l'oxyde de zinc (ZnO).

- Les NM organiques : ils incluent l'ensemble des formes organiques telles que les micelles ou les liposomes. Ils peuvent être notamment utilisés en tant que vecteurs pour des principes actifs dans le secteur pharmaceutique et médical [8].
- Les NM combinés : ils correspondent principalement à des NM inorganiques dont la surface a été modifiée avec une matrice organique afin de favoriser, par exemple, la dispersion dans un milieu ou la biodisponibilité d'un principe actif [9]

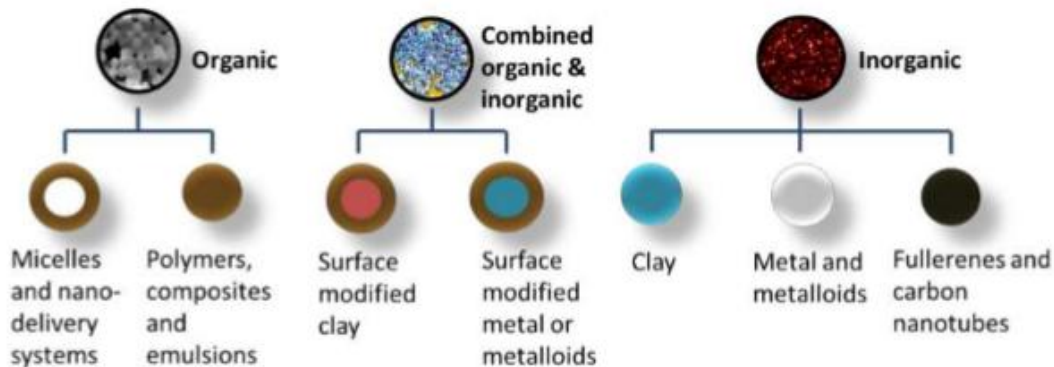


Figure I.2: les différentes compositions des nanomatériaux [10]

3. les nanoparticules :

Le terme « nanoparticule » désigne un assemblage d'atomes qui constitue des particules, dont 50% ou plus se situent dans la gamme de taille 1-100 nm [11], Le rayon typique d'un atome étant de l'ordre de 0,1nm, une nanoparticule peut être constituée d'une dizaine à plusieurs centaines d'atomes [12], Les nanoparticules sont des structures relativement fréquentes et se situent, sur l'échelle du monde vivant, entre l'hélice d'ADN (3,4 nm) et un virus (100 nm) [13]

3.1.Origine des nanoparticules :

Les nanoparticules existent dans la nature mais elles sont aussi fabriquées et utilisées dans de nombreux domaines [14] On en distingue trois types selon leur origine :

- Les nanoparticules d'origine naturelle : résultent essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère (incendies, éruptions volcaniques ...)

- Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle : issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs (pollutions, émissions diesel, combustions diverses ...)
- Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle : nanoparticules manufacturées par l'industrie ou dans les laboratoires de recherche. [15]

3.2. Propriétés des nanoparticules :

La diminution de la taille d'une particule conduit à l'apparition de caractéristiques spécifiques et de propriétés nouvelles selon la forme, la taille et la distribution [16]

A l'échelle nanométrique, On note principalement des propriétés optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques [12]

Les nanoparticules manufacturées diffèrent de celles naturelles par l'homogénéité de leurs caractéristiques, leur plus grande stabilité, la réactivité chimique, le rapport surface/volume élevé et les propriétés de surface biocompatibles favorisant les diverses applications médicales telles que les activités antimicrobiennes, mutagènes et anti inflammatoires particulières [17,18, 19]

3.2.1. Caractéristiques des nanoparticules :

Les nanoparticules ont des caractéristiques très différentes et spécifiques de celles des atomes ou autres matériaux [20].

Les principales caractéristiques des nanoparticules sont:

- La surface spécifique:

On entend par «surface spécifique» la surface réelle totale d'une particule par unité de masse de produit par rapport à sa taille apparente. La particularité de la surface d'une nanoparticule réside dans le fait que la plupart de ces atomes se trouvent sur la surface ce qui va conférer à la nanoparticule sa propriété de réactivité avec le milieu où elle se présente. Grâce à cette caractéristique, plus la surface spécifique augmente, plus la taille des particules va diminuer, donc, plus leur réactivité chimique et biologique va augmenter.

Les propriétés physico-chimiques particulières résultant des nanoparticules, ont permis l'essor de nouveaux produits, ce qui a révolutionné le monde qu'on connaissait avant, et cela dans plusieurs domaines d'activité.

- La taille:

Grâce à leur petite taille nanométrique, les nanoparticules ont la particularité d'avoir 2 types de dispersion:

- Monodispersion: une seule et même taille
- Polydispersion: une gamme de plusieurs tailles plus ou moins importantes. La taille joue un rôle très important dans la réactivité des particules. Par exemple, pour les atomes d'arsenic avec les particules d'oxyde de fer; plus le diamètre des particules est petit, plus leur capacité dans la rétention des atomes d'arsenic sera forte.

- La forme:

Les nanoparticules sont caractérisées par leurs diverses formes (sphériques, tubes, plaques...), tellement nombreuses qu'il est difficile de toutes les classer. La Figure I.3 illustre quelques types de nanoparticules [20].

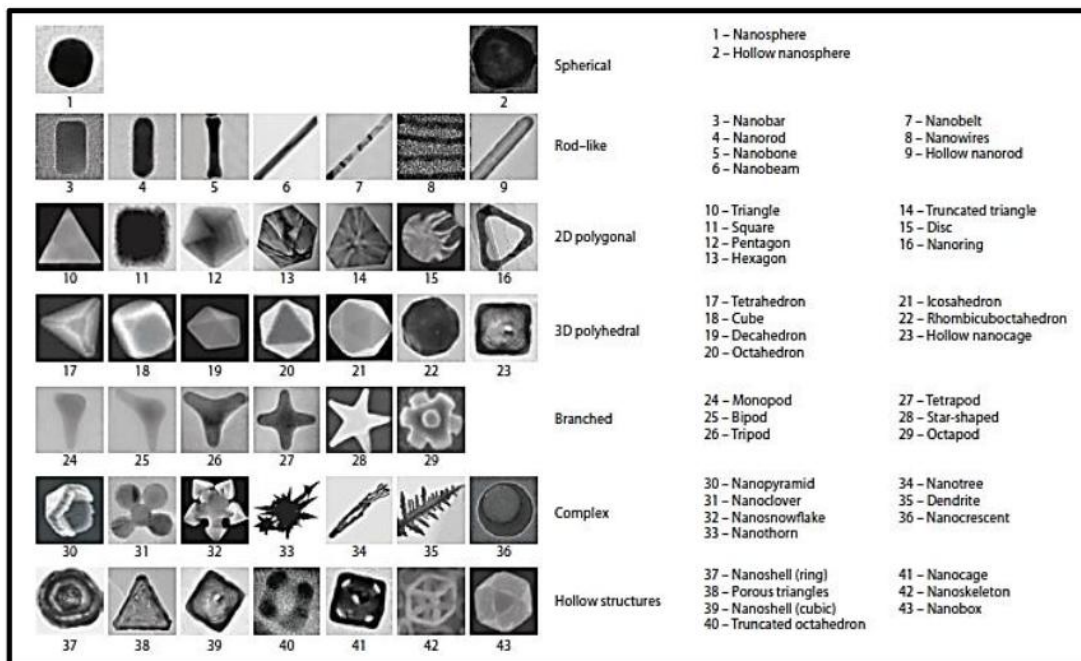


Figure I.3: Les différentes formes de nanoparticules

- L'agrégation et l'agglomération:

Grâce à leur surface particulière et selon le milieu dans lequel elles se trouvent, les nanoparticules peuvent se présenter sous 3 formes:

- Nanoparticules primaires
- Agglomérats: ce sont des liaisons de nanoparticules primaires par des liaisons très faibles telles que les liaisons de Van Der Waals.
- Agrégats : ce sont des liaisons des nanoparticules primaires par des liaisons chimiques très fortes telles que les liaisons de covalence.

La Figure I.4 montre ces trois différentes formes de regroupement.

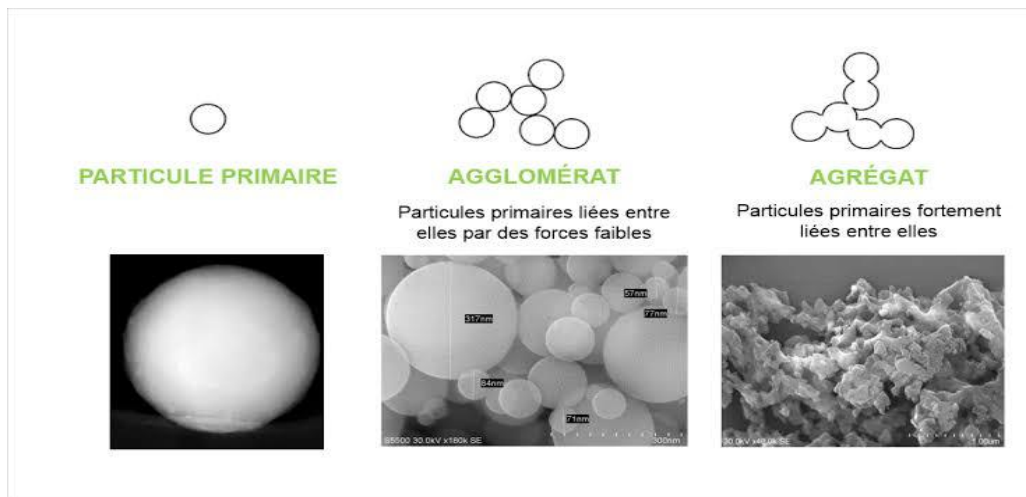


Figure I.4: Agglomérats et agrégats

4. L'argent :

L'argent, un métal blanc, brillant et malléable, se caractérise par une conductibilité thermique et une conductivité électrique plus élevées que celles de tous les autres métaux. [21,22].

On utilise l'argent dans les alliages de brasage et de soudure, dans les dispositifs et applications électriques et électroniques, telles que les accumulateurs et l'électroplastie, et dans la fabrication de fongicides, de pellicules photographiques, d'argenterie et de bijouterie. Il est utilisé très largement dans l'industrie de la photographie [23]

Tableau I.1 : Propriétés physicochimiques d'argent [22]

Numéro atomique	47
Masse atomique	107,87 g.mol ⁻¹
Electronégativité de Pauling	1,9
Masse volumique	107,87 g.mol ⁻¹
Température de fusion	962 °C
Température d'ébullition	2212 °C
Rayon atomique (Van der Waals)	0,144 nm
Rayon ionique	0,126 nm
Configuration électronique	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹
Energie de première ionisation	758 kJ.mol ⁻¹
Energie de deuxième ionisation	2061 kJ.mol ⁻¹
Potentiel standard	+ 0,779 V

5. les colloïdes:

Les systèmes colloïdaux sont définis comme étant des dispersions dont les particules possèdent des dimensions moyennes comprises entre 0,001 et 1 µm et des vitesses de sédimentation di faibles que leur chute est rendue impossible par l'agitation thermique du milieu.

Ces produits peuvent être d'origine minérale (sables, limons, argiles, ...) ou organique (produits de la composition des matières ou animales, acides humiques ou fulviques par exemple). A ses composes s'ajoutent les microorganismes tels que les virus. Ces substances sont responsables, en particulier, de la turbidité et de la couleur [24].

6. Les nanoparticules d'argent :

L'argent colloïdal est un type de colloïde consistant en minuscules particules d'argent chargées électriquement et en suspension dans l'eau déminéralisée, du fait de leur charge se repoussant mutuellement. La plupart des solutions dites « argent colloïdal » sont composés à la fois d'ions d'argent et des particules d'argent colloïdales [25].

Parmi les différents types de nanoparticules déjà développées par la science, il y a les nanoparticules d'argent (AgNPs) qui, en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, sont utilisées dans divers produits.

6.1. Application des nanoparticules d'argents :

Le tableau I.2 montre les domaines d'application de produits contenant des AgNPs et leurs utilisations.

Tableau I.2 : Domaines d'application de produits contenant des AgNPs [26]

Domaines	Applications	Utilisation
Secteur Biomédical	<ul style="list-style-type: none"> -Des pansements dits «argentiques» (tels que des pansements Acticoat) -Des cathéters urinaires, vasculaires et péritonéaux -Des masques chirurgicaux 	<ul style="list-style-type: none"> -Prévenir des infections, -Prévenir la formation de biofilms bactériens, -Guérir des blessures, - Ne provoquent pas d'allergie ni d'irritation.
Agroalimentaire et le traitement de l'eau	<ul style="list-style-type: none"> -Des équipements en argent, -Des films alimentaires dans lesquels sont incorporées des particules de phosphate de calcium biodégradables portant des nanoparticules d'argent -Des membranes de filtration imprégnées de nanoparticules d'argent 	<ul style="list-style-type: none"> -Eviter les contaminations et prévenir l'apparition d'un goût métallique, - Empêcher le développement d'agents infectieux dans les circuits de distribution d'eau potable.
Hygiène des personnes	<ul style="list-style-type: none"> -Déodorant, savon, gel bactéricide pour les mains, -Produits cosmétiques, -Sièges des toilettes publiques -Vêtements et textiles 	<ul style="list-style-type: none"> -Retarder le développement des bactéries et champignons, -Eviter les mauvaises odeurs, -Empêcher l'adhésion des pollens allergènes.

Désinfection des surfaces	-Peintures murales, revêtement de sol, -Revêtement de surfaces d'acier inoxydable pour les équipements médicaux, industries agroalimentaires ou pharmaceutiques	Surtout pour les personnes allergiques aux désinfectants habituels
Technologies et équipements électroménager	-Ordinateur, Combinés téléphoniques, calculatrice, clavier d'ordinateurs... -Machines, réfrigérateurs, aspirateur...	Libération d'ions Ag ⁺ à partir d'argent métalliques grâce à un courant électrique.

6.2. Propriétés des nanoparticules d'argent :

Le passage de l'état massif vers l'état nanométrique conduit à l'apparition de nouvelles propriétés qui sont différentes de celles du massif.

6.2.1. Propriétés optiques :

Les propriétés d'absorption et de diffusion des Ag Nps peuvent être modifiées en contrôlant la taille, la forme et l'indice de réfraction proche de la surface de la particule. Par exemple, les plus petites nanoparticules absorbent la lumière de longueur d'onde proche de 400 nm, tandis que les plus grosses présentent une diffusion accrue et ont des pics qui s'élargissent et se déplacent vers des longueurs d'onde plus grandes. Lorsque les Ag Nps sont exposées à une longueur d'onde électromagnétique spécifique, une oscillation cohérente des électrons libres à la surface des Ag Nps est induite.

Ce phénomène provoque une séparation de charge par rapport au réseau ionique formant une oscillation atteignant son maximum à une fréquence spécifique, appelée résonance plasmode de surface (SPR) [27].

6.2.2. Propriétés catalytiques :

D'un point de vue chimique, la diminution de la taille des nanoparticules rend les matériaux plus réactifs, ce qui en fait des candidats prometteurs pour les applications en catalyse. Il a été démontré expérimentalement que les nanoparticules métalliques ont des activités catalytiques élevées pour l'hydrogénation, carbonylation et l'hydroformylation [28].

6.3. Mécanismes d'action des nanoparticules d'argents :

Selon l'Immunologic 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. [29].

L'argent a la capacité de pénétrer dans la cellule bactérienne par différents procédés spécifiques ou non, ensuite, son action bactéricide va s'expliquer par plusieurs mécanismes d'actions.

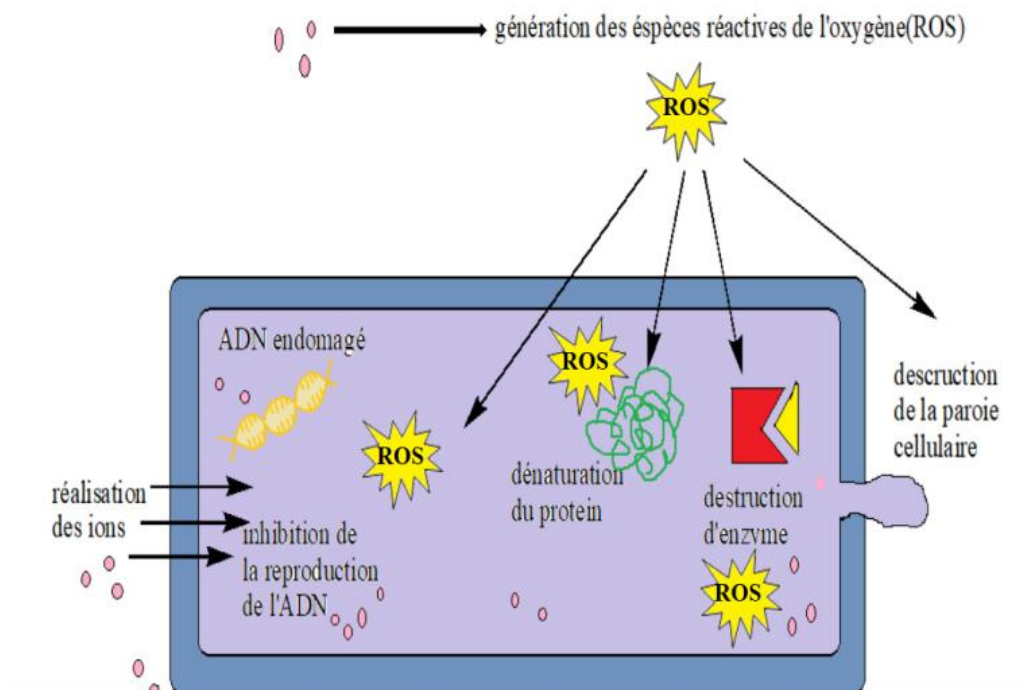


Figure I.5: schéma représentatif de mécanisme d'action des NPs [30]

6.3.1. Désactivation enzymatique :

Les ions argent Ag^+ ont la propriété d'inactiver les enzymes essentielles du protoplasme des bactéries, en réagissant principalement avec les protéines anioniques (groupement thiols contenant du soufre et de l'hydrogène). L'argent est relargué après chaque destruction enzymatique, pour s'attaquer de nouveau à d'autres enzymes décrivant alors un processus continu. L'argent a propriété d'inhiber l'adénosine tri phosphatase mitochondriale, impliquée dans la respiration cellulaire de certains organismes vivants [31].

L'inhibition enzymatique par l'argent explique en partie son activité antibactérienne, quand il s'agit d'enzymes bactériennes. Cependant, une étude a démontré que l'argent pouvait inhiber les enzymes des cellules intestinales chez le rat. L'argent administré par voie orale chez un modèle de rat souffrant de colites ulcéraives, inhibait la sécrétion de métalloprotéinases. [32]

Par conséquent, dans ce cas de figure, l'inactivation enzymatique cellulaire induite par l'argent, lui confère une action anti inflammatoire. Cette propriété anti-inflammatoire a été également mise en évidence dans une série de travaux expérimentaux portant sur des modèles induits de dermatite de contact. [33,34]

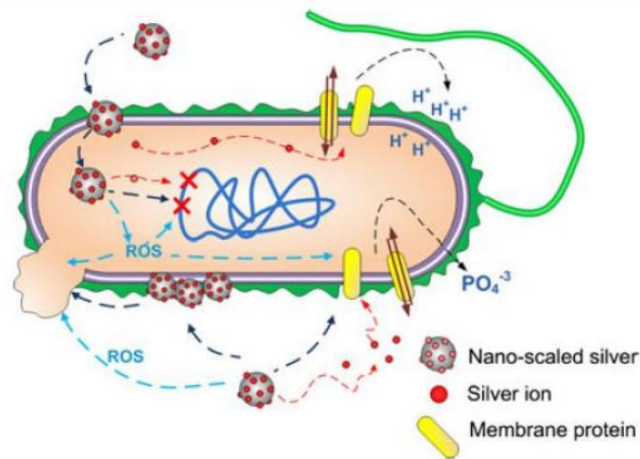


Figure I.6: Schéma récapitulatif illustrant l'interaction de l'argent à l'échelle nanométrique avec des cellules bactériennes [35]

6.3.2. Perturbation des membranes des organismes pathogènes :

Essentiellement, l'argent réagit avec la paroi cellulaire de la bactérie. Celle-ci est constituée de protéines liées par des aminoacides pour lui donner résistance et stabilité. Ces protéines structurales sont appelées peptidoglycanes. L'argent réagit avec les peptidoglycanes exposés en bloquant leur capacité à transférer l'oxygène (énergie) dans la cellule et de ce fait inactive les bactéries qui finissent par mourir. Les cellules des mammifères sont protégées par un revêtement complètement différent des peptidoglycanes sur lequel l'argent n'a aucun effet. Toute cellule qui ne possède pas une paroi résistante au niveau chimique est vulnérable à l'action de l'argent. Ceci comprend toutes les bactéries et d'autres organismes dépourvus de parois cellulaires, par exemple les virus extracellulaires. [36]

L'argent a le pouvoir à endommager les membranes cellulaires bactériennes en utilisant des isotopes d'argent radioactifs (sulfadiazine argentique) sur une souche bactérienne de *Pseudomonas aeruginos*, les ions argent s'attachaient aux parois et aux membranes cellulaires, produisant une sorte de vésicules d'où s'échappaient des ions potassium et d'autres métabolites (fuite métabolique), phénomène aboutissant à la lyse bactérienne. Ils constatèrent également que l'argent formait un complexe avec l'ADN des bactéries [37].

