

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Mélange d'extrait d'ortie et sulfate d'argent : vers la
synthèse des nanomatériaux à base d'argent et leurs
activités biologiques**

Présenté par :

CHALANE ZAHRA

Soutenu publiquement, le 14 / 09 / 2017, devant le Jury composé de :

Mr : KADRI Aziz	Professeur	UMMTO	Président
Mr : MECHOUET Mourad	MCA	UMMTO	Encadreur
Mme : MOHELLEBI-BOUGHRARA Dalila	MCA	UMMTO	Examinatrice
Mme: MAZARI Tassadit	MCA	UMMTO	Examinatrice

2016/2017

Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire Physique et Chimie des matériaux (LPCM) de l'université Mouloud Mammeri.

Je tiens à remercier Mrs MECHOUET Mourad, Maitre de conférences A à l'Université Mouloud Mammeri, de m'avoir encadré, suivie avec intérêt l'avancement de mon travail. Je tiens également à le remercier pour son sérieux, sa droiture, ses qualités humaines, ainsi que la confiance qu'il a placée en moi, qui m'a servi de guide tout au long de ce travail. Qu'il veuille bien accepter mes profondes reconnaissances pour l'aide et les conseils qu'il m'a prodigué.

Je tiens à remercier vivement Mr MERZOUK Tahar ingénieur au laboratoire LPCM, dont j'ai beaucoup apprécié sa gentillesse et sa disponibilité sans oublier Mr. BOUDINAR

Je remercie madame MENSOUR Malika, maitre de conférence classe B, de m'avoir accueilli chaleureusement au sein de son laboratoire de production amélioration et protection des végétaux de la faculté des science biologique et agronomique de la faculté de l'UMMTO pour réaliser les essais antibactériens, sans oublié les autres membres de ce laboratoire pour l'aide qu'ils m'ont apportés, en nommant : AMAR KHOJA Nadia, CHEMMAM Hassiba et GHEZAL Lynda.

Je remercie également Youcef, M'hand, Thileliet Amel, qui n'ont pas cessé de me donner le courage pour faire aboutir ce travail. J'exprime, également, mon affection et ma reconnaissance à mes amis(es) de l'université UMMTO, avec qui j'ai passé des moments inoubliables, en citant, ci-après, quelques-uns et ceux que j'ai oubliés me pardonnent : BOUANEM Kathia, BETTOM Faroudja, ABAS Nadia, KHELIL Lyliya, LAMRANI Ahmed, BELAIDI Azouaw...

Enfin mes grands remerciements à mes chers parents pour leur soutien et leurs encouragements répétés pendant toute ces longues années d'études.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, à mes chers parents, que je remercie pour l'amour et la tendresse, qu'ils m'ont donné ainsi que le soutien, dont ils ont fait preuve toutes ces années. A mon unique frère, à mes sœurs et à toute ma famille, ainsi qu'à tous ceux qui comptent pour moi, pour leur présence et soutien de tous les instants.

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1

Partie théorique

Chapitre I : Etude bibliographie

I. Introduction et définition	2
I-1. Nanomatériaux :	2
I-2. Matériaux nanostructures	2
II. Domaines d'application	3
II-1. Activité antibactérienne des nanomatériaux	4
II-2 Evaluation de l'effet bactériostatique et bactéricide	4
III. Risques liés aux nanomatériaux	5
IV. Caractérisation des nanomatériaux	5
IV-1. Diffraction des rayons X (DRX)	5
IV-2. Microscopie électronique à balayage (MEB)	5
IV-3. Microscopie électronique à transmission (MET)	6
IV-4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	6
IV-5. Spectroscopie UV-visible :	6
V. Méthodes de fabrication des nanomatériaux	6
V-1. Approches utilisées	6
V-2. Méthodes de synthèse utilisées	7
V-2-1. Physique	7
V-2-2. Chimique	7
V-2-3. Biosynthèse	7
VI- Généralité sur l'ortie	7
VI-1. Familles des lamiacées	8
VI-2. Familles des urticacées	8
VII. Conclusion	9

