

**REPUBLIQUE ALGERIENE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEINEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAÂD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des sciences**

**Département de chimie**



**Mémoire de master en chimie**

**Spécialité : Chimie des produits naturels**

**Thème**

**Synthèse verte et caractérisation des  
nanoparticules métalliques d'argent**

**Présenté Par**

**ABSI SAIDA et MELZI SALIHA**

Devant les membres du Jury :

|              |                         |               |
|--------------|-------------------------|---------------|
| Président    | MR .A. Abdallah El Hadj | U.SD, Blida-1 |
| Examinatrice | Mme .R. Ziane           | U.SD, Blida-1 |
| Co-Promoteur | MR .R. Zahi             | U.SD, Blida-1 |
| Promoteur    | MR .S. Sabour           | U.SD, Blida-1 |

Blida, juillet 2022

## Remerciements

Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la force, la chance d'étudier, et la patience afin de pouvoir réaliser ce modeste travail, sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Nous tenons à remercier vivement toutes les personnes qui nous ont aidé et nous ont apporté beaucoup de soutien dans les moments difficiles. Nos remerciements les plus respectueux sont adressés particulièrement à notre encadreur Mr Smain Sabour pour son soutien moral et technique, ses conseils durant la période de réalisation de ce travail.

Nous tirons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre Co-promoteur, Mr Zahi Mohamed Réda pour ses conseils avisés, son soutien scientifique et ses remarques fructueuses

Nous sommes très honorées que les membres du jury : Mr Abdallah EL Hadj et Mme Ziane aient accepté de juger ce modeste travail. Nous leur exprimons nos plus vifs remerciements.

Le plus grand merci pour l'ingénieure de laboratoire Laila pour son soutien et nous aidons à plusieurs reprises.

Nous sommes toujours reconnaissants envers tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cursus. Merci professeurs

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

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



## DEDICACES

Je dédie ce modeste travail mille fois :

Pour ma mère qui représente le soleil lumineux dans cette vie, la force dans la faiblesse, le bonheur dans la tristesse, l'espoir dans les moments de désespoir, ma mère puis ma mère...

Tous les mots de merci et tous les mots d'appréciation et de gratitude ne suffisent pas à vous remercier et ne suffisent pas à vous rendre la pareille.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Pour mon père, il n'y a aucune dédicace qui saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'en aie toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Un merci spécial à mon mari **MOHAMED**, et mon frère **MOHAMED** pour leur soutien et leur présence permanente. Je prie Dieu, le tout puissant, de vous protéger et de vous procurer santé, bonheur et longue vie.

A mes sœurs : **FATIMA, KHEIRA, MERIEM, ZOULIKHA** je vous remercie pour votre soutien.

A mes amies: **SALIHA, CHOUROK, ABIR, AMINA, FATIMA, ABDE RRAHMANE, ABD ALHAMID**

Je vous remercie pour le courage, le sourire, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a partagé ensemble.

**SAIDA ABSI**



## DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents Ma chère mère et Mon cher père pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chères sœurs pour leur appui et leur encouragement.

A mon mari **YASSINE KERFA** et mes frères merci pour votre soutien Je prie Dieu, le tout puissant, de vous protéger et de vous procurer santé, bonheur et longue vie.

A mes amies : **SAIDA, ABIR, CHOUROK** Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

A tous mes amis qui ont partagé les bons moments, tout au long de la réalisation de mon mémoire, je vous remercie.

Je remercie toute la promotion de Master chimie 2021/2022.

Et à toutes personnes ayant contribué de près ou de loin pour ce Travail.

**MELZI SALIHA**

# RESUME

ملخص

# ABSTRACT



## Résumé

Le développement de méthodes fiables pour la synthèse de nanoparticules est une étape essentielle dans le domaine de la nanotechnologie. Au cours de la dernière décennie, de nombreux efforts ont été déployés pour développer des méthodes de synthèse vertes afin d'éviter les sous-produits dangereux.

Dans cette étude une synthèse verte de nanoparticules d'argent est réalisée en utilisant l'extrait de graines de moutarde et  $\text{AgNO}_3$  à différentes concentrations.

Cette technique est utilisée comme méthode écologique et rentable. Les nanoparticules obtenues ont été caractérisées par spectroscopie UV-visible, la position de la bande se situe à 430 nm, avec une augmentation de l'intensité avec le temps, cela indiquant la formation des AgNPs.

## ملخص

ان تطوير اساليب موثوقة لتوليف جزيئات النانو هي خطوة اساسية في مجال تقنية النانو. على مدى العقد الماضي ، تم بذل العديد من الجهود لتطوير التخليق الاخضر لتجنب المنتجات الخطرة. في هذه الدراسة، تم اجراء التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية باستخدام مستخلص بذور الخردل بنسب مختلفة من المستخلص ومن محلول نترات الفضة وبتراكيز مختلفة. تستخدم هذه التقنية كطرق صديقة للبيئة وفعالة من حيث التكلفة. الجسيمات النانوية التي تم الحصول عليها تم تمييزها بواسطة التحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية، وكان موضع الشريط عند 430 نانومتر ، مع زيادة في الشدة بمرور الوقت ، مما يشير الى تكوين الجسيمات النانوية.

## **Abstract**

The development of reliable and eco-accommodating methods for the synthesis of nanoparticles is an essential step in the field of nanotechnology. Over the past decade, many efforts have been made to develop green synthesis methods to avoid hazardous by-products. In this study, the biosynthesis of silver nanoparticles is performed using mustard seed leaf extract and AgNO<sub>3</sub> and different concentrations. This technique is used as environmentally friendly and cost effective methods. The nanoparticles obtained were characterized by UV-visible spectroscopy; the position of band is 430 nm, with an increase in intensity over time, indicating the formation of AgNPs.



# TABLE DES MATIERES

## TABLE DES MATIERES

## LISTE DES ABREVIATIONS ET NOMENCLATURES

## LISTE DES FIGURES

## LISTE DES TABLEAUX

## INTRODUCTION ..... 1

### CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIE

|          |  |    |
|----------|--|----|
| I.1/     | Les nanoparticules.....  | 3  |
| I.1.1/   | Définition.....  | 3  |
| I.1.2/   | Origine des nanoparticules.....  | 4  |
| I.1.2.1/ | Les nanoparticules naturelles.....   | 4  |
| I.1.2.2/ | Les nanoparticules artificielles.....                                      | 4  |
| I.1.2.3/ | Les nanoparticules accidentelles.....                                      | 5  |
| I.1.3/   | Classification des nanoparticules.....                                     | 5  |
| I.1.3.1/ | Nanoparticules organiques.....   | 5  |
| I.1.3.2/ | Les nanoparticules inorganiques.....                                       | 7  |
| I.2/     | L'argent.....  | 7  |
| I.2.1/   | Définition.....  | 7  |
| I.3/     | Les nanoparticules d'argent.....   | 7  |
| I.3.1/   | Définition.....  | 8  |
| I.3.2/   | Propriétés des nanoparticules d'argent.....                                | 8  |
| I.3.2.1/ | Propriétés physiques et chimiques.....                                     | 8  |
| I.3.2.2/ | Propriétés optiques.....   | 9  |
| I.3.2.3/ | Propriétés électrochimiques.....   | 9  |
| I.3.3/   | Méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent.....                       | 9  |
| I.3.3.1/ | Méthode physique.....  | 10 |
| I.3.3.2/ | Méthode chimique.....  | 10 |
| I.3.3.3/ | Synthèse verte de nanoparticules d'argent.....                             | 12 |
| I.3.4/   | Mécanisme de formation d'AgNPs (la bioréduction).....                      | 16 |
| I.3.5/   | Les molécules responsables de la bioréduction.....                         | 17 |
| I.3.6/   | Stabilisation des nanoparticules d'argent.....                             | 18 |
| I.3.7/   | Facteurs Influçant sur la formation de NPs.....                            | 19 |
| I.3.8/   | Méthode de caractérisation.....  | 19 |
| I.3.8.1/ | La spectroscopie UV-visible.....   | 20 |
| I.3.8.2/ | La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.....                  | 21 |
| I.3.8.3/ | La diffraction des rayons X (DRX).....                                     | 21 |
| I.3.8.4/ | Microscopie à balayage électronique (MEB).....                             | 21 |
| I.3.8.5/ | Caractérisation structurale des nanoparticules métalliques par Microscopie |    |

|  |    |
|--|----|
| électronique à transmission (MET) .....                                      | 21 |
| I.3.9/ Applications des nanoparticules d'argent .....                        | 22 |
| I.3.10/ Activités biologiques de nanoparticules d'argent .....               | 22 |
| I.3.10.1/ Activité antimicrobienne.....                                      | 22 |
| I.3.10.2/ Activité anti-cancéreuse.....                                      | 23 |
| I.4/ Présentation des graines de moutarde blanche, noire et brune .....      | 24 |
| I.4.1/ Classification.....   | 24 |
| I.4.2/ Nomenclature .....  | 24 |
| I.4.3/ Description botanique .....   | 24 |
| I.4.4/ Variétés de moutardes .....   | 25 |
| I.4.4.1/ La moutarde blanche ( <i>Sinapis alba</i> ) .....                   | 25 |
| I.4.4.2/ La moutarde noire ( <i>Brassicae nigra</i> ) .....                  | 26 |
| I.4.4.3/ La moutarde brune ( <i>Brassicae juncea</i> ) .....                 | 26 |
| I.4.5/ Description des graines de moutarde (blanches, noires et brunes)..... | 27 |
| I.4.5.1/ Graines de moutarde blanche .....                                   | 27 |
| I.4.5.2/ Graines de moutarde noire .....                                     | 27 |
| I.4.5.3/ Graines de moutarde brune .....                                     | 28 |
| I.4.6/ Composition chimique de la moutarde .....                             | 28 |
| I.4.7/ Propriétés et utilisation de la moutarde .....                        | 29 |
| I.4.8/ L'huile de Moutarde .....   | 30 |

## **CHAPITRE II : Matériel et méthodes**

|   |    |
|---|----|
| Introduction .....  | 31 |
| II.1/ Matériels et méthodes.....  | 31 |
| II.1.1/ Méthodologie .....  | 31 |
| II.1.1.1/ Préparation de trois extraits éthanoliques de moutarde.....                           | 33 |
| II.1.1.2/ Rendement de l'extraction.....  | 34 |
| II.1.2/ Dosage des polyphénols totaux .....   | 35 |
| II.1.3/ Activités biologiques.....  | 36 |
| II.1.3.1/ L'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de moutarde .....        | 36 |
| II.1.4/ Préparation de l'extrait aqueux de moutarde brune .....                                 | 39 |
| II.1.5/ Synthèse verte des nanoparticules d'argent .....  | 39 |
| II.1.5.1/ La synthèse verte des nanoparticules d'argent à l'aide de l'extrait éthanolique ..... | 39 |
| II.1.5.2/ La synthèse verte des nanoparticules d'argent à base de l'extrait aqueux .....        | 40 |
| II.1.5.3/ Les paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent .....             | 41 |

## **CHAPITRE III : Résultats et discussion**

|  |    |
|--|----|
| Introduction : .....                             | 43 |
| III.1/ L'extraction des graines de moutarde..... | 43 |
| III.2/ Teneurs en phénols totaux .....           | 44 |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| III.3/     | Caractérisation de l'extrait éthanolique de moutarde brune :.....             | 46 |
| III.3.1/   | Caractérisation par spectroscopie infrarouge .....                            | 46 |
| III.3.2/   | Caractérisation par Spectrophotomètre UV-visible .....                        | 47 |
| III.4/     | Activité antioxydante .....   | 47 |
| III.4.1/   | Test avec le radical DPPH.....  | 47 |
| III.5/     | Synthèse verte .....  | 50 |
| III.5.1/   | La synthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait éthanolique ..... | 50 |
| III.5.2/   | La synthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait aqueux .....      | 51 |
| III.5.2.1/ | Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent.....                       | 52 |
| III.6/     | Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent.....          | 52 |
|            | Conclusion.....   | 56 |
|            | Référence   |    |

## LISTE DES ABREVIATIONS ET NOMENCLATURES

Ag : argent.

AgNPs : nanoparticules d'argent.

Ag<sup>+</sup> : ion d'argent.

Ag<sup>0</sup> : Argent réduit.

Abs: Absorbance.

AITC : L'isothiocyanate d'allyle.

AgNO<sub>3</sub> : nitrate d'argent.

AAO: Oxyde d'aluminium anodique.

ASTM: American Society of Testing and Materials.

BSI: British Standards Institution.

BAuA: Bundesanstalt für Arbeitsschutz and Arbeitsmedizin.

DPPH : 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl.

DRX : diffraction des rayons X.

DMF : Diméthylformamide.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EC: European Commission.

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

ISO: International Organization for Standardization.

LSPR : la résonance plasmonique de surface localisé.

MEB : microscopie électronique à balayage.

MET : microscopie électronique à transmission.

NIOSH: National Institute of Occupational Safety and Health.

nm : nanomètre.

NPs : nanoparticules.

PEG : Polyéthylène glycol.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PVP : Polyvinylpyrrolidone.

SCCP: Scientific Committee on Consumer Products.

µl : microlitre.

## LISTE DES FIGURES

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure I.1:</b> Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologique .....                                | 3  |
| <b>Figure I.2:</b> Le carbone sp <sup>2</sup> dans tous ses états .....  | 5  |
| <b>Figure I.3:</b> liposome .....  | 6  |
| <b>Figure I.4:</b> Nanoparticule polymérique .....   | 6  |
| <b>Figure I.5:</b> Poudre de nano-argent.....  | 8  |
| <b>Figure I.6:</b> Schéma des deux grandes approches de synthèse de nanoparticules d'argent. ....  | 10 |
| <b>Figure I.7:</b> Schéma de la synthèse des AgNPs en utilisant des bactéries .....  | 13 |
| <b>Figure I.8:</b> représentation schématique sur la synthèse des nanoparticules d'argent à base de champignons .....  | 14 |
| <b>Figure I.9:</b> Synthèse de nanoparticules à base de différentes algues .....   | 15 |
| <b>Figure I.10:</b> schéma de la synthèse des AgNPs à base des extraits de plante .....  | 16 |
| <b>Figure I.11:</b> Représentation schématique du mécanisme de formation de nanoparticules. ....   | 17 |
| <b>Figure I.12:</b> principaux bioréducteurs présents dans les plantes. ....   | 18 |
| <b>Figure I.13:</b> stabilisation de nanoparticules d'argent. ....   | 19 |
| <b>Figure I.14:</b> Techniques de caractérisation des nanoparticules .....   | 20 |
| <b>Figure I.15:</b> Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible. ....   | 20 |
| <b>Figure I.16:</b> diverses applications des AgNPs.....   | 22 |
| <b>Figure I.17:</b> Moutarde blanche (fleurs et feuilles).....   | 25 |
| <b>Figure I.18:</b> Moutarde noire (fleurs et feuilles).....   | 26 |
| <b>Figure I.19:</b> Moutarde brune (fleurs et feuilles).....   | 27 |
| <b>Figure I.20:</b> Graine de moutarde blanche ( <i>Sinapis alba</i> ). ....   | 27 |
| <b>Figure I.21:</b> Graines de moutarde noire ( <i>Brassicae nigra</i> ).....  | 28 |
| <b>Figure I.22:</b> Graines de moutarde brune ( <i>Brassicae juncea</i> ).....   | 28 |
| <b>Figure I.23:</b> La réaction de formation de L'isothiocyanate d'allyle (AITC). ....   | 29 |
| <b>Figure II.1:</b> schéma représentatif du protocole de synthèse des nanoparticules d'argent .....  | 31 |
| <b>Figure II.2:</b> Organigramme représentant les étapes de synthèse des AgNPs.....  | 32 |
| <b>Figure II.3:</b> Les étapes de l'extraction des graines de moutarde. ....   | 34 |
| <b>Figure II.4:</b> Les extraits après deux heures d'incubation. ....  | 35 |
| <b>Figure II.5:</b> Structure de DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant.....  | 37 |
| <b>Figure II.6:</b> Synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait aqueux de moutarde brune (effet de la concentration d'extrait) .....                   | 41 |
| <b>Figure III.1:</b> l'extraction de moutarde par soxhlet .....  | 43 |
| <b>Figure III.2:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux .....   | 45 |
| <b>Figure III.3:</b> Concentrations en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique des trois variétés de moutarde (brune,jaune et noire). ....                   | 45 |
| <b>Figure III.4:</b> Spectre IR de l'extrait éthanolique de moutarde brune .....   | 46 |
| <b>Figure III.5:</b> Spectre UV-Visible de l'extrait éthanolique de moutarde brune .....   | 47 |
| <b>Figure III.6:</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique .....   | 48 |
| <b>Figure III.7:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....  | 48 |
| <b>Figure III.8:</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH par les trois variétés de moutarde ayant la même concentration (C=0.5mg/ml). ....                          | 49 |
| <b>Figure III.9:</b> Synthèse d'AgNPs par l'extrait éthanolique .....  | 50 |
| <b>Figure III.10:</b> Spectre d'absorption UV-Visible de l'extrait aqueux et d'AgNPs.....  | 51 |
| <b>Figure III.11:</b> Mécanisme de la réaction des d'Ag NPs. ....  | 52 |
| <b>Figure III.12:</b> Mécanisme de stabilisation d'Ag .....  | 52 |
| <b>Figure III.13:</b> Evolution de changement de couleur en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de moutarde brune (A : à t=0), (B : après 4h) ..... | 53 |
| <b>Figure III.14:</b> Déprotonation des polyphénols.....   | 54 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I.1:</b> Définitions des NPs par les différentes organisations de standardisation .....  | 4  |
| <b>Tableau I.2:</b> Réduction chimique de l'argent en solution .....  | 12 |
| <b>Tableau II.1:</b> Absorbances de la gamme de concentration de l'acide gallique. ....   | 36 |
| <b>Tableau II.2:</b> Evaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (standard de référence). ..  | 38 |
| <b>Tableau II.3:</b> préparation de AgNPs dans un milieu alcoolique (éthanol) : variation du pourcentage massique [m (extrait)/m(AgNO <sub>3</sub> )] ..... | 40 |
| <b>Tableau II.4:</b> synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait aqueux de moutarde brune (effet de la concentration d'extrait) .....             | 41 |
| <b>Tableau III.1:</b> Rendements d'extraction des trois variétés de moutarde .....  | 44 |
| <b>Tableau III.2:</b> Le changement de la couleur en fonction de temps. ....  | 53 |
| <b>Tableau III.3:</b> Effet de pH sur la formation des AgNPs .....  | 54 |
| <b>Tableau III.4:</b> Effet de la température sur la formation des AgNPs.....   | 55 |

# INTRODUCTION



---

## Introduction

La nanotechnologie est la science qui s'intéresse à la synthèse, la manipulation et l'application des matériaux ou des objets possédant des formes et des tailles contrôlées à l'échelle nanométrique [1]. Le domaine des nanotechnologies attire l'attention de la communauté scientifique de différent horizon : en médecine, énergie renouvelable et agriculture...etc. En effet, c'est l'axe de recherche le plus dynamique en sciences des matériaux qui ne cesse de s'accroître ces dernières années. L'intérêt porté aux systèmes nanométriques, provient des propriétés physiques et/ou chimiques particulières opérant à cette échelle, très différentes de celles du même matériau à l'état massif ou à l'état atomique.

Le préfixe « nano » indique un objet de taille nanométrique, il équivaut à un milliardième ou  $10^{-9}$  m. Il est largement admis que les nanoparticules sont des amas d'atomes dont la taille est comprise entre 1 et 100 nm [2].

Les nanoparticules peuvent être synthétisées par différents procédés physiques et/ou chimiques tels que :

- Procédé de dépôt physique en phase vapeur ;
- Croissance chimique (CVD) ;
- Décomposition thermique (thermolyse) ;
- Réduction chimique des sels métalliques.....etc.

Bien que ces méthodes offrent la possibilité pour la synthèse de volume élevé de nanoparticules. Cependant, l'utilisation intensive de l'énergie ( $T > 300^{\circ}\text{C}$ ), des équipements coûteux et de produits chimiques dangereux dans ces processus de synthèse a soulevé de sérieuses inquiétudes concernant les effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine.

Pour faire face à ces problèmes, les scientifiques ont concentré leurs efforts pour développer de nouvelles techniques de synthèse non toxiques, propres, fiables, biocompatibles, permettant de réduire les menaces sur la santé humaine et stopper la dégradation de l'environnement.



---

La synthèse de nanoparticules métalliques à travers la voie verte est une méthode prometteuse et écologique qui s'appuie sur l'utilisation de bactéries [3], champignons [4], plantes [5], levures... comme bioréducteurs.

EN outre sa simplicité de mise en œuvre, la synthèse verte des nanoparticules via l'utilisation des extraits de plantes devient de plus en plus un sujet d'intérêt pour les chercheurs scientifiques.

Ces méthodes vertes sont peu coûteuses, rapides, efficaces et conduisent généralement à la formation de nanoparticules cristallines avec une variété de formes (sphères, tiges, prismes, plaques, aiguilles, feuilles ou dendrites), avec des tailles comprises entre 1 et 100 nm.

Ce modeste travail a donc pour objectif l'élaboration de nanoparticules d'argent par un procédé simple, rapide et propre vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur. Les nanoparticules ont été préparées à base de l'extrait de moutarde comme bioréducteur et de AgNO<sub>3</sub>.

Ce travail est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les nanoparticules d'argent et l'agent réducteur (extrait de moutarde).

La préparation des extraits de moutarde, leur caractérisation, l'influence de différents paramètres (concentration de l'extrait, temps de contact, pH du milieu...) sur la préparation des nanoparticules d'argent, ainsi qu'une étude sur l'activité antioxydante seront détaillées dans le deuxième chapitre.

Le troisième chapitre décrit la discussion des résultats obtenus.