6.3.3. Inhibition de la réplication par liaison à l'ADN :

Une étude élaborée sur des souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* démontre clairement que l'argent a la propriété de se lier à l'ADN bactérien et d'inhiber sa réplication. La liaison de l'argent à la double hélice nucléotidique induit une stabilisation de cette hélice et donc une impossibilité de réplication [38].

6.3.4. Argent et biofilms bactériens :

L'argent a pour particularité de désorganiser les biofilms bactériens en réduisant les ponts hydrogène et en bouleversant les interactions électrostatiques et hydrophobes entre les cellules bactériennes [39].

6.3.5. Les effets « Zombies » des nanoparticules d'argent:

Un des avantages majeurs des nanoparticules d'argent métallique réside dans le fait qu'elles représentent un réservoir d'ions Ag^+ . Ce qui permet une activité antibactérienne pendant une période de temps plus longue [40].

Les bactéries tuées sous action des ions Ag^+ exercent une activité biocide significative envers une population viable de la même bactérie, l'origine de ce phénomène découle de deux caractéristiques de l'action biocide induite par les AgNps:

Les espèces métalliques ne sont pas désactivées à la suite du mécanisme d'inhibition de la bactérie, et peuvent donc poursuivre leur effet biocide à plusieurs reprises.

-Les bactéries mortes servent d'un réservoir de relargage des ions Ag^+ et peuvent donc libérer ces cations métalliques létaux pour de nouvelles actions contre d'autres bactéries vivantes [41].

7. hydroxydes doubles lamellaires (HDL) :

Introduction :

Les matériaux lamellaires sont des composés où la cohésion cristalline est très forte dans deux directions et beaucoup plus faible dans la troisième. Ils sont ainsi constitués de feuillets en interaction par des liaisons faibles de type électrostatique, VAN der WAALS, ou liaison hydrogène. Ces feuillets peuvent ne comprendre qu'une seule sorte d'atomes comme dans le cas du graphite, ou comporter des atomes de nature différente; les exemples les plus typiques sont les disulfures de métaux de transition, les oxydes lamellaires, chalcogénures, phosphonates, les argiles ainsi que les HDL. La faible intensité des forces qui lient les feuillets entre eux est à l'origine d'une propriété spécifique: l'intercalation; ces matériaux peuvent en effet servir de matrice d'accueil à un grand nombre d'ions ou molécules, venant prendre place entre les feuillets, avec conservation du caractère bidimensionnel de la matrice. Leur morphologie et leur structure cristalline leur confèrent des propriétés physico-chimiques spécifiques dont l'étude apparaît particulièrement intéressante tant d'un point de vue fondamental que pour des applications [42].

7.1. Les argiles anioniques :

Les argiles anioniques sont des composés aussi appelées hydroxydes doubles lamellaires (notés HDL, acronyme de Layered Double Hydroxydes), ils sont plus rares dans la nature mais relativement simples à synthétiser, on y trouve les hydrotalcites ayant une composition chimique : $(Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O)$ [43], L'hydrotalcite est constituée d'une couche de brucite chargée positivement. La neutralité des feuillets brucitiques est assurée par un anion placée dans l'espace inter lamellaire, comme les carbonates [44].

Les feuillets des HDL sont constitués de cations métalliques entourés des six atomes d'oxygène des groupes hydroxyles, formant des octaèdres $M(OH)_6$. Ces octaèdres s'assemblent par leurs arêtes de façon coplanaire et constituent alors un feuillet.

La substitution des cations métalliques divalents par des cations trivalents génère une charge positive variable dans le feuillet. Pour compenser l'excès de charge positif, des anions et des molécules d'eau s'insèrent entre les feuillets et permettent l'électro neutralité de l'édifice.

La formule générale des hydroxydes doubles lamellaires est

$[M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2]^{x+} [X^{m-}]_{x/m} \cdot n[H_2O]^x$ où M^{II} et M^{III} sont respectivement les cations divalents et trivalents, X est l'anion assurant la neutralité de l'édifice et m est le taux de métal trivalent. [42,45].

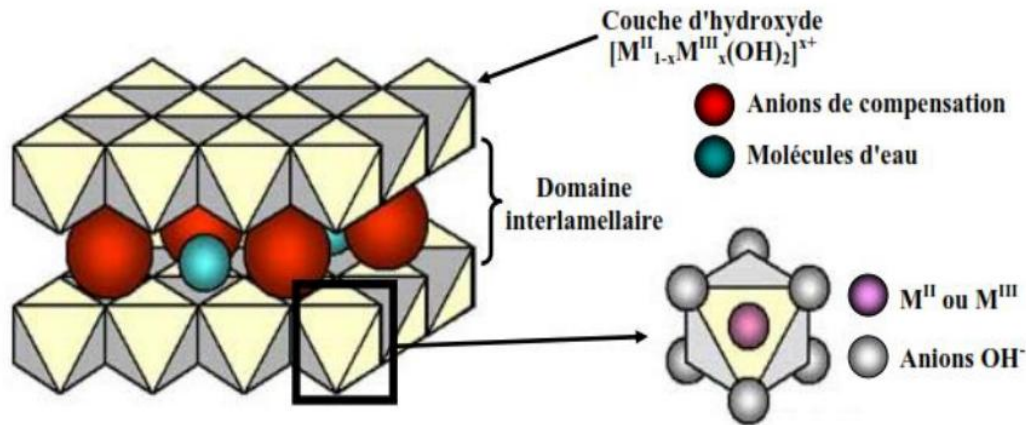


Figure I.7: Représentation de la structure de matériaux de type HDL [46]

7.2. Domaines d'applications des HDL :

Les phases hydroxydes doubles lamellaires suscitent beaucoup d'intérêt de part leurs propriétés originales, en résumé les différents d'applications comme suit :

7.2.1. Application en adsorption et /ou échange anionique :

Les HDL, ont la capacité de piéger les anions par adsorption de surface et/ou par échange anionique, en raison de leur surface spécifique élevée et de la flexibilité de l'espace inter feuillet [47].

- L'adsorption permet: stabilisateurs PVC et de piègeurs d'halogène.
- l'échange anionique permet: l'intercalation d'une grande variété d'anions organiques et inorganiques

7.2.2. Application en Médecine

- Comme agents antiacides et antipepsiniques. Ces phases sont utilisées pour maîtriser l'action de l'acide chlorhydrique et de la pepsine dans l'estomac [48].

- comme inhibiteur de caries en tant qu'additif aux pâtes dentaires. Molécules actives 'vitamines, médicaments'.
- Comme filtres UV et étaient appropriés à des formulations de crèmes solaires [49].
- Permettent un confinement efficace de principes actifs grâce à leur structure bidimensionnelle, leur biocompatibilité, et leur propriétés physicochimiques favorables à l'échange ionique [50].

7.2.3. Application en électrochimie :

Plusieurs études menées sur l'utilisation des HDL en tant qu'électrolytes et conducteurs protoniques ont mis en évidence que ces matériaux possèdent une conduction protonique élevée [51].

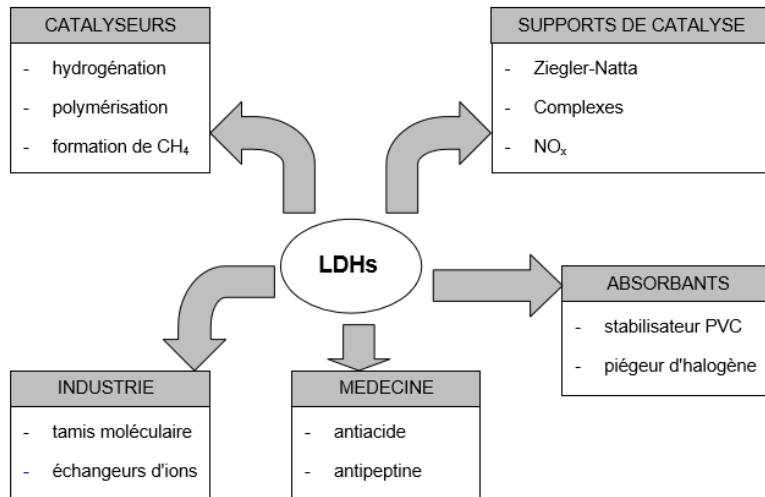


Figure I.8: Divers domaines d'applications des HDLs[52]

7.3. Propriétés des HDL :

7.3.1. Echange anionique

Les propriétés d'échange anionique des HDL sont liées à la structure bidimensionnelle des HDL et à la nature des interactions faibles entre la charpente lamellaire et l'anion de compensation de charge. La structure iono-covalents des feuillettes est conservée [45].

7.3.2. Délamination

La délamination est un processus unique des composés lamellaires. Elle consiste à un gonflement infini des feuillets d'HDL, conduisant à des solutions colloïdales stables. Les réseaux inorganiques bidimensionnels des HDL, permettent l'intercalation et l'expansion dans domaines inter feuillets

La délamination des HDL a été récemment mise en évidence en utilisant des HDL modifiés par des molécules de tensioactif (dodécylsulfate) dans du butanol [53,54], d'autres molécules organiques telles que les acides aminés sont aussi utilisées pour délaminer les HDL [55] et différents solvant comme le formamide induisent également la délamination des HDL [56]

7.3.3. Propriétés des HDL calcinés :

Les composés issus des HDL calcinés possèdent les propriétés suivantes [57] :

- Basicité de la phase décomposée, cette propriété étant largement utilisée en catalyse.
- Formation d'oxydes de métaux mixtes homogènes (solution solide d'oxydes de métaux) avec une taille cristalline très petite (de l'ordre de quelques μm), conférant une surface spécifique élevée. Ils sont également stables en traitement thermique [58]
- Effet mémoire qui permet la reconstruction de la structure lamellaire quand le produit modérément calciné est mis en contact avec des solutions aqueuses contenant les anions à intercaler.

Méthodes de synthèse des HDLs :

Plusieurs techniques de synthèse ont été employées pour la préparation des HDLs. Les plus couramment utilisés sont la coprécipitation directe, l'échange anionique et la reconstruction, cette dernière est moins courante (figure I. 9) [59].

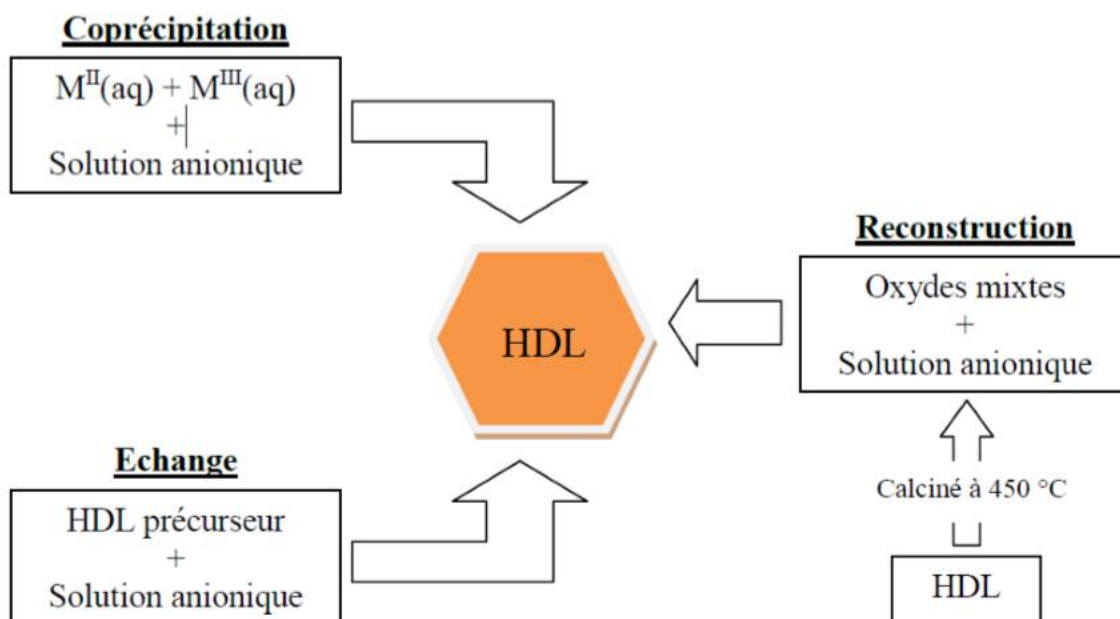
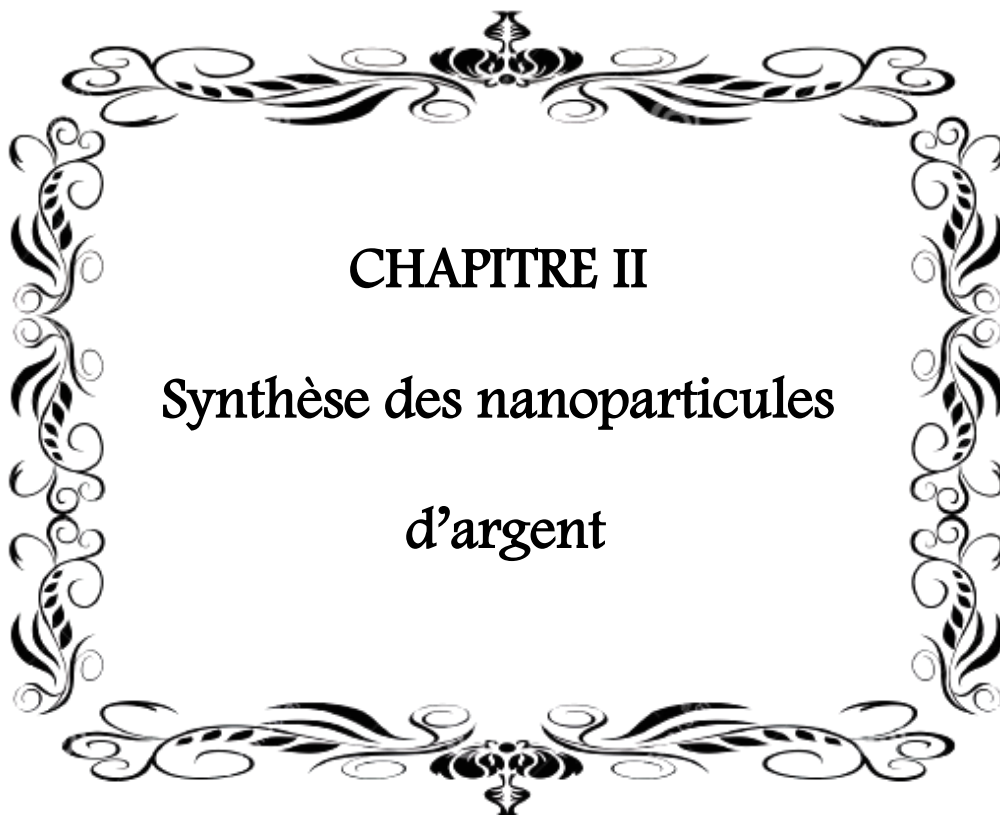


Figure I.9: Schéma regroupe les méthodes usuelles de synthèse des HDLs [60]

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns. The border is composed of black lines on a white background, framing the central text.

CHAPITRE II

Synthèse des nanoparticules

d'argent

1. Introduction

Les nanoparticules d'argent sont les plus commercialisées. En 2012, environ 320 tonnes de AgNPs ont été utilisées dans la fabrication industrielle de produits dans le monde. Il existe différentes méthodes pour synthétiser ces nanoparticules d'argent, ils sont présentées dans le schéma ci-dessous :

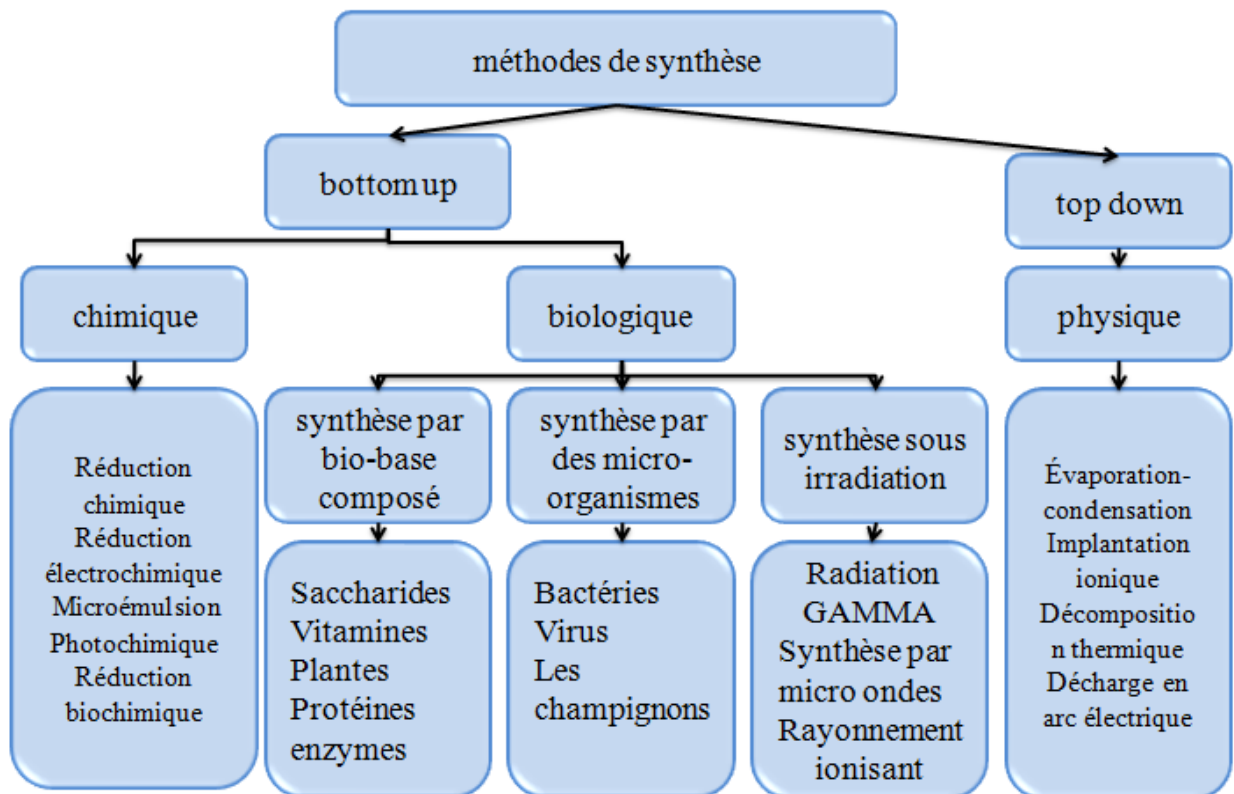


Figure II. 1: les différentes méthodes de synthèses

2. L’approche descendante (top down) et ascendante (bottom up)

De nombreux types de nanostructures d'argent aux propriétés distinctives ont été utilisés dans divers domaines biomédicaux [61].

En particulier, les nanoparticules d'argent de différentes tailles et formes ont été utilisés dans un large éventail d'applications et d'équipements médicaux, tels que des appareils électroniques, des peintures, des revêtements, des savons, des détergents, des bandages, etc. [62].

Les propriétés physiques, optiques et chimiques spécifiques des nanoparticules d'argent sont donc des facteurs cruciaux pour optimiser leur utilisation dans ces applications.

À cet égard, les détails suivants des matériaux sont importants à prendre en compte dans leur synthèse: propriété de surface, distribution de taille, morphologie apparente, composition des particules, taux de dissolution (c'est-à-dire réactivité en solution et efficacité de la libération d'ions), et types d'agents réducteurs et de coiffage utilisés.

Les méthodes de synthèse des NP métalliques sont principalement divisées en approches top-down et bottom-up, comme le montre la figure 1

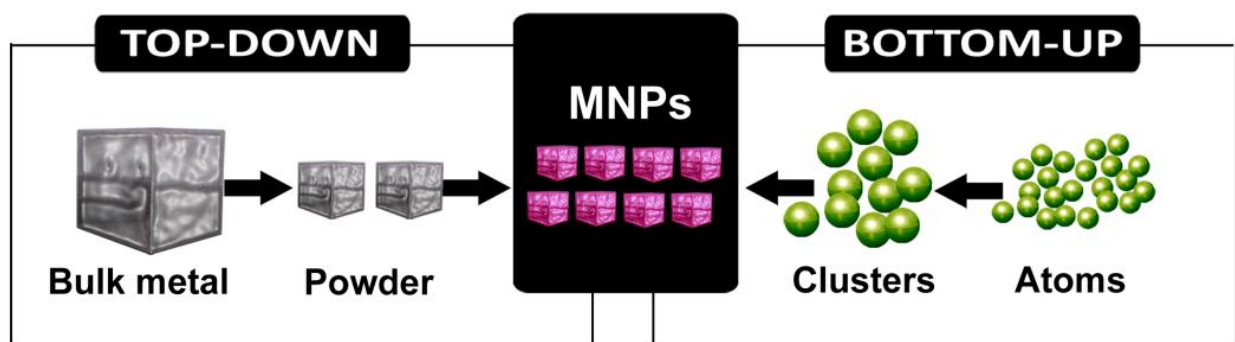


Figure II. 2: les approches top-down et bottom-up

L'approche top-down désintègre les matériaux en vrac pour générer les nanostructures requises, tandis que la méthode ascendante assemble des atomes et des molécules uniques en nanostructures plus grandes pour générer des matériaux de taille nanométrique [63].