Partie experimental

Partie I : Tentative de biosynthèse de nanomatériaux à base d'argent

I. Introduction.....	10
II. Préparation des réactifs.....	10
II-1. Préparation de l'extrait d'ortie.....	10
II-2. Préparation de la solution mère d'Ag ₂ SO ₄	11
III. Paramètres expérimentaux explorables dans le cas d'une biosynthèse	11
III-1. Mélange traité à différentes températures	11
III-1-1. Couleur des solutions après le traitement thermique.....	11
III-1-2. Etude par conductimétrie et pH-métrie :	13
III-1-3. Etudes par UV-visible	14
III-1-4. Etude par microscope électronique à balayage (MEB)	15
III-1-5. Conclusion :	18
III-2. Etude cinétique de la réaction entre Ag ₂ SO ₄ et l'extrait d'ortie.....	18
III-2-1. Etude cinétique en traitant la solution à 20 °C	18
III-2-1-1. Etude par conductimétrie et pH-métrie	19
III-2-1-2. Etude par UV-visible.....	20
III-2-1-3. Etude par microscope électronique a balayage	20
III-2-2. Etude cinétique en traitant la solution à 80 °C	23
III-2-2-1. Etude par conductimétrie et pH-métrie	23
III-2-2-2. Etude par microscope électronique a balayage	24
III-2-2-3. Etude par UV-visible.....	26
III-2-2-4 Conclusion.....	26
III-2-3. Conclusion	27

Partie II : Activité biologique des nanomatériaux à base d'argent

I. Introduction.....	27
II- Tests microbiologiques	27
II-1. Souches microbiennes utilisées.....	27
II-2. Milieu de culture utilisé.....	28
II-3. Préparation de l'inoculum bactérien.....	28
II-4. Diffusion sur le milieu gélosé.....	28

II.5. Effet antibactériens des solutions de l'étude sur E .coli et Bacillus cereus.....	28
III. Conclusion	33
Conclusion générale.....	34
Références bibliographiques	

Liste des figures

Page

Figure. I. 1 : Urticadioica.....	8
Figure .II. 1: Protocole adopté pour préparer l'extrait d'ortie.....	10
Figure. II. 2 : Couleur du mélange après 7 jours de conservation après traitement thermique réalisé à une température donnée (20°C, 40°C, 60°C et 80°C).....	12
Figure. II. 3: Evolution de la conductivité avant et après le traitement thermique à une température donnée (20, 40, 60 et 80°C).....	13
Figure. II. 4 : Spectres UV-visible du mélange 4 fois dilué correspondant au mélange avant et après le traitement thermique (20, 40, 60 et 80°C).....	14
Figure. II. 5 (a) : Images MEB du mélange en mode BSE avant et après le traitement thermique (20°C, 40°C, 60°C).....	16
Figure. II. 5 (b) : Images MEB du mélange en mode BSE avant et après le traitement thermique à (80°C).....	17
Figure. II. 6 : Spectres UV-Visible correspondant au mélange avant et après le traitement thermique 20°C en variant sa durée	20
Figure. II. 7 (a): Images MEB du mélange en mode BSE, en fonction de la durée du traitement à 20°C.....	21
Figure. II. 7 (b): Images MEB du mélange en mode BSE, en fonction de la durée du traitement à 20°C.....	22
Figure. II. 8 : Evolution de la conductivité du mélange traité à 80°C, en fonction de sa durée.....	24
Figure. II. 9 : Images MEB du mélange en mode BSE, en fonction de la durée du traitement à 80°C.....	25
Figure. II. 10 : Spectres UV-Visible correspondant au mélange avant et après le traitement thermique à 80°C, en variant sa durée.....	26
Figure. III. 1 : Résultat de l'effet antibactrien des solutions de synthèse et témoins sur les deux souches utilisées.....	30