# **PARTIE**

# **BIBLIOGRAPHIE**



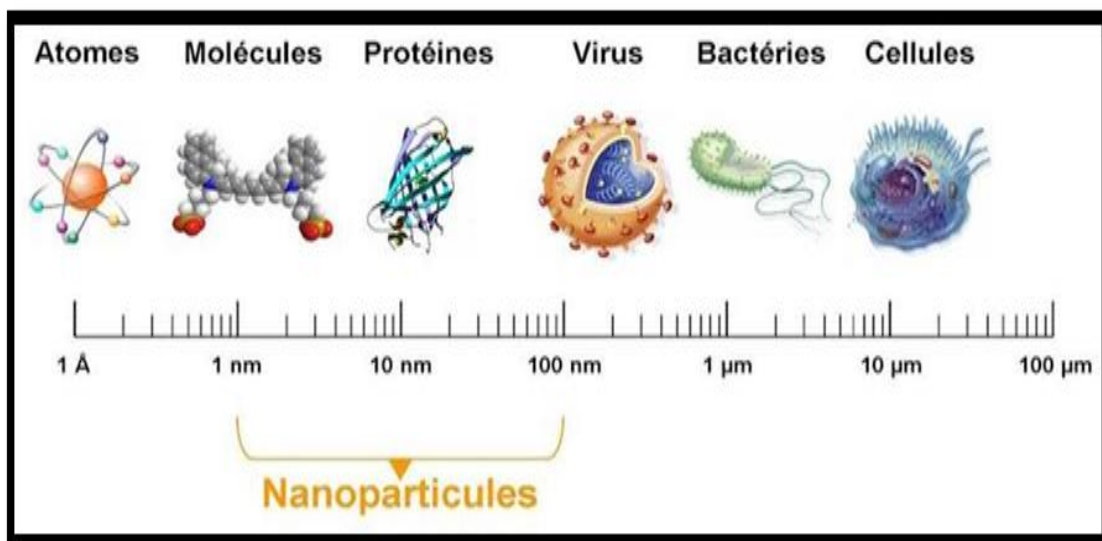
## I.1/ Les nanoparticules

### I.1.1/ Définition

Une nanoparticule peut être définie comme toute particule produite intentionnellement, dont les dimensions se situent à l'échelle nanométrique entre 1 à 100 nm. Ces particules possèdent des propriétés physico-chimiques totalement différentes de celles de leurs homologues à l'état massique.

De même, les nanoparticules peuvent être définies comme un assemblage de million d'atomes liés entre eux en formant des entités sphériques, dont le diamètre est inférieur à 100 nm.

A titre de comparaison avec les structures organiques naturelles, les nanoparticules se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines (Figure I.1).



**Figure I.1:** Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologique [6]

Les différentes définitions de nanoparticules rapportées par les organisations de standardisation sont regroupées dans le tableau suivant.

**Tableau I.1:** Définitions des NPs par les différentes organisations de standardisation [7].

| organisations de standardisation | Définition  |
|----------------------------------|---|
| ISO                              | Une particule ayant un diamètre compris entre 1 et 100 nm.  |
| ASTM                             | Des particules ultrafines dont la longueur entre deux ou trois endroits est comprise entre 1 et 100 nm.   |
| NIOSH                            | Une particule de diamètre compris entre 1 et 100 nm, ou une fibre de longueur comprise entre 1 et 100 nm  |
| SCCP                             | Au moins un côté se trouve dans la gamme nanométrique   |
| BSI et BAuA                      | Toutes les dimensions ou diamètres sont dans la gamme nanométrique  |
| EC                               | Matériau naturel, formé accidentellement contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm |

## **I.1.2/ Origine des nanoparticules**

### **I.1.2.1/Les nanoparticules naturelles**

Les nanoparticules naturelles sont toutes les particules issues des activités terrigènes (érosion), des activités volcaniques, des activités marines (aérosols de sel), et des composés organiques (transformations gaz/particules).

Les nanoparticules sont aussi observées lors des phénomènes de combustion [8].

Une fois les nanoparticules émises dans l'atmosphère, elles se transforment facilement, ce qui peut entraîner des modifications de taille et de composition.

### **I.1.2.2/Les nanoparticules artificielles**

Les nanoparticules artificielles sont fabriquées soit par fractionnement d'un matériau massif (approche descendant), soit par agglomération d'atomes (approche ascendante) elle se présente sous la forme de poudres, de gel ou de solution leur intérêt réside dans leurs taille qui leur confère des propriétés physiques et chimiques inédites

---

Les activités humaines génèrent aussi des nanoparticules : assemblage de métaux par soudure qui libère des nanoparticules, la fumée de la cigarette, les gaz d'échappement des engins à combustion, les activités culinaires (cuisson d'aliments), les activités de nettoyage, la combustion de bougies, les fumées de cheminées...Les nanoparticules peuvent aussi être présentes dans les produits cosmétiques en raison de leurs propriétés antioxydantes [9] ou comme additifs pour des peintures [10].

Elles sont issues plus particulièrement des secteurs de Transport, l'agriculture et l'industrie [11].

### I.1.2.3/ Les nanoparticules accidentelles

Elles proviennent principalement des : Feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage...etc [12].

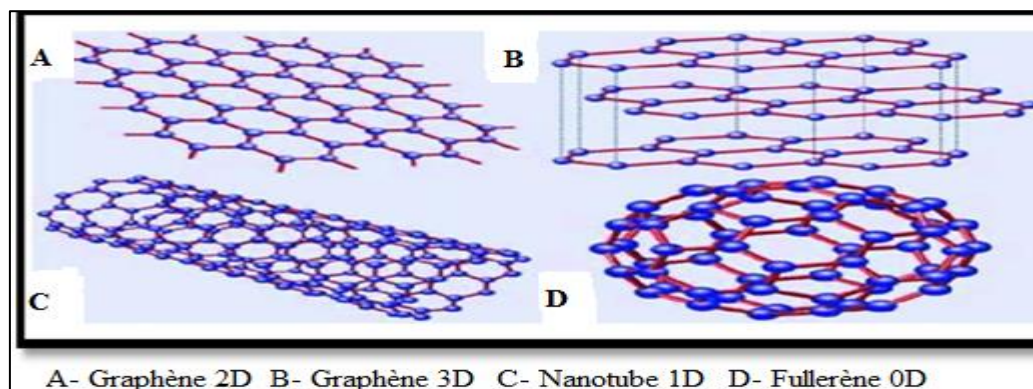
### I.1.3/ Classification des nanoparticules

La composition du cœur des nanoparticules est très variée : Il s'agit des assemblages organiques ou inorganiques [13]. Nous allons décrire dans la partie suivante les nanoparticules les plus courantes.

#### I.1.3.1/ Nanoparticules organiques

##### I.1.3.1.1/ Nanotube de carbone (CNT)

Généralement défini comme une longue structure cylindrique constituée soit par un enroulement de graphite ou graphène.



**Figure I.2:** Le carbone  $sp^2$  dans tous ses états [14].

### I.1.3.1.2/ Système micellaire/lipidique

Une micelle est le groupe de molécules qui constitue l'une des phases des colloïdes (comme une parcelle)

C'est le mécanisme par lequel le savon solubilise les molécules insolubles dans l'eau, telles que les graisses les solutions colloïdales sont riches en micelles

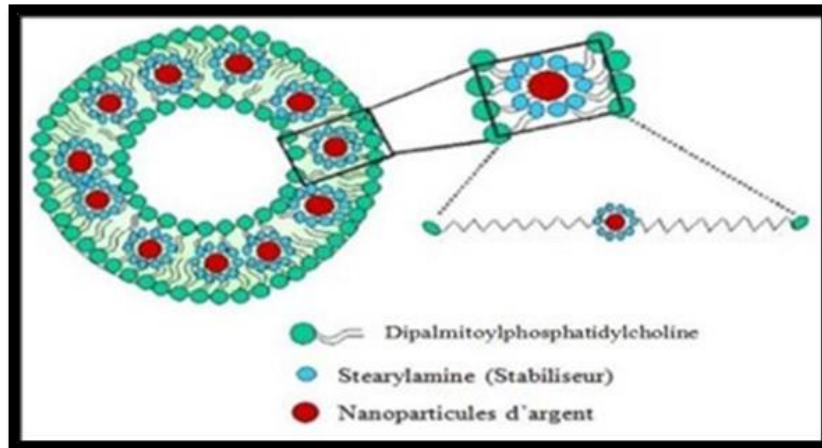


Figure I.3: liposome [15].

### I.1.3.1.3/ Nanoparticules à base de polymères

De nombreux polymères organiques sont produits dans des dimensions nanométriques. On peut citer le chlorure de polyvinyle, le polystyrène ou encore le latex. Réduits à l'échelle nanométrique, ces composés peuvent être, dans certaines conditions, solubilisés ou modifiés chimiquement. Plusieurs de ces polymères organiques sont à même d'être préparés sous forme de Nanofils [16].

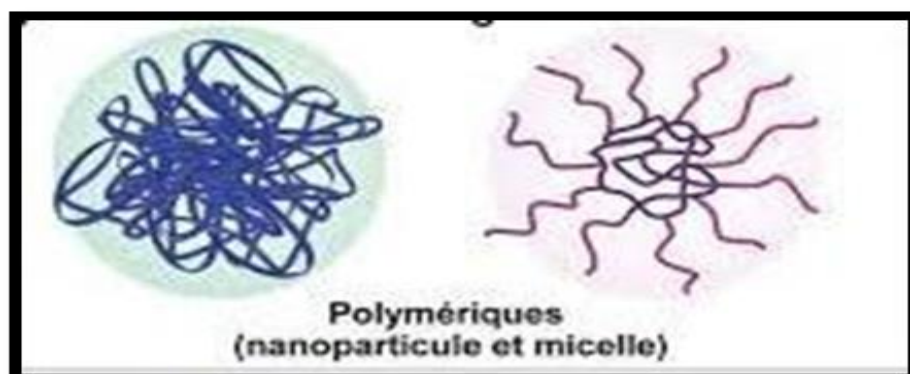


Figure I.4: Nanoparticule polymérique

---

### **I.1.3.2/ Les nanoparticules inorganiques**

Les nanoparticules inorganiques sont les plus largement étudiées depuis le début du développement des nanosciences. Les métaux peuvent être élaborés dans des dimensions nanométriques. Vu leur préparation à grande échelle et leur application dans divers domaines, les nanoparticules métalliques d'or [17, 18] ou d'argent, les nanoparticules magnétiques à base de fer, nickel et cobalt [19], les nanoparticules en silice [20] et les nano cristaux semi-conducteurs [21, 22] sont les plus étudiées et les plus citées dans la littérature.

## **I.2/ L'argent**

### **I.2.1/ Définition**

L'argent est un élément chimique métallique de symbole Ag, il est utilisé principalement dans les industries électroniques, électriques, en bijouterie et dans le domaine de la photographie [23]. Il possède des propriétés germicides et bactéricides très connues depuis l'antiquité. En effet, les grecs, les perses et les romains utilisaient déjà de la vaisselle en argent et la tradition de fabriquer des ustensiles de cuisine en plaqué argent s'est perpétuée jusqu'à nos jours [24]. Les pionniers américains auraient eu pour coutume de placer une pièce de monnaie en argent dans les bidons de lait pour en assurer la conservation [25]. En fin, l'argent est un additif alimentaire industriel sous forme de colorant utilisé notamment en confiserie, sous le code E 174 [26].

## **I.3/ Les nanoparticules d'argent**

Les nanoparticules d'argent ont reçu beaucoup d'attention de la part des chercheurs scientifiques. Cette attention particulière est traduite par le nombre élevé de travaux cités dans la littérature. En effet les nanoparticules d'argent sont impliquées dans différents domaines : en catalyse [27], en plasmonique [28], en optoélectronique [29], capteurs biologiques [30, 31], activités antimicrobiennes [32, 33], séquençage de l'ADN [34], Traitement de l'eau [35], L'énergie renouvelable [36], stockage d'informations [37] et les applications biomédicales [38].

---

### **I.3.1/ Définition**

Les nanoparticules d'argent ou nano-argent sont des molécules ayant une taille de 20- 40 nm, elles sont composées de 80% d'atome d'argent et de 20% d'ions argent [39]. Ces nanoparticules présentent des propriétés spécifiques qui dépendent de leur taille et de leur forme [40].

Les études scientifiques montrent également que l'activité catalytique est étroitement liée à la taille, structure, forme, et l'environnement chimique des nanoparticules d'argent. Le contrôle de ces paramètres est souvent réalisé en faisant varier les méthodes de synthèse, les agents réducteurs et stabilisateurs [41].

### **I.3.2/ Propriétés des nanoparticules d'argent**

#### **I.3.2.1/Propriétés physiques et chimiques**

La maîtrise de ces propriétés telles que : la taille, la forme, la charge et le revêtement de surface, sont importantes pour déterminer les interactions et les impacts biologiques des AgNPs. Les plus petites particules présentant une surface de contact importante, montrent un fort potentiel en tant que composés bioactifs [42]. Il est à signaler qu'une petite concentration d'argent ne présente aucun danger pour les cellules humaines, mais elle montre un taux de mortalité élevé vis à vis des micro-organismes pathogènes [43].



**Figure I.5:** Poudre de nano-argent



---

### **I.3.2.2/Propriétés optiques**

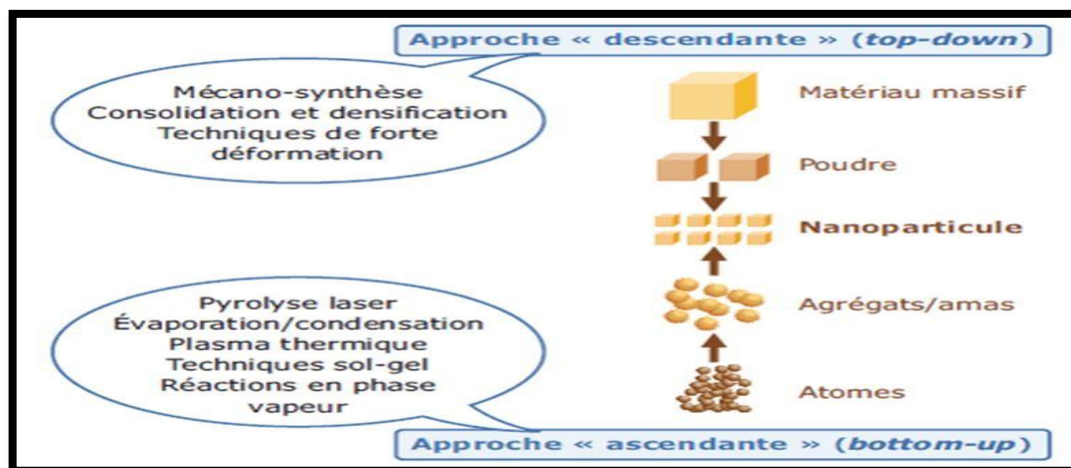
Les propriétés optiques remarquables des nanoparticules résultent de leur interaction unique avec la lumière, qui provoque l'oscillation cohérente de leurs électrons à bande de conduction libre, ou la résonance plasmonique de surface localisée (LSPR). L'oscillation des électrons libre entraîne la conversion de l'énergie des photons en énergie thermique. Ces deux mécanismes de désintégration ont été facilement utilisés dans les applications de bio diagnostic, l'imagerie et le traitement thérapeutique. La LSPR des AgNPs dépend de la taille, la forme, l'environnement diélectrique et des interactions électromagnétiques mutuelles entre les particules proches.

### **I.3.2.3/Propriétés électrochimiques**

Du fait de leurs propriétés électrochimiques, les AgNPs ont été intégrées dans des capteurs chimiques à l'échelle nanométrique en montrant des temps de réponse plus rapides et des limites de détection plus basses. En effet, Dans leur recherche Manno et al.2008 [44] ont déposé par électrolyse des AgNPs sur des plaques d'alumine et des microélectrodes en or. Ce système a montré une grande sensibilité au peroxyde d'hydrogène.

### **I.3.3/ Méthodes de synthèse de nanoparticules d'argent**

Les méthodes de synthèse des nanoparticules sont regroupées entre deux grandes approches. L'approche descendante « Top-down » ou appelée communément (méthode de haut en bas), cette méthode consiste en la diminution graduelle de la taille d'un objet à l'état massif par des moyens de réduction convenable (broyage à haute énergie....) jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques. L'approche inverse qualifiée du nom approche ascendante « bottom-up » ou du bas vers le haut, consiste à assembler des motifs atomiques ou moléculaires afin de constituer des objets nanométriques [45, 46] (FigureI.6).



**Figure I.6:** Schéma des deux grandes approches de synthèse de nanoparticules d'argent.

Les procédés actuels permettant l'élaboration de nanoparticules d'argent sont classés en deux grandes catégories :

- ✓ Elaboration par voie physique.
- ✓ Elaboration par voie chimique.

#### I.3.3.1/Méthode physique

Les méthodes physiques sont généralement rapides, n'impliquent pas de produits chimiques toxiques et forment une distribution relativement étroite de la taille des AgNPs synthétisées. Plusieurs méthodes physiques sont possibles pour la synthèse d'AgNPs. On peut citer à titre d'exemple : évaporation- condensation d'un sel métallique [47], le broyage à billes [48], l'arc décharge [49], ablation laser [50].

#### I.3.3.2/Méthode chimique

Dans une approche ascendante, la réduction chimique est la méthode la plus facile pour la synthèse des AgNPs. Cette méthode nécessite l'utilisation de trois composants indispensables : un sel précurseur, un agent réducteur et un agent stabilisant [51-52]. Divers agents réducteurs organiques et inorganiques en solutions aqueuses ou non aqueuses sont utilisés pour la réduction des ions  $\text{Ag}^+$ , par exemple, les copolymères à blocs de polyéthylène glycol, le citrate de sodium, le réactif de Tollen, l'ascorbate, le N, N-diméthylformamide (DMF) et le borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) [53-55]. L'un des plus grands avantages de cette méthode est qu'une grande quantité de nanoparticules peut être synthétisée dans un laps de temps très court.

---

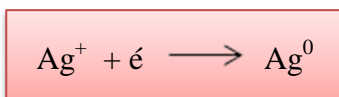
### ➤ Réduction chimique d'ion Ag<sup>+</sup>

La réduction chimique est la méthode la plus fréquemment appliquée pour la préparation des AgNPs sous forme d'argent métallique. Initialement, la réduction des ions Ag<sup>+</sup> conduit à la formation d'atomes d'argent Ag(0), suivie par une agglomération en clusters oligomériques ou oligomérique. Ces clusters conduisent finalement à la formation de particules d'argent colloïdales [56].

Des études antérieures ont montré que l'utilisation d'un réducteur fort, tel que le borohydrure, donnait lieu à de petites particules mono dispersées, mais la génération de particules plus grandes était difficile à contrôler. L'utilisation d'un agent de faible pouvoir réducteur, comme le citrate, entraîne un taux de réduction plus lent, et la distribution des tailles était loin d'être étroite [57-59].

Il est important d'utiliser des agents protecteurs pour stabiliser les nanoparticules dispersées au cours de leur préparation. La stratégie la plus courante consiste à protéger les nanoparticules avec des agents protecteurs qui peuvent être adsorbés ou se lier à la surface des nanoparticules, évitant ainsi leur agglomération [60].

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



Cette réaction de base peut s'effectuer à partir de différents sels d'argent, dans différents milieux et selon différentes méthodologies. Le choix de l'agent réducteur est également important. En effet, un bon réducteur pourrait être toxique et présente des dangers pour l'environnement et la santé humaine.

Le tableau suivant regroupe les différents travaux utilisant la réduction chimique en solution pour synthétiser des nanoparticules d'argent [61].

**Tableau I.2:** Réduction chimique de l'argent en solution [62].

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

### I.3.3.3/Synthèse verte de nanoparticules d'argent

Les méthodes conventionnelles de la synthèse de nanoparticules, sont coûteuses, toxiques et non respectueuses envers l'environnement. Pour surmonter à ces problèmes, les chercheurs sont orientés vers les voies vertes en utilisant de produits très abondants, biodégradables, non toxiques et faciles à mettre en œuvre lors de la synthèse de ces nanomatériaux.

### I.3.3.3.1/ Synthèse d'AgNPs à l'aide de bactéries (synthèse bactérienne)

Les applications industrielles telles que l'assainissement de l'environnement, la modification génétique et la biolixiviation utilisent des micro-organismes tels : les champignons, levures et bactéries [63]. Ces derniers peuvent également être utilisés dans le traitement biologique des eaux, par la diminution de la concentration des ions métalliques dans les effluents industriels, en favorisant leur agglomération sous forme de nanoparticules. Les *procaryotes* et les *actinobactéria* sont largement utilisés dans ce genre de traitement en formant des nanoparticules d'oxydes métalliques. Par conséquent l'utilisation de ces micro-organismes est très recommandée dans la récupération industrielle de l'Ag à partir de matériaux de minerai. En effet, ces cellules bactériennes accumulent des AgNPs en grandes quantités jusqu'à 200 nm [64].

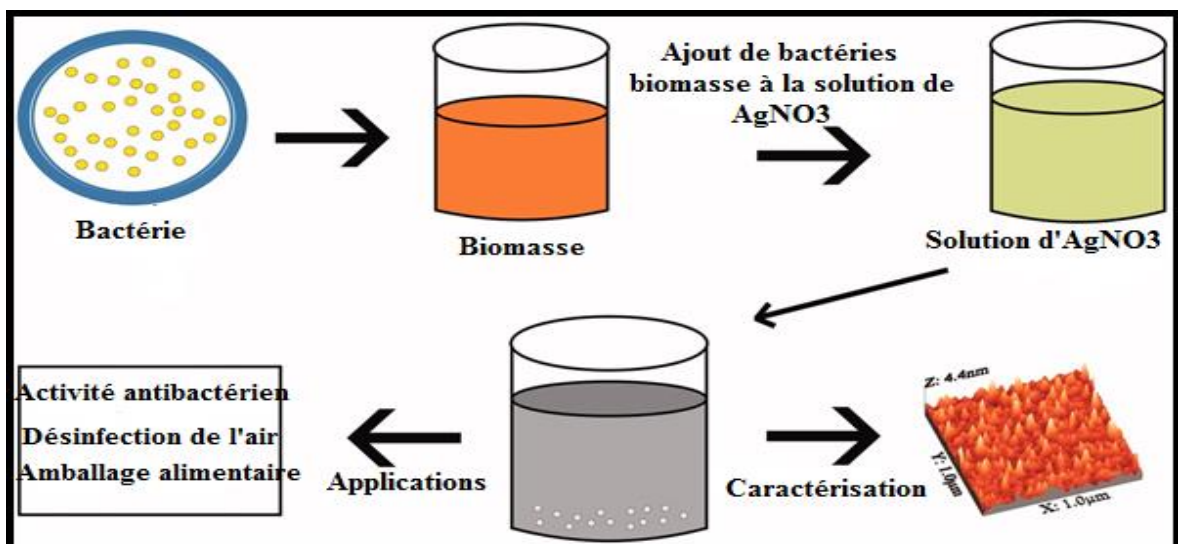
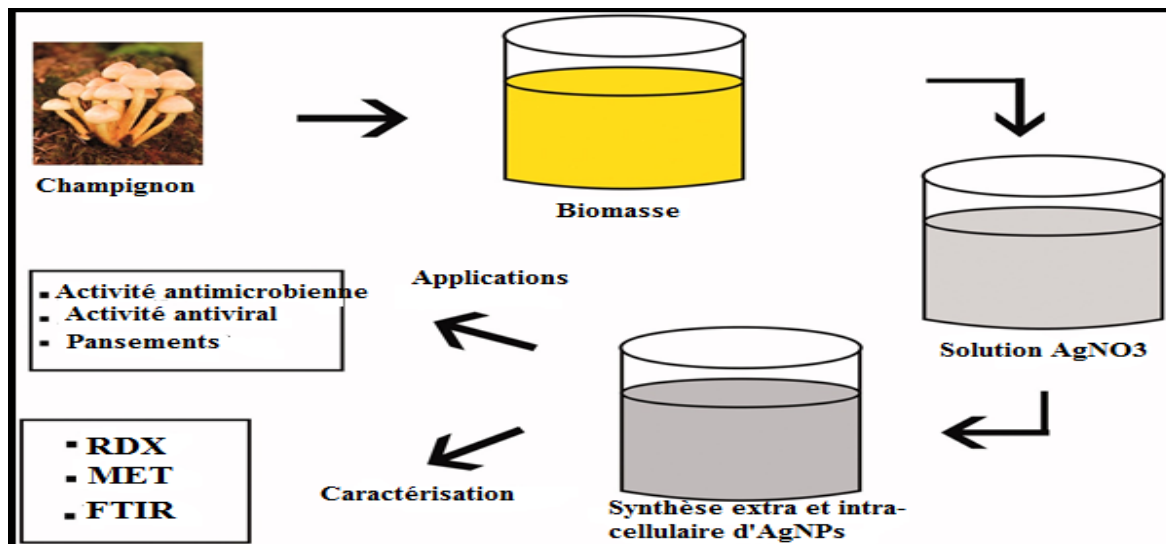


Figure I.7: Schéma de la synthèse des AgNPs en utilisant des bactéries [65].