De nos jours, les approches synthétiques sont classées en synthèses physiques, chimiques et vertes. Les synthèses physiques et chimiques ont tendance à être plus laborieuses et dangereuses, par rapport à la synthèse verte des AgNps qui présente des propriétés attrayantes, telles qu'un rendement élevé, une solubilité et une stabilité. [64].

Les sections suivantes traitent en détail de diverses méthodes de synthèse, de la synthèse d' AgNps sphériques aux colloïdes Ag contrôlés par la forme, ainsi que de la manière dont les AgNps contrôlés par la taille sont synthétisés. Les sections visent également à introduire diverses voies de synthèse et leurs mécanismes, en élucidant comment la synthèse

contrôlée de la forme et de la taille des AgNps peut être obtenue grâce à une sélection appropriée de la source d'énergie, des précurseurs chimiques, des agents réducteurs et de capsulage, ainsi que la concentration et le rapport molaire des produits chimiques.

3. Les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent

De nombreuses techniques permettant de fabriquer des nanoparticules, pour lesquels plusieurs paramètres doivent être maîtrisés: particulièrement la taille et la forme. Les procédés actuels permettant l'élaboration de nano-objets sont classés par différentes catégories: physiques, chimiques et biologiques.

Le tableau suivant regroupe les différentes méthodes de synthèse

Tableau II .3. Les différentes méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent [65]

Méthode	Agent Réduction ou Solvant	Stabilisant or surfactant	Taille des Particule	Forme
Chimique	Citrate deTrisodium	Citrate deTrisodium	30-60nm	Sphérique
Chimique	NaBH ₄	Citrato	7nm	Sphérique
Chimique	Ethylèneglycol	PVP	17±2nm	sphérique
Chimique	Hydrazine hydrate	AOL	2-5 nm	Sphérique
Chimique	Ethylèneglycol	PVP	30-50nm	Cubique
Chimique	Acide Ascorbique	Citrate deTrisodium	30-50nm	Sphérique
Chimique	Tartrate disodique	PVP		Barres
Chimique	Ethylèneglycol		30-40nm	fil
Chimique	Hydrazine hydrate	PVP	50-200nm	triangulaire
chimique par voie humide	sodium borohydrate / citrate de sodium		4 ± 2 nm	Barres
Solution Chimique	Acide Ascorbique	CTAB	30-40nm	Fils
Physique	Décharge électrique	Sodium Citrate	14-27 nm	Sphérique
Green	ExtractosVegetales	extraits végétaux	30-40 nm	Sphérique
Biologique	Bacillus subtilis	Bacillus sp.	5-15 nm	Sphérique
Biologique	Lactobacilius	Lactobacilius Proteins	6- 15.7nm	Sphérique
Biologique	Shewaneilaoneidensis	Shewaneilao neidensis	2-11 nm	Sphérique
Biologique	Cassia angustifoila	Cassia	9-31 nm	Sphérique

		angustifoila		
Biologique	Carotte sauvage	Carotte sauvage	20nm	Sphérique
Biologique	Aspergillusniger	Aspergillusniger	1-20 nm	Sphérique
Biologique	Extraits de feuilles d'Eucalyptus macrocarpa	Eucalyptus macrocarpa	38 ± 2 nm	Cubique
Photochimique	Chitosanecarboxyméthylé (CMCTS)	CMCTS	2-8 nm	Cubique
micro-onde technique	Ethylèneglycol	PVP		Fils
Assisté par micro-ondes	Ethylène glycolmonoalkylethers	PVP		Prism
réduction Photo chimique (X-ray radiolysis)	X-ray		28 nm	Sphérique
Electrochimique (Poiloiprocess)	Electrolysais cathode: anode en titane: Pt	PVP	11 nm	Sphérique

Pour le début de notre expérience, notre travail porte sur réduction Chimique.

3.1.Synthèse chimique des nanoparticules d'argent (Réduction chimique):

La réduction chimique reste de loin la méthode la plus utilisée pour la synthèse de nanoparticules. L'obtention des nanoparticules métalliques s'effectue ici en milieu liquide. Elle peut être réalisée en phase aqueuse ou organique et les principaux réactifs sont les suivants:

Sel métallique + Solvant + Réducteur + Surfactant

Dans ce schéma, le sel est le précurseur contenant le métal, le solvant peut être aqueux ou organique (polyol, toluène par exemple) et doit être polaire c'est-à-dire posséder un moment dipolaire assez élevé pour pouvoir rompre les liaisons du sel et le dissoudre. Le réducteur est choisi pour réduire les espèces métalliques dissoutes afin qu'elles précipitent en particules métalliques et en ce qui concerne le surfactant, il joue le rôle d'agent protecteur des particules métalliques en s'adsorbant à la surface des particules permettant ainsi d'éviter qu'elles s'agglomèrent. La morphologie ainsi que la distribution en taille des nanoparticules sont contrôlés par les paramètres tels que la cinétique de réduction et la nature du stabilisant. De par sa simplicité, la synthèse de nanoparticules par réduction chimique est sans

contredit la technique la plus utilisée pour former des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques.

De plus, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre probablement le meilleur contrôle de taille, de forme et la meilleure versatilité. L'approche la plus commune pour la synthèse de nanoparticules d'argent est la réduction chimique par des agents réducteurs organiques et inorganiques.

En général, les différents agents réducteurs, tels que le citrate de sodium, l'ascorbate, le borohydrure de sodium (NaBH_4), l'hydrogène élémentaire, le processus de polyol, le réactif de Tollens, N, N-diméthylformamide (DMF) et le poly (éthylène glycol), sont utilisés pour la réduction des ions d'argent (Ag^+) dans des solutions aqueuses ou non aqueuses.

L'argent métallique s'obtient par réaction d'oxydo réduction de l'ion argent selon la réaction (1).

C'est une réaction qui consiste en un gain d'électron pour l'espèce réduite et une perte d'électron pour la molécule réductrice oxydée.



Les agents réducteurs réduisent les ions argent (Ag^+) et conduisent à la formation d'argent métallique (Ag^0), qui est suivie par une agglomération en amas oligomériques. Ces grappes éventuellement conduire à la formation de particules d'argent colloïdales métalliques. Il est essentiel d'utiliser des agents de protection de stabiliser des nanoparticules dans le cadre de la préparation de nanoparticules d'argent, et de protéger les nanoparticules qui peuvent être absorbées sur ou se lier sur des surfaces de nanoparticules, ce qui évite leur agglomération. [66]

3.1.1. Synthèse de nanoparticules d'argent par l'acide ascorbique

Dans ce travail, nous avons utilisé l'acide ascorbique pour réduire le nitrate d'argent dans de l'eau à $T = 60^\circ\text{C}$. L'acide ascorbique est un composé biologique naturel ayant un caractère réducteur léger et une bonne solubilité dans l'eau, mais il est généralement considéré comme trop faible pour réduire le sel d'argent (ou d'or) à température ambiante.

Cependant, l'Acide ascorbique devient efficace à température élevée, ou en présence d'un catalyseur. Yang et al., ont démontré que les nanoclusters d'argent (AgNCs) peuvent catalyser la réduction d'Ag⁺ par acide ascorbique à température ambiante. L'acide ascorbique a été utilisé comme agent réducteur secondaire pour la synthèse de nanotiges d'or ou d'argent par la méthode de la croissance à médiation semencière [67].

La synthèse chimique des nanoparticules est réalisée selon la réaction suivante:

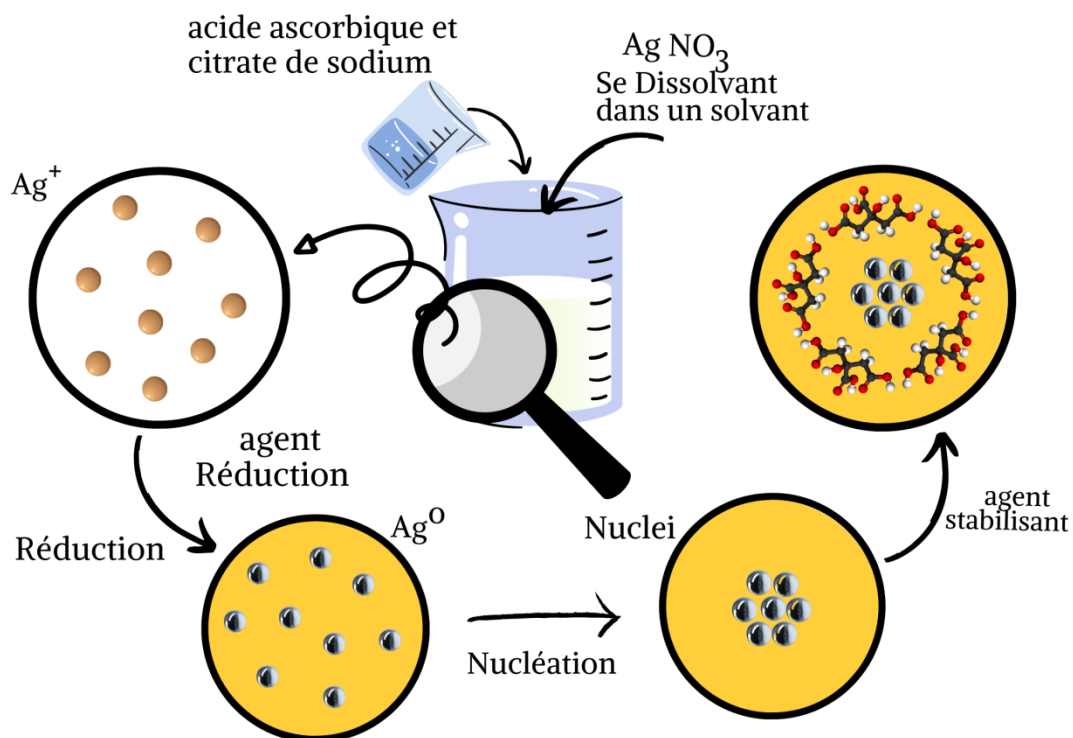
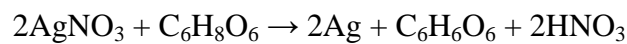


Figure II. 3: Synthèse de nanoparticules d'argent par l'acide ascorbique

4. Paramètres de synthèse influençant la réduction d'un sel d'argent

- **Sel métallique précurseur utilisée**

Parmi les Différents sels métalliques et complexes utilisés dans la réduction de l'argent (AgNO_3 , $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$, Ag_2SO_4), On trouve le nitrate d'argent, L'intérêt de l'utilisation du

nitrate d'argent est son accessibilité, sa facilité d'utilisation (une réduction facile et directe,) Malgré une dégradation à la lumière nécessitant des précautions de conservation comme la plupart des sels d'argent, il est majoritairement utilisé dans la littérature.

Le nitrate d'argent, de formule AgNO_3 , a une masse molaire de 169,87 g/mol. L'argent représente 63.5% de la masse molaire. Il se présente sous la forme de cristaux blancs transparents et inodores. Il est soluble dans l'eau à 20°C à une hauteur de 2160 g/L.

- **Agent réducteur**

Parmi les réducteurs des sels métalliques les plus utilisés, on trouve l'acide ascorbique. Ces composés organiques possèdent un pouvoir réducteur suffisant pour l'ion argent.

L'acide ascorbique de formule $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ a une masse molaire de 176,12 g/mol se présente sous forme de poudre, soluble dans l'eau.

- **Agent stabilisant**

Lors de la réduction chimique d'un sel d'argent en solution, les nanoparticules fraîchement synthétisées sont particulièrement instables et ont tendance à s'agréger jusqu'à donner un volume macroscopique d'argent (fine poudre ou objet). [69].

La découverte des agents stabilisants a permis de redévelopper la synthèse redox chimique en solution aqueuse. A différentes échelles on trouve des molécules, des oligomères et les polymères. Le rôle principal d'un agent stabilisant est donc de permettre la dispersion colloïdale des nanoparticules et de prévenir l'agrégation de ces dernières. Certains auteurs ont également démontré que l'agent stabilisant peut également interagir avec les ions argent [70].

- **la température**

La température trop faible comme la température ambiante ne conduit pas à une

réaction complète elles nanoparticules sont plus grosses (20nm). Les nanoparticules obtenues à 90°C après 45 min sont monodisperses et ont une taille plus réduite (5,5nm). Une température suffisamment élevée ($T > 60^{\circ}\text{C}$) permet une nucléation plus rapide, plus homogène et la plupart des réactifs limitants sont consommés. La croissance des nanoparticules est donc limitée par le nombre de nucléi ce qui mène à de plus petites nanoparticules. Dans l'étude de Kakkar et al, la température de réduction est optimisée à 95°C pour des nanoparticules d'argent stabilisées amidon et citrate de sodium réducteur alors qu'à température ambiante aucune coloration jaune caractéristique des nanoparticules d'argent n'est observée [71].

- ***PH***

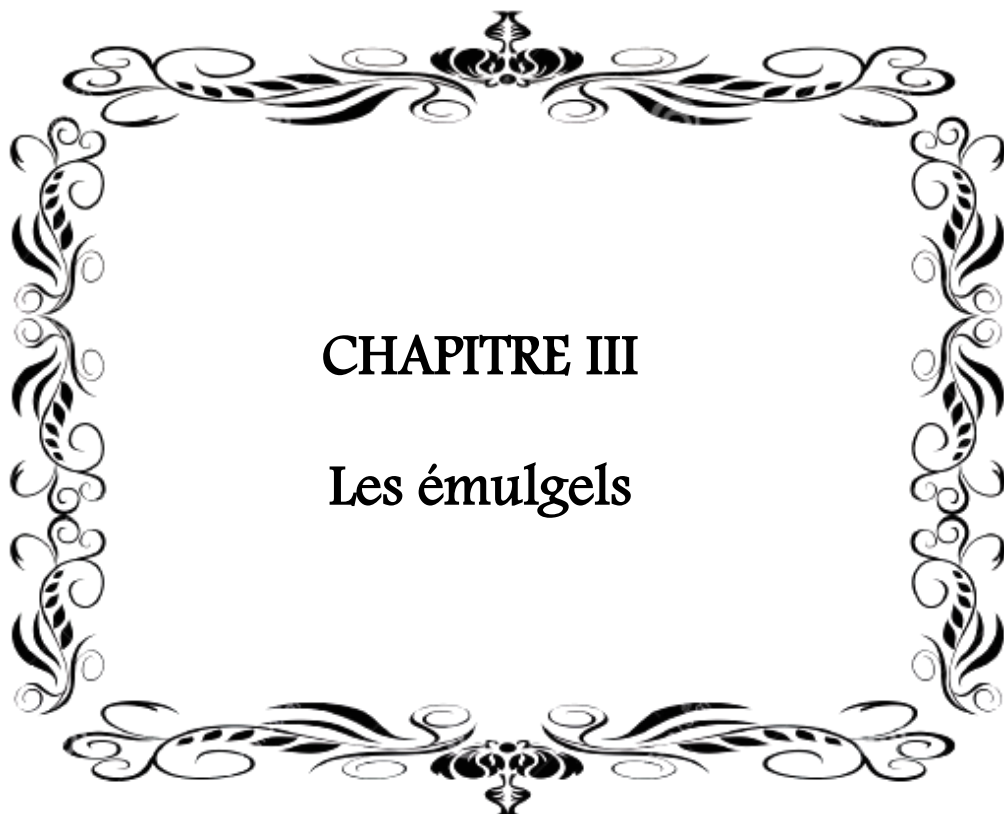
Le pH est un autre paramètre de synthèse non négligeable. En solution, les valeurs de pH dépendent des agents réducteur et stabilisant utilisés. En effet, certains auteurs fixent le pH de la solution avant la synthèse alors que d'autres ne le considèrent pas.

- En milieu basique (présence d'ions OH^-) l'ion argent se trouve sous la forme $[\text{Ag}(\text{OH})_2]^-$ peu stable et qui précipite sous la forme Ag_2O , également moins oxydante que l'ion Ag^+ ($E=0,34\text{ V}$ au lieu de $0,8\text{ V}$).
- En milieu acide, les réducteurs sont généralement moins efficaces. Un compromis est donc à trouver. En effet, Hartlieb montre que ce n'est pas la réduction du nitrate d'argent en elle-même qui nécessiterait des conditions opératoires spécifiques en termes de pH mais la molécule réductrice et ses formes stables en équilibre dans le milieu [72].
- En milieu fortement basique peut mener à la formation de plus grosses nanoparticules.
- En milieu fortement acide aucune réduction t observée par [71].

- ***Effet du temps d'agitation***

Le temps d'agitation peut contrôler la formation et la croissance de nanoparticules d'argent de synthèse pour produire un colloïdal jaune stable de nanoparticules d'argent. Si le brassage se poursuit une fois que tout le nitrate d'argent a été ajouté, peut causer l'agrégation qui a résulté jaune colloïdal d'abord et tourner un jaune foncé, puis violet et finalement gris. L'agrégation de nanoparticules d'argent peut également causer les ruptures colloïdales vers le

bas et les particules s'installent. Ainsi, le temps d'agitation doit être contrôlé pour obtenir le colloïdal stable de nanoparticules d'argent [73].



CHAPITRE III

Les émulsifs

1. Introduction

L'administration de médicaments à travers la peau est largement acceptée chez le patient et appelée médicament topique. Il s'agit d'une voie d'administration viable pour les poids moléculaires, les agents thérapeutiques puissants sensibles d'abord à passer le métabolisme.

La peau est l'un des organes du corps humain les plus facilement accessibles pour l'administration topique et est la principale voie d'administration de médicaments topiques. Une émulsion est utilisée, de sorte qu'un groupe hydrophobe peut être incorporé et utilisé à travers des gels. Lorsque l'émulsion et les gels sont utilisés sous forme combinée, les formes posologiques sont appelées émulsions pour dermatologiques. Elles ont plusieurs propriétés telles que facilement égalables, sans graisse, émoussées, facilement amovibles, sans peinture, non colorées, longue durée de vie.

2. La peau :

Est un organe composé de plusieurs couches de tissus. Elle est la première barrière de protection de l'organisme des animaux vertébrés. Chez l'homme, elle est l'organe le plus étendu et le plus lourd du corps au regard de sa surface et de sa masse. Chez l'adulte, environ 2m² pour 3kg chez la femme et 5kg chez l'homme (soit 7 % de son poids total). Sa surface d'échange est cependant bien plus petite que l'intestin (300 à 400m², environ deux terrains de tennis) et le poumon (80 m²). [74].

La peau est constituée de trois couches superposées.

- L'épiderme : assez imperméable, car la couche cornée est constituée de cellules kératinisées.
- Le derme : formé des tissus conjonctifs très vascularisés, c'est la partie à atteindre lorsqu'on recherche une action systémique.
- L'hypoderme : qui contient des cellules adipeuses [75]

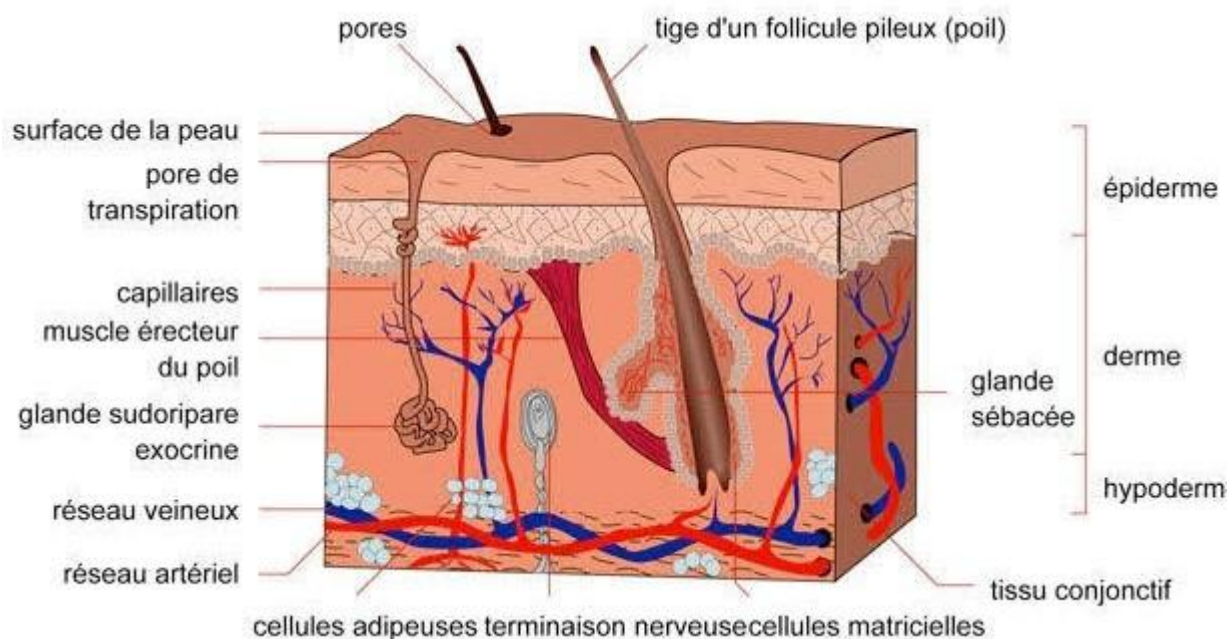


Figure III. 1 : Les couches de la peau

La voie cutanée consiste en l'application du médicament sur la peau, en vue d'une action locale et une action générale.