Liste des tableaux

Tableau. I. 1 : Exemples d'application des nanomatériaux selon le domaine	3
Tableau. II. 1 : Couleurs du mélange avant et après le traitement thermique (20, 40, 60 et 80°C)	12
Tableau. II. 2 : Valeurs du pH avant et après traitement thermique à une température donnée.	13
Tableau. II. 3 : Les valeurs du pH et de la conductivité du mélange extrait d'ortie et de sel d'argent traité à 20°C, en fonction de sa durée	19
Tableau. II. 4 : Valeurs du pH et de la conductivité d'un mélange traité à 80°C, en fonction de sa durée	23
Tableau . III. 1 : Effet antibactérien de nos échantillons sur E. coli	31
Tableau. III. 2 : Effet antibactérien de nos échantillons sur Bacillus cereus	32

Liste des abréviations

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

MEB : Microscope électronique à balayage

MET : Microscope électronique à transmission

DRX : Diffraction des rayons X

Ort : Ortie

d4 : Quatre fois dilué

h : Heure

pH : Potentiel hydrogène

nm : Nanomètre

min : Minute

DO : densité optique

GSE : Gaz secondary electrons (électrons secondaires)

BSE : Back scattering electrons (électrons rétrodiffusés)

Les nanotechnologies constituent un champ de recherche et de développement technologique impliquant la fabrication de structures, de dispositifs et de systèmes de taille nanométriques, recelant un potentiel considérable dans divers secteurs

La synthèse des nanoparticules métalliques fait l'objet de nombreux travaux de recherche en raison de leurs excellentes propriétés optiques et électroniques. En particulier, les nanoparticules d'argent présentent un intérêt majeur, dû entre autres, à leurs effets antibactériens. La synthèse de ces matériaux est réalisée par des méthodes physiques ou chimiques, lesquelles sont souvent coûteuses et compliquées à mettre en place et surtout nuisible à l'environnement. Afin d'y remédier, des efforts ont été fournis afin d'améliorer ces méthodes et d'en développer d'autres, notamment celle qu'on qualifie de verte appelée biosynthèse à laquelle nous nous sommes intéressés au cours de ce travail.

Nous avons alors adopté cette méthode pour obtenir des nanomatériaux à base d'argent en faisant subir un traitement thermique à un mélange d'extrait d'ortie et de sel d'argent (Ag_2SO_4).

Nous avons réparties notre manuscrit en deux chapitres. Le **1^{er} chapitre** est consacré à une introduction sur les nanotechnologies et les nanosciences, les méthodes d'élaboration et de caractérisations des nanomatériaux ainsi que leurs potentiels d'applications dans divers domaines, tout en abordant leurs probable toxicité à traves quelques études épidémiologiques réalisées. A la fin de ce chapitre, nous donnerons une description de l'ortie et plus particulièrement l'ortie utilisée, c'est à dire *urtica dioïca*. Dans le **2^{ème} chapitre** nous nous somme basé essentiellement sur la partie expérimentale ou nous avons adopter un protocole expérimental, permettant d'atteindre l'objectif assigné qui n'est autre que la biosynthèse de nanomatériau d'argent à partir d'un extrait *urtica dioïca* mélangée avec le sel d'argent en faisant varier quelques paramètres expérimentaux. Dans le cas ou la biosynthèse est fructueuse, nous allons alors évaluer l'activité biologique des nanomatériaux obtenus.

Ce manuscrit est finalisé par une conclusion générale et des perspectives.

I. Introduction et définition

Les nanotechnologies et les nanosciences, au fort potentiel de développement, sont apparus ces dernières années, grâce à la mise au point de nouvelles techniques permettant de concevoir et étudier des matériaux à l'échelle nanométrique. Cependant, il est difficile de définir ces nouveaux domaines, tant les découvertes et les avancées technologiques vont bon train. Cependant, nous allons tenter de donner, ci-dessous, quelques concepts majeurs permettant de cerner ces domaines [1].

Les Nanosciences, sont les sciences qui visent à étudier et à comprendre les propriétés de la matière à l'échelle de l'atome et de la molécule. Alors que, leur assemblage, caractérisation et manipulation, fait l'objet des Nanotechnologies [1].

I-1. Nanomatériaux

Ce sont des matériaux dont une, deux ou trois dimensions externes se situent à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire approximativement entre 1 et 100 nm.