### I.3.3.3.2/ Synthèse d'AgNPs à l'aide de champignons (synthèse fongique)

Les champignons sont largement utilisés pour la synthèse de NP métalliques en raison de leur capacité de bioaccumulation des métaux sur leur surface (adsorption extracellulaires). La présence des groupements carboxyliques dans l'enzyme sécrétée par les champignons, favorise l'adsorption et la réduction des ions métalliques sur la surface externe des cellules fongiques, incitant par la suite la formation des nanoparticules métalliques [66]. Les champignons peuvent synthétiser des quantités importantes de nanoparticules par rapport aux bactéries [67]. Une représentation schématique de la synthèse des nanoparticules d'argent est illustrée sur la **figure.I.8**.



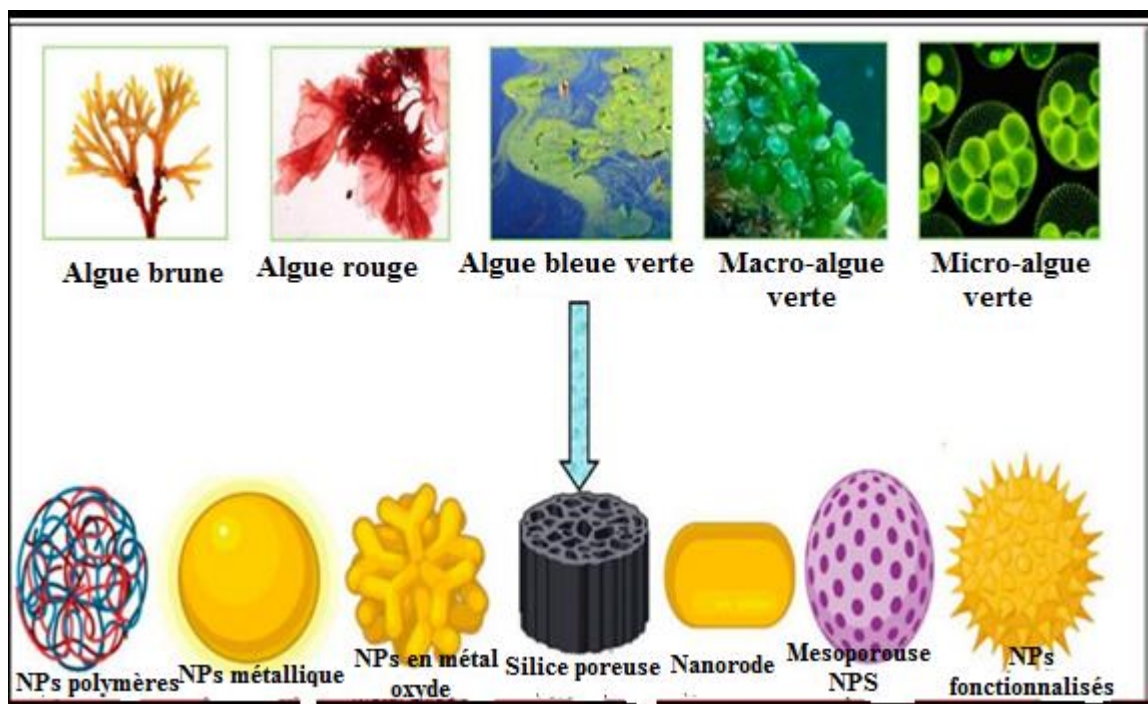
**Figure I.8:** représentation schématique sur la synthèse des nanoparticules d'argent à base de champignons [68].

#### I.3.3.3/ Synthèse d'AgNPs à l'aide de virus (synthèse virale)

Les virus sont également utilisés dans les procédures de synthèse de nanoparticules. Ce sont d'excellents précurseurs, pour produire des nano-cristaux semi-conducteurs tels que le sulfure de cadmium, le dioxyde de silicium, l'oxyde ferreux et le sulfure de zinc. Ces nanocristaux présentent un intérêt grandissant pour le secteur industriel, et notamment ils font l'objet d'études intensives dans l'industrie électronique [69].

#### I.3.3.4/ Synthèse d'AgNPs à l'aide d'algues (synthèse algale)

En raison de leur potentiel bioréducteur, les algues sont aussi utilisées pour la synthèse des nanoparticules métalliques. Dans leur étude Mata et al. 2009 [70] ont montré l'efficacité de l'extrait d'algue brune (*Fucus vesiculosus*), à réduire l'ion Au(III) en or métallique Au(0). Les protéines de l'extrait d'algue brune agissent comme agents de réduction, de stabilisation et peuvent être utilisées pour contrôler et améliorer la forme des nanoparticules [71]. *Sargassum wighti*, une algue océanique, a été également utilisée pour préparer des nanoparticules bimétalliques Au, Ag et Au/Ag extrinsèques [72].



**Figure I.9:** Synthèse de nanoparticules à base de différentes algues [73].

#### I.3.3.3.5/ Synthèse d'AgNPs à l'aide d'extraits de plantes (synthèse végétale)

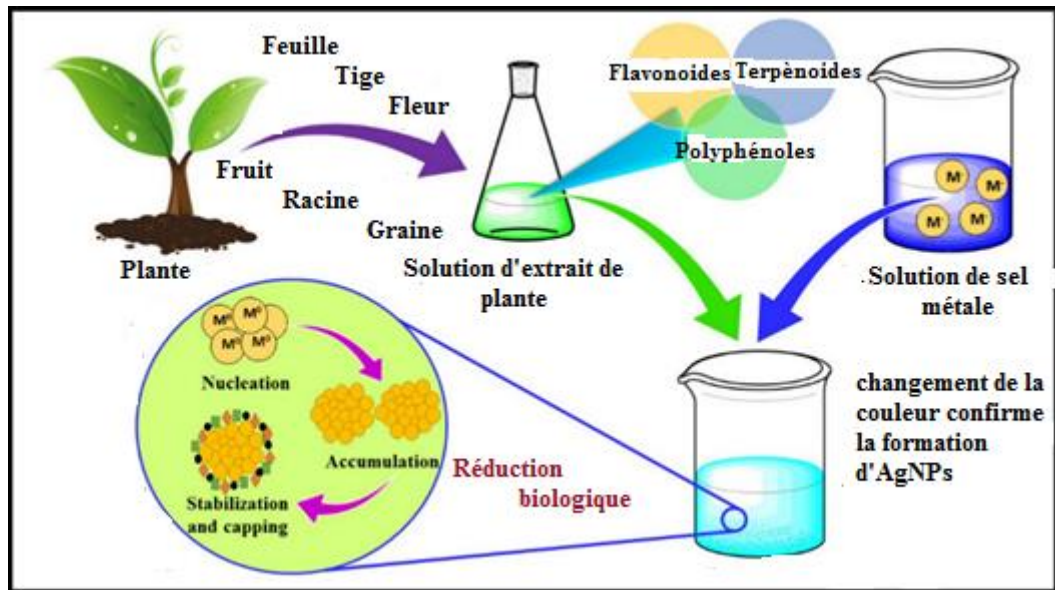
L'intérêt porté sur l'étude de ce type de synthèse, réside principalement dans sa rapidité, sa facilité de mettre en place et en plus ce procédé de préparation est sans danger vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur.

Vu leur large spectre de métabolites secondaires, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les acides aminés, les protéines et les enzymes, les plantes sont considérées comme un réservoir inépuisable d'espèces bioactives, ce qui leur qualifie d'être un choix judicieux pour l'élaboration des nanoparticules. En effet, elles pourraient améliorer la synthèse des nanoparticules, en jouant un rôle d'agent stabilisant et/ou réducteur.

Il est à signaler que le rendement et la taille des nanoparticules varie en fonction de l'espèce de la plante [74].

Les parties des plantes comme les racines, les tiges, les graines et les feuilles sont principalement utilisées pour la synthèse des NPs [75].

En général, les méthodes de synthèse verte des nanoparticules à base des extraits de plantes sont très avantageuses en termes (de rendement, de rentabilité, de stabilité...) par rapport à celles utilisant les micro-organismes (**Figure.I.10**) [90].



**Figure I.10:** schéma de la synthèse des AgNPs à base des extraits de plante [91].

### I.3.4/ Mécanisme de formation d'AgNPs (la bioréduction)

Le processus de formation des nanoparticules se déroule en trois étapes principales : Nucléation, croissance et murissement. De nombreux paramètres peuvent interférer lors de la formation des nanoparticules : température, pH, nature de l'agent réducteur, concentration et nature des réactifs utilisés [92].

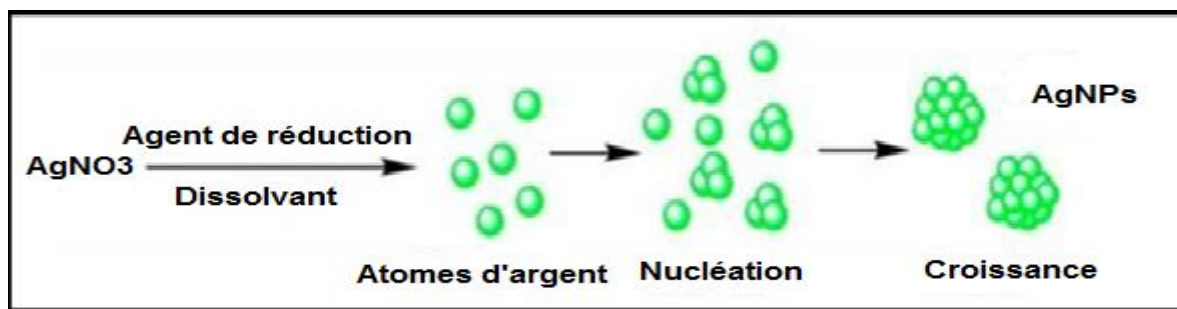
#### ❖ Nucléation

La nucléation ou germination est la naissance de nouveaux noyaux de cristaux, soit spontanément, soit à partir de la solution (nucléation primaire) ou en présence de cristaux de nucléation existants (nucléation secondaire).

C'est une étape d'activation au cours de laquelle se produit la réduction des ions métalliques et la nucléation des atomes métalliques réduits

Les précurseurs métalliques sont dissous puis réduits pour donner des atomes métalliques de valence zéro. La sursaturation élevée en atomes insolubles conduit à la formation de petits agrégats par collision. Cette seconde étape est appelée la nucléation : elle correspond à la formation localisée d'une nouvelle phase solide thermodynamiquement stable au sein d'une phase liquide. La formation de nucléi entraîne après un certain temps, une diminution de la sursaturation. Par conséquent le taux de nucléation diminue et le nombre de particules dans le système devient constant [93].





**Figure I.11:** Représentation schématique du mécanisme de formation de nanoparticules.

#### ❖ La croissance

Les nucléés ayant un rayon critique vont pouvoir croître par consommation des monomères se trouvant en solution. Cette étape de croissance est thermodynamiquement favorisée. Plus la concentration en atomes est importante plus les particules vont croître rapidement [94].

#### ❖ Le murissement

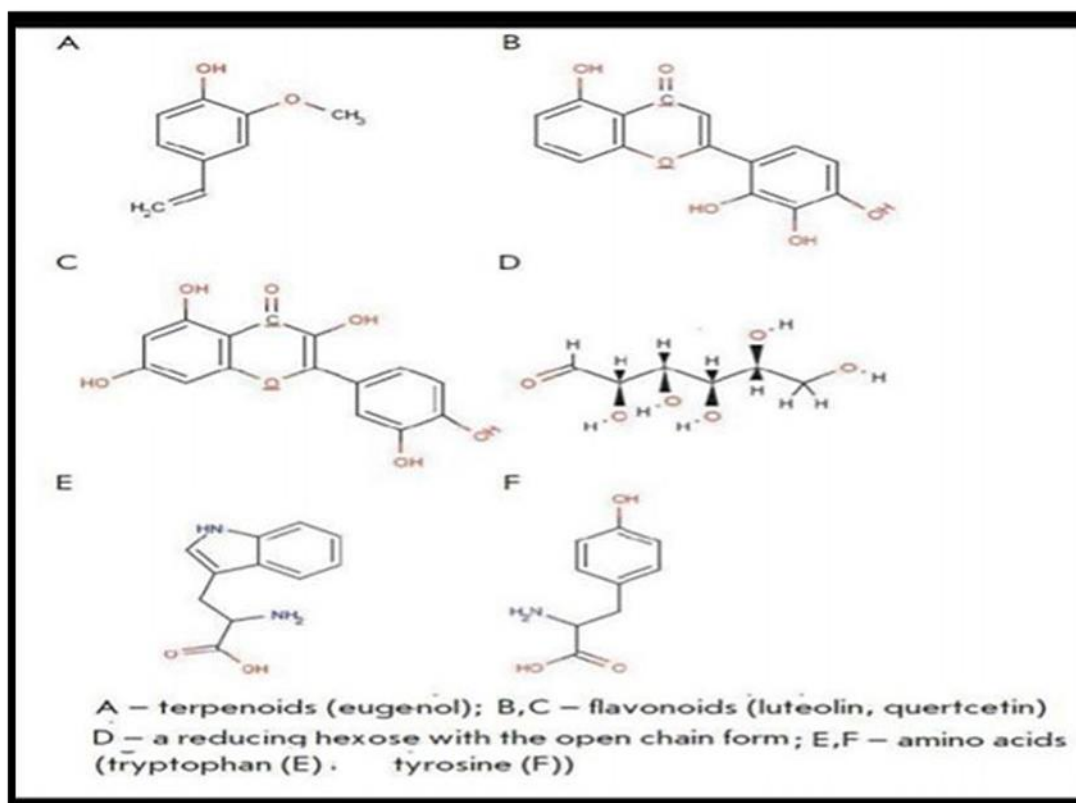
Au fur et à mesure que la réaction se produit, le taux de sursaturation continue à diminuer. La croissance ne peut plus se poursuivre, et une dernière étape peut intervenir : c'est le phénomène de murissement d'Oswald. Il s'agit de l'inter diffusion des atomes des plus petites particules vers les plus grosses [95].

### I.3.5/ Les molécules responsables de la bioréduction

La synthèse d'un AgNPs par des entités biologiques est due à la présence d'un grand nombre de produits chimiques organiques comme les glucides, les graisses, les protéines, les enzymes et les coenzymes, les bactéries, les champignons, les extraits de plantes, les biopolymères, etc... L'ingrédient actif de la réduction des ions Ag<sup>+</sup> varie en fonction de l'organisme/extrait utilisé

Dans le cas des plantes, les études montrent que les polyphénols, les terpénoïdes, les alcaloïdes, les sucres, les protéines et les polyphénols jouent un rôle important dans la bioréduction des ions métalliques. [96].

La figure suivante illustre les principaux types de composés présents dans les plantes, qui sont capables de réduire les ions métalliques [97].

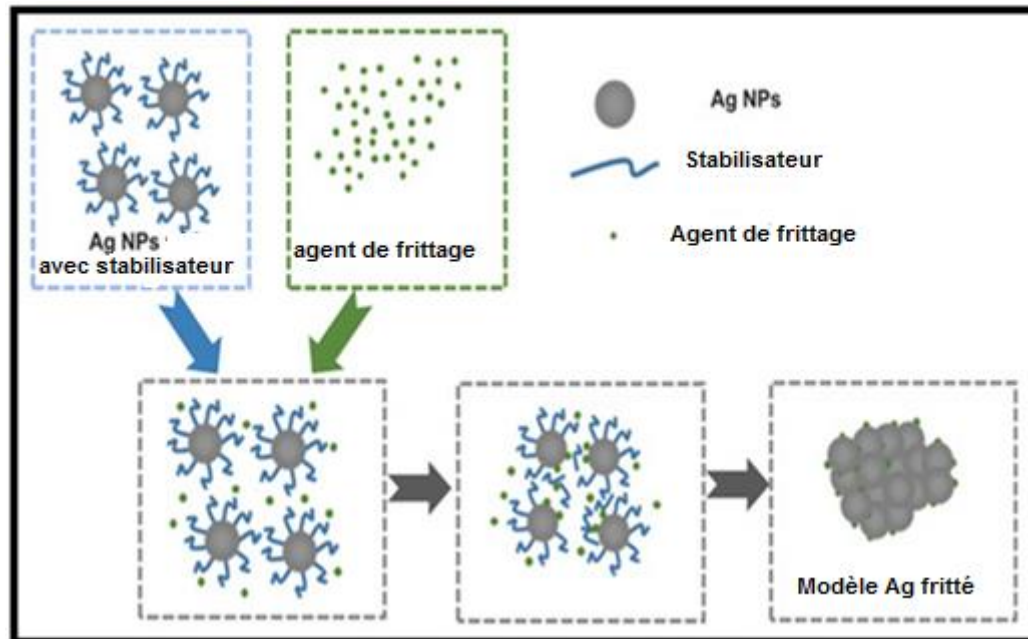


**Figure I.12:** principaux bioréducteurs présents dans les plantes.

### I.3.6/ Stabilisation des nanoparticules d'argent

La stabilisation des nanoparticules est habituellement discutée en termes de deux catégories générales de stabilisation, électrostatique et stérique. La stabilisation électrostatique est obtenue par la coordination d'espèces anioniques, telles que les halogénures, les carboxylates ou les polyoxoanions, aux particules métalliques. Cela entraîne la formation d'une double couche électrique, qui provoque une répulsion coulombienne entre les nanoparticules. La stabilisation stérique est obtenue par la présence de matériaux volumineux, typiquement organiques, qui, en raison de leur volume, empêchent les nanoparticules de se diffuser ensemble. Les polymères et les grands cations tels que les alkylammoniums sont des exemples de stabilisateurs stériques.

Le choix du stabilisateur permet également d'ajuster la solubilité des nanoparticules [98-90].



**Figure I.13:** stabilisation de nanoparticules d'argent.

### I.3.7/ Facteurs Influençant sur la formation de NPs

Les principaux paramètres physiques et chimiques affectant la synthèse d'AgNPs sont : la température de réaction, la concentration relative de l'extrait et du sel métallique, la nature de l'extrait végétal, le pH du mélange réactionnel, le temps de réaction, et le temps d'agitation. Ces paramètres influencent grandement la taille, la forme et la morphologie de l'AgNPs [91].

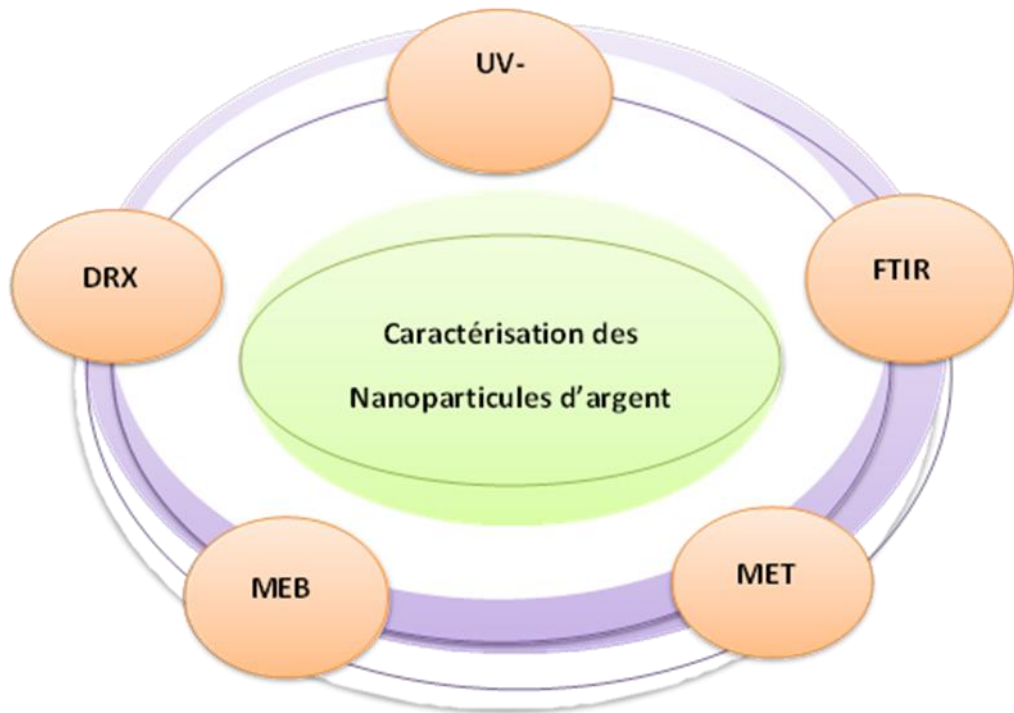
Certains auteurs ont rapporté dans leurs études que la préparation en milieu basique, montre un taux de croissance rapide et un bon rendement des nanoparticules d'argent [92-98].

La toxicité est un facteur important à prendre en compte lors de l'utilisation des nanoparticules à des fins biomédicales. En effet, les nanoparticules métalliques se sont avérées dangereuses pour la santé des êtres humains. La toxicité des nanoparticules métalliques est régie par leur taille et leur charge superficielle [99].