L'action locale si les composants ne peuvent pas pénétrer à travers la peau. Elle est générale si les composants peuvent traverser la barrière cutanée. Seule la peau saine est une barrière efficace entre les milieux intérieurs et extérieurs. Dans le cas contraire (lésions, brûleurs, eczéma), tout médicament appliqué sur la peau sera résorber de façon importante.

La pénétration d'un médicament qui se fait à travers l'épiderme, au niveau de l'appareil pilosébacé, dépend de nombreux facteurs, la pénétration percutanée étant favorisée par les massages et les frictions. [76].

3. Les émulsifs:

L'émulgel est une combinaison entre un gel et une émulsion où la présence d'un agent gélifiant dans la phase aqueuse permet la conversion d'une émulsion classique en émulgel. La capacité gélifiante de ces composés diminue la tension superficielle et inter-faciale tout en augmentant la viscosité de la phase aqueuse ce qui leur confère une stabilité meilleure par rapport aux autres formes dermiques et en particulier l'émulsion.

Plus de 90% des formules ont pour base l'émulsion. Le grand avantage des émulsions est qu'elles sont bien tolérées par la peau car leur composition est très proche de celle du film hydrolipidique de l'épiderme

La compréhension des caractéristiques physico-chimiques et pharmaco techniques d'un émulsif passe par la compréhension de celles d'une émulsion.

3.1. Gel

Le gel est un état de la matière. Il s'agit généralement d'une solution ou d'une suspension colloïdale qui subit une transformation physique ou chimique conduisant à un état semi solide tout en conservant une grande partie du solvant à l'intérieur de sa structure.

Les gels sont doux et humides, ils ressemblent à des matériaux solides mais ils sont capables de subir de grandes déformations, ce qui est en contraste avec la plupart des matériaux industriels, tels que les métaux, les céramiques et les matières plastiques qui sont secs et durs. [77]

3.2. Les émulsions

Les émulsions sont des systèmes dispersés de stabilité limitée (possède un minimum de stabilité cinétique) ou thermodynamiquement instables formés de deux liquides non miscibles. L'un est dispersé sous forme de globules dans l'autre grâce à la présence d'émulsifiants. La stabilité est assurée par la présence d'un émulsifiant amphiphile, constituant qui renferme à la fois une chaîne possédant une affinité pour l'huile et un pôle ayant une affinité pour l'eau. D'après la définition, nous constatons qu'une émulsion comprend trois parties essentielles :

- Une phase dispersante qui correspond à la phase externe ou « continue ».
- Une phase dispersée qui constitue la phase interne ou « discontinue ».
- L'interface (formation d'un film) constituée d'un ou plusieurs agents émulsifiants [78].

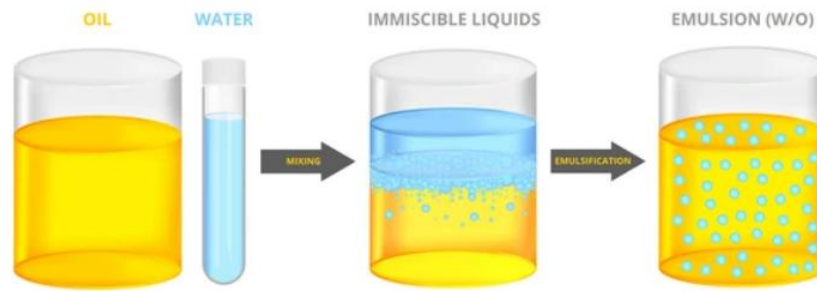


Figure III. 2: Les émulsions

3.2.1. Les différents systèmes sous le terme « émulsion » :

Ils reposent sur la taille des particules de la phase discontinue [79].

Les macroémulsions : Ce sont des émulsions grossières dont le diamètre des gouttes est de 1 à 10 μm .

Les nano/mini-émulsions : Présentent des micros domaines qui ne sont pas nécessairement sphériques, de petite dimension, typiquement de l'ordre de 0,1 à 1 μm .

Les microémulsions: Elles sont décrites comme des systèmes biphasiques composés de gouttelettes très fines (10-200 nm) d'un liquide dispersés dans un autre liquide [80]

3.2.2. Les différents types d'émulsions :

Il existe plusieurs types d'émulsions. Les émulsions simples composées de deux phases (hydrophile et lipophile) et les émulsions multiples constituées de deux phases lipophiles et d'une phase hydrophile ou de deux phases hydrophiles et d'une phase lipophile. Etant donné la complexité des émulsions multiples [81].

- **Les émulsions simples :**

Une émulsion simple est une émulsion composée d'une phase hydrophile, d'une phase lipophile et d'un émulsifiant [81]. Les émulsions simples sont appelées eau-dans-huile (E/H) quand des gouttelettes d'eau sont dispersées dans la phase huileuse, et huile-dans-eau (H/E) pour l'inverse [82].

- **Les émulsions multiples :**

Les émulsions multiples sont des systèmes multiphasiques comprenant au moins deux liquides non miscibles, à savoir, deux émulsions H/E et E/H siègent des tensio-actifs hydrophiles et lipophiles qui sont utilisés pour stabiliser ces deux émulsions, respectivement et dont l'un est dispersé sous forme de fines gouttelettes uniforme dans l'autre , ainsi sont appelées «émulsions d'émulsions ». Le diamètre des gouttelettes dans les émulsions multiples peut varier de 0,1 à 100 μm [83].

3.2.3. Caractères des émulsions :

Les caractères des émulsions varient avec différents facteurs, notamment avec la nature et la proportion des deux phases, des émulsifiants ou des autres constituants, et avec la taille des globules dispersés.

- Ces préparations sont généralement liquides, cependant il existe des émulsions formées de globules dispersées dans un milieu plus ou moins consistant (certaines pommades par exemple).
- Elles ont le plus souvent un aspect laiteux. Elles peuvent présenter un reflet bleuté (effet Tyndall). Elles sont translucides lorsque la taille des globules est très faible.
- Les globules d'une émulsion, sont d'une taille sensiblement identique, celle-ci variant, selon l'émulsion de 0,5 à 50 μm en général.
- La stabilité des émulsions est telle que leur aspect macroscopique reste inchangé au cours de la conservation. Exceptionnellement, suivant la densité des phases, un léger crémage ou une faible sédimentation peut apparaître, dans ce cas les émulsions doivent reprendre leur aspect initial après agitation manuelle [83].

3.2.4. Formation, stabilisation et déstabilisation des émulsions:

Une émulsion est un système qui n'est pas à l'équilibre thermodynamique, la stabilité des émulsions n'existe que parce que le formulateur est capable de ralentir ou d'inhiber les mécanismes physiques qui conduisent normalement à la démixtion des phases non miscibles.

3.2.4.1. Emulsification :

Une bonne maîtrise de la formulation seule ne peut assurer ou garantir la préparation d'émulsions stables, le procédé d'émulsification (type et géométrie d'agitation, vitesse et temps d'émulsification...) et les conditions dans lesquelles ces émulsions sont produites conditionnent le type de l'émulsion et jouent un rôle important dans l'élaboration et les caractéristiques finales de ces systèmes (finesse, stabilité). L'apport d'énergie au système est indispensable pour créer de la surface entre les deux phases. Généralement, l'émulsification se décompose en deux étapes successives : d'abord une étape de dispersion-mélange, que l'on appelle pré-émulsification qui va conduire à une simple mise en suspension des gouttelettes de la phase dispersée dans la phase continue, puis une étape dite d'homogénéisation dont le but est de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion les propriétés requises et à la stabiliser. Ces deux opérations s'effectuent dans des cuves agitées ou dans des conduites munies d'outils appelés respectivement disperseurs et homogénéisateurs [84].

3.2.4.2. Phénomènes de déstabilisation d'une émulsion :

Au cours du temps, une émulsion évolue fatalement vers la séparation des phases. Les mécanismes de déstabilisation d'une émulsion peuvent être répartis en deux catégories :

- La première regroupe les phénomènes de migration des gouttes et met en jeu des phénomènes réversibles: floculation, sédimentation et crémage.
- La seconde concerne la variation de taille des gouttes, consistant en des processus irréversibles : coalescence, mûrissement d'Ostwald ou inversion de phase [75].

Ce sont les causes d'instabilité les plus fréquentes, ces phénomènes peuvent survenir au moment de la formulation ou en cours de conservation, leur maîtrise est une condition essentielle dans la mise au point des émulsions [85].

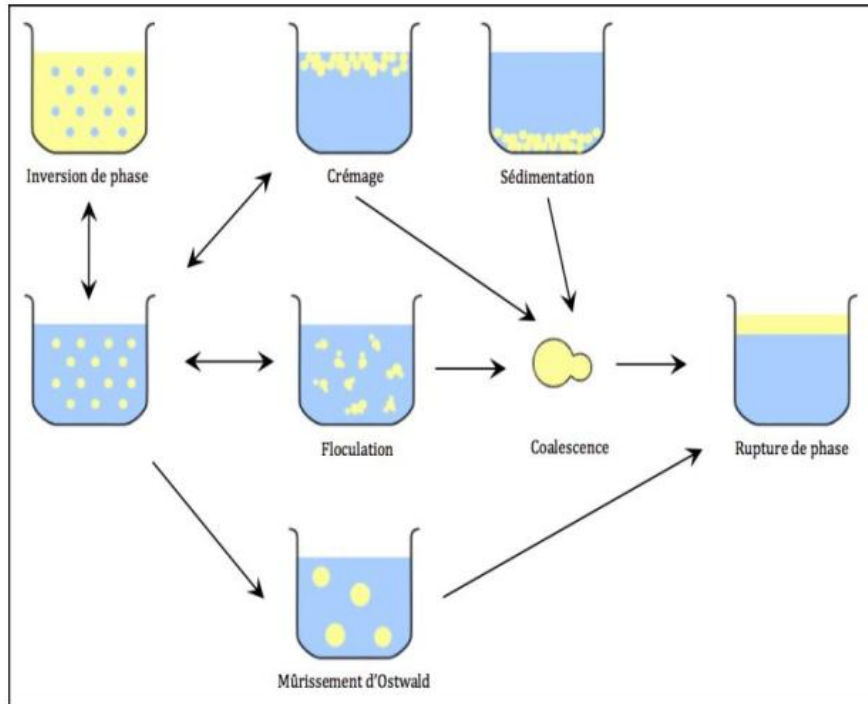


Figure III. 3 : Différentes phases d'instabilités d'une émulsion

❖ Migration des particules :

- Crémage et sédimentation :

Ce processus résulte de forces externes, habituellement gravitationnelle ou centrifuge. Lorsque ces forces sont supérieures au mouvement thermique des gouttelettes (mouvement brownien), un gradient de concentration est créé dans le système de telle sorte que les grosses gouttelettes se déplacent plus rapidement, soit vers le haut (si leur densité est inférieure à celle du milieu) ou au fond (si leur densité est supérieure à celle du milieu) du récipient [86].

Pour limiter ce phénomène, on a plusieurs possibilités [87] :

- réduire la taille des gouttes de phase dispersée,
- ajouter un agent qui augmente la viscosité,
- diminuer la différence de densité entre les deux phases,
- éviter l'agrégation des gouttes.

- **Floculation :**

Ce processus se réfère à l'agrégation des gouttelettes (sans changement de la taille des gouttelettes primaire) dans des unités plus grandes. Elle est le résultat des attractions de van der Waals qui sont universelles avec tous les systèmes dispersés. La floculation se produit lorsqu'il ne suffit pas de répulsion pour maintenir les gouttelettes en dehors à des distances où l'attraction de Waals est faible. La floculation peut être soit forte ou faible, selon l'amplitude de l'énergie attrayante en cause. [86].

- ❖ **Variation de la taille des particules (changement du nombre de particules) :**

- **Mûrissement d'Ostwald :**

Ce phénomène irréversible est essentiellement dû aux différences de pression de Laplace existant à l'intérieur des gouttelettes de différentes tailles. Le contenu des petites gouttelettes va donc naturellement diffuser vers les gouttelettes de plus grande taille, dont la pression interne est plus faible. Ce phénomène se traduit par la modification de la granulométrie au cours du temps où les populations de gouttelettes de petites tailles disparaissent au profit des plus grosses. La vitesse de ce phénomène décroît avec le temps, car elle favorise une dispersion homogène de grosses gouttelettes [88].

- **Coalescence :**

La coalescence est une forme d'instabilité dans laquelle les gouttelettes floculées perdent leur film inter facial et fusionnent de façon irréversible, il se forme alors des gouttelettes plus grosses [89]. Le comportement de deux gouttelettes qui s'approchent l'une de l'autre dépend de l'interaction des forces hydrodynamiques et des forces de surface. Les forces hydrodynamiques sont responsables de l'écoulement du liquide entre les gouttelettes et de la déformation de ces dernières. Les forces de surface peuvent soit s'opposer à ces phénomènes lorsqu'elles sont assez fortes soit les favoriser lorsqu'elles sont plus faibles [90].

- **Inversion des phases :**

L'inversion des phases est un phénomène qui se traduit par un brusque changement du sens de l'émulsion. L'émulsion E/H se transforme en une émulsion H/E ou inversement, et les propriétés du milieu diphasique s'en trouvent bouleversées [75].

4. Formulation :

Dans une émulsion pharmaceutique, aux trois éléments de base (huile, eau et émulsifiant) viennent s'ajouter des constituants divers : principes actifs, épaississants, aromatisants, colorants, conservateurs... Dans chaque cas, les trois constituants de base doivent être choisis avec beaucoup de soin pour avoir une émulsion aux caractéristiques bien déterminées. La formulation d'une crème est la même qu'une émulsion [87].

4.1. Les matières premières :

Les matières premières fréquemment rencontrées dans les formulations des émulsifs sont les solvants, les corps gras, les tensioactifs, les conservateurs antimicrobiens, les antioxydants, les agents viscosifiants, les aromatisants et les colorants

4.1.1. La phase lipophile :

La phase huileuse, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale [81].

4.1.2. La phase hydrophile :

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc.

Parmi les solvants rencontrés dans la formulation des crèmes, l'eau est la plus utilisée à cause de ces propriétés de solvation, hydratantes et adoucissantes [91].

4.1.3. Les émulsionnants :

Les émulsionnants utilisés pour préparer des émulsions sont divisés en trois groupes :

Les surfactifs les polymères et les solides insolubles finement divisés, dont le plus important est celui des surfactifs [92].

- **Surfactifs :**

Les surfactifs, encore appelés agents tensioactifs, ou mieux, agents de surface sont des substances naturelles ou synthétiques, amphiphiles, ont la propriété de s'adsorber aux différentes interfaces et selon leur hydrophilie ce sont des tensioactifs, mouillants, détergents, moussants, solubilisants, émulsionnants, bactériostatiques, etc... [92].

Ce sont des substances qui forment un « film interfacial » autour des gouttelettes se trouvant dans la phase dispersée. En règle générale, un émulsifiant est d'autant plus efficace à stabiliser une émulsion, qu'il diminue la tension interfaciale [93].

La tête hydrophile forme des liaisons hydrogènes et ioniques avec la phase hydrophile tandis que la queue hydrophobe forme des liaisons de Van der Waals et des interactions hydrophobes avec la phase lipophile. Ce phénomène a pour effet de diminuer la tension interfaciale. La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires (s), ionique (s) ou non ioniques (s). On distingue les tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques, ou amphotères) et les non ioniques [94].

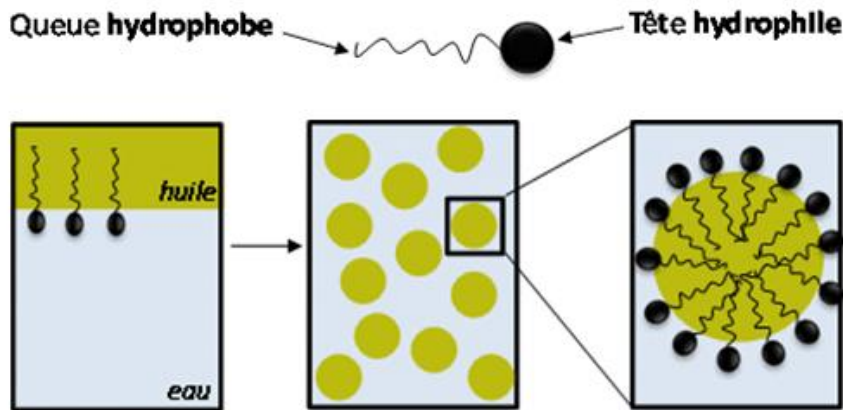


Figure III. 4 : rôle d'émulsifiant des la stabilisation des émulsions

- **Critères de choix des tensioactifs**

Pour stabiliser une émulsion, le tensioactif doit présenter une bonne affinité pour la phase continue. C'est la règle de Bancroft : l'obtention d'une émulsion huile-dans-eau nécessite un tensioactif à caractère hydrophile prépondérant, et inversement une émulsion eau-dans-huile fera appel à un tensioactif à caractère lipophile [95].

- **Notion d' HLB :**

Le HLB est étroitement lié à la structure de la molécule du tensioactif. Sa valeur est d'autant plus élevée que celui-ci est hydrophile. Les valeurs sont déterminées selon une échelle de GRIFFIN allant de 0 à 20 dans laquelle on admet que les émulsionnants présentant une valeur de HLB entre 0 et 8 sont lipophiles, ceux compris entre 8 et 12 sont dits « intermédiaires » et ceux entre 12 et 20 hydrophiles. Cette détermination est importante car elle simplifie le travail du formateur. Selon la valeur de leur HLB, on peut déterminer les propriétés fonctionnelles des émulsifiants [96].

Photo les valeurs d'HLB des émulsifiants utilisés en système pharmaceutiques,
Classification fonctionnelle des tensioactifs selon leur HLB

Dans le cas d'émulsions de type eau dans l'huile, on utilise des tensioactifs de faible HLB ($HLB < 7$). Pour des émulsions de type huile dans l'eau, on choisit des tensioactifs de plus forte HLB ($HLB \geq 8$) [87].

4.1.4. Les additifs :

- **Les antioxydants :**

Leur présence est obligatoire dans la formulation des émulsions contenant des corps gras insaturés qui, sous l'action de l'oxygène de l'air, s'oxydent et provoquent le rancissement et/ou la dénaturation de la préparation, parmi les principaux agents antioxydants rencontrés dans les préparations cosmétiques et pharmaceutiques : acide ascorbique avec une concentration usuelle comprise entre 0,1 à 0,5% [97].

- **Les agents viscosifiants :**

Appelés aussi substances épaississantes, ils contribuent à la stabilisation des émulsions, en ralentissant la sédimentation ou le crémage des gouttelettes dispersées. Dans les émulsions H/E, on utilise surtout les polyosides d'origine végétale (alginates, les celluloses et dérivés, les gommes, les pectines, le gel d'aloès) ou synthétique (méthylcellulose, hydroxypropylmethyl cellulose,) et les carbomères. [91].

- **Les adjuvants (matières aromatiques et colorantes) :**

Selon les caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur) recherchées, le formulateur peut ajouter les matières aromatiques et / ou colorantes.

Les arômes, utilisés à raison de 0,1 à 0,3 %, sont des substances odorantes et volatiles, d'origine naturelle (extraits de fleurs, de feuilles, de fruits, résines, le castoréum, le musc,) ou synthétique (vanilline,).

Les colorants sont des molécules capables de colorer un support grâce à leur aptitude à absorber une partie de la lumière visible. Les plus utilisés dans les formulations des crèmes sont les colorants hydrosolubles (sels) autorisés par la pharmacopée :

- Les colorants d'origine végétale: Les chlorophylles (E140), les antioxygènes (E163), l'indigo (E132), ...
- Les colorants de synthèse: ils sont très nombreux et appartiennent à une douzaine de familles chimiques différentes.

On peut citer le bleu patente V (E 131), le vert acide brillant B5 (E 142), la rouge cochenille A (E 124).

Pour les émulsions E/H, les agents épaississants sont des huiles minérales telles la silice colloïdale (Aérosil® 200).