- ✚ Si les trois dimensions externes se situent à l'échelle nanométrique, on parle de **nanoparticules**.
- ✚ Pour deux dimensions externes situées à l'échelle nanométrique, on parle de **nano-fibres, nano-tubes, nano-filaments ou nano-bâtonnets**.
- ✚ Enfin pour une dimension externe située à l'échelle nanométrique, on parle plutôt de **nano-feuillets, nano-plats et nano-plaquettes** [2].

I-2. Matériaux nanostructures

Ce sont des matériaux qui possèdent une structure interne, ou de surface, à l'échelle nanométrique, parmi ces matériaux on peut citer, les **agglomérats de nano-objets, les nano-composites** et enfin les **matériaux nano-poreux** [2].

Ouvrant indubitablement des perspectives très prometteuses, les nanomatériaux se sont déjà immiscés dans notre environnement quotidien. Différents secteurs d'activité utilisent ou projet d'utiliser les nanomatériaux pour diverses applications, dont les plus importantes sont présentes dans le tableau I.1 ci-dessous :

II. Domaines d'application**Tableau. I.1 : Exemples d'application des nanomatériaux selon le domaine**

Secteurs d'activité	Exemples d'applications actuelles et envisagées
Automobile aéronautique et espaces	Peinture extérieure avec effets de couleurs plus brillante, matériaux renforcés et plus légers, capteurs optimisant les performances des moteurs, détecteur de glace sur les ailes des avions, additifs pour diesel permettant une meilleur combustion.
Chimie et matériaux	Pigment, poudre céramique, inhibiteur de corrosion, textiles et revêtements antibactériennes et ultra-résistants.
Pharmacie, biomédical, et Biotechnologies	Médicaments et agents actifs, médicaments délivrés localement dans un organe donné, surfaces biocompatibles avec les implants, vaccins oraux, membranes pour dialyse, capteurs multifonctionnels, analyses d'ADN, nano-vecteur pour le transfert des gènes, propriétés antibactériennes et antifongiques.
Cosmétique	Crèmes solaires transparentes, maquillages et notamment rouge à lèvres avec une meilleure tenue.
Energie	Matériau isolant plus efficace, nouveaux types de batteries, fenêtres intelligentes, cellules photovoltaïques de nouvelle génération.
Environnement et écologie	Diminution des émissions de dioxyde de carbone, analyseurs chimiques spécifiques, couche non toxique fonctionnelle pour des capteurs utilisés dans la dépollution environnementale, production d'eau ultra-pure à partir de l'eau de mer.

II-1. Activité antibactérienne des nanomatériaux

Parmi les applications potentielles citées ci-dessus, les propriétés antibactériennes à l'usage médicamenteux présentent un intérêt certain pour la santé publique. En effet, le mésusage des antibiotiques les rend de moins en moins efficaces, par rapport aux souches bactériennes de plus en plus résistantes. Ceci constitue un problème de santé à l'échelle mondiale. Il est alors apparu l'idée d'exploiter les nanoparticules, notamment à base d'argent, pour remplacer ces médicaments ou bien d'en augmenter l'efficacité, par synergie. Les méthodes permettant de les évaluer sont présentées ci-dessous [3].

II-2. Evaluation de l'effet bactériostatique et bactéricide

L'activité d'une ou plusieurs molécules d'origine naturelle ou synthétique, à très faible concentration, dont l'effet est d'inhiber le développement d'une ou plusieurs bactéries est appelé effet bactériostatique, alors que celui qui les tue est appelé effet bactéricide. Avant d'évaluer ces effets avec une méthode, dont les principales sont citées ci-dessous, il est indispensable de choisir le ou les souches bactériennes à tester.

- **La méthode de dilution:** Cette méthode est souvent utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice [4].
- **La méthode de disque:** Elle sert principalement à réaliser l'antibiogramme, c.-à-d. tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques [5]. Dans notre cas, nous allons tester les nanomatériaux à base d'argent, si leurs préparations sont fructueuses. La réalisation de ce type de test se fait selon les étapes successives suivantes :
 - a. Préparation de la culture jeune (pré-culture bactérienne)
 - b. Préparation des suspensions bactériennes
 - c. Tests de l'activité antibactérienne en réalisant 3 essais différents.