### I.3.8/ Méthode de caractérisation

De nombreuses techniques peuvent être utilisées pour caractériser les nanoparticules d'argent. Ces techniques apportent des informations sur la taille, la morphologie, la cristallinité, la charge et la composition chimique des NPs.

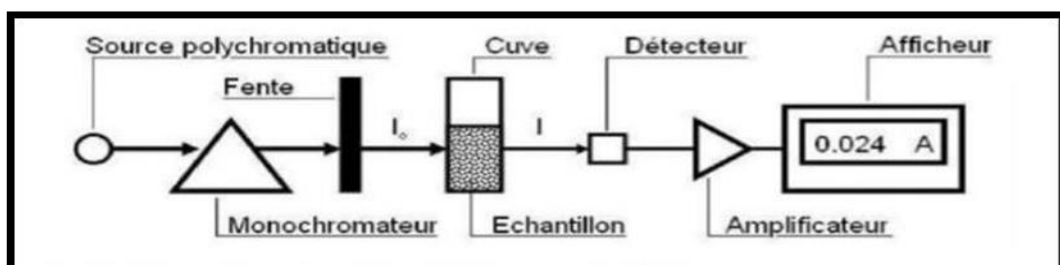
Les techniques les plus utilisées comprennent généralement la spectroscopie UV-Visible, microscopie électronique à balayage (MEB), microscopie électronique à transition (MET), la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).



**Figure I.14:** Techniques de caractérisation des nanoparticules

### I.3.8.1/La spectroscopie UV-visible

La spectroscopie d'adsorption dans l'ultraviolet et le visible (UV-VIS) est une technique très utilisée dans les laboratoires d'analyse. L'utilisation de cette technique dans la caractérisation des NPs, permet de donner des informations générales sur le taux de réduction et la distribution de taille des ions métalliques formées [100].



**Figure I.15:** Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible.

---

### **I.3.8.2/La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier**

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour confirmer l'interaction entre l'argent et les bio-réducteurs. La réaction entre les nanoparticules d'argent et les biomolécules peut être identifiée par le déplacement des bandes caractéristiques attribuées aux différents groupes fonctionnels présents dans les biomolécules, comme les groupements carbonyles, hydroxyles et amines [101].

Lorsque le rayonnement infrarouge traverse l'échantillon, une partie de ce rayonnement est absorbé par l'échantillon et le reste est transmis. Le spectre résultant signifie l'absorption et/ou la transmission en créant une empreinte moléculaire d'échantillon qui représente son identité [102].

### **I.3.8.3/La diffraction des rayons X (DRX)**

La diffraction de rayons X, est une technique de caractérisation non destructive, elle permet l'identification des structures cristallographiques et la détermination de la taille des cristallites au sein d'un solide.

Les diffractogrammes obtenus sont comparés avec ceux des matériaux de référence. Les positions et les intensités des raies observées sont comparées à celles données par des fiches références JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

### **I.3.8.4/Microscopie à balayage électronique (MEB)**

C'est une technique couramment utilisée, sa résolution reste assez bonne, elle varie entre 1 à 7 nm. Outre l'observation de la microstructure, elle permet d'identifier la composition chimique à l'échelle locale et même globale de l'échantillon, via l'analyseur EDX, incorporé dans l'appareil [103].

### **I.3.8.5/Caractérisation structurelle des nanoparticules métalliques par Microscopie électronique à transmission (MET)**

La (MET) est un outil fondamental pour l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique. Utilisée en mode conventionnel, elle permet de déterminer la morphologie, la taille, la polydispersité et la cristallinité des nanoparticules synthétisées. C'est une technique très performante, dont la résolution est bien meilleure que celle du MEB, elle se situe entre 0,1 et 1 nm. Cependant sa manipulation reste délicate [104].

### I.3.9/ Applications des nanoparticules d'argent

En raison de leurs propriétés antimicrobiennes, les nanoparticules d'argent sont utilisées dans divers produits. Les applications typiques de ces nanoparticules comprennent les doublures de vêtements et de combinaisons chirurgicales, les appareils médicaux, la conservation des aliments, les cosmétiques, les crèmes solaires, les lessives pour les vêtements [105], les pansements et les bandages [106], les filtres pour le traitement des eaux [107], les capteurs chimiques [108] et les produits pharmaceutiques [109].

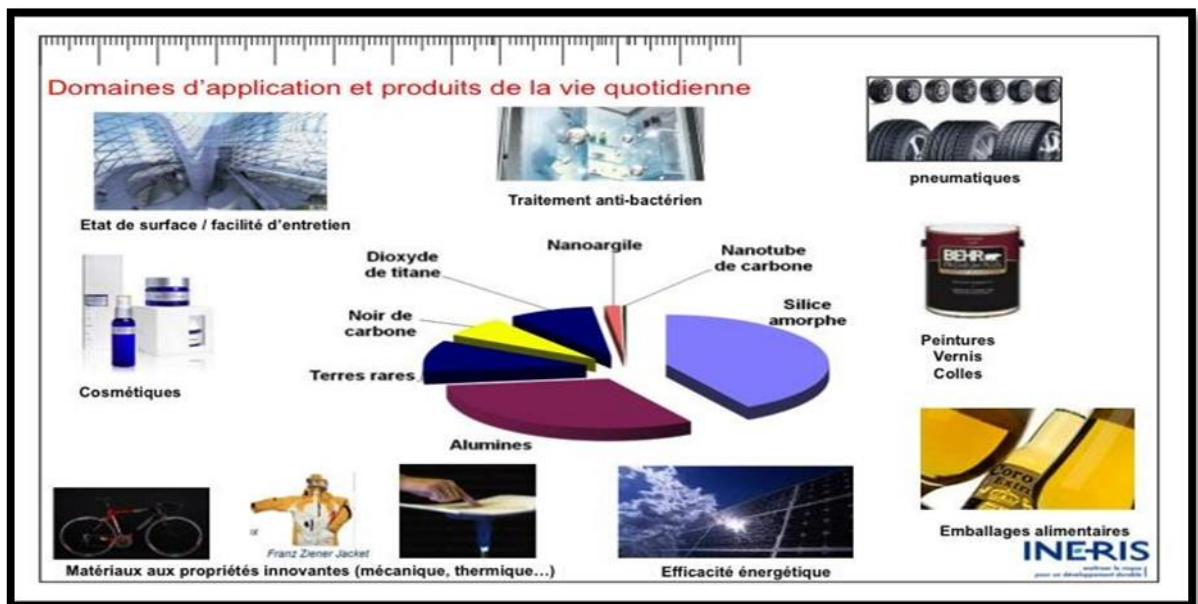


Figure I.16: diverses applications des AgNPs.

### I.3.10/ Activités biologiques de nanoparticules d'argent

#### I.3.10.1/Activité antimicrobienne

Les nanoparticules d'argent sont utilisées comme additif antimicrobien dans les ciments osseux : poly méthacrylate diméthyle (**PMMA**) [110]. Elles sont aussi utilisées en tant qu'agents antimicrobiens dans les pansements pour empêcher les infections de blessure [111]. L'argent imprégné dans les dispositifs implantables, et les masques chirurgicaux indiquent une efficacité antimicrobienne importante [112].

---

#### **I.3.10.1.1/ Activité antibactérienne**

Les nanoparticules des métaux nobles, et en particulier celles de l'argent sont largement utilisées en tant qu'agents antibactériens [113]. En effet, il a été démontré que les nanoparticules d'argent, inhibent la croissance des souches comprenant à la fois les Gram négatif et les Gram positif y compris, *l'Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis* et *Bacillus subtilis* [114]. Ces propriétés antibactériennes des AgNPs, leur permettent de jouer un rôle prépondérant dans les stations d'épuration des eaux usées [115].

#### **I.3.10.1.2/ Activité antivirale**

Les nanoparticules ont un fort potentiel antiviral en raison de leurs interactions multiples avec la glycoprotéine réceptrice et / ou enveloppe virale, ils peuvent inhiber la multiplication

Virale à l'intérieur de la cellule hôte en empêchant la réplication ou en bloquant l'entrée de particules virales à l'intérieur de la cellule hôte [116].

#### **I.3.10.1.3/ Activité antifongique**

Les AgNPs ont une forte activité antifongique contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *candida krusei* et *Trichophyton mentagrophytes* [117] par l'inhibition de la germination des conidies [118].

#### **I.3.10.2/Activité anti-cancéreuse**

Les AgNPs peuvent être considérés comme un outil prometteur dans la prévention contre divers types de cellules cancéreuses : carcinome hépatocellulaire, cancer du poumon et de sein, et le carcinome cervical, en raison de leur meilleure pénétration dans ces cellules, leurs propriétés anti-angiogénèse et antiproliférative, ainsi que les AgNPs peuvent être utilisées comme de biomarqueurs dans le corps humain [119].

---

## I.4/ Présentation des graines de moutarde blanche, noire et brune

Les graines de moutarde existent depuis l'antiquité, elles sont cultivées par les chinois il y a plus de 3000 ans [120]. Du fait de leurs vertus thérapeutiques, digestives et antiseptiques, les graines de moutarde sont généralement utilisées dans la médecine traditionnelle pour guérir et soigner plusieurs maladies.

### I.4.1/ Classification

La classification de la plante de moutarde est mentionnée dans le Tableau I.3

**Tableau I.3** : Classification des plantes de moutarde [121].

|                    |  |
|--------------------|--|
| Embranchement      | <i>Spermaphytes</i>  |
| Sous-Embranchement | <i>Angiospermes</i>  |
| Classe             | <i>Dicotylpétales</i>                                      |
| Sous-Classe        | <i>Dialypétales</i>  |
| Ordre              | <i>Cepparales</i>  |
| Famille            | <i>Brassicaceae (Crucifères)</i>                           |
| Genre              | <i>Brassicae</i>   |
| Espèce             | <i>Sinapis alba/ Brassicae nigra/<br/>Brassicae juncea</i> |

### I.4.2/ Nomenclature

**Français** : moutarde-;

**Anglais** : musard-;

**Arabe** : kherdel, ouerdel-;

**Italien** : mostarda.

### I.4.3/ Description botanique

La moutarde est une plante herbacée annuelle de la famille des Brassicacées (Crucifères). Elle possède de longues tiges ramifiées mesurant entre 1 et 2 mètres et des fleurs jaunes regroupées. La moutarde pousse facilement dans les climats tempérés et se multiplie rapidement. Elle résiste toutefois à la sécheresse, à la chaleur et au froid.



---

Toutefois, elle préfère les terrains riches en calcaires, humides et les zones ensoleillées. Certaines variétés sont cultivées comme légumes-feuilles et d'autres pour leurs graines. Les semis sont plantés en pleine terre entre fin mars et mi-mai et récoltés vers fin juillet ou en août. Lors de la récolte, les gousses sont séchées avant que les graines soient récupérées et transformées. Pour éviter un appauvrissement du sol, la culture de la moutarde est alternée avec celle de céréales.

#### **I.4.4/ Variétés de moutardes**

Il existe plus de 40 types de moutarde dont les plus connus sont :

##### **I.4.4.1/La moutarde blanche (*Sinapis alba*)**

Cette espèce est originaire d'Afrique du Nord, d'Europe et d'Asie occidentale (Proche-Orient). C'est une plante herbacée annuelle de 50 à 80 cm de haut, à tiges assez ramifiées. La croissance de cette espèce est très rapide, elle peut arriver à maturité en à peine un mois.

- **Les feuilles** sont profondément divisées, sauf celles de la partie supérieure des tiges, à lobes plus ou moins arrondis.
- **Les fleurs**, à pétales jaunes, parfois blancs, s'épanouissent tout l'été, de mai à septembre en répandant un doux parfum.
- **Le fruit** est une silique bosselée, hérissée de poils, renfermant 4 à 8 graines. Le bec est nettement aplati en lame de sabre et est un peu plus long que les valves (à la différence de *Sinapis arvensis* au bec plus court). À maturité, les graines font de 1 à 2 mm et sont de couleur blanc-jaunâtre, beige.



**Figure I.17:** Moutarde blanche (fleurs et feuilles).

---

#### I.4.4.2/La moutarde noire (*Brassicae nigra*)

La moutarde noire est une plante herbacée annuelle. Elle possède une tige dressée d'environ 1 m à rameaux étalés.

- **Les feuilles** sont toutes pétiolées, les inférieures lyrées (avec un lobe terminal beaucoup plus grand que les autres), glauques, à marge denticulée ou dentée, les supérieures lancéolées, entières ou un peu denté.
- **L'inflorescence** est une grappe, la fleur est régulière et hermaphrodite. Le racème (grappe) porte des fleurs assez grandes, jaunes, de 10-12 mm, à pédicelle court, appliqué contre l'axe, odorant.
- **La floraison** s'étale du mois d'avril au mois d'octobre.
- **Le fruit** est une silique, appliquée contre l'axe, linéaire (1-2,5 cm × 2-3 mm), sessile, glabre, un peu bosselée, à bec grêle de 4 à 5 fois plus court que les valves.



**Figure I.18:** Moutarde noire (fleurs et feuilles).

#### I.4.4.3/La moutarde brune (*Brassicae juncea*)

De la famille des Brassicacées, elle résulterait d'une hybridation naturelle entre Moutarde noire (*Brassica nigra*) et un Chou (*Brassica rapa*).

La Moutarde orientale est une plante annuelle de 40 cm de hauteur mais pouvant être vigoureuse et dépasser 1,5 m de haut à la floraison. Son port est étalé ou érigé suivant les variétés. Elle possède des racines tubéreuses, ressemblant à celles du Panais.

- **Les feuilles** alternes sont entières, ovales et dentées.
- **Les inflorescences** sont des grappes simples, terminales portant des fleurs jaune clair, à l'extrémité d'un long pédoncule. Ses graines brunes sphériques sont contenues dans des siliques de 5-6 cm de long.

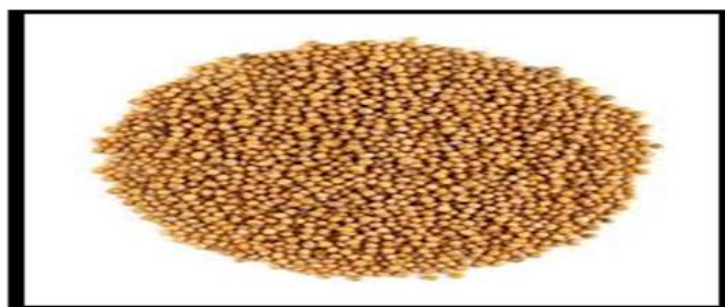


**Figure I.19:** Moutarde brune (fleurs et feuilles).

#### **I.4.5/ Description des graines de moutarde (blanches, noires et brunes)**

##### **I.4.5.1/Graines de moutarde blanche**

La moutarde blanche produit de grosses graines jaunes pâles, au goût amer et moins piquant que celui des graines de la moutarde noire ou brune.



**Figure I.20:** Graine de moutarde blanche (*Sinapis alba*).

##### **I.4.5.2/Graines de moutarde noire**

Des graines rondes globuleuses de saveur riche et piquante. Le poids de la graine varie de l'ordre de 2.6 à 3.1 mg selon les récoltes.



**Figure I.21:** Graines de moutarde noire (*Brassicae nigra*).

#### I.4.5.3/Graines de moutarde brune

Les graines de moutarde brune, sont un peu plus petites que les graines de moutarde blanches, Ces petites graines dont la couleur va du brun rougeâtre au violet foncé ont une saveur plus piquante, légèrement poivrée.



**Figure I.22:** Graines de moutarde brune (*Brassicae juncea*).

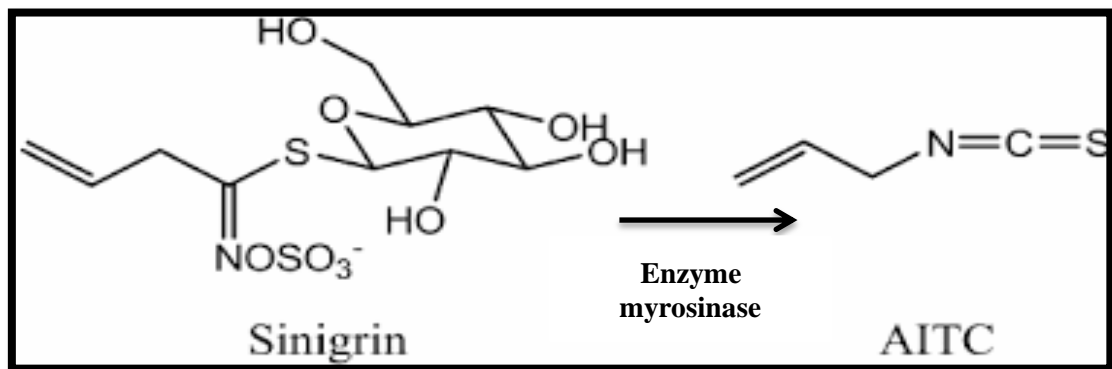
#### I.4.6/ Composition chimique de la moutarde

Les graines de moutarde contiennent des protéines, des glucides, des fibres alimentaires et des matières grasses (acide érucique, oléique, linoléique). De plus, ils contiennent des vitamines (telles que les vitamines B9 (folates), vitamines B2, B6, A, C, E et K) et divers oligo-éléments (tels que manganèse, calcium, magnésium, potassium, soufre, phosphore, fer et cuivre). Elle s'avère aussi être une bonne source de sélénium [122-123].

Comme toutes les Brassicacées, la moutarde contient un **glucosinolate**. Lors du broyage des graines en milieu aqueux (eau, vinaigre, vin), de la rupture des compartiments cellulaires résulte la **sinigrine**. L'hydrolyse de la **sinigrine** par voie enzymatique (**myrosinase**) libère de l'**isothiocyanate d'allyle** ou (**allyl sénévol**).

L'isothiocyanate d'allyle (AITC) ou essence de moutarde, est un composé organo-sulfuré de formule semi-développée  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{NCS}$ . Cette huile incolore, volatile, irritante, à forte odeur caractéristique, est la responsable du goût piquant et l'arôme de la moutarde.

Elle est peu soluble dans l'eau mais elle est très soluble dans la plupart des solvants organiques.



**Figure I.23:** La réaction de formation de L'isothiocyanate d'allyle (AITC).

#### I.4.7/ Propriétés et utilisation de la moutarde

##### ✓ Propriétés anticancérigène :

Des recherches, publiées ont confirmé que l'effet antiprolifératif et préventif de la moutarde sur les cellules tumorales est étroitement lié à ses composants bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les glucosinolate et leurs produits de décomposition, en particulier les glucosinolate tels que la sinigrine et son produit de dégradation, l'isothiocyanate allylique, le sulforaphane et l'indole-3-méthanol. Il a été démontré que la sinigrine inhibe de manière significative la prolifération des cellules cancéreuses du foie [124]. De plus, il a été rapporté que l'extrait aqueux de moutarde avait un effet inhibiteur significatif sur les cellules cancéreuses [125,126].

##### ✓ Les graines de moutarde et la fonction thyroïdienne :

Le sélénium se trouve en grande quantité dans la moutarde, il peut améliorer la résistance des os et renforcé également les dents, les cheveux et les ongles. De plus, ce nutriment essentiel est un puissant antioxydant, qui débarrasse le corps des radicaux libres. Une cuillère à soupe de moutarde contient 21 % de l'apport en sélénium recommandé par jour. Le sélénium est également responsable de la stimulation des hormones thyroïdiennes [127].

---

✓ **Propriétés antibactériennes :**

Les propriétés antibactériennes des graines de moutarde sont déjà connues pour guérir les lésions causées par la teigne. L'application de graines de moutarde sur une peau propre contribue à apaiser les symptômes associés à la teigne [128].

**I.4.8/ L'huile de Moutarde**

L'huile végétale de moutarde présente les mêmes caractéristiques organoleptiques que le célèbre condiment. En effet, son odeur est à la fois piquante et propre à la moutarde, avec une note qui monte au nez. L'huile végétale de moutarde renferme des acides gras et des composants insaponifiables. Au niveau des acides gras, on remarque une forte teneur en acides gras mono-insaturés, ce sont les composés responsables des effets chauffants et de l'odeur piquante de l'huile.

Cette huile stimule la circulation sanguine. Cet effet, est associé à sa propriété chauffante, qui permet notamment de résoudre les problèmes de l'appareil locomoteur et soigne diverses maladies rhumatismales [129].

# MATERIEL ET METHODES



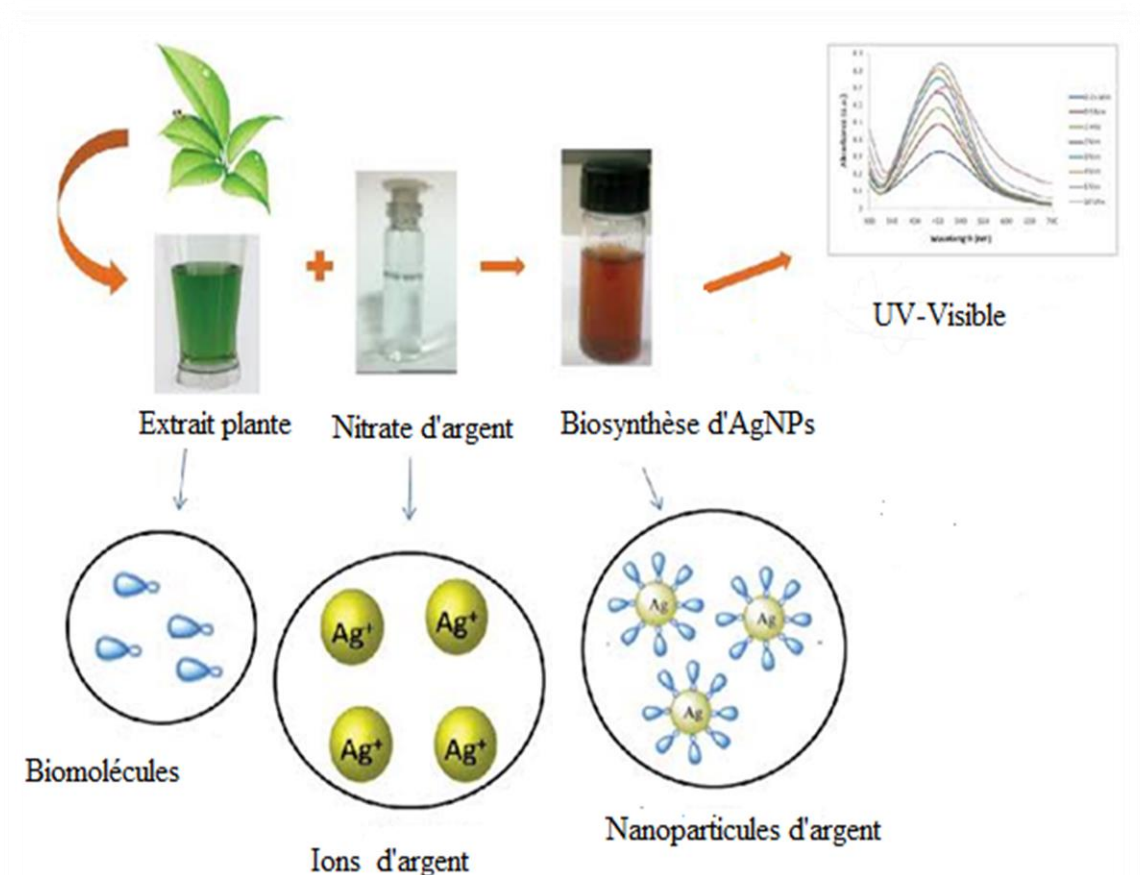
## Introduction

Nous décrivons dans cette partie une méthode de préparation simple, rapide et moins coûteuse qui conduit à la formation des nanoparticules d'argent (synthèse verte). Notre choix s'est porté sur l'utilisation de l'extrait de graine de moutarde comme agent stabilisant et réducteur à la fois. L'ensemble de description de matériels, produits, méthodes et techniques d'analyses utilisés au cours de la synthèse et la caractérisation des nanoparticules sont aussi détaillés dans cette partie.