- **Les conservateurs antimicrobiens :**

Ce sont des substances capables de s'opposer au développement des germes bactériens et fongiques qui peuvent se retrouver dans les préparations pharmaceutiques et cosmétiques. L'efficacité des conservateurs dépend entre autres de leur concentration et du pH de la préparation. [91].

4.2. Etapes de fabrication d'une émulsion :

Généralement, l'émulsification se décompose en deux étapes successives : d'abord une étape de dispersion-mélange, que l'on appelle pré-émulsification et qui va conduire à une simple mise en suspension des gouttelettes de la phase dispersée vers la phase continue (gouttes de l'ordre de 100 μm), puis une étape dite d'homogénéisation dont le but est de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion les propriétés requises et à la stabiliser[82].

La préparation d'une émulsion nécessite un travail bien précis pour réduire la phase en petites gouttelettes et les disperser dans l'ensemble de cette phase. L'addition d'agents émulsifiants non seulement réduit ce travail, mais stabilise également l'émulsion finale.

Les émulsions sont préparées par quatre méthodes principales [98] :

- **Ajout d'une phase interne à une phase externe :**

C'est le procédé le plus satisfaisant pour la préparation d'émulsions, comme il ya toujours un excès de la phase externe présente que favorise le type d'émulsion souhaitée. Si la phase externe est l'eau et la phase interne est l'huile, les substances hydrosolubles sont dissous dans l'eau et les substances solubles dans l'huile mélangées complètement dans l'huile. Le mélange d'huile est ajouté par portions à la phase aqueuse sous agitation.

- **Ajout de la phase externe à la phase interne, la technique de la gomme sèche :**

En utilisant une émulsion H / E comme exemple, l'addition de l'eau (Phase externe) à l'huile (phase interne) favorisera la formation d'une émulsion E / H, en raison de la prépondérance du phase huileuse. Après addition supplémentaire de l'eau, inversion de phase doit avoir lieu [98].

- **Mélange des deux phases après le chauffage :**

Cette méthode est utilisée lorsque des cires ou d'autres substances nécessitent la fusion. Les agents émulsionnants solubles dans l'huile, les huiles, et les cires sont fondues et mélangées soigneusement. Les ingrédients dissous dans l'eau sont chauffés à une température légèrement supérieure à la phase huileuse. Les deux phases sont alors mélangées et remuées jusqu'à froid. Par commodité, mais pas par nécessité, la solution aqueuse est ajoutée au mélange d'huile. Cette méthode est fréquemment utilisée dans la préparation des crèmes [98].

- **Ajout alternatif des deux phases à l'agent émulsifiant :**

Une partie de l'huile, si une émulsion H / E est en préparation, est ajoutée à tous les agents émulsionnants solubles dans l'huile avec mélange, puis une quantité égale d'eau contenant toutes les substances hydrosolubles émulsionnants est ajoutée sous agitation, jusqu'à ce que l'émulsion soit formée. D'autres portions de l'huile et de l'eau sont ajoutées alternativement, jusqu'à ce que le produit final soit formé. Cette méthode est souvent utilisée avec succès avec les savons [99].

4.3. Contrôle d'une émulsion :

4.3.1. Détermination du sens de l'émulsion :

Elle est réalisée soit par [100] :

- **Méthode de dilution :**

Le contact avec l'émulsion se faisant par la phase externe, les propriétés de mouillabilité et de dispersion sont celles de la phase continue. Par exemple, une petite quantité d'émulsion H/E va s'étaler sur un morceau de verre propre ou de papier filtre, alors que l'émulsion E/H ne s'étalera pas. Si une petite quantité d'émulsion H/E est versée dans l'eau, sa phase externe va se dissoudre dans l'eau et les gouttelettes d'huile vont se disperser, ce qui n'est pas le cas pour une émulsion E/H.

- **Méthode par les colorants :**

On peut aussi utiliser la méthode des colorants, c'est-à-dire qu'on ajoute à l'émulsion un colorant liposoluble en poudre, si l'émulsion est du type E/H, la coloration se propage dans l'émulsion, si elle est du type H/E, elle ne s'étend pas.

- **conductivité électrique :**

La variation de conductivité est proportionnelle à la variation de proportion de phase externe quand il s'agit d'une émulsion H/E et la conductivité ne varie quasiment pas pour des changements de proportion d'une émulsion E/H. Cela est dû au fait que la conductivité d'une phase huileuse est 100 à 1000 fois inférieure à celle d'une phase aqueuse salée. Par conséquent le point où l'émulsion change de type correspond à une grosse variation de conductivité qui peut être détectée facilement, à la seule condition qu'il y ait une agitation suffisante pour assurer un système homogène.

4.3.2. Taille des gouttes :

Après avoir caractériser le type de l'émulsion, la seconde information importante est la taille des gouttes de la dispersion. Une émulsification est généralement un procédé d'agitation dans lequel cassure et coalescence sont en équilibre, l'émulsion qui en résulte est un système polydispersé dans lequel coexistent des petites et des grosses gouttes. Cet équilibre dépend de l'agitation, de la viscosité, de la température et de la formulation. La meilleure description consiste à donner une distribution de ses tailles de goutte qui traduit un inventaire statistique de la fragmentation de la phase dispersée. La taille des gouttes peut être mesurée par plusieurs

techniques : turbidité, diffraction laser, atténuation ultrasonore, comptage individuel ou fractionnement capillaire [82].

4.3.3. Détermination du pH :

La mesure du pH est nécessaire, car il peut réagir, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique. En effet, il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'une crème ou d'un gel, ou sur celle d'un principe actif, ou modifier les caractères rhéologiques ou l'activité des conservateurs, ou être responsable d'une incompatibilité entre excipient et substances médicamenteuses [101].

4.3.4. Viscosité des émulsions :

La viscosité des émulsions est principalement assujettie à celle de sa phase externe. Le volume de la phase interne des émulsions a également une très grande importance : si celle-ci est inférieure à 20%, toutes les gouttes sont indépendantes, le rapport volumique est favorable à la formation de l'émulsion dans le sens désiré, dans ce cas la viscosité est faible. Avec une phase interne comprise entre 50% et 70%, les interactions gouttes/ gouttes seront dominantes. Dans le cas extrême où la phase interne dépasse 75%, le rapport volumique est défavorable à la stabilité et les émulsions seront très visqueuses.

La viscosité est aussi fonction de la taille moyenne et de la distribution des gouttes, elles-mêmes dépendantes de la formulation et de l'appareillage utilisé. La polydispersité induit une augmentation de la viscosité, les petites gouttes auront tendance à s'insinuer entre les grandes. La rhéologie des émulsions qui traite de l'écoulement, des déformations et plus généralement de la viscosité des matériaux sous l'action de contraintes qui leur sont appliquées, permet une analyse très fine des formulations [102].

4.3.5. Essais microbiologiques :

Ils concernent l'étude de l'efficacité de la conservation antimicrobienne ou « challenge test », par un test de contamination artificielle, et le contrôle de la contamination microbienne dite propreté microbiologique, par numération des germes. Le développement galénique doit justifier la concentration utilisée par l'efficacité des conservateurs, dont le maintien à

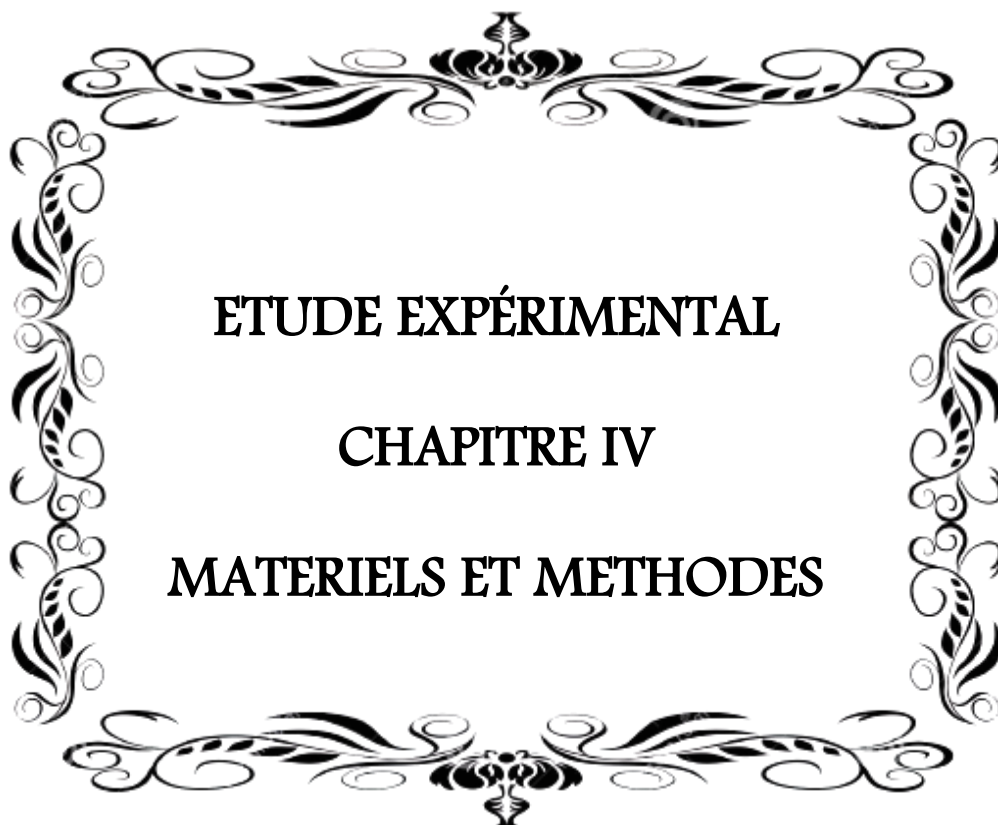
péremption doit être démontré par les essais de stabilité. La propreté microbiologique doit être réalisée en routine ou en périodique, selon le risque de contamination de la préparation [101].

4.3.6. Evaluation de la stabilité :

Le concept de stabilité dans le domaine des émulsions est une notion toute relative, aussi une émulsion sera-t-elle définie comme stable par une absence de changements visibles de façon macroscopique ou microscopique durant la période d'utilisation. Plusieurs tests permettent de mesurer la stabilité des émulsions. La coalescence des gouttes ou le déphasage pourront être mis en évidence par centrifugation, celle-ci pouvant être à vitesse constante et temps variable ou inversement (10min à 2000, 4000, 6000 tr/min).

Les émulsions peuvent également être analysées en microscope ou en spectroscopie de corrélation de photons afin de mesurer la taille moyenne des globules au cours du temps mais aussi pour éventuellement repérer les phénomènes de floculation ou de coalescence.

Au microscope optique, la présence de fissures pour les émulsions H/L est un facteur prédictif d'instabilité très net, car ces fissures sont un signe de synérèse. En dernier, les émulsions doivent être soumises à l'influence de la température, en général 35 et 50°C dans une étuve, mais aussi subir des cycles alternant 5°C et 50°C. Une augmentation de la température tendra à diminuer la viscosité des émulsions et donc à augmenter la sédimentation gravitationnelle [102].



ETUDE EXPÉRIMENTAL

CHAPITRE IV

MATERIELS ET METHODES

Le travail expérimental est réalisé au niveau du laboratoire Analyse fonctionnelle (LAFPC) de la Faculté de science et technologie département de génie de procédés à l'université de Saad Dahlab Blida.

Notre travail expérimental décrit sur l'organigramme, présente trois volets : le premier volet est la synthèse des AgNps par réduction chimique suivi de sa caractérisation, le second volet consiste à adsorber les nanoparticules d'argent par l'argile anionique HDL calciné et le troisième volet est la formulation d'un émulsion antibactérien ainsi que l'étude de son activité.

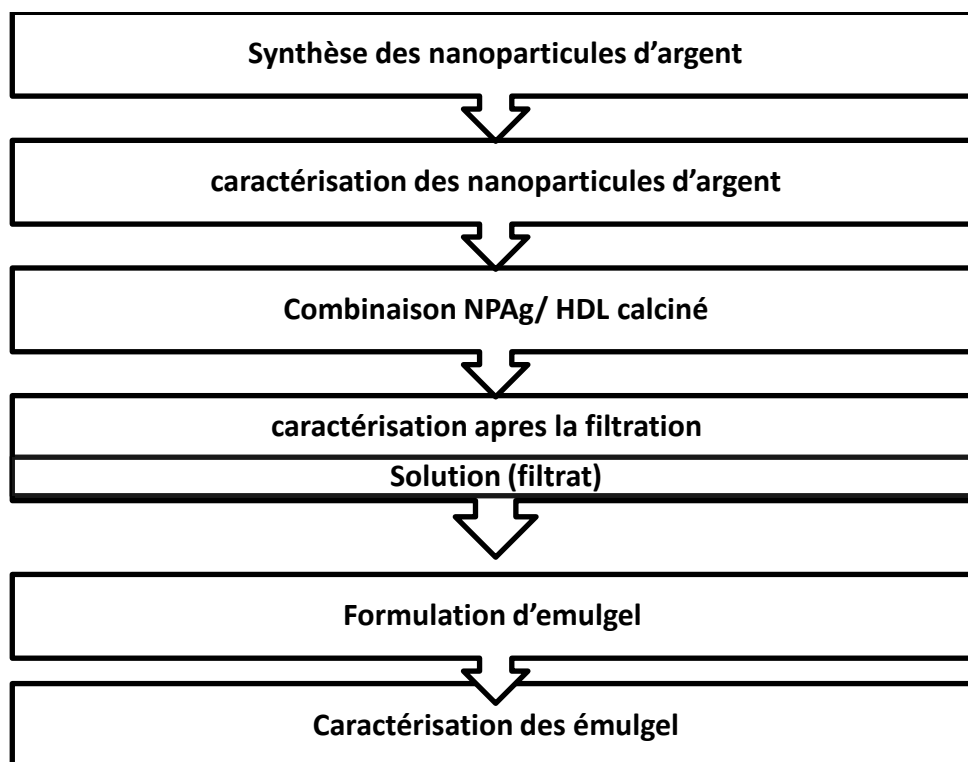


Figure IV. 1 :l'organigramme de travaille expérimental

1. Synthèse des nanoparticules d'argent

1.1. Produits utilisées :

- nitrate d'argent :

Le nitrate d'argent, de formule AgNO_3 , a une masse molaire de 169,87 g/mol. L'argent représente 63.5% de la masse molaire. Il se présente sous la forme de cristaux blancs transparents et inodores. Il est soluble dans l'eau à 20°C à une hauteur de 2160 g/L.

- Citrate de sodium :

Le citrate de sodium, appelé aussi citrate trisodique, de formule $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$

a une masse molaire de 258,069 g/mol se présente sous forme de cristaux granuleux blancs ou de poudre cristalline blanche, soluble dans l'eau à 25°C

- Acide ascorbique :

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble ayant des propriétés antioxydantes, il est un acide organique très fragile, sensible à l'eau, à l'air et à la chaleur

Matériel de laboratoire, appareils de mesures utilisés :

Matériel utilisé	Appareils
Eprouvettes graduées (100 ml et 50 ml)	Plaque chauffante
Bécher (250,100.50 ml)	Agitateur magnétique
Pipete	Thermomètre
Pissette	Etuve
Spatule et pincette	Spectrophotométrie d'absorption (UV-VIS)
Barreau magnétique	Agitateur
Verre de montre	Homogénéisateur
Fioles jaugée (250.100.50ml)	Total dissolved solids TDS

1.2. Préparation des nanoparticules d'argent colloïdales :

Juste avant de réaliser une synthèse, l'ensemble de la verrerie utilisée a été nettoyé soigneusement avec du méthanol pendant 1 minute, puis rincé 3 fois avec l'eau déminéralisée. La verrerie est alors séchée à l'aide d'une étuve à 50°C.

On synthétise les nanoparticules d'argent par réduction du nitrate d'argent avec l'acide ascorbique et stabilisé par le citrate de sodium.

On prépare les solutions suivantes :

- 0,075g de nitrate d'argent dans 500ml d'eau déminéralisé
- 0,09g de l'acide ascorbique dans 500ml d'eau déminéralisé
- 0,59g de citrate de sodium dans 500ml d'eau déminéralisé

On chauffe a 60°C, les deux solutions de nitrate de d'argent et le mélange d'acide ascorbique (10 mL) et de citrate de sodium (5 mL) ensuite on les mélange pendant 20 minutes après on les laisse refroidir.

La figure IV.2, montre le protocole de préparation des colloïdes d'argent par la méthode de réduction par l'acide ascorbique

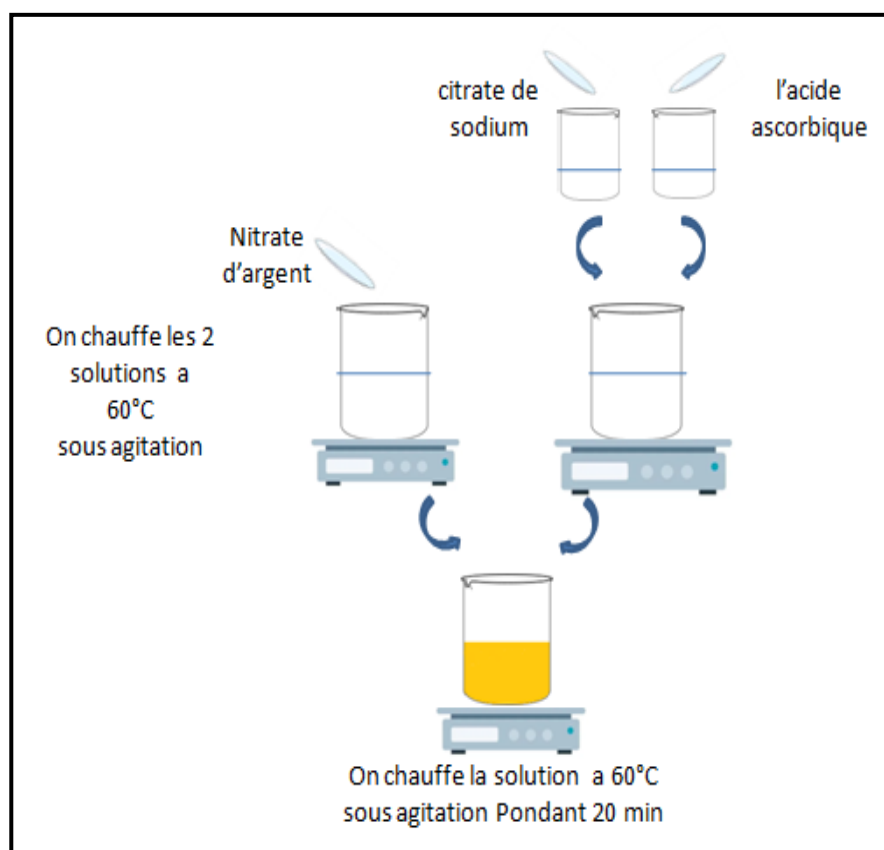


Figure IV. 2 : protocole de préparation des colloïdes d'argent par la méthode de réduction

2. Techniques de caractérisation

La caractérisation est effectuée à l'aide d'une spectroscopie UV-vis.

2.1. Spectrophotométrie d'absorption (UV-VIS)

C'est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

La formation des nanoparticules d'argent par réduction de la solution d'ions métalliques d'argent a été initialement analysée à l'aide de spectrophotomètre UV-vis.

Adsorption des nanoparticules d'argent AgNps par l HDL

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) intégrées sur des supports solides prometteurs en raison de leur réactivité élevée, stabilité et sélectivité. Nous présentons ici une stratégie facile, efficace et à faible coût pour ancrer les AgNPs sur les couches HDL.

Pour obtenir des nanocomposites AgNps/HDL calciné, 1 g HDL calcines est ajouté à 30 mL de Suspension AgNPs. Sous agitation pendant 3h.

Après avoir laissé sédimenter le mélange pendant 24h, on filtre par un filtre à seringue (0,22µm), Le liquide est devenue incolore ou décoloré, indiquant la disparition des nanoparticules. Le support a changé de couleur. Le produit solide a finalement été centrifugé, lavé trois fois avec de l'eau déminéralisée et séché à 60 °C.

La figure IV.3 montre les étapes d'adsorption des AgNps par HDL calciné.