Malgré leurs effets pouvant être bénéfiques pour nous, il n'en demeure pas moins que ces matériaux sont controversés quant à leurs innocuités pour la santé humaine et sur l'environnement, mais sans en apporter des éléments décisifs. En effet, il existe peu de données épidémiologiques, dont quelques-unes tentant à les mettre en cause, sont citées ci-après.

III. Risques liés aux nanomatériaux

La dangerosité de ces matériaux est principalement liée à leurs tailles, pouvant pénétrer dans l'organisme avec une plus au moins grande facilité et ce par différentes voies : respiratoire, cutané et digestive. En plus, de leurs possibles toxicités intrinsèques, certains nanomatériaux peuvent être des vecteurs pour des toxines d'origine environnementale.

- Dans son rapport intitulé « Évaluation des risques liés aux nanomatériaux » publié en mai 2014, l'Anses a mis en évidence les effets des nanoparticules sur la santé humaine: effets cancérigènes, retards de croissance des anomalies ou malformations, des troubles neurologiques, des phénomènes d'immunosuppression des réactions d'hypersensibilité et d'allergie. [6].
- Des études suggèrent que les nanoparticules induisent diverses pathologies: bronchite chronique, fibrose pulmonaire, cancer du poumon, troubles cardiovasculaires et maladies neurodégénératives [7].
- En ce qui concerne le contact avec la peau (solvants, pesticides, crèmes) l'étude menée sur des souris indique que l'oxyde de titane induirait des dommages au niveau des chromosomes et des ruptures des brins d'ADN, pouvant augmenter le risque de développer un cancer [8].

Ces matériaux peuvent aussi entraîner des effets néfastes sur l'environnement, pouvant avoir, notamment, un effet antimicrobien sur ceux présentant une utilité pour les organismes vivants, dont l'Homme [9].

Mise à part les effets qu'ils peuvent engendrer, les nanomatériaux sont susceptibles d'être utilisés dans tous les domaines susceptibles de faire l'objet d'applications industrielles. Ils véhiculent de grands espoirs en matière d'amélioration des techniques médicales, d'économies d'énergie, d'armement, mais également au quotidien dans les textiles, les cosmétiques ou l'automobile.

IV. Caractérisation des nanomatériaux

Plusieurs techniques sont utilisées telles que :

IV-1. Diffraction des rayons X (DRX)

L'application principale de l'analyse par diffraction X permet d'identifier un composé pur ou bien une solution solide, dont la structure doit être au moins semi-cristalline, en évaluant les paramètres cristallographiques.

IV-2. Microscopie électronique à balayage (MEB)

C'est une technique couramment utilisée, car la manipulation de ce type d'appareillage est assez triviale, dont la résolution reste assez bonne, variant 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.

IV-3. Microscopie électronique à transmission (MET)

C'est une technique très performante pour l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique, dont la résolution est bien meilleure que celle du MEB, se situant entre 0.1 et 1 nm. Cependant sa manipulation reste délicate. Elle permet de déterminer la morphologie, la taille et de caractériser la cristallinité de l'échantillon.

La différence entre DRX et MET c'est la taille

IV-4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Cette technique spectroscopique est très utilisée pour caractériser les molécules. Elle est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge, lequel se traduit par des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, permettant d'identifier la structure développée de l'échantillon étudié.

IV-5. Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-visible est la plus facile à mettre en œuvre et permet, entre autres, de fournir des informations sur la présence ou l'absence du groupe fonctionnelle insaturé et estimer la concentration d'un composé. Cependant, ce n'est pas une méthode de caractérisation de choix. Elle est basée sur la propriété des molécules à absorber des radiations lumineuses à une longueur d'onde donnée, allant du domaine du visible vers le domaine Ultra Violet.