### II.1/ Matériels et méthodes

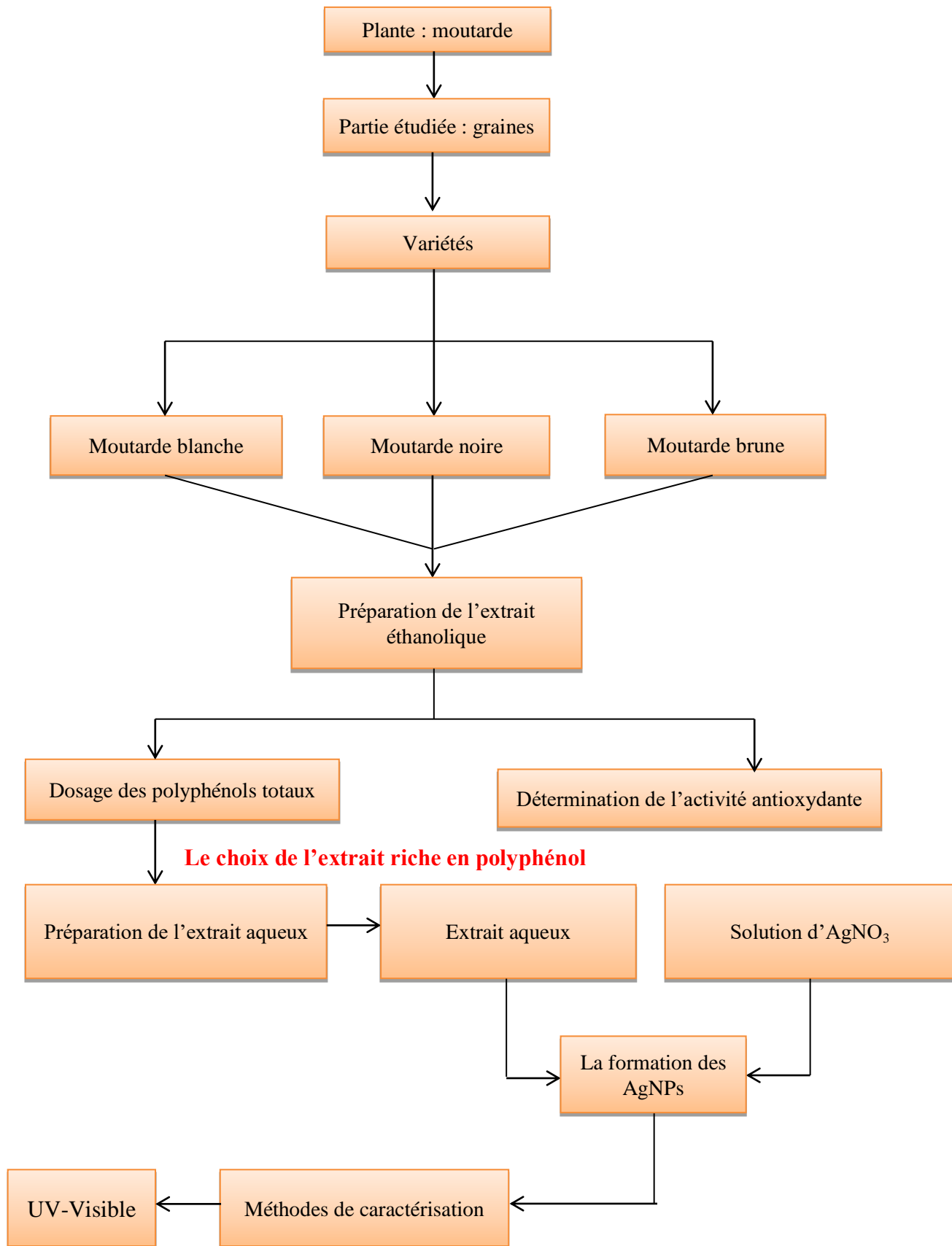
#### II.1.1/ Méthodologie

Le protocole de synthèse verte des nanoparticules d'argent est illustré sur le schéma suivant



**Figure II.1:** schéma représentatif du protocole de synthèse des nanoparticules d'argent. L'organigramme suivant récapitule les étapes de synthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait de moutarde.





**Figure II.2:** Organigramme représentant les étapes de synthèse des AgNPs

---

### II.1.1.1/Préparation de trois extraits éthanoliques de moutarde

L'objectif de cette manipulation est d'extraire les métabolites secondaires présents dans des structures vacuolaires par rupture du tissu végétal. Ces métabolites sont extraits à l'aide du Soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant.

- **Principe de soxhlet**

Un extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique, qui permet de faire l'extraction successive par solvant, des espèces chimiques contenue dans une poudre solide.

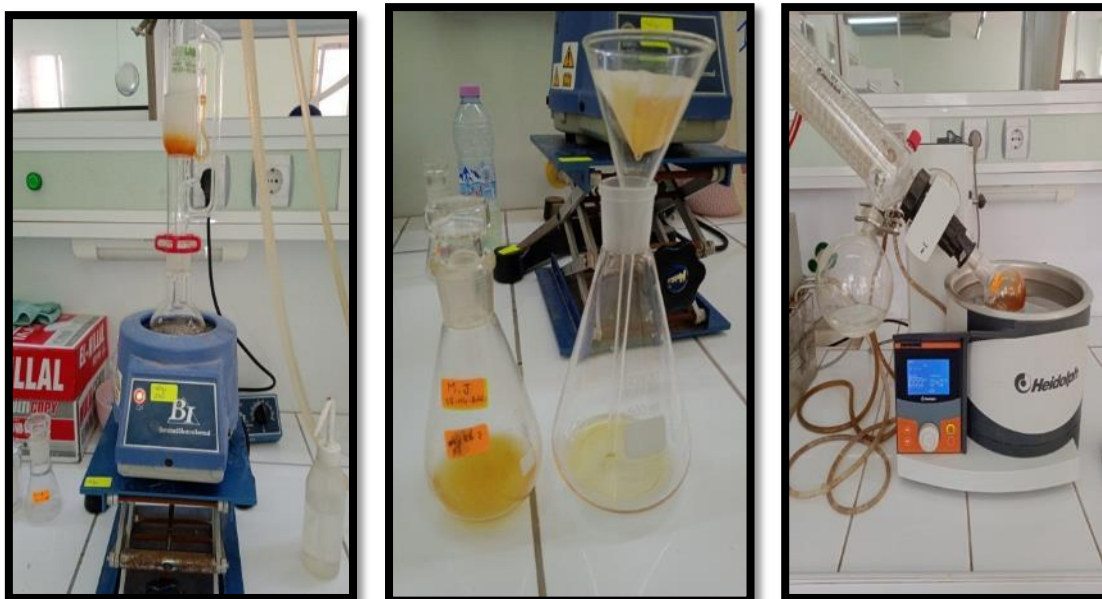
Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Les vapeurs de solvant traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau de réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. Puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation-condensation (siphonage).

Ce cycle se répète plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit se diffuse dans le solvant [130].

Les extraits éthanoliques des trois espèces de moutardes, ont été préparés à partir d'une méthode d'extraction (solide/liquide), en utilisant le Soxhlet.

Une masse de 22.2 grammes de moutarde initialement broyée, est introduite dans une cartouche en cellulose placée dans le Soxhlet, surmonté d'un réfrigérant, le tout est porté sur un ballon contenant 120ml de solvant d'extraction (éthanol) et quelques grains de pierre ponce. La température de chauffage est fixée à 60°C, afin d'éviter la dégradation des substances organiques thermiquement instables. Le procédé d'extraction est arrêté après plusieurs cycle de lavage (deux heures à peu près), c'est-à-dire lorsque la solution de retour au bécher devient claire. À ce moment-là on peut confirmer que les graines de moutarde sont totalement épuisées de leurs substances solubles dans le solvant extracteur.

Le mélange est ensuite filtré en utilisant du papier filtre pour obtenir des solutions homogènes. L'éthanol est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Ensuite l'extrait obtenu est conservé sous une température ( $T=4^{\circ}\text{C}$ ), dans un petit flacon en verre brun jusqu'à son utilisation.



**Figure II.3:** Les étapes de l'extraction des graines de moutarde.

#### II.1.1.2/Rendement de l'extraction

Le rendement désigne le rapport de la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant sur la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Il est déterminé selon Owen et Johns (1999) [131] par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{extrait}} / M_{\text{graines}}) \times 100$$

- **R** : le rendement en % ;
- **M<sub>extrait</sub>** : la masse de l'extrait sec (après l'évaporation du solvant) ;
- **M<sub>graines</sub>** : la masse de la matière végétale sèche (masse initiale).

---

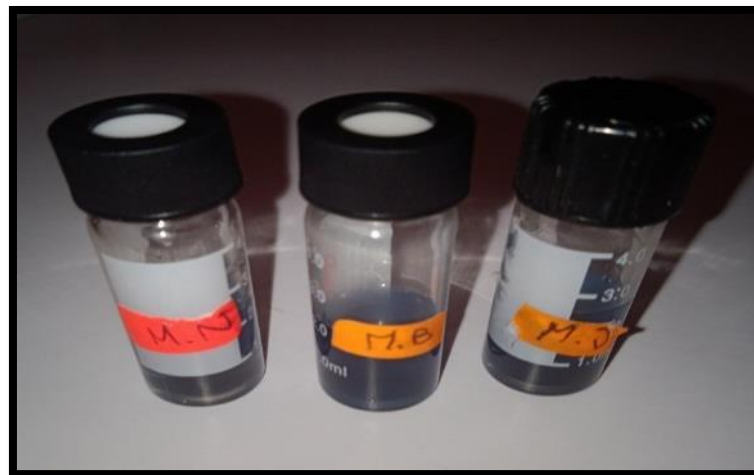
## II.1.2/ Dosage des polyphénols totaux

### ▪ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode adaptée par Marian et al. 2004 [132], en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est en fait un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéros polyacides, en un mélange d'oxydes bleus [133] de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 740 et 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux [134].

### ▪ Mode opératoire

Après avoir préparé des solutions homogènes de concentration massique (1mg/ml) en extrait éthanolique, pour les trois espèces de moutarde. Un volume de (20  $\mu$ l) de chaque solution est mélangé avec 100  $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu et 1.58 ml d'eau distillé ( $H_2O$ ) dans des petits flacons en verre (Figure II.4). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant 5 minutes. Après l'addition de 300  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) de concentration (200 mg/ml), les mélanges sont incubés une autre fois pendant deux heures à l'obscurité sous une température ambiante. L'absorbance de la couleur bleue résultante a été mesurée au  $\lambda_{max} = 765$  nm par un spectrophotomètre UV-visible.



**Figure II.4:** Les extraits après deux heures d'incubation.

---

### **Droite d'étalonnage de l'acide gallique**

L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, afin de quantifier les teneurs en polyphénols totaux exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La courbe d'étalonnage a été réalisée sous les mêmes conditions opératoires citées auparavant, en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (50-500 mg/l).

Les absorbances correspondantes aux solutions d'acide gallique à différentes concentrations sont enregistrées dans le tableau suivant :

**Tableau II.1:** Absorbances de la gamme de concentration de l'acide gallique.

| Concentration (mg/l) | Absorbance |
|----------------------|------------|
| 50                   | 0.107      |
| 100                  | 0.146      |
| 150                  | 0.178      |
| 250                  | 0.266      |
| 350                  | 0.358      |
| 500                  | 0.476      |

### **II.1.3/ Activités biologiques**

#### **II.1.3.1/L'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de moutarde**

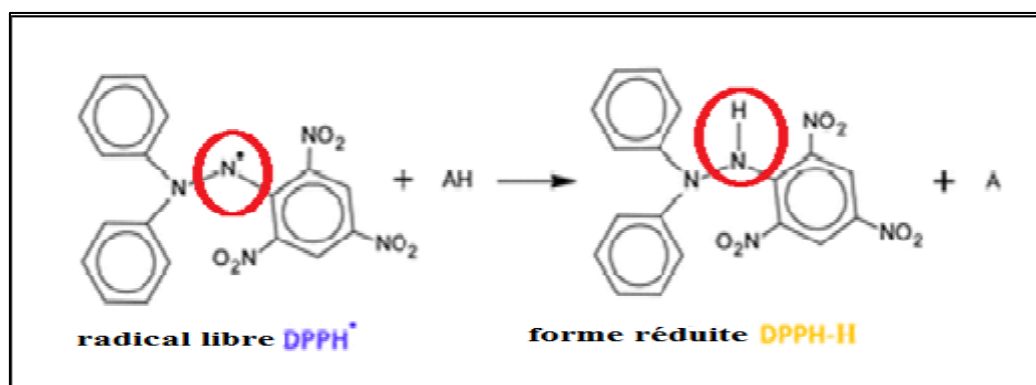
##### **II.1.3.1.1/ Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti radicalaires, le DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon [135]. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le DPPH.

- **Principe**

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation [136]. De nombreuses méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer cette activité.

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [137]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 514–518 nm.



**Figure II.5:** Structure de DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant

- **Préparation de la solution éthanolique de DPPH**

La méthode utilisée a été décrite par **Molyneux (2003)** [138]. La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 3.6 mg de poudre de DPPH dans 100 ml d'éthanol. La solution obtenue a été conservée à l'obscurité pour éviter sa réduction. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes avec un spectrophotomètre à 517 nm.

- **Préparation de la gamme étalon d'acide ascorbique**

Une solution mère d'acide ascorbique de concentration massique égale à 0.4mg/ml, a été préparée par la dissolution de 4 mg d'acide ascorbique dans 10 ml d'éthanol. Des solutions filles de concentration différentes ont été préparées à partir de la solution mère.

- **Evaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (standard de référence)**

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'acide ascorbique, nous avons préparé des solutions tests :

Dans des tubes à essai, on mélange 1.6 ml de la solution de DPPH avec 0.4 ml de l'acide ascorbique à différente concentration. Les mélanges sont incubés dans l'obscurité sous une température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance de chaque solution test, a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 517 nm contre un blanc constitué du réactif DPPH seul. Ce test est répété trois fois.

Les résultats obtenus sont classés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II.2:** Evaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (standard de référence).

|                                 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |      |      |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| [S <sub>filles</sub> ]<br>mg/ml | 0.003 | 0.006 | 0.01  | 0.02  | 0.04  | 0.05  | 0.08  | 0.1   | 0.2   | 0.25 | 0.3  |
| Abs                             | 0.611 | 0.549 | 0.547 | 0.546 | 0.403 | 0.280 | 0.055 | 0.051 | 0.048 | 0.04 | 0.04 |

▪ **Evaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des trois espèces de moutarde**

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques des trois espèces de moutard, a été déterminée selon le protocole expérimental cité dans le paragraphe précédent (acide ascorbique).

Dans trois tubes à essais, un volume de 0.4 ml de chaque extrait éthanolique (de concentration massique bien déterminée), est mélangé avec 1.6 ml de la solution de DPPH fraîchement préparée. Les tubes ont été agités par vortex et maintenus à l'obscurité pendant 30 minutes. Un blanc contenant le DPPH sans l'ajout de l'extrait est également préparé. L'absorbance de chaque mélange est lue à la même longueur d'onde (517 nm).

L'évaluation de l'activité antioxydante est basée sur la détermination du taux d'inhibition (I%) du radical (DPPH<sup>•</sup>).

Le pourcentage d'inhibition ou de piégeage du radical (DPPH<sup>•</sup>) est calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

A0 : Absorbance du blanc (solution du DPPH sans extrait).

A1 : Absorbance en présence de l'extrait.

---

La courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition, en fonction de la concentration de l'espèce réducteur (acide ascorbique ou extrait de moutard), permet la détermination de la valeur IC<sub>50</sub> (concentration permettant l'inhibition de 50% du radical libre (DPPH)).

#### **II.1.4/ Préparation de l'extrait aqueux de moutarde brune**

A travers les résultats obtenus dans le dosage des polyphénols totaux des trois variétés de moutarde (blanche, noire et brune), nous avons trouvé que l'extrait de moutarde brune est riche en polyphénols par rapport aux autres extraits.

Ce résultat nous a amené à garder l'extrait de moutarde brune pour la suite de travail.

- **Principe**

Un montage de chauffage à reflux est employé pour chauffer un milieu réactionnel afin d'accélérer la transformation chimique qui s'y déroule, ce qui entraîne une réduction de la durée de synthèse. Le chauffage permet également d'accroître la solubilité des réactifs dans le solvant. Cette technique expérimentale permet d'assurer le bon déroulement de la synthèse chimique sans perte de réactifs ni de produits.

- **Mode opératoire**

L'extrait aqueux de la moutarde brune a été préparé, par la mise en contact de 20 g de moutarde brune avec 200 ml d'eau distillé dans un ballon bicol de 250 ml surmonté d'un réfrigérant. Le mélange est chauffé à 50 °C à l'aide d'un chauffe-ballon pendant 2 heures.

Le mélange est par la suite filtré à l'aide du papier filtre. La solution obtenue est séchée dans une étuve à 40 °C pour obtenir un extrait sec.

#### **II.1.5/ Synthèse verte des nanoparticules d'argent**

##### **II.1.5.1/La synthèse verte des nanoparticules d'argent à l'aide de l'extrait éthanolique**

Dans un premier temps, notre étude était focalisée sur l'élaboration des nanoparticules d'argent à base de l'extrait éthanolique de moutarde brune.

Pour ce faire, une solution alcoolique de nitrate d'argent (0.17mg/ml) et d'autre d'extrait éthanolique (1mg/ml), ont été préparées.



### ❖ Préparation de l'extrait éthanolique

Dissoudre 5 mg de l'extrait éthanolique dans 5ml de l'éthanol.

### ❖ Préparation de solution AgNO<sub>3</sub> éthanolique

Dissoudre 17 mg d'AgNO<sub>3</sub> dans 100 ml de l'éthanol, agiter le mélange bien et couvrir la solution avec un papier d'aluminium.

#### II.1.5.1.1/ Préparation des AgNPs par différents rapport d'extrait éthanolique et d'AgNO<sub>3</sub>

Dans 9 tubes à essai, on fait varier le pourcentage massique [m (extrait)/m(AgNO<sub>3</sub>)]. Un certain volume d'extrait de moutarde brune est ajouté à 8 ml de la solution d'AgNO<sub>3</sub>, puis le volume final du mélange est ajusté à 10 ml, en ajoutant de l'éthanol, comme il est indiqué dans le tableau suivant

**Tableau II.3:** préparation de AgNPs dans un milieu alcoolique (éthanol) : variation du pourcentage massique [m (extrait)/m(AgNO<sub>3</sub>)]

| Les tubes                        | 1     | 2     | 3    | 4     | 5    | 6     | 7     | 8    | 9   |
|----------------------------------|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|------|-----|
| Les pourcentages%                | 1     | 2     | 5    | 7     | 10   | 20    | 50    | 80   | 100 |
| Volumes d'extrait (ml)           | 0,014 | 0,028 | 0,07 | 0,098 | 0,14 | 0,280 | 0,700 | 1,12 | 1,4 |
| Volumes d'AgNO <sub>3</sub> (ml) | 8     | 8     | 8    | 8     | 8    | 8     | 8     | 8    | 8   |
| Volumes d'éthanol (ml)           | 1,99  | 1,98  | 1,93 | 1,9   | 1,87 | 1,72  | 1,3   | 0,88 | 0,6 |

#### II.1.5.2/La synthèse verte des nanoparticules d'argent à base de l'extrait aqueux

##### II.1.5.2.1/ Préparation des AgNPs par différents rapports d'extrait aqueux et d'AgNO<sub>3</sub>

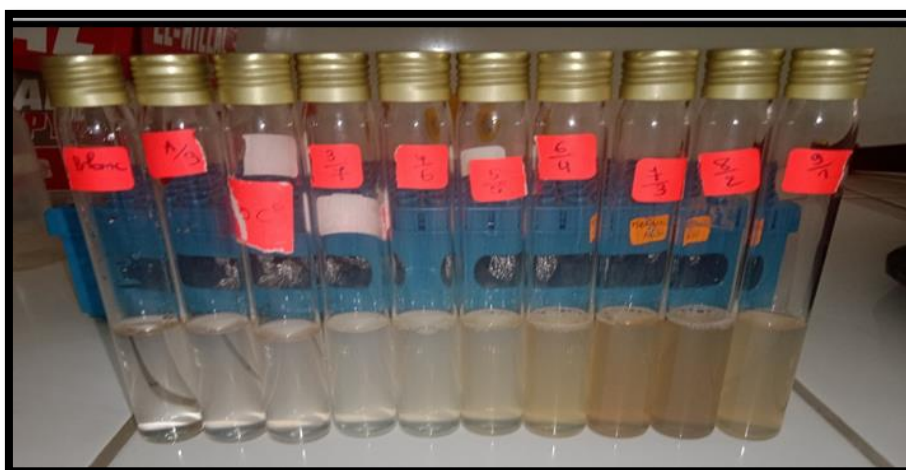
Des mélanges (extrait aqueux + AgNO<sub>3</sub>) de compositions différentes ont été préparés, en variant le volume de l'extrait aqueux de moutarde brune et le volume de la solution aqueuse d'AgNO<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>M). Le volume final du mélange est fixé à 10 ml.