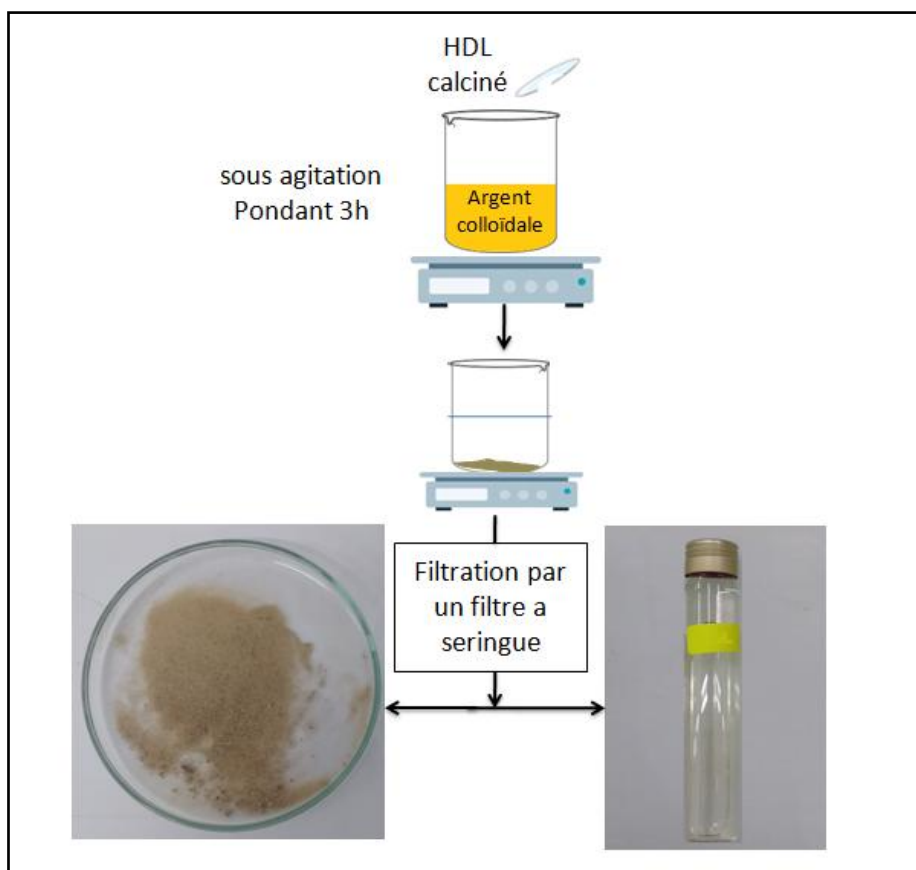


Figure IV. 3 : l’adsorption des AgNps par HDL calciné

Le liquide a été caractérisé par la spectrophotométrie d’absorption dans l’ultraviolet et le visible.

3. Formulation d’émulgel :

Dans la formulation des formes topiques, le galéniste s’oriente de plus en plus vers la forme « émulgel » qui permet l’association des avantages de l’émulsion et du gel, savoir l’incorporation des principes actifs lipophiles dans le gel et l’amélioration de la stabilité de l’émulsion.

3.1.Produits utilisées :

Tableau IV.3 : Produits utilisées dans la formulation d'émulgel

	Phase	Produits	rôle
E	A	AgNps, AgNps/HDL calciné	Principe actif
		Tween 80	Agent Tension

Huileuse			actif
		L'eau déminéralisée (qsp)	Solvant
		Paraffine	Agent Laxatif
		Span 20	Tension actif
Gel		Carbopol	Agent émulsifiant
		L'eau déminéralisée	Solvant
		Triéthanolamine	Agent épaississant, ajustement de pH

3.2. Formulation :

Il y a trois étapes de base dans la préparation d'émulgel :

- Étape 1 Formulation de l'émulsion.
- Étape 2 Formulation de gel
- Étape 3 Incorporation d'émulsion dans la base du gel

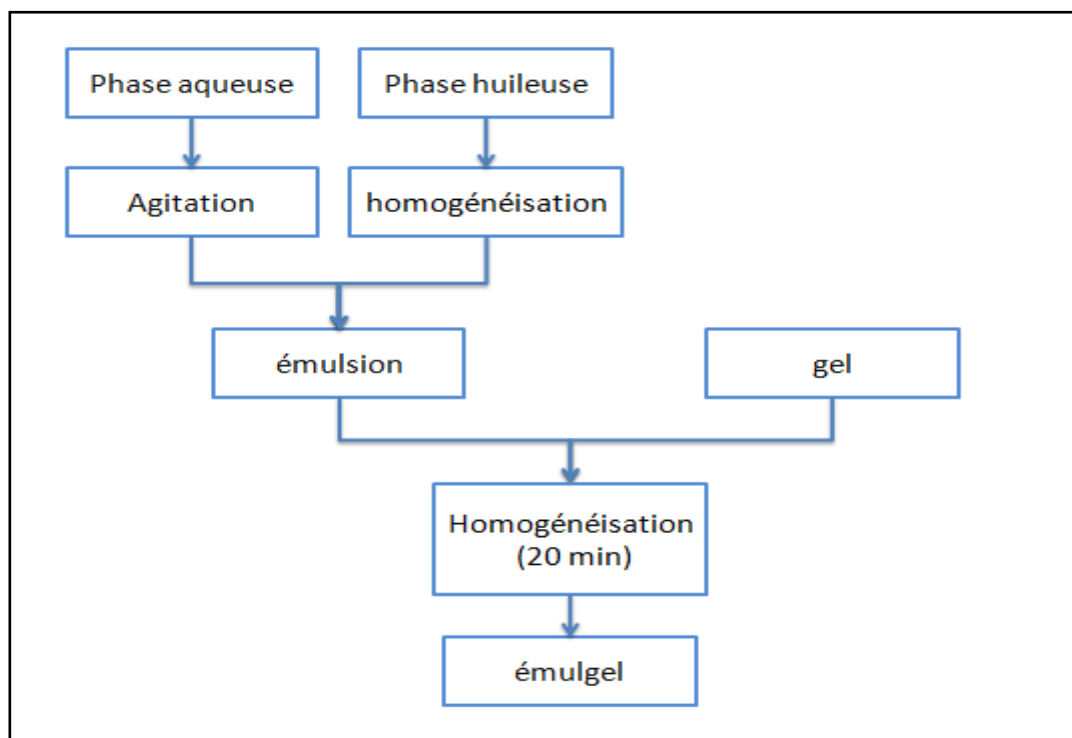


Figure IV. 4 : les étapes de la préparation d'émulgel

3.2.1. Formulation de l'émulsion :

– **La phase aqueuse :**

On mélange les AgNps ou AgNps/ HDL, Tween 80 et L'eau déminéralisée, l'ensemble est soumis à une agitation pendant 10min.

– **La phase huileuse :**

Dans cette phase on mélange Paraffine et Span 20 sous une homogénéisation pendant 10 min.

Notre émulsion a été obtenue, en versant la phase aqueuse dans la phase huileuse sous agitation pendant 20min.

3.2.2. Formulation de gel

On Dispersé le carbopol d'eau sous forte homogénéisation jusqu'à l'obtention d'une dispersion lisse sans agrégats puis on ajoute goutte à goutte le triéthanolamine sous faible agitation jusqu'à gélification du mélange (pH de 5.6)

3.2.3. Incorporation d'émulsion dans la base du gel :

Dans cette étape, on verse l'émulsion dans le gel de carbopol sous agitation pendant 20 min

4. Caractérisation de l'émulgel

Après la préparation des émugel, nous avons effectuée les différentes caractérisations suivantes :

4.1.Propriétés organoleptiques :

L'observation macroscopique des émulsions est un des tests d'acceptabilité de l'utilisateur. L'examen est pratiqué à l'œil nu directement sur les émulsions conservées. Les principaux caractères observés sont : la couleur, les aspects physiques, la consistance et l'homogénéité de la préparation.

4.2. Le sens de l'émulsion :

Le sens de l'émulsion est déterminé par conductimétrie :

La conductivité électrique de l'émulsion est celle de sa phase aqueuse. Une émulsion du type E/H est plus conductrice que sa phase aqueuse tandis que celle du type H/E est beaucoup moins conductrice. La conductivité de la préparation a été mesurée à température ambiante (environ 25°C) en utilisant un conductimètre de type **HANNA® instruments. EC214** et elle est exprimée en microSiemens ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

4.3. Stabilité à la centrifugation

La stabilité de notre formulation au cours du temps et sous des conditions physique rigoureuse est déterminée en utilisant une centrifugeuse de type **EPPENDORT Centrifuge 5702 R** à une vitesse de 3000 tours/ min pendant 10 min.

4.4. Etude microscopique:

Afin de voir l'homogénéité de la distribution des gouttelettes dans l'émulsion on a utilisé un microscope optique de type **CARLZEISS JENA**.

Une quantité d'emulgel est étalée sur une lame puis recouverte d'une lamelle en suite Placer sur la platine du microscope.

On observe avec un grossissement de $10 \times 2.5 = 25$

4.5. Détermination du pH :

Elle est effectuée, grâce à l'utilisation de pH-mètres de type **HANNA® instruments**.

Directement sur l'émulsion ou après dilution (à environ 10 %) dans de l'eau distillée. Elle est importante parce que le pH influence la stabilité des émulsions

4.6. Étude rhéologique :

La rhéologie est la science qui étudie l'écoulement des fluides et la déformation des corps. Pour Newton, la force requise (F) pour neutraliser la différence de vitesses entre les différents Plans est proportionnelle au gradient de vitesse.

La détermination des propriétés rhéologiques est essentielle car elle permet de suivre les Variations inter-lots et l'évolution de la structure des préparations en fonction du temps. De même, elle permet de standardiser la consistance et les propriétés sensorielles des préparations pharmaceutiques.

4.7. Activité antibactérienne :

Le test d'activité antibactérienne s'effectue au niveau de laboratoire central de CHU **FRANTZ FANON DE BLIDA**

La méthode adoptée pour ce test est celle de la diffusion des disques ou l'aromatogramme.

Le Principe repose sur la diffusion du composé antibactérienne en milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos préparations a été faite sur 8 souches bactériennes.

- *Escherichia coli ATCC*
- *Staphylococcus aureus ATCC*
- *MRSA ATCC (Streptococcus)*
- *Enterococcus faecium ATCC*
- *Enterococcus faecium ERV*
- *Pseudomonas aeruginosa ATCC*
- *Acinetobacter baumannii*,
- *Klebsiella pneumoniae*

- **Milieu :**

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4 mm, contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

- **Préparation de l'inoculum :**

A l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou la densité optique lue à 625 nm est justifiée à 0,08 à 0,2 nm

L'utilisation d'un densimètre est souhaitable.

L'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

- **Ensemencement :**

L'ensemencement se fait comme suit par coulée de 15 ml de la gélose MH dans des boîtes de Pétri. Après le refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, les suspensions bactériennes à tester sont étalées en surface de gélose pour chaque boîte par un écouvillon stérile. Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés par les solutions de AgNps sont déposés sur la gélose (2 disques imbibés par 20,50µl). Les boîtes sont ensuite fermées et incubées à température de 37°C pendant 18 heures

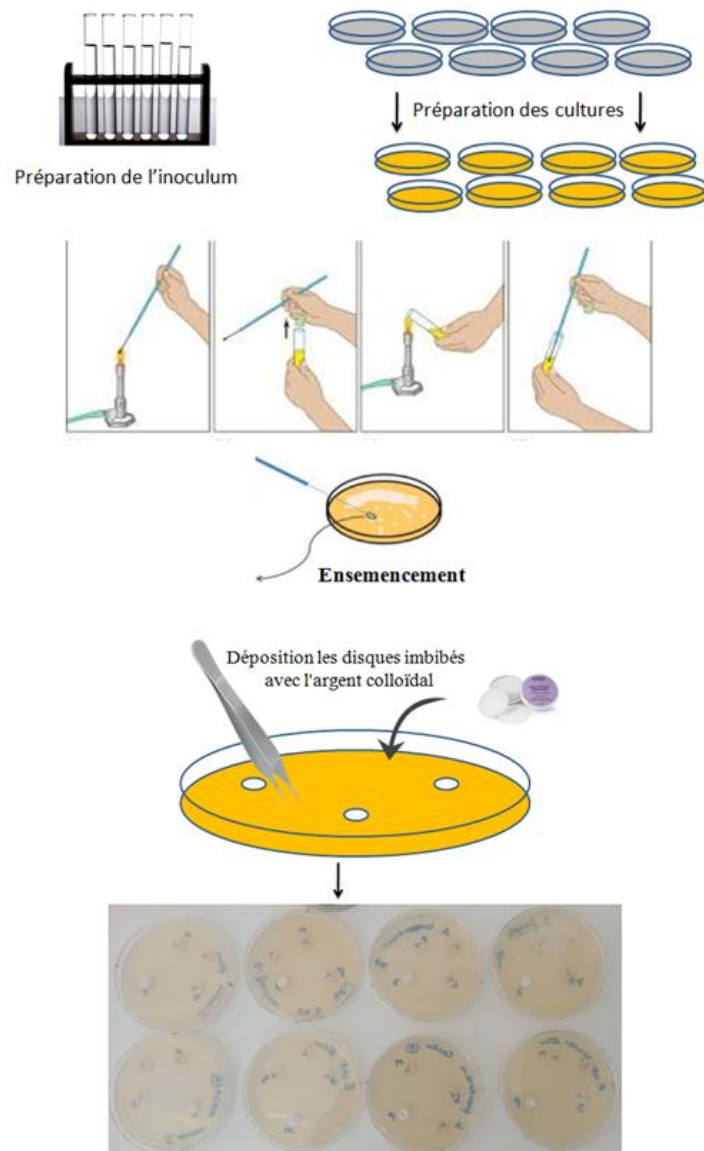


Figure IV. 5 : Les étapes de test d'activité antibactérienne

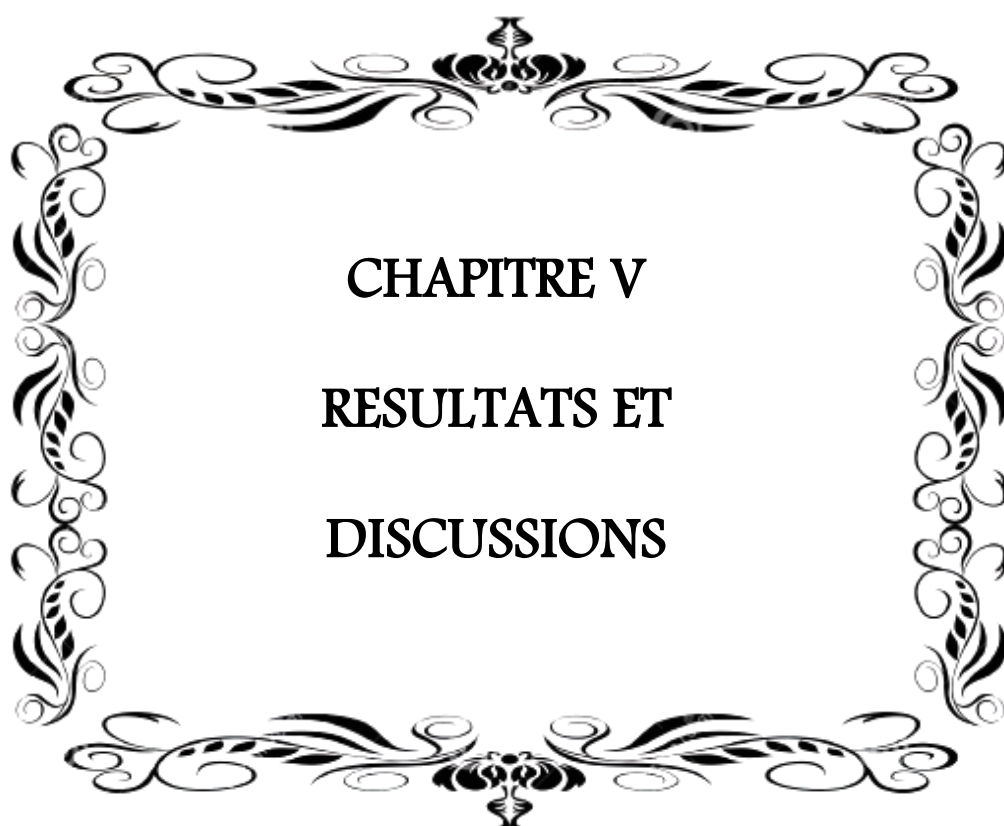
• **Lecture :**

Se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm

Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des échantillons testés

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm .
- Sensible (+): diamètre entre 9 à 14mm.

- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm .
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm .

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns. The border is composed of four main sections: a top section with a central floral motif, a bottom section with a central floral motif, and two side sections with vertical scrollwork. The entire border is rendered in black on a white background.

CHAPITRE V
RESULTATS ET
DISCUSSIONS

1. Caractérisations de l'argent colloïdal :

1.1. Caractérisation par changement de couleur de la solution d'argent colloïdal:

Après l'ajout de la solution d'acide ascorbique avec le citrate de sodium à la solution aqueuse de nitrate d'argent, la solution est initialement incolore. Mais après quelques minutes, la couleur du mélange a commencé à virer au jaune foncé après 20 minutes, indiquant la réduction des cations d'argent et la formations d'AgNps dans la solution. Comme le montre la figure V.1 :

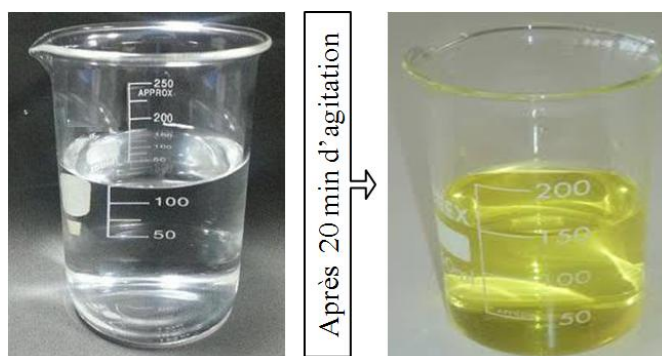


Figure V. 1 : Réduction des AgNps

1.2. Caractérisation par spectroscopie UV-Visible d'argent colloïdal :

L'absorption optique des nanoparticules a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à température ambiante, dans la gamme spectral UV-Visible de 200 à 600 nm.

Une bande d'absorption caractéristique avec un pic à $\lambda_{max} = 414$ nm est observée pour les nanoparticules d'argent, qui conforme aux valeurs de la littérature [103].

Figure V. 2 : Montre le spectre d'absorption UV-visible des nanoparticules de l'argent.

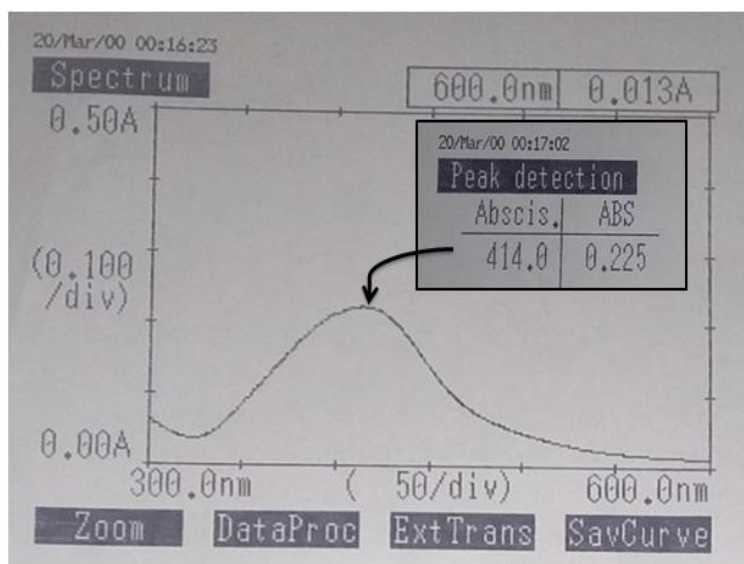


Figure V. 2 : le spectre d'absorption UV–visible des nanoparticules de l'argent.

Nous avons utilisé une argile anionique déjà synthétisée, calciné et caractérisée par des autres étudiantes dans l'adsorption des nanoparticules d'argent

Après la filtration, nous avons constaté qu'il y avait un changement de couleur de l'HDL calciné (résidu) de blanche vers le jaune foncé (la couleur de la solution des AgNps) qui confirme l'adsorption des AgNps [104].