V. Méthodes de fabrication des nanomatériaux

V-1. Approches utilisées

Les nanomatériaux sont élaborés selon deux approches différentes:

- a) **L'approche «ascendante»** bottom-up, consiste à assembler des composants élémentaires (atomes, molécules, agrégats) pour fabriquer des structures plus complexes.

- b) **L'approche «descendante»** top-down, consiste à miniaturiser des objets déjà existants de taille micro ou macrométrique pour se rapprocher des dimensions nanométriques [1].

Quelque soit l'approche adoptée les méthodes de synthèses sont subdivisées en deux grandes catégories :

V-2.Méthodes de synthèse utilisées

V-2-1. Physique

Elle regroupe plusieurs méthodes telles que : le laser pulsé, utilisée dans la synthèse des nanoparticules d'argent, le Ablation laser, la Pyrolyse laser, Plasma par arc électrique, implantation ionique et le dépôt physique en phase vapeur (PVD). Cette dernière offre la simplicité mais ne favorise pas le contrôle de la taille et la forme [1].

V-2-2. Chimique

Les techniques de fabrication par voie chimique les plus couramment utilisées sont sol-gel aqueux et non aqueux, Les micelles inverses, (elle permet un meilleur contrôle de la taille et de la forme), la Précipitation, la Co-précipitation [1]

Mise appart ces méthodes il existe d'autre tel que : la photochimie, microonde, radiation d'électron et la radiation UV – visible

Les méthodes de synthèse décrites jusque-là, sont assez laborieuses et économiquement coûteuses. De plus, elles sont sources de pollutions environnementales considérables. Comme alternatives écologiques, et même économiques, d'autres méthodes ont vu le jour telle que la biosynthèse, utilisant des organismes vivants appartenant à la faune et la flore : les bactéries, les virus, des plantes et des sous-plantes ou bien encore leurs extraits.

V-2-3. Biosynthèse

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à cette approche, en utilisant un extrait d'ortie, dans le but d'obtenir des nanomatériaux à base d'argent.

VI. Généralités sur l'ortie

Cette plante fait partie des plantes nitrophiles c.-à-d. besoin d'azote. Elle aime tous les sols, surtout ceux contenant des matières organiques fraîches. On les rencontre dans les haies,

les chemins, les coupes des bois, dans les champs. Les orties sont subdivisées en deux grandes familles: les **lamiacées** et les **Urticacées** [9].

VI-1. Famille des lamiacées

D'autant, cette famille porte le nom de labiées. Elles sont dépourvues de poils urticants et comportent de belles et grandes fleurs de différentes couleurs (blanches, jaunes, rouges, roses ou bleues), selon l'espèce. La plupart d'entre elles sont «aromatiques» avec une odeur vraiment répugnante et fétide, à l'exception de la lavande, romarin, mélisse et le basilic, appartenant toutes à cette famille.

Au cours de ce travail, nous nous sommes plutôt intéressés à la famille des urticacées, présentées ci-dessous.

VI-2. Famille des urticacées

Le fait de toucher l'ortie provoque des brûlures et des irritations de la peau, d'où le nom d'origine latine « urticaire » signifiant «celle qui brûle». Cette famille comporte 1000 espèces vivantes dans des régions plutôt chaudes, dont la taille varie de quelques centimètres jusqu'à une vingtaine de mètres. Parmi toutes les espèces d'ortie, nous avons choisi de travailler avec l'ortie dioïca (Figure. I.4), portant des feuilles opposées vertes sombres à fortes dents triangulaires.