La composition de chaque tube est présentée dans tableau II.4. La manipulation se déroule à température ambiante.

**Tableau II.4:** synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait aqueux de moutarde brune (effet de la concentration d'extrait)

|                                 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |         |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---------|
| Tubes                           | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10      |
| Volumes d'extrait (ml)          | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | (blanc) |
| Volume d'AgNO <sub>3</sub> (ml) | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 10      |

Ensuite, on a suivi le changement de couleur des échantillons et la formation des AgNPs par l'appareil UV-visible.



**Figure II.6:** Synthèse des nanoparticules d'argent à base d'extrait aqueux de moutarde brune (effet de la concentration d'extrait)

### II.1.5.3/ Les paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent

#### 1- Etude cinétique :

L'étude cinétique consiste à la détermination du temps suffisant pour le changement de la couleur du mélange (AgNO<sub>3</sub> + extrait de moutarde), indiquant la formation des nanoparticules d'argent. Pour cela, on mélange dans un tube à essai un volume de 4 ml de l'extrait aqueux et 6 ml d'une solution d'AgNO<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>M). Le changement de couleur est suivi dans des intervalles de temps réguliers.

---

## **2- Effet du pH**

Dans des tubes à essais, on introduit 6 ml de la solution aqueuse d'AgNO<sub>3</sub> de concentration 10<sup>-2</sup> M avec 4 ml de l'extrait aqueux de moutarde brune, puis on ajuste le pH par l'ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) ou d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH). Des quantités précises de HCl ou NaOH ont été ajoutées, de telle sorte que la concentration d'AgNO<sub>3</sub> reste égale dans tous les tubes.

## **3-Effet de la température**

La température de réaction peut jouer un rôle crucial dans la synthèse des nanoparticules d'argent. Afin d'examiner l'effet de ce paramètre, deux (2) tubes à essais, contenant 6 ml de la solution d'AgNO<sub>3</sub> et 4 ml de l'extrait aqueux, ont été placés à 25 et 60°C.

# RESULTATS ET DISCUSSION



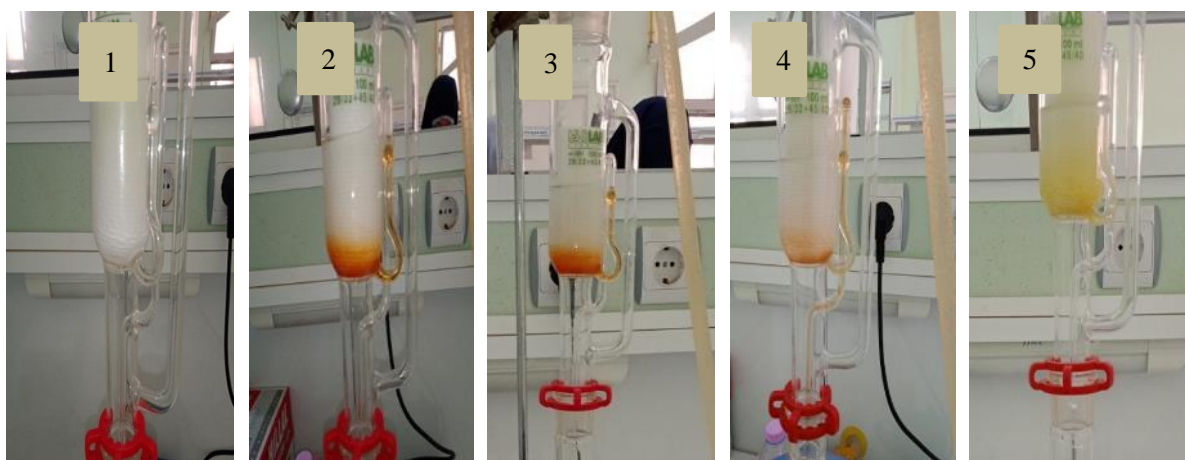
## Introduction :

Les nanoparticules métalliques sont généralement synthétisées par des techniques diverses, principalement basées sur la réduction des ions métalliques dans le milieu aqueux ou organique [139]. Le but de notre travail consiste à préparer des NPs Ag par une voie de chimie verte, il s'agit d'une méthode simple, peu coûteuse et plus respectueuse de l'environnement par rapport aux autres méthodes de synthèse standard.

### III.1/ L'extraction des graines de moutarde

L'extraction solide-liquide par soxhlet, est parmi les méthodes les plus utilisées pour la récupération de molécules bioactives à partir de sources végétales. En raison de la variété des composés bioactifs dans les espèces végétales ainsi que leurs solubilités différentes, Le choix du solvant pour procéder à une extraction (solide-liquide), est basée principalement sur sa capacité de solubiliser les composés ciblés pour être isolés [140]. Le solvant utilisé dans cette étude Est l'éthanol, ce solvant offre de nombreux avantages par rapport aux autres solvants organiques. En effet, sa capacité particulière de la pénétration dans les membranes cellulaires, lui confère un fort pouvoir d'extraction des métabolites secondaires tels (les glycosides, polyacétylènes, stérols, polyphénols, flavonols, tanins, alcaloïdes et terpénoides) [141]. L'éthanol est également un solvant volatil qui s'évapore facilement dans les conditions normales de (T et P). Cette propriété lui permet d'être un solvant de choix en termes de gain de temps et d'énergie et en termes d'écologie [142].

La figure (III.1) représente l'extraction des graines de moutarde par soxhlet



**Figure III.1:** l'extraction de moutarde par soxhlet

---

L'observation continue sur le montage d'extraction, nous permet de mettre en relief l'importance des nombres de cycles de lavage sur la quantité finale de l'extrait alcoolique

✓ **Rendement de l'extraction :**

Après l'extraction, filtration et séchage, les trois extraits de moutarde (blanche, noire et brune), ont été conservés dans des flacons sombres sous une température  $T=4^{\circ}\text{C}$ .

Les rendements d'extraction des trois variétés de moutarde sont répertoriés dans le tableau suivant :

**Tableau III.1:** Rendements d'extraction des trois variétés de moutarde

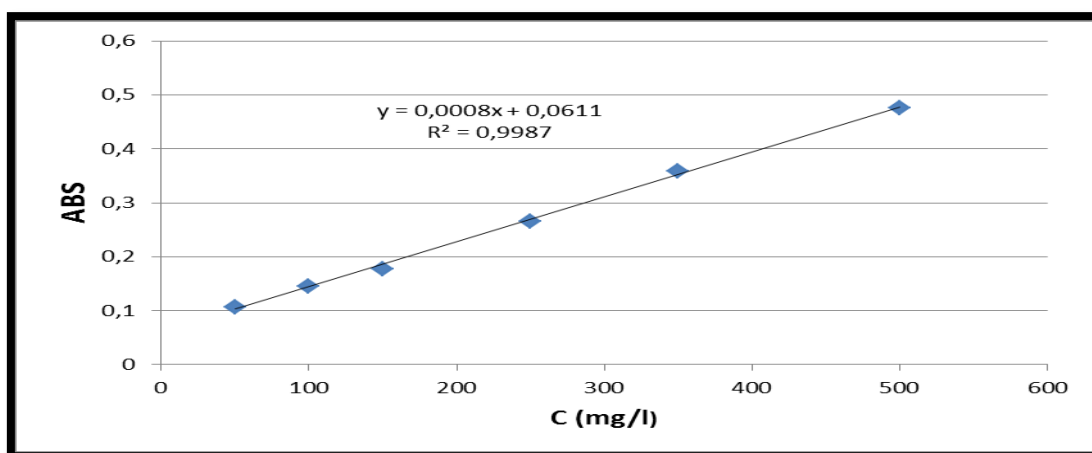
| Les extraits | Extrait M, Brune | Extrait M, Blanche | Extrait M, Noire |
|--------------|------------------|--------------------|------------------|
| Rendement %  | 2.84             | 1.67               | 5.63             |

Les résultats présentés dans le tableau III.1, montrent qu'un meilleur rendement d'extraction est trouvé pour la moutarde noire (5.63%), suivi de moutarde brune (2.84%), alors qu'un rendement faible est observé pour la troisième variété de moutarde (1.67% moutarde blanche). Ces résultats peuvent nous renseigner sur la grande variabilité de la *composition chimique* de ces trois variétés de moutarde.

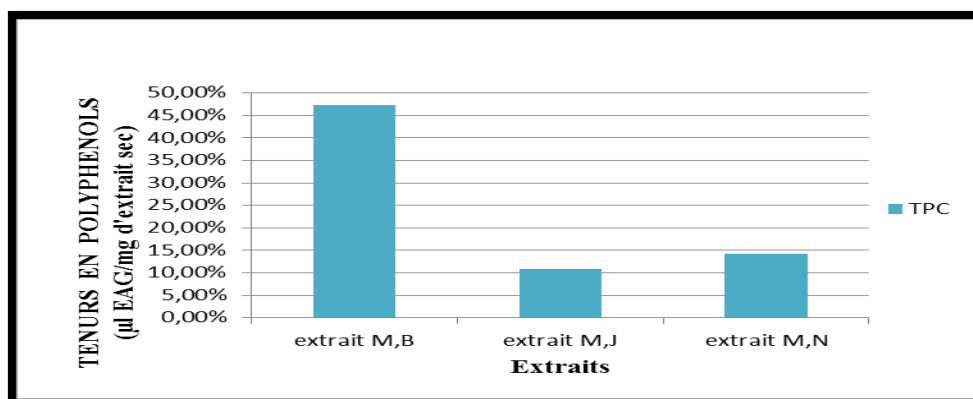
### **III.2/ Teneurs en phénols totaux**

La détermination des teneurs en phénols totaux dans les trois extraits de moutarde (brune, blanche et noire) a été faite en utilisant séparément la méthode colorimétrique (Folin-Ciocalteu). En se basant sur la valeur d'absorbance de la solution de l'extrait, ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et comparée avec celle trouvée par la solution étalon, les valeurs trouvées sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mgEAG/g d'extrait). Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux sont représentés sur les Figures **III.2 et III.3**.

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ( $y = 0.0008x + 0,061$ ). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités de polyphénols totaux contenus dans les échantillons de moutarde (fractions éthanoliques).



**Figure III.2:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



**Figure III.3:** Concentrations en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique des trois variétés de moutarde (brune, jaune et noire).

Nous constatons que les graines de moutarde brune sont très riches en polyphénols avec une teneur de l'ordre de (47.35 mg EAG /g E), comparée à celle de l'extrait de moutarde noire (14.23mg EAG/g E) et moutarde blanche (10.80mg EAG/g E).

La teneur en polyphénol varie d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies, etc. ;
- ✓ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante [143] ;
- ✓ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux [144].

### III.3/ Caractérisation de l'extrait éthanolique de moutarde brune :

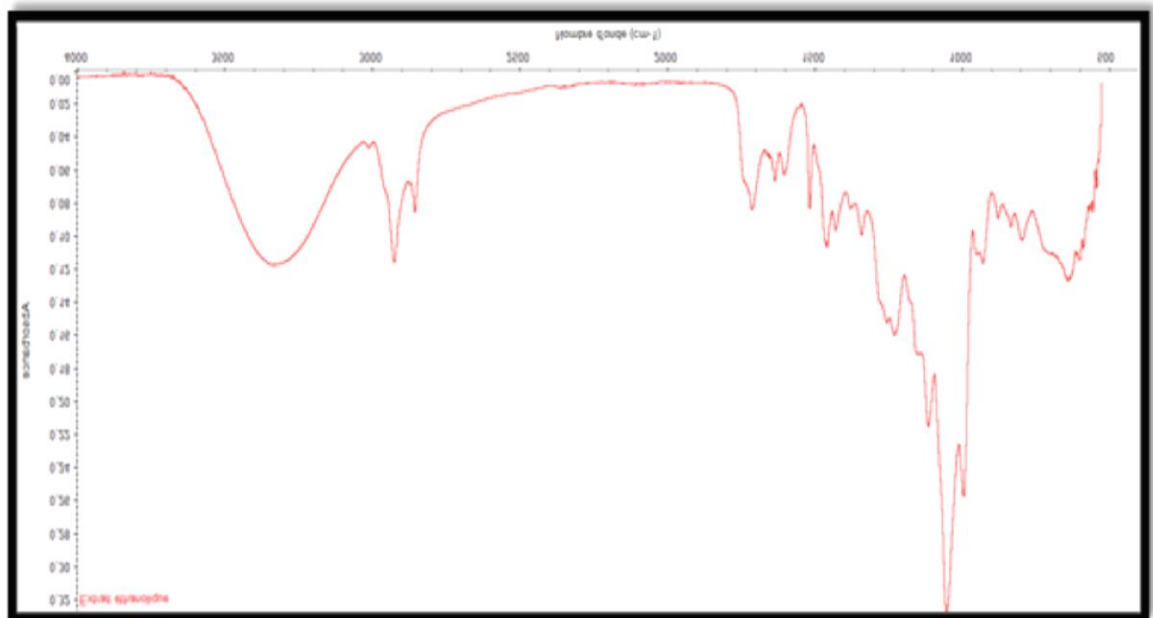
Afin de montrer la présence des groupements hydroxylés et confirmer les résultats obtenus dans le dosage des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de moutarde brune. Nous avons utilisé deux méthodes de caractérisation :

- Caractérisation par spectroscopie infrarouge
- Caractérisation par Spectrophotomètre UV-visible

#### III.3.1/Caractérisation par spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge de l'extrait éthanolique de moutarde brune montre une bande large qui s'étale sur un intervalle  $[3000-3500 \text{ cm}^{-1}]$ , indiquant la présence de groupement hydroxyle (OH), ce qui explique que l'extrait éthanolique de graine de moutarde brune est très riche en composés chimiques tels : phénols, acides carboxyliques, alcool, esters...etc.

Ce résultat semble avoir une forte concordance avec celui trouvé dans le dosage de polyphénols totaux.



**Figure III.4:** Spectre IR de l'extrait éthanolique de moutarde brune

Le spectre FTIR de l'extrait éthanolique de moutarde brune révèle aussi plusieurs pics :

- Le pic à  $3300 \text{ cm}^{-1}$  représente la vibration d'élongation O – H dans les alcools, les flavonoïdes et les composés phénoliques.



- Les pics à  $2900\text{ cm}^{-1}$  et  $2800\text{ cm}^{-1}$  sont probablement attribuables à la vibration d'élongation N – H de l'amide secondaire des protéines.
- Les pics d'absorption situés à  $1700\text{ cm}^{-1}$ ,  $1600\text{ cm}^{-1}$ , correspondent aux vibrations de liaison amide primaire.
- Les pics à  $1300\text{ cm}^{-1}$  affectés à de fortes vibrations d'élongation attribuée aux C-H du cycle aromatique.
- Les petits pics situés autour de  $1100\text{ cm}^{-1}$  correspondent à une vibration d'élongation de la liaison C-O de polyols tels que les flavonoïdes, trioloïdes et polysaccharides et qui démontrent la présence de composés phénoliques dans l'extrait.

### III.3.2/Caractérisation par Spectrophotomètre UV-visible

La figure III.5 montre le spectre UV-Visible de l'extrait éthanolique de moutarde brune. Le seul large pic centré à  $340\text{ nm}$  correspond aux biomolécules présentes dans l'extrait de moutarde.

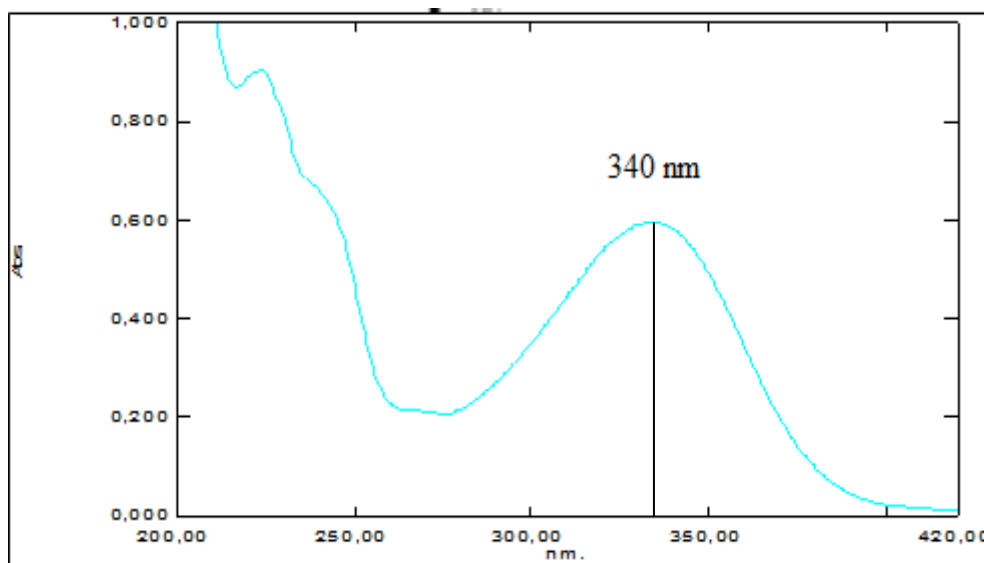


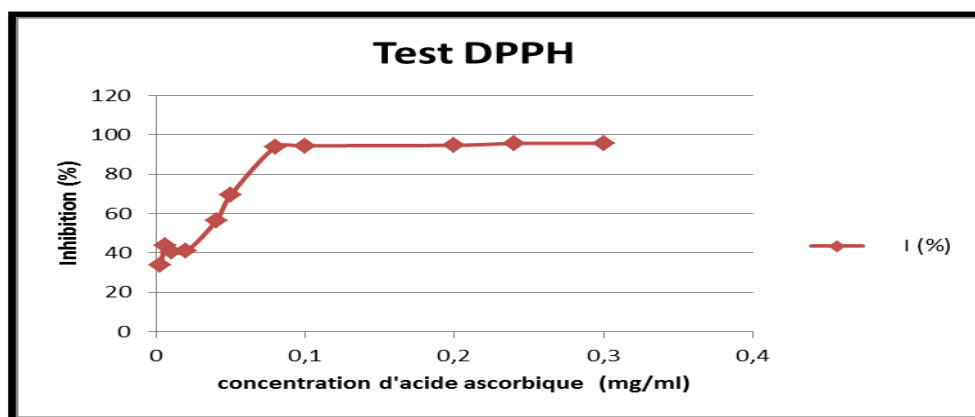
Figure III.5: Spectre UV-Visible de l'extrait éthanolique de moutarde brune

## III.4/ Activité antioxydante

### III.4.1/Test avec le radical DPPH

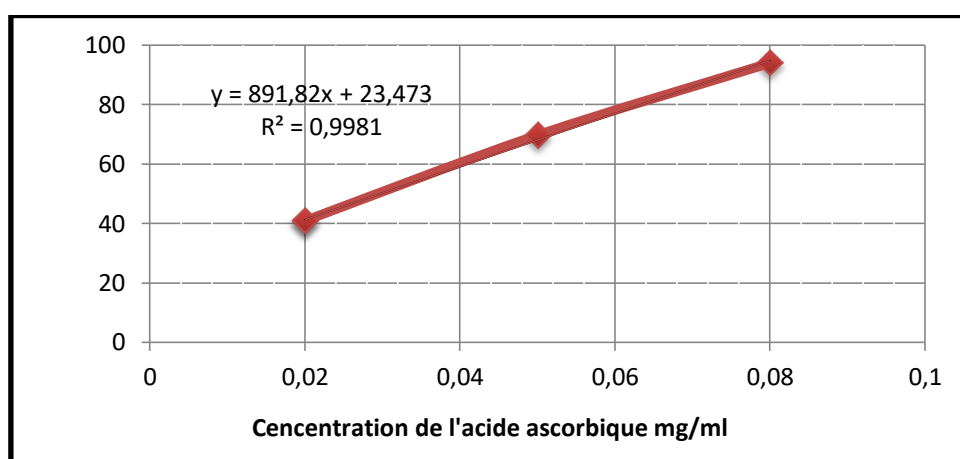
Plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante des espèces végétales.

Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de moutarde brune a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre de DPPH. Les résultats sont généralement exprimés en comparaison du pouvoir inhibiteur d'un antioxydant standard (l'acide ascorbique).



**Figure III.6:** Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique. Pour une concentration de 0,3 mg/ml, l'acide ascorbique a révélé un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH égale à 96%. Alors qu'une concentration en acide ascorbique ( $IC_{50} = 0,029$  mg/ml) était suffisante pour réduire de 50% de DPPH.



**Figure III.7:** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

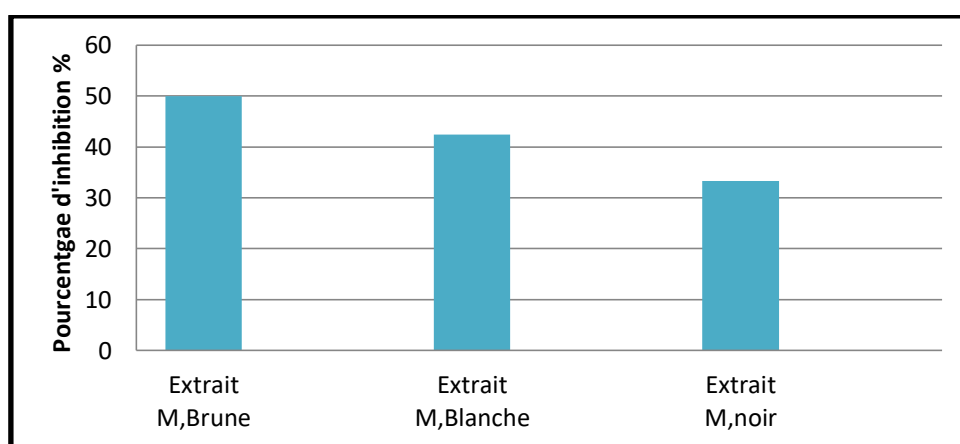
Pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques de moutarde, nous avons déterminé dans un premier temps la concentration ( $IC_{50}$ ) de moutarde brune, et on la comparée avec celle trouvée par le standard de référence (Acide ascorbique).

---

L'extrait alcoolique de moutarde brune, montre une concentration ( $IC_{50}=0.5\text{mg/ml}$ ), cette concentration est nécessaire pour réduire 50% de DPPH. Elle est supérieure aux dix-sept fois que celle trouvée par le standard de référence ( $IC_{50}=0.029\text{ mg/ml}$ ).

Dans un second temps, une étude comparative entre les trois variétés de moutarde, a été réalisée, en fixant la concentration de chaque extrait ( $C = 0.5\text{mg/ml}$ ), et en déduisant le pourcentage d'inhibition de DPPH.

L'histogramme ci-dessous représente une comparaison entre les pourcentages d'inhibition de nos extraits.