La solution incolore (filtrat) est caractérisée par Spectrophotométrie d'absorption (UV-VIS) montré dans la Figure V.3 :

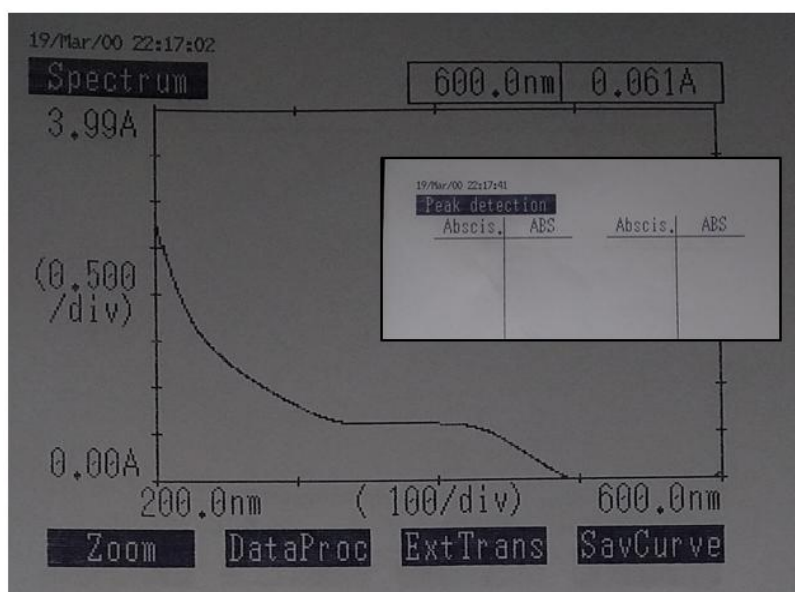


Figure V. 3 : le spectre d'absorption UV–visible de filtrat

Dans la même gamme spectrale UV-Visible, le spectre d'absorption ne présente pas une bande d'absorption qui réaffirme l'absorption des nanoparticules d'argent par l'HDL calciné

2. Caractérisation de la formulation d'émulgel :

2.1. Tests macroscopiques

Les résultats des tests macroscopiques des émulgels formulés : couleur, consistance, l'homogénéité et pH de crème sont reportés dans le tableau. V.5

Tableau V.4 : tests macroscopiques des émulgel formulés

Paramètres	Emugel (AgNps)	Emulgel (AgNps/HDL)
Couleur	Blanc	Blanc-jaune
Homogénéité	Homogène	Homogène
Consistance	Molle	Molle
pH	6,51	5.9
Conductivité	723 $\mu\text{s/m}$	839 $\mu\text{s/m}$

Macroscopiquement, nous avons vérifié l'homogénéité de notre émulgel, en étalant une couche mince sur une surface plane d'une feuille (papier filtre) et sur laquelle nous effectuons l'étalement d'une deuxième couche. On a vérifié à l'œil nu l'absence des agrégats et la bonne répartition de l'émulgel. Dans le cas de notre émulgel, on n'a pas vu la présence de grumeaux, de ce fait elle est homogène.

La valeur du pH appartient à l'intervalle [5.5-5.6].

Les résultats obtenus sont conformes, elles sont en accord avec celui avec la littérature [105 ,106] .

2.2. Test microscopique :

Les figures présentent une analyse microscopique de l'émulsion et l'émulgel formulés .On remarque l'apparition d'une émulsion concentré présentant une bonne dispersion des gouttelettes.

Pour l'émulgel, on remarque la présence des gouttelettes de différentes tailles et formes.

Emulgel d'argent colloïdale :

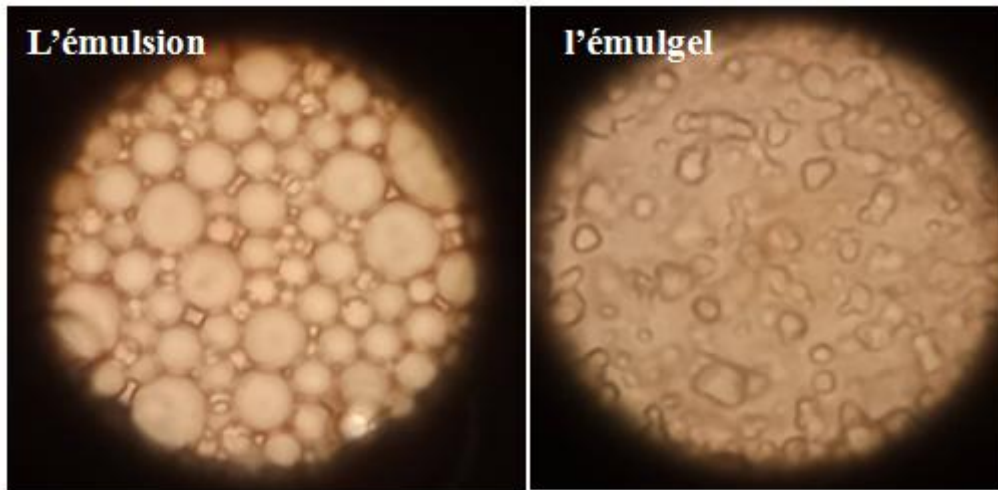


Figure V. 4 : Photo prise au microscope optique de l'émulgel d'AgNps .

Emulgel d'argent colloïdale et HDL :

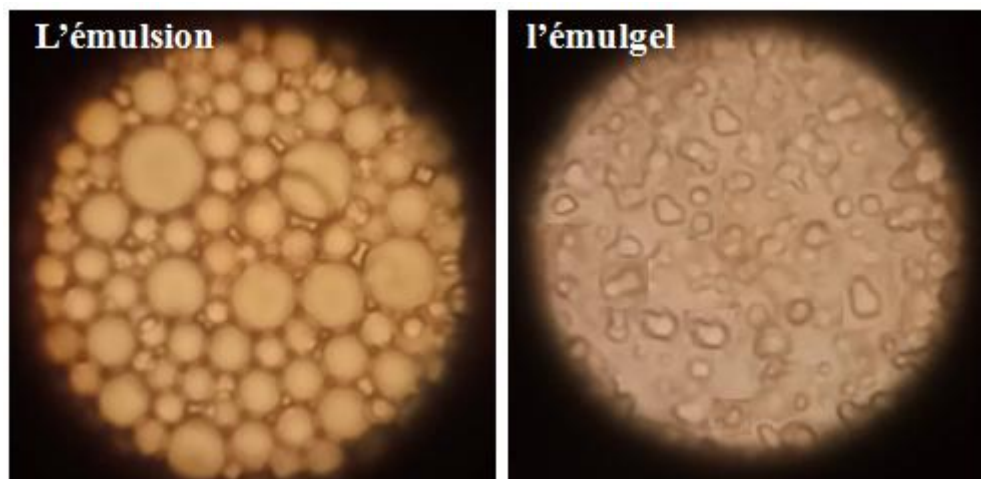


Figure V. 5 : Photo prise au microscope optique de l'émulgel d'AgNps/HDL

2.3. Stabilité à la centrifugation :

L'essai à la centrifugation a montré que les deux émulgels sont stables.

2.4. Sens d'émulsion :

Le résultat de mesure de la conductivité montre que la conductivité des deux emulgels est élevée, ce qui montre que la phase continue est aqueux donc c'est une émulsion eau dans l'huile.

2.5. Test Rhéologique :

On fait subir à l'émulgel formulée les tests rhéologiques qui permettent de déterminer la courbe d'écoulement. Laquelle donne la variation de la contrainte appliquée en fonction de la vitesse de cisaillement et de la viscosité.

Les résultats de l'étude rhéologique sont représentés dans les figures V. 6 et V. 7 :

Les Rhéogrammes représentent la contrainte et la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement de l'émulgel à base des AgNps et des AgNps/HDL.

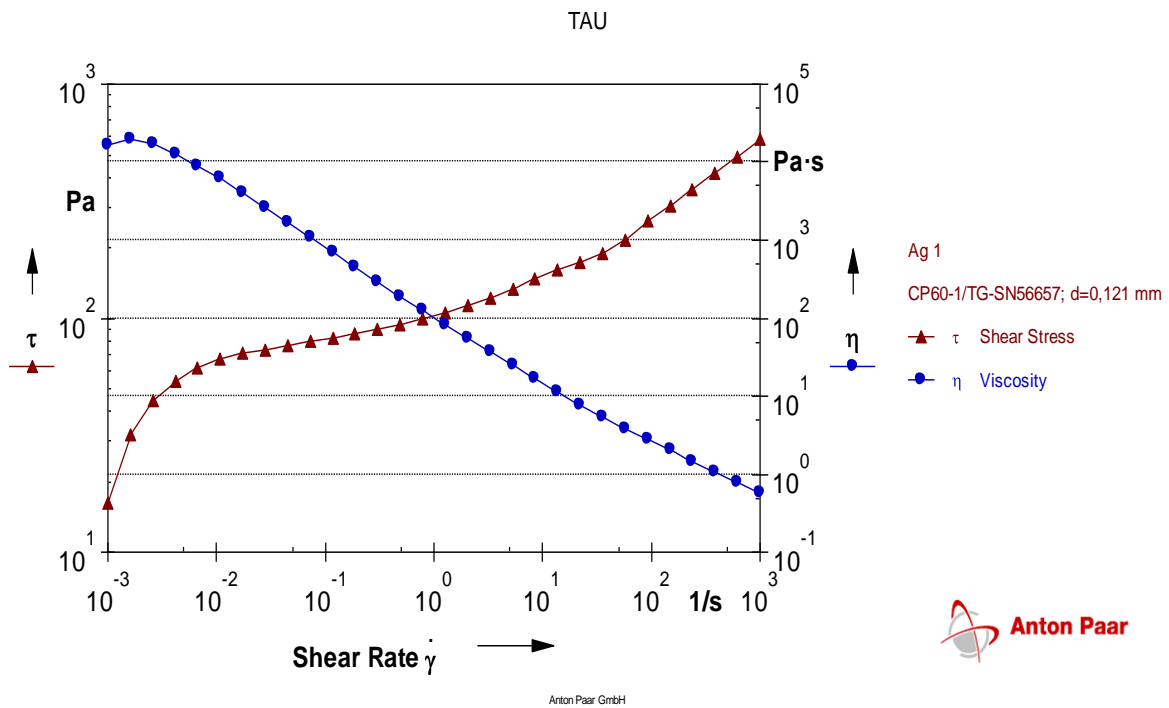


Figure V. 8 : Rhéogrammes de contrainte et la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement de l'émulgel à base des AgNps

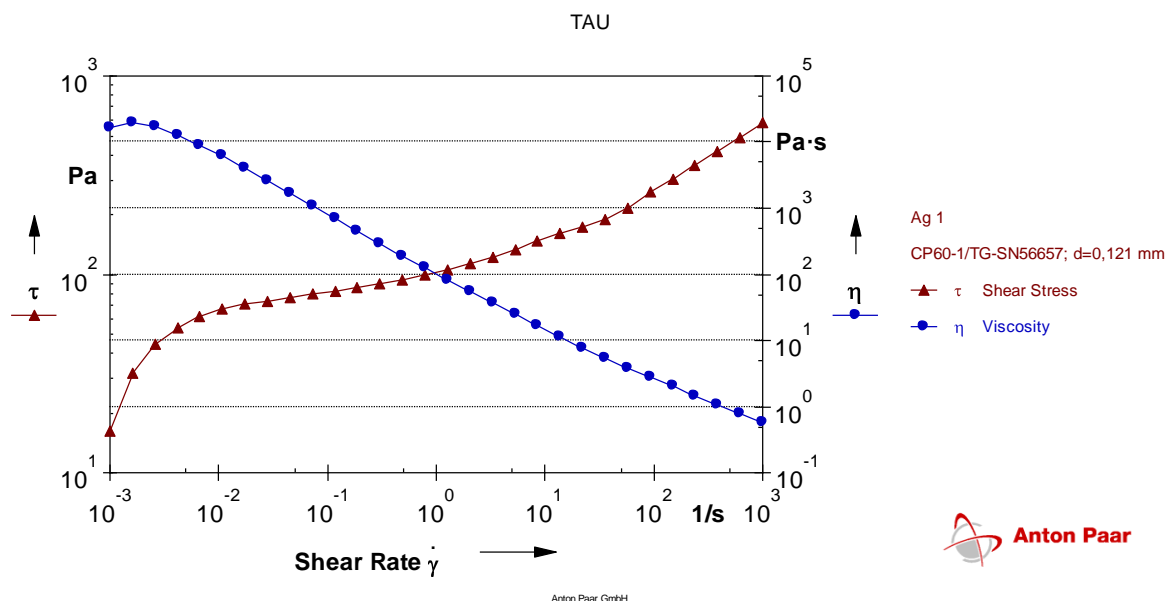


Figure V. 9 : Rhéogrammes de contrainte et la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement de l'émulgel à base des AgNps/HDL

On constate que les deux rhéogrammes sont presque identiques.

Lors de l'écoulement de l'emulgel, la contrainte diminue avec une valeur constante au cours de l'augmentation de vitesse de cisaillement et la viscosité diminue rapidement lorsqu'on augmente la vitesse de cisaillement, ce qui confirme que nos émulgel s'appartient aux liquides non newtoniens, ce qui explique que leurs viscosités « apparentes » dépendent de la contrainte ou la vitesse de cisaillement. Cette distinction leur permis un classement parmi les liquides rhéofluidifiants

2.6. Activité antibactérienne :

Le test aromagramme montre les résultats suivants :

Après 24 heures d'incubation de la culture bactérienne en présence de nos échantillons, des zones d'inhibition caractéristiques sont apparues. La figure montre les différentes zones d'inhibitions des différentes bactéries testées :

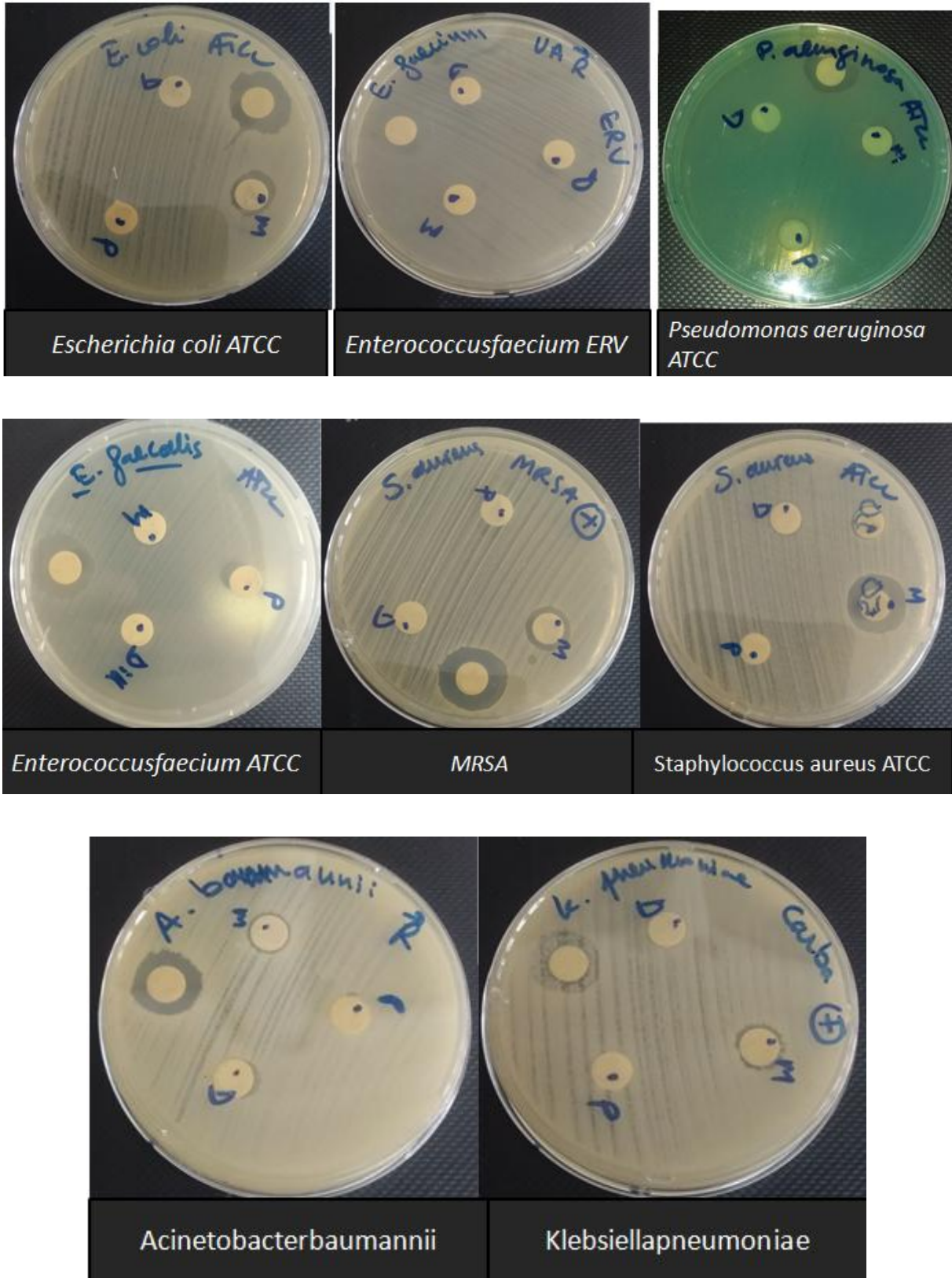


Figure V. 10 : Illustrations de l'effet des disques imbibés de différents volumes d'AgNps

La mesure du diamètre de ces zones nous donne les résultats regroupés dans le tableau V.6

Tableau V.5 aromagramme des souches bactériennes

Echantillons	<i>Escherichia coli</i> ATCC		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC		<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA		<i>Enterococcus faecium</i> ATCC		<i>Enterococcus faecium</i> ERV		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC		<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité	D(mm)	Sensibilité
Solution mère 50 µl	18	+	18.5	+	18	+	18	+	-	R	15	+	15.7	+	15	++
Solution mère 20 µl	12	+	-	R	12	+	-	R	-	R	-	R	-	R	11.25	+

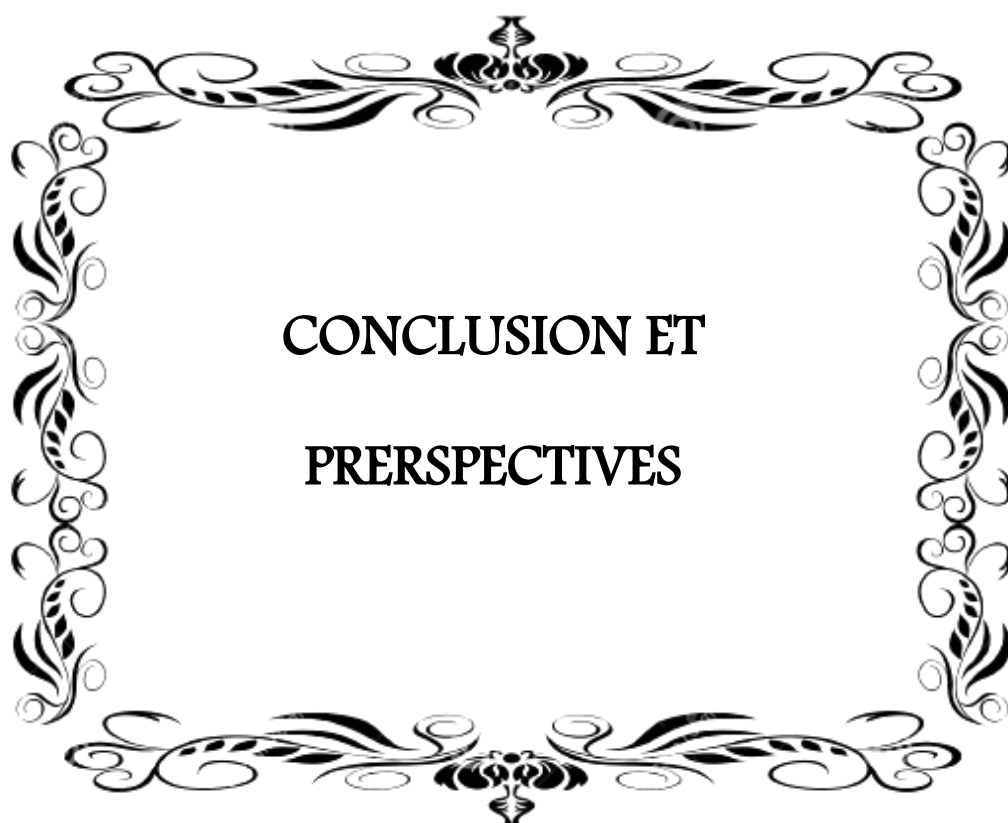
(-) : Absence de zone d'inhibition ; (R) : Résistante ; (+) : Sensible ; (++) : très sensible

Toutes les souches bactériennes montrent une très sensibilité à l'effet de la solution des AgNps(50 µl) sauf la souche *Enterococcus faecium* ERV.

Les souches *Staphylococcus aureus* ATCC, *Enterococcus faecium* ATCC, *Enterococcus faecium* ERV, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Acinetobacter baumannii* sont résistantes à la solution des AgNps(20 µl).

Les souches *Escherichia coli* ATCC, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Klebsiella pneumoniae* montrent également une sensibilité vis-à-vis de la solution des AgNps.

La méthode de diffusion des disques, nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de nos préparations vis-à-vis des bactéries testées. Les résultats indiquent que les AgNps représentent un degré certain d'activité contre les souches testées, la sensibilité diffère lorsqu'on change le volume de la solution inhibée.



**CONCLUSION ET
PRERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PRERSPECTIVES

L'objectif visé par cette étude était de synthétiser et caractériser les nanoparticules d'argent (AgNps) par réduction chimique ainsi que leur caractérisations afin d'utiliser l'hydroxyde double lamellaire (HDL) comme adsorbant de solution et de formuler un émulsion antibactérien à base des AgNps et AgNps/HDL afin de démontrer l'efficacité des nanoparticules d'argent contre les souches bactériennes.

Au cours de ce travail nous avons procédé, dans une première partie, à une synthèse bibliographique sur les nanoparticules d'argent et l'adsorption. Ensuite, nous avons présenté l'aspect théorique des hydroxydes double lamellaires. Nous avons terminé par une description générale sur les émulsion et plus particulièrement les émulsions. La deuxième partie de notre étude a été consacré à la synthèse des AgNps et l'adsorption AgNps/ HDL. Ensuite, les AgNps et Les AgNps/HDL ont été incorporés dans une préparation en tant que principes actifs pour formuler un émulsion antibactérien. Une optimisation des paramètres de formulation ont été effectué nous a mené à obtenir des formulations stables. Une série des tests rhéologiques, physico-chimiques et antibactériens ont été effectué afin de pouvoir sélectionner la formulation.

Les résultats de notre étude sont concluants et encourageants car ils prouvent que les nanoparticules d'argent exercent une forte activité antibactérienne envers différentes bactéries. Ce qui confirme que les AgNps se révèlent être des agents antibactériens efficaces, quels que soient les mécanismes de résistance aux médicaments qui existent dans les microorganismes pathogènes humains, et pourraient constituer un candidat potentiel en tant qu'agents bactéricides à large spectre et efficaces.

L'émulsion préparée à base des AgNps et des AgNps/HDL est soumis à différents test de qualité (homogénéité, pH) ont montré qu'elle est homogène avec un aspect acceptable correspond aux émulsion pharmaceutique commercialisée.

L'étude rhéologique de notre émulsion antibactérien nous a permis de déterminer qu'elle appartienne aux liquides non newtoniens dont leur viscosité ne dépend pas à la vitesse de cisaillement.

Cette étude présente quelques limites et nécessite plus d'approfondissement afin d'atteindre l'objectif final, à savoir, la possibilité d'une application médicale, voire pharmaceutique des nanoparticules d'argent. Ainsi pour les études futures, nous suggérons comme perspectives :

- Plus de moyens nécessaires à la caractérisation des nanoparticules afin déterminer la taille idéale d'AgNps applicable à grande échelle (DLS,MEB..) ainsi que les caractérisation d'AgNps/HDL(MEB,EDX ..)
- Une évaluation de leur activité mutagène qui pourra s'avérer utile pour d'éventuelles recherches scientifiques
- Et enfin une évaluation d'options possibles nécessaires à leur administration in vivo.

Référence bibliographique

- [1]. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Biometals*, 24, 135–141
- [2]. Antibiotic Resistance: Can Nanoparticles Tackle the Problem? Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-803642-6.00006-X
- [3]. A. Zielinska, E. Skwarek, A. Zaleska, M. Gazda, J. Hupka, *Procedia Chem.* 1 (2009) 1560 Jpn. Pat., 84930 A, 2007.
- [4]. Catalytic activity of silver nanoparticles anchored on layered double hydroxides and hydroxyapatite Trang Thuy Thuy Le Hoang Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387700320307899>
- [5]. EzioAndreta Directeur «Technologies industrielles» Direction générale Recherche Commission européenne «La nanotechnologie L'innovation pour le monde de demain »)
- [6]. Potočnik, J., 2011. Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU).Off. J. Eur. Union L275, 38–40. <https://doi.org/10.2777/13162>. <https://doi.org/10.2777/13162>
- [7]. Krug, H.F., Wick, P., 2011. Nanotoxicology: An interdisciplinary challenge. *Angew.Chemie - Int. Ed.* 50, 1260–1278. <https://doi.org/10.1002/anie.201001037>
- [8]. Peters, R., Brandhoff, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., Aschberger, K., Rauscher, H., Amenta, V., Arena, M., Botelho Moniz, F., Gottardo, S., Mech, A., 2014. Inventory of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. EFSA Support. Publ. 11. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2014.EN-621>
- [9]. Kango, S., Kalia, S., Celli, A., Njuguna, J., Habibi, Y., Kumar, R., 2013. Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites - A review. *Prog. Polym. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.02.003>.
- [10]. Peters, R., Brandhoff, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., Aschberger, K., Rauscher, H., Amenta, V., Arena, M., Botelho Moniz, F., Gottardo, S., Mech, A., 2014. Inventory of Nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector.EFSA Support.Publ. 11. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2014.EN-621>
- [11]. Ema M., Okuda H., Gamo M., et al. (2017). A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals.*ReprodToxicol*, 67:149–164.
- [12]. Zeyons O. (2008)(Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat en Physicochimie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, France, 330p.
- [13]. Simon-Deckers A., (2008) The antimicrobialresistancecontainment and surveillance approach – a public healthtool. *Bulletin of World HealthOrganization*; 82:928-34.
- [14]. Sedira S., Ayachi A. A., Lakehal S., Fateh M., Achour S. (2014).Etude et synthèse des nanostructures pour application en biomédicale et environnementale: cas de

- nanoparticules de ZnO, Ag et couches minces de type C-TiN. Thèse de doctorat en physique. Université de Constantine1, Algérie, 112p
- [15]. Andujar P., Lanone S., Brochard P., Boczkowski J., (2009). Effets respiratoires des nanoparticules manufacturées. INSERM, Unité 955, Créteil, F-94000, France, 39p
- [16]. Hervé-Bazin B., (2007 Les nanoparticules : Un enjeu majeur pour la santé au travail. EDP Sciences.France, 704p.ISBN: 978-2-86883-995-4, Mishra V., Sharma R., Jasuja N.D., (2014). A Review on Green Synthesis of Nanoparticles and Evaluation of Antimicrobial Activity.International Journal of Green and herbal chemistry.Vol.3, No.1, 081-094. E-ISSN: 2278-3229.
- [17]. Perreault F., (2012). Toxicité des nanoparticules métalliques chez différents modèles biologiques. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement. Université du Québec à Montréal, Canada, 225p,
- [18]. Singh R., Wagh P., Wadhvani S., et al., (2013). Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics.Int J Nanomedicine. 2013; 8:42774290,
- [19]. Mathur P., Jha S., Ramteke S., Jain N.K., (2018). Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*; 46(S1):S115-S126. doi:10.1080/21691401.2017.1414825
- [20]. Badri Y. (2018 L'industrie des nanoparticules dans le domaine de la santé. Université de Lille 2. Faculté ingénierie et management de la santé (ILIS). Ingénierie de la santé health care business and recherche clinique
- [21]. I. C. Smith, B. L. Carson « Trace metals in the environment » Silver. Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor, MI, Vol. 2.(1977).
- [22]. R. W. Boyle, R. W « Geochemistry of silver and its deposits with notes on geochemical prospecting for the element » Bull. Comm. Geol. Can. 160 (1968).
- [23]. Law-West, D. Silver. Dans: Canadian minerals yearbook 1983-1984: review and outlook. No de catalogue M38-5/33E, Direction des ressources minérales, Énergie, Mines et Ressources Canada, Ottawa (1985)
- [24]. Degremont, 1989, Mémento technique de l'eau, tome 1, édition technique et documentation
- [25]. Metiaz Hadj Mohammed A.Boudiba SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT À BASE D'EXTRAIT DES FEUILLES DE PLANTES ET ÉVALUATION DE LEUR ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE, 2020
- [26]. Etude et synthèse des nanostructures pour application en biomédicale et environnementale: cas de nanoparticules de ZnO, Ag et couches minces de type C-TiN. Thèse de doctorat en physique. Université de Constantine1, Algérie, 112p
- [27]. . Burda, C.; Chen, X.; Narayanan, R.; El-Sayed, M. A. Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chem. Rev.* 2005, 105, 1025–1102.
- [28]. DAVID RIOUX, SYNTHÈSE ET MODÉLISATION DES PROPRIÉTÉS OPTIQUES DE NANOPARTICULES D'ALLIAGE OR-ARGENT ET LEUR APPLICATION EN IMAGERIE HYPERSPECTRALE UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL 2015

- [29]. Immunogenic Research Foundation (IMREF). 5th China International Silver Conference Presentation 2006
- [30]. S.M. Dizaj, F. Lotfipour, M. Barzegar-Jalali, M.H. **Zarrintan** and K. Adibkia, *Materials Science and Engineering: C*, 44 (2014) 278.
- [31]. Chappell JB et al. Effect of silver ions on mitochondrial adenosinetriphosphatase. *Nature*. 1954 ; 174 : 930-1.
- [32]. Bhol KC et al. Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guineapigmodel. *ClinExpDermatol* 2004; 29: 2827..
- [33]. Petersen TK et al. In vivo pharmacological disease models for psoriasis and atopic dermatitis in drug discovery *Basic ClinPharmacolToxicol*. 2006; 99(2) :104-15.
- [34]. Gutermuth J et al. Mouse models of atopic eczema critically evaluated. *Int. Arch. AllergyImmunol*. 2004; 135(3): 262-76
- [35]. Catalina Marambio-Jones, Eric M. V. Hoek. *J Nanopart Res* 12 (2010) 1531-1551.
- [36]. *Silver the HealthyMetal*, The Silver Institute Newsletter, 1999.
- [37]. Franck Goldman. *Une arme secrète contre la maladie l'argent colloidal*. Ed Le Lotus d'Or, ISBN 2-9511714-5-5; 2004: 20-1.
- [38]. Feng QL et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*. 2000; 52(4): 662-8..
- [39]. Chaw KC et al. Role of silver ions in destabilization of intermolecular adhesion forces measured by atomic force microscopy in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(12): 4853-9.
- [40]. *Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent*. Thèse de doctorat en Chimie Macromoléculaire. INSA de Rouen, France, 157p Muller.
- [41]. Antibacterial activity of silver-killed bacteria: the "zombies" effect. *Sci Rep.*; 5:1-5. doi:10.1038/srep09555.
- [42]. Rachid MOSTARIH, Thèse de l'Université BLAISE PASCAL, (2006).
- [43]. Frondel C., *American Mineralogist*, 26 (1941) 295., Gastuche M.C., Brown G. and Mortland M. M., *Clay Mineral*, 7 (1967) 177
- [44]. Gastuche M.C., Brown G. and Mortland M. M., *Clay Mineral*, 7 (1967) 177
- [45]. Khaled Charradi, Thèse de l'Université de Grenoble, (2010).
- [46]. Synthèse, Caractérisation d'hydroxydes lamellaires type Cu-M (M = Al, Fe) et application dans le traitement de l'eau UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE d'ORAN Mohamed Boudiaf2014 http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/doc_num.php?explnum_id=1279
- [47]. C. FORANO, *Environmental remediation involving layered double hydroxides*, in: *Interface Sci. Technol.*, Elsevier, 2004: pp. 425–458.
- [48]. S. Miyata, *Industrial use of hydrotalcite-like compounds*, *Kagaku Gijutsushi MOL*. 15 (1977) 32.
- [49]. A.M. El-Toni, S. Yin, T. Sato, Direct coating for layered double hydroxide/4, 4'-diaminostilbene-2, 2'-disulfonic acid nanocomposite with silica by seeded polymerization technique, *J. Solid State Chem*. 177 (2004) 3197–3201.]
- [50]. https://www.researchgate.net/publication/359133492_Resume_These_de_Doctorat

- [51]. A. De Roy, J.P. Besse, P. Bondot, Structural approach and conductivity of lamellarhydroxides Zn₂Cr (OH) 6X. nH₂O (x= anion) by xanes, exafs and X-ray diffraction, Mater. Res. Bull. 20 (1985) 1091–1098.
- [52]. A. Vaccari, Catal. Today, 41 (1998) 53.
- [53]. Adachi-Pagano, M.; Forano, C.; Besse, J.-P., Chemical Communications, 1 (2000) 91-92.
- [54]. Leroux, F. ; Adachi-Pagano, M.; Intissar, M.; Chauviere, S.; Forano, C.; Besse, J.-P., MaterialsChemistry, 11 1105-112.
- [55]. Hibino, T., Chemistry of materials, 16 (2004) 5482-5488.
- [56]. Li, L.; Ma, R.; Iyi, N.; Ebina, Y.; Takada, K.; Sasaki, T., Chemical Communications, 29 (2006) 3125-3127.
- [57]. Cavani, F.; Trifiro, F.; Vaccari, A., CatalysisToday, 11 (1991) 173-301.
- [58]. Bellotto, M.; Rebours, B.; Clause, O.; Lynch, J.; Bazin, D.; Elkaim, E., Physical Chemistry, 100 (1996) 8535-8542.
- [59]. Layered double hydroxides (LDH) intercalatedwithmetal coordination compounds and oxometalates. Coord. Chem. Rev. 181, pp 61–120.
- [60]. Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: areview, Water Res. 42 pp.1343–1368
- [61]. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.-S., Chen G. Silvernanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug. Discov. Today*. 2015;20:595–601. doi: 10.1016/j.drudis.2014.11.014.
- [62]. Burduşel A.-C., Gherasim O., Grumezescu A.M., Mogoantă L., Ficai A., Andronescu E. Biomedical applications of silver nanoparticles: An up-to-date overview. *Nanomaterials*. 2018;8:681. doi: 10.3390/nano8090681.
- [63]. Chugh H., Sood D., Chandra I., Tomar V., Dhawan G., Chandra R. Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. *Artif. Cell. Nanomed. Biotechnol*. 2018;46:1210–1220. doi: 10.1080/21691401.2018.1449118.
- [64]. Zhang X.-F., Liu Z.-G., Shen W., Gurunathan S. Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *Int. J. Mol. Sci*. 2016;17:1534. doi: 10.3390/ijms17091534.
- [65]. <https://medcraveonline.com/IJBSBE/synthesis-and-characterization-of-silver-nanoparticles-and-their-application-as-an-antibacterial-agent.html>
- [66]. E. Abbasi, M. Milani, S. F. Aval, M. Kouhi, A. Akbarzadeh, and H. Tayefi, “Silver nanoparticles : Synthesis methods , bio-applications and properties,” Crit. Rev. Microbiol., vol. 00, no. 00, pp. 1–8, 2014.
- [67]. Xiu-Hua Yang, Jian Ling Catalytic formation of silver nanoparticles by bovine serum albumin protected-silver nanoclusters and its application for colorimetric detection of ascorbic acid Spectrochimica<https://doi-org.sndll1.arn.dz/10.1016/j.jcis.2013.09.009>
- [68]. Shervani, Z.; Yamamoto, Y. Carbohydrate-Directed Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles: Effect of the Structure of Carbohydrates and Reducing Agents on the Size and Morphology of the Composites. *Carbohydr. Res*. **2011**, 346, 651–658.
- [69]. imrodhAnanth, A.; Umapathy, S.; Sophia, J.; Mathavan, T.; Mangalaraj, D. On the Optical and Thermal Properties of in Situ/ex Situ Reduced Ag NP’s/PVA Composites and Its Role as a Simple SPR-Based Protein Sensor.*Appl. Nanosci*. **2011**, 1, 87–96

- [70]. Khan, Z.; Bashir, O.; Hussain, J. I.; Kumar, S.; Ahmad, R. Effects of Ionic Surfactants on the Morphology of Silver Nanoparticles Using Paan (Piper Betel) Leaf Petiole Extract. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2012**, *98*, 85–90.
- [71]. Kakkar, R.; Sherly, E. D.; Madgula, K.; Devi, D. K.; Sreedhar, B. Synergetic Effect of Sodium Citrate and Starch in the Synthesis of Silver Nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *126*, E154–E161.
- [72]. Hartlieb, K. J.; Saunders, M.; Raston, C. L. Templating Silver Nanoparticle Growth Using Phosphonated Calixarenes. *Chem. Commun.* **2009**, 3074.
- [73]. **Badi'ah , F Seede**h Synthesis of Silver Nanoparticles and the Development in Analysis Method Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Jl.Mulyorejo Kampus C UNAIR Surabaya 60115, Indonesia 10.1088/1755-1315/217/1/012005 <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/217/1/012005/pdf>
- [74]. K. LEAN MOORE, F. ARTHUR. DALLEY, Anatomie médical, de Boechsuperieur.P. 2001.
- [75]. KASSA Djelloul, BENOUNICHE Nachida, OUALI Aomar, DENINE Rachid « cours pharmacie galénique Tome II, INESSM-Alger, Département de pharmacie, 1992.
- [76]. Voies d'administration des médicaments.9782294738265.Pdf.
- [77]. Bounouira.F, les gels, aspects théoriques et applications, thèse doctorat, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V - RABAT, 2015.
- [78]. ROSEN M., Surfactants, and Interfacial Phenomena, J. Wiley (2004).
- [79]. DESTRI BATS M., « Emulsions stabilisées par des particules colloïdales stimulables : propriétés fondamentales et matériaux », Thèse de doctorat : Chimie-Physique : Université Bordeaux 1, (2010).
- [80]. DOUMEIX O., « Les opérations unitaires en génie : les émulsions biologique. CRDP d'aquitaine », 1 ère édition p : 12, (1999).
- [81]. Doumeix, O. Opérations Unitaires En Génie Biologique. Tome 1: Les Émulsions. CRDP d'Aquitaine. 2011.
- [82]. Nadine PIERAT. PREPARATIONS D'EMULSIONS PAR INVERSION DE PHASE INDUITE PAR AGITATION. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1. 2010. p.7.)
- [83]. Bhandari, B.R., Dumoulin, E. et H. Richard. Techniques de préparation d'arômes élaborés (chapitre 7) dans Les arômes alimentaires, Éd. Lavoisier, Paris, 1992. 438p.
- [84]. PIERAT N., « Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation », Thèse de doctorat : Pharmacie : Université HENRI POINCARE - NANCY 1, (2010).]
- [85]. ROJAS M., « Emulsification en Cuve Agitée : Rôle du Protocole Opérateur sur l'Inversion de Phase Catastrophique », Thèse de doctorat : Génie de Procédés et de l'Environnement : école doctorale à Toulouse, (2007).
- [86]. Tharwat F. Tadros. Emulsion Science and Technology. Industrial Applications of Emulsions: A General Introduction. 2009. p. 2-3.
- [87]. LE HIR A. Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments. 9e édition. Paris : Masson, 2009. P.151.

- [88]. Ariyaprakai. S, S.R. Dungan. Influence of surfactant structure on the contribution of micelles to Ostwald ripening in oil-in- water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010, 343, 102-108.
- [89]. Emulsification : Elaboration et étude des émulsions», *Technique de l'ingénieur, traité génie des procédés*, J2150 :1-18, (1999).
- [90]. BINKS B, WHITBY C., « Nanoparticlesilica–stabilizedoil-in-water emulsions: improvingemulsionstability », *Colloids Surf A*, 253: 105-115, (2005)
- [91]. Le Hir A. *Pharmacie Galénique*. 6eme édition. Paris: Masson, 1992. 377 P.
- [92]. Denine . R; Ghanassi. F ; Boudendouna . H ; Nouas . M, Dgeraba . S. *Cours de pharmacie galénique ; Université d'Alger ; département de pharmacie Faculté de médecine ; 2002.*
- [93]. Rosen .M. J. *Livre – Surfactants and interfacial Phenomena*. Third Edition. Editions Wiley-Interscience.2004).
- [94]. Larpent C. *Tensioactifs. Techniques de l'ingénieur, traité constantes physicochimiques*. 1995. K342: 1-14.
- [95]. Bancroft, W.D. *The theory of emulsification*, V. *The Journal of Physical Chemistry*. 1913. 17, 501–519.
- [96]. Harlay A., Huard A., Ridoux L., Rolland V., *Guide du préparateur en pharmacie*. Edition Masson, Condé sur Noireau. 2004. p.794.
- [97]. TOÉ SiessinaLawaldia Natacha Tchaida Martine. *Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels a base du beurre de karité du Burkina Faso*. Thèse de Doctorat : UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE UNINERSITE DE OUAGADOUGOU. 2004. p.11-12.
- [98]. Felton L. Remington. *Essentials of pharmaceutics*. Philadelphia. Pharmaceutical press; 2013. p.448- 449):
- [99]. Barkat Ali Khan, NaveedAkhtar, Haji Muhammad Shoaib Khan¹, Khalid Waseem¹, Tariq Mahmood¹, AkhtarRasul, Muhammad Iqbal and Haroon Khan. *Basics of pharmaceutical emulsions*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*.30 December 2011.Vol. 5(25), pp. 2715-2725.
- [100]. Le Hir A. *Pharmacie Galénique-Bonnes pratiques de fabrication des médicaments*. Abrégés MASSON, France. 8e édition. 2001. p 158-167.
- [101]. Monique Seiller- Marie Claude Martini. *Formes pharmaceutiques pour application locale*. 1996. p.98,101-102,141-142.
- [102]. Maloine. *Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique*. Collection Etudes et Diplômes en pharmacie dirigée par Jean-François d'Ivernois. Sous la direction de Pascal Wehrlé. 2007. p.124-125
- [103]. https://www.researchgate.net/publication/270426924_Preparation_of_colloidal_silver_nanoparticles_and_structural_characterization?enrichId=rgreq-a892f38e61fe4c0e430258630d2248ceXXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI3MDQyNjkyNDtBUzo5NDIyMDY1NjMxNTE4NzJAMTYwMTY1MDk1ODM0MQ%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf

REFERANCES

- [104]. Trang Thuy Thuy Le Hoang, Numpon Insin, Catalytic activity of silver nanoparticles anchored on layered double hydroxides and hydroxyapatite *Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*
- [105]. .Synthèse d'une crème antiseptique. Mémoire fin d'étude, Université M'Hamed Bouguerra,P : 25,26,27,
- [106]. Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. Mémoire de Magister, Université de M'Hamed BougaraBoumerdes, p18