**Figure III.8:** Pourcentage d'inhibition de DPPH par les trois variétés de moutarde ayant la même concentration ( $C=0.5\text{mg/ml}$ ).

D'après les données de la figure III.8 on remarque que les trois extraits de moutarde possèdent une capacité de neutralisation de DPPH inférieur à celui du standard (acide ascorbique).

Un pourcentage d'inhibition de DPPH de l'ordre de 50%, 42% et 33% a été obtenu respectivement pour les extraits éthanoliques (brune, blanche et noire).

L'extrait de moutarde brune montre une activité antioxydante plus élevée à celle de deux autres extraits

L'activité antioxydante de l'extrait de moutarde brune, pourrait s'expliquer par sa richesse en composés phénoliques. En effet, ces composés possèdent un pouvoir antioxydant prononcé [145]. Kang et al. ont suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antioxydante [146]. La forte activité antioxydante de l'extrait de moutarde brune, nous a guidé de garder cette variété pour la suite de notre travail.

---

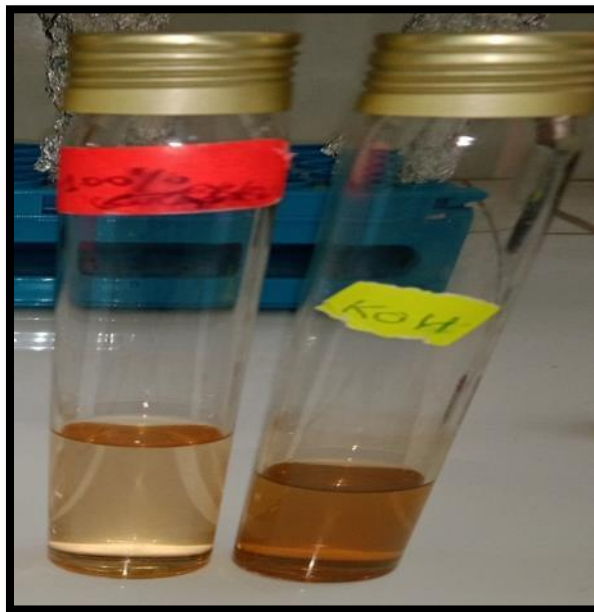
### III.5/ Synthèse verte

#### III.5.1/La synthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait éthanolique

Au début, le mélange de nitrate d'argent et l'extrait éthanolique de moutarde brune, était transparent. Le changement de couleur progressif de la solution (de l'incolore au jaune clair) en fonction de l'avancement de la réaction, indique une formation lente des nanoparticules d'argent. En effet, le changement de couleur de la solution est observé après 28 heures. Ceci est probablement dû à un effet d'amortissement de l'étape de croissance des nanoparticules d'argent (une faible agrégation de particules d'argent) dans la solution. En effet, les molécules de solvant (éthanol), s'accumulent à la surface des nanoparticules d'argent par des interactions électrostatiques (force de Van der Waals), empêchant leur coalescence.

L'ajout de potasse (KOH), conduit à une amélioration de la cinétique de la formation des nanoparticules d'argent. En effet, le changement de la couleur se fait très rapidement quand le milieu réactionnel est basique (les nanoparticules coalescentes et forment de l'argent massif).

Il est à signaler que la réaction de formation De AgNPs, s'est déroulée au sein d'un tube à essais sans aucune agitation.



**Figure III.9:** Synthèse d'AgNPs par l'extrait éthanolique

### III.5.2/La synthèse des nanoparticules d'argent à base de l'extrait aqueux

Dans cette partie de notre étude, nous avons utilisé l'extrait aqueux de moutarde brune pour synthétiser les nanoparticules d'argent.

#### ❖ Caractérisation d'AgNPs par Spectrophotomètre UV-visible

La formation des nanoparticules d'argent peut être contrôlée qualitativement par une observation visuelle (changement de couleur) ou quantitativement par une analyse spectrale en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

La figure III.10 montre le spectre d'absorption UV-Visible de nanoparticules d'argent. La bande caractérisant de la formation d'AgNPs est généralement observée dans la plage qui s'étale entre 390nm et 450nm [147,148]. On signale à ce stade que la largeur et la symétrie de la bande d'absorption, donne des informations quant à la taille et la distribution de tailles d'AgNPs formées. En effet, une large distribution de tailles des nanoparticules, induit un élargissement de la bande d'absorbance [149].

La bande d'adsorption (figure III.10), présente un maximum au alentour de 420nm, indiquant la synthèse de AgNPs d'une forme sphérique [150].

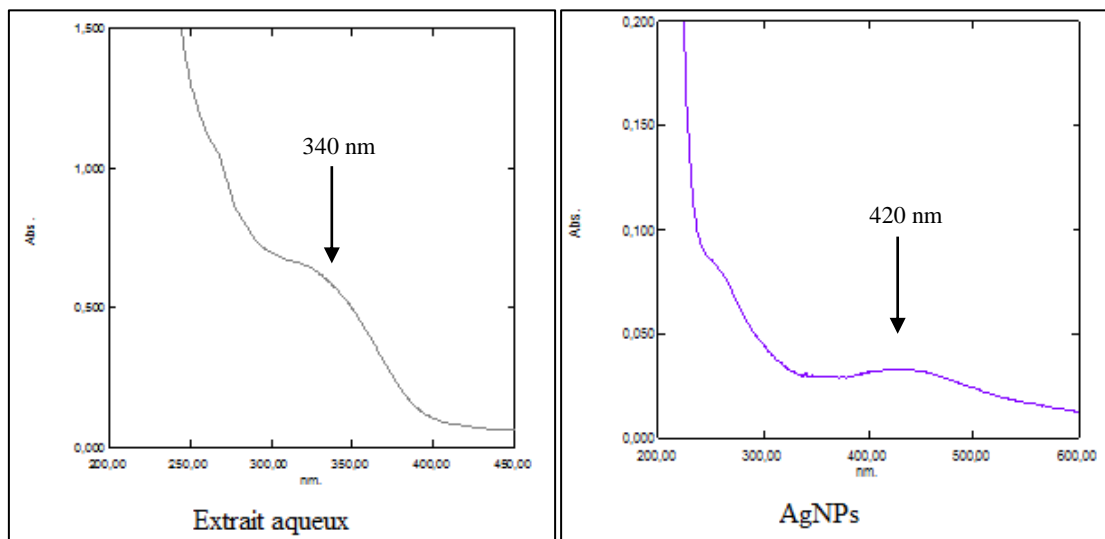


Figure III.10: Spectre d'absorption UV-Visible de l'extrait aqueux et d'AgNPs.

### III.5.2.1/Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent

Le mécanisme de formation des nanoparticules est rapporté dans la littérature [151]. En tenant compte du fait que l'extrait de graine de moutarde brune est très riche en polyphénols. La présence des ions  $Ag^+$  provoque l'oxydation des groupements hydroxyles pour former un complexe d'argent intermédiaire puis une quinone et des ions  $Ag^+$ , ces derniers sont réduits en  $Ag$  métallique en présence des électrons libres.

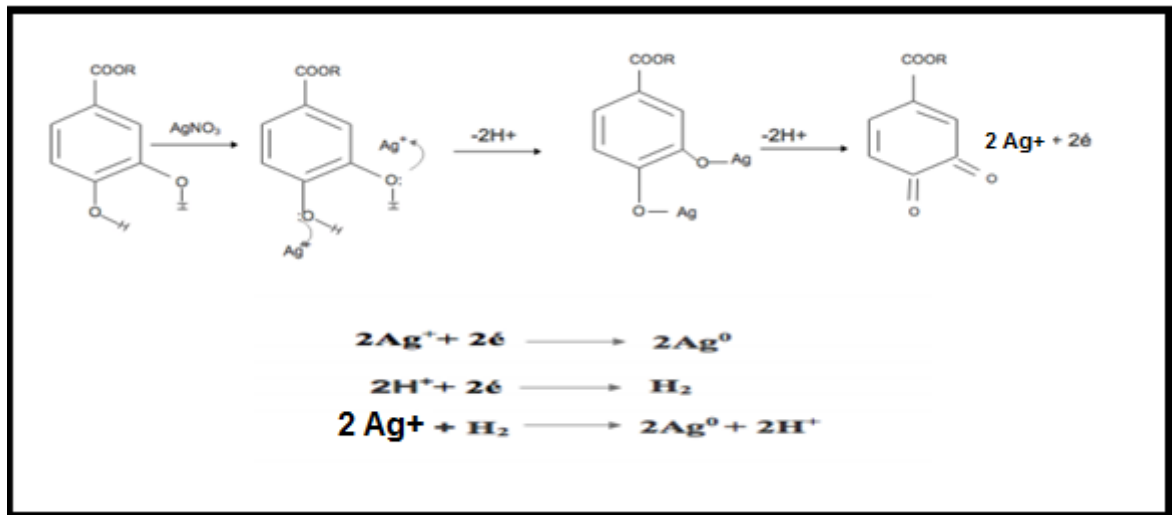


Figure III.11: Mécanisme de la réaction des d'Ag NPs.

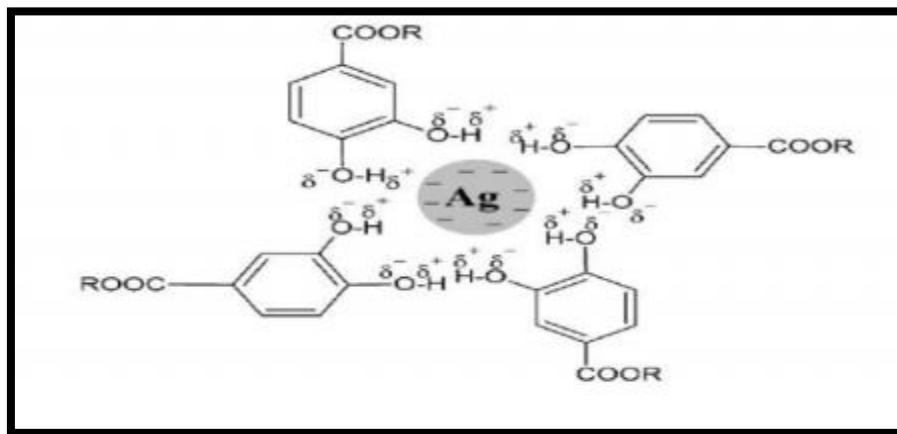
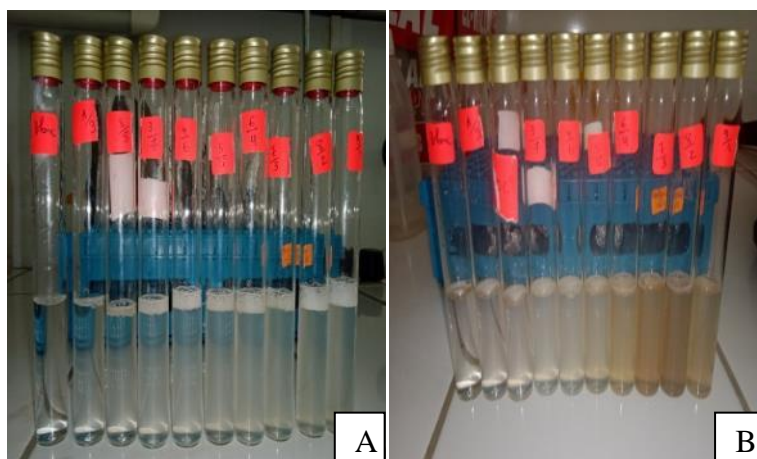


Figure III.12: Mécanisme de stabilisation d'Ag

### III.6/ Paramètres influençant la formation des nanoparticules d'argent

#### ❖ Effet du rapport d'extrait de plante et de la solution de nitrate d'argent

Après avoir préparé des mélanges ( $AgNO_3$  + extrait aqueux de moutarde brune), de compositions différentes. La formation des AgNPs dans chaque tube a été contrôlée par le changement de couleur du mélange (figure III.13).








**Figure III.13:** Evolution de changement de couleur en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de moutarde brune (A : à  $t=0$ ), (B : après 4h)

Il est remarqué, sur la figure III.13, que la formation des AgNPs est initiée dans le tube 4 contenant un mélange (6ml extrait aqueux/ 4ml  $\text{AgNO}_3$ ). En effet, après quatre heures (4h) un changement de couleur est observé dans ce tube. Il est à noter que la faible concentration de l'extrait aqueux dans les tubes (1, 2, 3, 4 et 5), ne permet de réduire tous les ions  $\text{Ag}^+$  présentés dans les mélanges.

#### ❖ Effet de temps

La formation des nanoparticules d'argent et leur croissance sont gouvernées par le temps qui joue un rôle primordial dans cette synthèse. Pour examiner l'effet de ce paramètre, nous avons choisi le tube 4 (6ml extrait aqueux/ 4ml  $\text{AgNO}_3$ ) pour réaliser cette étude.

**Tableau III.2:** Le changement de la couleur en fonction de temps.



| Le temps                 | 0 min   | 2 heures  | 4 heures   | 24 heures   | 48 heures   |
|--------------------------|---|---|--|---|---|
| Les tubes                |  |  |  |  |  |
| Le changement de couleur | Couleur transparente  | Couleur devient jaune   | Couleur devient brun clair   | Couleur devient brun jaunâtre   | Couleur devient brun foncé  |

Il apparaît, d'après les résultats présentés dans le tableau III.2, que le temps de la réaction joue un rôle important dans la formation des AgNPs. Plus le temps de séjours des réactifs ( $\text{Ag}^+$  et l'agent réducteur) est élevé, plus la nucléation et la croissance des nanoparticules étant assurées.

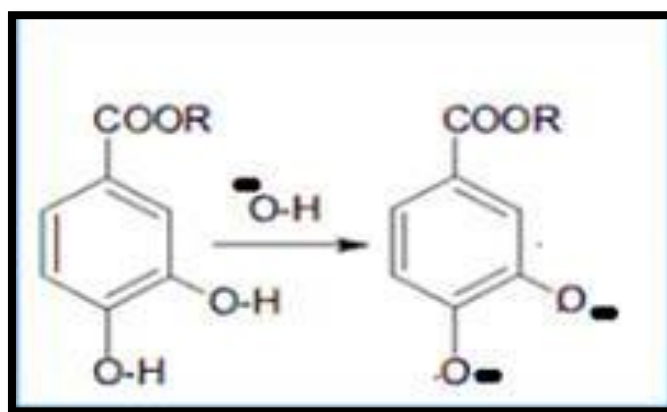
#### ❖ Effet du pH

A travers les résultats représentés dans le tableau III.3, on remarque que le changement de la couleur dans le milieu basique, est observé après 3 minutes.

**Tableau III.3:** Effet de pH sur la formation des AgNPs

| pH | Le changement    | Les tubes  |
|----|------------------|--|
| 5  | Aucun changement |   |
| 11 | Marron foncé     |  |

De plus, il a été observé qu'à pH acide (pH=5), la formation de nanoparticules est n'était pas importante. À pH élevé (pH=11), la biodisponibilité des groupes fonctionnels dans l'extrait de graines de moutarde favorise la synthèse des nanoparticules. En effet, en milieu basique, les molécules de polyphénols (bioréducteurs) sont déprotonées et donnent naissance aux ions phénolates ayant un pouvoir réducteur plus important que leur homologue phénol.





**Figure III.14:** Déprotonation des polyphénols



### ❖ Effet de température

La température est un autre facteur important qui affecte la synthèse de nanoparticules de manière significative. Quand la température augmente, la réduction du sel d'argent est améliorée, comme indiqué par le changement rapide de la couleur de la solution (le temps de réaction décroît lorsque la température augmente). En effet, l'augmentation de la température, entraîne une augmentation de l'énergie cinétique des molécules et par conséquent, la collision entre les molécules augmente, facilitant le processus de la nucléation et la croissance des nanoparticules.

**Tableau III.4:** Effet de la température sur la formation des AgNPs

| Synthèse | Température (°C) | Temps du début de coloration | Les tubes   |
|----------|------------------|------------------------------|---|
| 1        | 60               | 30 min                       |   |
| 2        | ambiante         | 2 heures                     |  |

---

## Conclusion

Ces dernières années la communauté scientifique s'intéresse de plus en plus à l'étude des stratégies de synthèse des nanoparticules métalliques et particulièrement les nanoparticules d'argent, en raison de leurs propriétés chimiques, physiques et biologiques exceptionnelles.

L'objectif de ce travail était de synthétiser des nanoparticules d'argent par une procédure simple, reproductible, économique et respectueuse de l'environnement (Eco-Friendly).

La synthèse des nanoparticules nécessite l'utilisation de trois réactifs : un sel précurseur ( $\text{AgNO}_3$ ), un agent réducteur et un agent stabilisant. A cet effet, notre choix s'est porté sur l'utilisation de l'extrait de graine de moutarde comme agent réducteur et stabilisant à la fois.

Une étude préliminaire sur la synthèse d'AgNPs a été effectuée, en utilisant trois variétés de moutarde (Brune, Blanche et Noir). La détermination de la teneur en phénols totaux, nous a permis de choisir la variété la plus riche en polyphénol (moutarde brune : 47.35 mg GAE/g E) pour la suite de notre travail.

La préparation des nanoparticules d'argent qui s'est effectuée dans un solvant organique (éthanol), ne permettait pas leur croissance, du fait que les molécules de solvant s'accumulent à la surface des nanoparticules d'argent par des interactions électrostatiques (force de Van der Waals), empêchant leur coalescence.

Notre travail par la suite est orienté vers l'utilisation de l'extrait aqueux de la même variété de moutarde, pour la synthèse d'AgNPs.

L'étude des paramètres influençant la formation des nanoparticules nous a permis de conclure que :

- ❖ La concentration de l'extrait joue un rôle important dans la vitesse de formation des AgNPs. En effet plus la concentration en extrait augmente et plus leur formation est rapide.
- ❖ Plus le temps de séjours des réactifs ( $\text{Ag}^+$  et l'agent réducteur) est élevé, plus la nucléation et la croissance des nanoparticules étant assurées.

- 
- ❖ Il semblerait que la cinétique de synthèse des AgNPs est gouvernée par le pH du milieu réactionnel. En effet, la formation de nanoparticules est lente en milieu acide, l'ajustement du pH à 11 a augmenté la vitesse de leur formation. Cela est dû à la naissance des ions phénolates qui sont plus réactifs que leurs homologues phénols.
  - ❖ La température est un autre facteur important qui affecte la synthèse de nanoparticules de manière significative. Quand la température augmente, la vitesse de la réduction du sel métallique aussi.

Au terme de ce mémoire, le but que nous nous sommes fixés, à savoir la synthèse des nanoparticules d'argent, est atteinte.

Et comme perspectives nous proposons ce qui suit :

- ✓ Il sera alors intéressant d'extraire les trois variétés de moutarde (blanche, noire et brune), à partir des résultats obtenus dans le dosage de polyphénols nous avons choisi l'espèce riche en polyphénols entre les trois ;
- ✓ Etudier l'activité antioxydante des trois espèces de moutarde pour confirmer cette conclusion ;
- ✓ La formation des nanoparticules d'argent à base d'extrait éthanolique et d'extrait aqueux ;
- ✓ Evaluer les paramètres cinétiques de formation des nanoparticules ;
- ✓ Caractériser les nanoparticules formées.

---

## Référence

- [1]. Sarsar, V., Selwal, K.K., Selwal, K. Synthèse verte de nanoparticules d'argent à l'aide d'extrait de feuille de *Mangifera indica* et évaluation de leur activité antimicrobienne, 2013; 3:27–32.
- [2]. Williams, D. *Biomatériaux*, 2008; 29-1737.
- [3]. Slawson, R.M., Trevors, J.T., Lee, Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri*. *Archives of microbiology*, 1992; 158(6): 398-404.
- [4]. Durán, N., et al. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *Journal of biomedical nanotechnology*, 2007; 3(2): 203-208.
- [5]. Ahmed, S., et al. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of advanced research*, 2016; 7(1): 17-28.
- [6]. Xu, L., et al. Nanoparticle assemblies: dimensional transformation of nanomaterials and scalability. *Chemical Society Reviews*, 2013; 42(7): 3114-3126.
- [7]. Satoshi, H., Nick, S. *Microwaves in nanoparticle synthesis fundamentals and applications*, 2013; 1-24.
- [8]. Sharma, V.K., Yngard, R.A., Lin, Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*, 2009; 145(1-2): 83-96.
- [9]. Chauvel, R., *Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Pharmacie Université Claud Bernard Lyon*, 2018 ; 1-105.
- [10]. Buzea, C., et al. "Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity." *Biointerphases*, 2007; 2(4): 17-71.
- [11]. Mitrano, D. M., et al. "Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products." *Environment International*, 2015; 77: 132-147.
- [12]. Chang, M.C.O., Chow, J.C., Watson, J.G., Hopke, P.K., Yi, S.M., Angleterre, G.C. *Mesure des distributions granulométriques ultrafines à partir de sources de combustion fixes alimentées au charbon, au pétrole et au gaz; J. Gestion de l'air et des déchets*, 2004 ; 54: 1494-1505.
- [13]. Ophélie, Z. *Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de Doctorat en Physicochimie. L'université Paris VI -Pierre et Marie Curie*, 2008 ; 330.
- [14]. Vitor, M.P., Castro, N.A.H. *Strain engineering of grapheme's electronic structure*, 2009.

- 
- [15]. Chuto, G. and Chaumet-Riffaud, P. Les nanoparticules. Médecine Nucléaire, 2010; 34(6): 370-376.
- [16]. Park, S.H., et al. Effects of silver nanoparticles on the fluidity of bilayer in phospholipid liposome, 2005; 44(2-3): 117- 122.
- [17]. Guitou, M.A. Nanoparticules et santé: des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO<sub>2</sub>.
- [18]. Liu, Y.L., Shipton, M. K., Ryan, J. Anal- Chem, 2007; 79 (6): 2221.
- [19]. Parak, W.J. Parak, W. J., Gerion, D., Pellegrino, T. Nanotechnology, 2003 ; 14-15.
- [20]. Ghezzerar, M.R., Abdelmalek, F., Belhadj, M., Benderdouche, N., Addou, A. Appl. Catal .Environ, 2007 ; 72-304.
- [21]. Yan, J.L., Estevez, M.C., Smith, J.E., Wang, K., Wang, L., Tan, W. Nano Today, 2007; 2 (3) - 44.
- [22]. Michalet, X., Pinaud, F.F., Bentolila, L.A., Tsay, J.M. Science, 2005; 307 (5709) - 538.
- [23]. Schmid, G. «nanoparticles: from theory to application », 2004.
- [24]. Ganaie, S.U., Abbasi, T., Anuradha, J., Abbasi, S.A., Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using the amphibious weed pomoea and their application in pollution control, 2014; 26 : 222-229.
- [25]. Diptendu, S., Goutam, P. "Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Mentha asiatica (Mint) Extract and Evaluation of their Antimicrobial Potential» International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology Volume, 2017; 2349-8080: 77-82.
- [26]. Goldman, F. Une arme secrète contre la maladie, l'argent colloïdal, 2004.
- [27]. Turner, R.D., Wingham, J.R., Paterson, T.E. et al. Use of silver-based additives for the development of antibacterial functionality in laser sintered polyamide 12 parts, 2020; 10-892.
- [28]. Samuel, N., Luoma. Silver nanotechnologies and the environment: old problems or new 2008, challenges, The PEW charitable trusts, September 2008.
- [29]. Kamat, P.V. Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles Phys Chem B, 2002; 106: 7729–7744.
- [30]. Maier, S.A., Brongersma, M.L., Kik, P.G., Meltzer, Requicha, S.A.A., Atwater, H.A. Plasmonics—a route to nanoscale optical devices. Adv Mater, 2001; 13: 1501–1505.
- [31]. Boncheva, M., Gracias, D.H., Jacobs, H.O., Whiteside, G.M. Biomimetic self-assembly of a functional asymmetrical electronic device, 2002; 99: 4937–4940.

- 
- [32]. Mirkin, C.A., Letinger, R.L., Mucic, R.C., Storhoff, J.J. ADNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials, 1996; 382: 607–609.
- [33]. Han, M., Gao, X., Su, J.Z., Nie, S. Quantum-dot-tagged micro beads for multiplexed optical coding of biomolecules, 2001; 19: 631–635.
- [34]. Savithamma, N., Rao, M.L., Rukmini, K., Devi, P.S. Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by using medicinal plants, 2011; 3: 1394–1402.
- [35]. Rai, M., Yadav, A., Gade, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, 2009; 27: 76–83.
- [36]. Cao, Y., Jin, R., Mirkin, C.A. DNA-modified core-shell Ag/Au nanoparticles, 2001; 123: 7961–7962.
- [37]. Savage, N., Diallo, M.S. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges, 2005; 7: 331–342.
- [38]. Zach, M., Heagglund, C., Chakarov, D., Kasemo, B. Nanoscience and nanotechnology for advanced energy systems, 2006; 10: 132–143.
- [39]. Caruthers, S.D., Wickline, S.A., Lanza, G.M. Nanotechnological applications in medicine, 2007; 18: 26–30.
- [40]. Hullmann, A. Measuring and assessing the development of nanotechnology. Scientometrics, 2007; 70: 739–758.
- [41]. Belfennache, D.E. Elaboration et étude de nanoparticules Au/TiO<sub>2</sub> et Ag/TiO<sub>2</sub>, Thèse de Doctorat, Département de Physique, Université Mentouri, Constantine, 2012 ; 5-6.
- [42]. Sudrik, S., Chaki, N., Chavan, V., Chavan, S. Chem, 2006; 859-12.
- [43]. Yeo, S., Lee, H., Jeong, S., Mater. Sci, 2003; 38-2146.
- [44]. Berciaude, S., Cognet, L., Tamarat, P., Lounis, B. Nano, 2005 ; 5-515.
- [45]. Hahm, J., Lieber, C. Nano, 2004; 4-51.
- [46]. Cai, W.B., Chen, X. Propriété physique et chimique d'AgNPs, 2006 ; 6 (4)- 669.
- [47]. Gachard, E. Thèse de doctorat Université Bordeaux I, 1996.
- [48]. Souici, A.H. Thèse de Doctorat, Université Mentouri-Constantine, 2009.
- [49]. Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z.S., Chen, G. Nanoparticules d'argent : synthèse, propriétés et applications thérapeutiques. Découverte de drogue. Aujourd'hui, 2014 ; 20: 595–601.

- 
- [50]. Chitsazi, M.R., Korbekandi, H., Asghari, G., Bahri, N.R., Badii, A., Iravani, S. Synthesis of silver nanoparticles using methanol and dichloromethane extracts of *Pulicaria gnaphalodes*, 2016 ; 44:328–333.
- [51]. Wang, H., Qiao, X., Chen, J., Wang, X., Ding, S. Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles, 2005; 94:449–453.
- [52]. Guzmán, M.G., Dille, J., Godet, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity, 2009; 2:104–111.
- [53]. Tran, Q.H., Le, A.T. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives, 2013.
- [54]. Gajbhiye, M., Kesharwani, J., Ingle, A., Gade, A., Rai, M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole, 2009; 5:382–386.
- [55]. Chou, K.S., Ren, C.Y. Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method, 2000; 64:241–246.
- [56]. Jayaramudu, T., Raghavendra, directeur général., Varaprasad, K., Reddy, G.V.S., Reddy, A.B., Sudhakar, K., Sadiku, E.R. Préparation et caractérisation de particules d'argent nano stabilisées au poly (éthylène glycol) par un procédé de broyeur à boulets assisté mécano-chimique, 2015 ; 133.
- [57]. Zhang, H., Zou, G., Liu, L., Tong, H., Li, Y., Bai, H., Wu, A. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Large-Area Arc Discharge and Son application dans l'emballage électronique, 2016 ; 52 : 3375–3387.
- [58]. Mafuné, F., Kohno, J.Y., Takeda, Y., Kondow, T., Sawabe, H. Formation et contrôle de la taille des nanoparticules d'argent par ablation au laser en solution aqueuse, 2000 ; 104: 9111–9117.
- [59]. Tao, A., Sinsermsuksaku, P., *Angew. Chem. Int.*, 2006; 45-4597.
- [60]. Shirtcliffe, N., Nickel, U., Schneider, S. *Colloid Interface Sci.*, 1999; 211-122.
- [61]. Creighton, J., Blatchford, C., Albrecht, M. *Photochem.*, 1994; 60-605.
- [62]. Lee, P., Meisel, D., *Phys. Chem.*, 1982; 86-3391.
- [63]. Schneider, S. Halbing, P., Grau, H., Nickel, M. *Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1979; 75-790.
- [64]. Oliveira, M., Ugarte, D., Zarbin, A., 2005. *Colloid Interface Sci.* 292,429.
- [65]. Lou, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng Y, Wang Y, “The Role of Poly (ethylene glycol) in the Formation of Silver Nano-particles”. *J. Coll. and Inter. Science*, 288, 444, (2005).

- 
- [66]. Gumulya, Y., Boxall, NJ, Khaleque, HN, Santala, V., Carlson, RP, Kaksonen, AH, 2018. Dans une quête d'ingénierie des acidophiles pour les applications biominérales : défis et opportunités. *Gènes* 9(2), 116.
- [67]. Gobinath, R., Manasa, V., Rajendiran, S., Kumar, K., Paul, R., Basavaraj, K., Adsorption médiée par les nanoparticules de polluants : une voie vers l'atténuation de la pollution de l'environnement. Dans: *Microbial Rejuvenation of Polluted Environment*, 2021; 317-348.
- [68]. Yihui, H., Muhammad, M., Shichao, L., Jian, H., Liqi, Z., Chengping, Z., Yu, D., Peng, W., Zhengyang, Z., Shuming, N.O., Hui, W. Surface-Enhanced Raman Scattering Active Gold Nanoparticles with Enzyme-Mimicking Activities for Measuring Glucose and Lactate in Living Tissues, 2017.
- [69]. Mandal, D., Bolander, M.E., Mukhopadhyay, D., Sarkar, G., Mukherjee, P. L'utilisation de micro-organismes pour la formation de nanoparticules métalliques et leur application. 2006; 69: 485–492.
- [70]. Gudikandula, K., Vadapally, P., Charya, M.S. Synthèse biogénique de nanoparticules d'argent à partir de champignons de la pourriture blanche : leur caractérisation et leurs études antibactériennes. 2017; 64–78.
- [71]. Zeng, Q., Wen, H., Wen, Q., Chen, X., Wang, Y., Xuan, W., Wan, S. Virus de la mosaïque du concombre comme véhicule d'administration de médicaments pour la doxorubicine, 2013 ; 34 (19): 4632–4642.
- [72]. Yihui, H., Muhammad, M., Shichao, L., Jian, H., Liqi, Z., Chengping, Z., Yu, D., Peng, W., Zhengyang, Z., Shuming, N.O., Hui, W. Surface-Enhanced Raman Scattering Active Gold Nanoparticles with Enzyme-Mimicking Activities for Measuring Glucose and Lactate in Living Tissues, 2017.
- [73]. Mata, Y.N, Torres, E., Blazquez, M.L., Ballester, A., González, F.M.J.A., Munoz, J.A. Biosorption et bioréduction de l'or (III) avec l'algue brune *Fucus vesiculosus*, 2009 ; 166 (2–3) : 612–618.
- [74]. Yenumula, V.R., Nagadesi, P.K., Synthèse biogénique du nanomatériau de platine manufacturé : une revue, 2018 ; 3 : 216–220.
- [75]. Chaudhary, R., Nawaz, K., Khan, A.K., Hano, C., Abbasi, BH, Anjum, S. Un aperçu de la biosynthèse des nanoparticules par les algues et de leurs applications biomédicales. *Biomolécules*, 2020; 10 (11) : 1498.
- [76]. Chauvel, R. Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Pharmacie Université Claud Bernard Lyon, 2018 ; 1 : 105.
- [77]. Roy et Bharadvaja, 2017; Nagore et al., 2021; Mittal et Roy, 2021.



- 
- [78]. Bala Chaudhary, V., Sarah, N., Moisés, A., Hernández, S., Cameron, E., Jude K. Trait-based aerial dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi, 2020.
- [79]. Muhammad, R., Sadaf, I., Rafique, M., et al. A Review on Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology an International Journal*, 2016; 45(7): 1272- 1291.
- [80]. Dikshit, P.K., Kumar, J., Das, A.K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., Kim, B.S. Synthèse verte de nanoparticules métalliques : applications et limites, 2021; 11 (8) : 902.
- [81]. Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K., Poinern, G. E. J. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 2015; 8(11): 7278-7308.
- [82]. Shankar, S.S., Rai, A., Ankamwar, B., Singh, A., Ahmad, A., Sastry, M., *Nat. Mater.*, 2004; 3: 482.
- [83]. Andrieux-Ledier, A. Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques: contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2012.
- [84]. Andrieux-Ledier, A. Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques: contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2012.
- [85]. Hassan, P.A., Kulshreshtha, S.K. "Modification to the cumulant analysis of polydispersity in quasielastic light scattering data", *Journal of Colloid and Interface Science*, 2006; 300: 744-748.
- [86]. Hunter, R.J. In: *Foundations Colloid Science*, vol. Oxford 1. University Press, New York, 1986.
- [87]. Hirtzel, C., Rajagopalan, R. *Colloidal. Ilmiot: syventavat aiheet*. Noyes Publications, Park Ridge, NJ, 1985.
- [88]. Templeton, A., Wuelfing, W., Murray, R., *Acc. Chem. Res*, 2000; 33-27.
- [89]. Kora, A.J., Sashidhar, R.B. and Arunachalam, J. Gum Kondagogu (*Cochlospermum gossypium*): A Template for Green Synthesis and Stabilization of Silver Nanoparticles with Antibacterial Application. *Carbohydrate Polymers*, 2010; 82: 670-679.
- [90]. Sadeghi, B. and Gholamhoseinpoor, F. A Study on Stability and Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Ziziphora tenuior* (Zt) Extract at Room Temperature. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015; 134: 310-315.
- [91]. Rahimi-Nasrabadi, M., Pourmortazavi, S.M., Shandiz, S.A.S., Ahmadi, F. and Batooli, H. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Eucalyptus leucoxylon* Leaves Extract and Evaluating the Antioxidant Activities of the Extract. *Natural Product Research*, 2014; 28: 1964-1969.

- 
- [92]. Yang, N. and Li, W.H. Mango Peel Extract Mediated Novel Route or Synthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Application of Silver Nanoparticles Loaded onto Non-Woven Fibers. *Industrial Crops and Products*, 2013; 48: 81-88.
- [93]. Edison, T.J.I. and Sethuraman, M.G. Instant Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Terminalia chebula Fruit Extract and Evaluation of Their Catalytic Activity on Reduction of Methylene Blue. *Process Biochemistry*, 2012; 47, 1351-1357.
- [94]. Khalil, M.M.H., Ismail, E.H., El-Bhagdady, K.Z. and Mohamed, D. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Olive Leaf Extract and Its Antibacterial Activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 2014; 7: 1131-1139.
- [95]. Das, S.K., Khan, M.M.R., Guha, A.K., Das, A.K. and Mandal, A.B. Silver-NanoBiohybrid Material: Synthesis, Characterization and Application in Water Purification. *Bioresource Technology*, 2012; 124: 495- 499.
- [96]. Ashraf, S., Abbasi, A.Z., Pfeiffer, C., Hussain, S.Z., Khalid, Z.M., Gil, P.R., Parak, W.J. and Hussain, I. Protein-Mediated Synthesis, pH-Induced Reversible Agglomeration, Toxicity and Cellular Interaction of Silver Nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerphases*, 2013; 102: 511-518.
- [97]. Fadeel, B., Garcia-Bennett, A.E. Mieux vaut prévenir que guérir: comprendre les propriétés toxicologiques des nanoparticules inorganiques fabriquées pour des applications biomédicales, 2010; 62 (3): 362–374.
- [98]. Murray, k. S. Leaf Extract: An Efficient Green Multifunctional Agent for the Controlled Synthesis of Au Nanoparticles, *Sustainable Chem. Eng.*, 2014; 2: 652–664.
- [99]. Kavitha, K.S., Syed Baker, D., Rakshith, H.U., Kavitha, H.C., Yashwantha, R., Harini, B.P., Satish, S. *Int. Res. J. Biological Sci*, 2013; 2(6): 66-76.
- [100]. Rajeshkumar, S., Bharath, L.V. Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterization and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions Journal*, 2017.
- [101]. Belfennache, D. Elaboration et etude de nanoparticules Au/TiO<sub>2</sub> et Ag/TiO<sub>2</sub>. Thèse de Doctorat en Phasique. Faculté des Science Exactes Université Mentouri Constantine, 2010 ; 94.
- [102]. Tam, L. T., Phan, V.N., Lan H. et al. *Appl. Phys. A*, 2013; 113: 613-621.
- [103]. Jung, W.K., Kim, S.H., Koo, H.C., Shin, S., Kim, J.M., Park, Y.K., Hwang, S.Y., Yang, H. et Park, Y.H. Antifungal activity of the silver ion against contaminated fabric. *Mycoses*, 2007; 50(4): 265-269
- [104]. Arora, S., Jain, J., Rajwade, J.M. et Paknikar, K.M. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies, 2008; 179(2): 93-100.

- 
- [105]. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D.Y., Brunet, L., Liga, M.V., Li, D. et Alvarez, P.J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and Microbial control: potential applications and implications, 2008; 42(18): 4591-4602.
- [106]. Schrand, A.M., Braydich-Stolle, L.K., Schlager, J.J., Dai, L. et Hussain, S.M. Can silver nanoparticles be useful as potential biological labels? *Nanotechnology*, 2008; 19(23): 235104.
- [107]. Chen, X. et Schluesener, H.J. (Nanosilver: a nanoparticle medical application, 2008; 176(1): 1-12.
- [108]. Rajeshkumar, S., Bharath, L.V. Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterization and antibacterial activity, 2017.
- [109]. Textor, T., Fouda, M.M.G., Mahltig, B. *Appl. Surf. Sci.*, 2010; 256: 2337-2342.
- [110]. Zhang, X., Liu, Z., Shen, W., et al. *Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches*, 2016; 17 : 1534.
- [111]. Jain, P., and Pradeep, T. “Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter”, *Biotechnology and Bioengineering*, 2005; 90(1): 59–63.
- [112]. Alt, V. “An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement”, *Biomaterials*, 2004; 25: 4383–4391,
- [113]. Jannathul, M.F, Lalitha, P. "Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Applications", *Journal of Nanotechnology*, 2015; 18.
- [114]. Fu, J., Ji, J., Fan, D and Shen, J.” Construction of antibacterial multilayer films containing nanosilver via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan-silver ions complex”, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2006; 79(3): 665–674,
- [115]. Carolina, D.S., Marcelo, S., Avinach P., et al. *Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. Journal of pharmaceutical*, 2014.
- [116]. Sang, H., Jun, B., (Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine, 2019; 20: 865.
- [117]. Li, W., Xiao-Bao, X., Qing-Shan, S. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*, 2011; 24:135–141.
- [118]. Zhang, X., Liu, Z., Shen, W., et al. *Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches*, 2016.
- [119]. Thomas, J., Kuruvilla, K.M., Hrideek, T.K. *Handbook of herbs and spices*, 2012; 388-398.

- 
- [120]. Lin, L.Z., Sun, J., Chen, P. et Harnly, J. Analyse UHPLC-PDA-ESI/HRMS/MSN des anthocyanes, des glycosides de flavonol et des dérivés de l'acide hydroxycinnamique dans les feuilles de moutarde rouge (variété *Brassica juncea* coss). *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 2011 ; 59(22) :12059–12072.
- [121]. Campbell, B., Han, DY et Triggs, C.M. Brassicaceae, analyse des nutriments et enquête sur la tolérance chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn dans une étude néo-zélandaise. *Journal of Functional Foods in Health and Disease*, 2012; 2(11): 460–486.
- [122]. Jaiswal, S.K., Prakash, R., Acharya, R., Reddy, A.V.R et Prakasha, N.T. Teneur en sélénium des graines, de l'huile et des tourteaux de *Brassica juncea* (moutarde indienne) hyper accumulée au Se cultivée dans une région céléfifère de l'Inde. *Chimie alimentaire*, 2012; 134(1) : 401–404.
- [123]. Jie, M., Cheung, W.M., Yu, V., Zhou, Y., Tong, P.H et John, W.S. Activités antiprolifératives de la sinigrine sur l'hépatotoxicité induite par des cancérogènes chez le rat, 2014 ; 9(10) : 110–145.
- [124]. Lim, H.S., Park, K.O., Nishizawa, N., Bae, S.O et Choi, M.R. Cytotoxicité d'extraits de kimchi de moutarde en feuilles de dolsan traités avec des bactéries lactiques sur des cellules cancéreuses pulmonaires et gastriques. *Biotechnologie et génie des bioprocédés*, 2008 ; 13 : 174–181.
- [125]. Lim, S.H., Yoo, E.J et Choi, M.R. Modifications de l'activité physiologique de la feuille de moutarde au cours de sa période de fermentation. *Journal de microbiologie et de biotechnologie*, 2000 ; 10(1) : 43–47.
- [126]. Kim, Y.T., Kim, B.K et Park, K.Y. Effets antimutagènes et anticancéreux de la moutarde en feuilles et du kimchi en feuilles de moutarde. *Journal du coréen Société des sciences alimentaires et de la nutrition*, 2007 ; 12(2) : 84–88.
- [127]. Azzoug, S., Chentli, F.- *Revue Marocaine de Santé Publique- Pathogenie du Goitre Nodulaire*, 2015.
- [128]. Miceli, A., Aleom, A., Corona, O., Sardina, M. T., Caterina, M., & Settanni, L. Antibacterial activity of *Borago officinalis* and *Brassica juncea* aqueous extracts evaluated in vitro and in situ using different food model systems, 2014; 40: 157–164.

- 
- [129]. Krist, S. Vegetable Fats and Oils, Charlock Mustard Oil, 2020.
- [130]. Penchev, P. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, 2010.
- [131]. Owen, P. L., and Johns, T. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethno pharmacology*, 1999; 64(2): 149-160.
- [132]. Marian, L.N. Flavonoids and cancer prevention: What is the evidence in human? *Pharmaceutical Biology*, 2004; 42: 36-45.
- [133]. Deals-rakotoarison, D. Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier. Thèse de Doctorat. Université de Lille II. France, 1999; 172 -64.
- [134]. Charpentier, J.P., Boizot, N. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, 2006.
- [135]. Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., et al. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity, 2003; 73: 1667–81.
- [136]. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., et al. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids, 1995; 22: 375–83.
- [137]. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate an Lebensmittel-Wissenschaft und Technologies, 1995; 28: 25–30.
- [138]. Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, 2004; 26(2): 211-219.
- [139]. Ojwieja, M., Adamczyk, Z., Morga, M., Kubiak, K. Monocouches de particules d'argent — formation, stabilité, applications, 2015; 222: 530–63.
- [140]. Eisa, W.H., Zayed, M.F., Anis, B., Abbas, L.M., Ali, S.S.M., Mostafa, A.M. Production propre de nanoparticules d'argent pulvérulentes à l'aide de Zingiber officinale: les propriétés structurales et catalytiques, 2019; 241:118-398.
- [141]. Benomari, F.Z. Caractérisation chimique et activités biologiques des volatils de menthe aquatique. (Domrane) de l'ouest algérien, 2014.
- [142]. Golubović, T.D., Stojanović, G.S., Kitić, D.V., Zlatković, B.K., Pavlović, D.R., Jovanović, S.Č., Lazarević, J.S. Comparative study of the ethanol extracts of six Acinos

---

Miller species: chemical composition, antimicrobial and antioxidative activities.

Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2020; 48(1):53-65.

[143]. Hikmawanti, N.E., Fatmawati, S., Asri, A.W. The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of katuk (*Sauropus androgynous* (L.) Merr.) Leaves extracts. *Earth and Environmental Science*, 2021; 755:012060.

[144]. Widyaningrum, I., Wibisono, N., Kusumawati, A.H. Effect of extraction method on antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* of tapakliman (*Elephantopus scaber* L.) leaves. *International Journal of Health & Medical Sciences*, 2020; 3(1):105-110.

[145]. Miliuskas, G., Venskutonis, P.R., Van Bee, k .T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food Chem*, 2004; 85:231–7.

[146]. Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and redwine. *Food Chem*, 2003; 51:7292–5.

[147]. Hadbaoui, Z. Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE, 2012.

[148]. Khady, B., Emmanuel, T., Jacqueline, D., et al. Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 2009; 14:131–9.

[149]. Kang, D.G., Yun, C.K., Lee, H.S. Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *Ethnopharmacol*, 2003; 87:231–6.

[150]. Benchaachoua, A., Bessam, H. M., & Saidi, I. Effects of different extraction methods and solvents on the phenolic composition and antioxidant activity of *Silybum marianum* leave extracts. *Int. J. Med. Sci. Clin. Invent*, 2018; 5(3): 3641-3647.

[151]. Kaushik, R., Sarkar, C.K., Ghosh, C.K. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using parsley (*Petroselinum crispum*) leaf extract: spectral analysis of the particles and antibacterial study, 2014.