Figure. I. 1 : Urtica dioïca

VI-2-1. Usage des urticacées

En plus de sa forte valeur nutritive (voir annexe 1), l'ortie fait l'objet de nombreuses applications en phytothérapie et elle est notamment recommandée pour :

- Traiter l'eczéma, l'arthrite, l'anémie, les allergies, l'asthme, les hémorroïdes, anti-diarrhéique, les piqûres d'insectes et stimulent la montée de lait.
 - Arrêter les saignements de nez ou des plaies.
 - La racine d'ortie, bouillie dans du vinaigre, constitue un excellent tonique du cuir chevelu, contre la chute des cheveux et les pellicules.
-
- L'ortie est utilisée traditionnellement dans la société Kabyle, pour lutter contre l'asthénie et comme reminéralisant, compte tenu de sa forte teneur en chlorophylle, minéraux et vitamines.
 - L'ortie séchée est un fourrage de première qualité et les anciens récoltaient les orties pour les donner, aux vaches, et aux volailles.
 - Elle est aussi utilisée pour l'alimentation humaine.
 - Les jeunes feuilles d'orties peuvent être consommées en salade, en soupe, en purée et en légumes comme les épinards
 - Il semble que les plantes qui poussent dans le voisinage de l'ortie dioïque sont plus résistantes aux insectes. Elle favorise la croissance de certaines plantes comme la menthe et les tomates.
 - utilisée dans l'agriculture.

VII. Conclusion

Les nanotechnologies constituent un champ de recherches à fort potentiel de développements, dont la fabrication constitue l'étape cruciale, tant pour la pollution qu'elle peut engendrer, que par son coût économique. On retrouve ses inconvénients dans les méthodes physiques et chimiques actuellement utilisées, alors que la biosynthèse peut en être dépourvue. Nous avons alors adopté cette voie, en utilisant un extrait d'ortie dioïca en présence d'un sel d'argent, pour explorer la possibilité d'obtenir des nanomatériaux, ce qui constitue le but ultime de ce travail.

I. Introduction

Le but de ce travail est l'obtention des nanomatériaux à base d'argent à l'aide d'un extrait d'ortie. Comme premier objectif, il s'agissait pour nous de mettre en évidence l'existence d'une éventuelle réaction entre ces deux réactifs, nous avons alors préparé l'extrait d'ortie en adoptant un protocole suivant puis mélangé à un sel d'argent, le mélange ainsi formé a subi un traitement thermique, dont la couleur a été appréhendée. Un changement de ce paramètre, pourrait résulter d'une réaction, ce qui justifierait ainsi l'utilisation de techniques de caractérisations proprement dits pour confirmer cette réaction, d'une part, et d'autre part, voir si elle s'accompagne de la formation d'un matériau à base d'argent.

Avant d'exposer les résultats obtenus nous allons initialement vous présenter le mode opératoire choisi pour préparer l'extrait d'ortie.

II. Préparation des réactifs

II-1. Préparation de l'extrait d'ortie

Notre premier réactif est un extrait à base d'ortie, laquelle a été récoltée au lieu dit Zoubga, situé dans la commune d'Illilten, en grande Kabylie. Cette plante a subi différentes étapes dans le but d'obtenir un extrait (figure II-1).



Rinçage



Séchage



Filtrations



Extrait d'ortie

Figure . II. 1: Protocole adopté pour préparer l'extrait d'ortie

Concérant le séchage il à pour but de faire de sorte que cette expérimentation soit reproductible

En plus de cet extrait, nous avons aussi préparé une solution mère de sel d'argent.

II-2. Préparation de la solution mère d'Ag₂SO₄

Une solution mère d'Ag₂SO₄ de concentration 10⁻³ mol/L a été préparée et utilisée tout au long de cette étude.

Une fois les deux réactifs sont à notre disposition, nous les avons alors mélangé, dont les conditions expérimentales sont exposés ci-dessous.

III. Paramètres expérimentaux explorables dans le cas d'une biosynthèse

La biosynthèse est réalisée en variant plusieurs paramètres expérimentaux, tels que la méthode d'extraction (chauffage, aspiration...), température du traitement thermique et sa durée, la proportion des deux réactifs et l'ajout d'additifs dans le milieu, le pH et la vitesse d'agitation...

Dans notre cas, nous avons choisi de faire varier la température du traitement thermique d'un mélange de 1 mL de sel d'argent + 10 mL de l'extrait d'ortie, dont la composition est gardée constante toute au long de ce travail. Les résultats sont progressivement exposés et discutés lors des parties suivantes.

III-1. Mélange traité à différentes températures

Nous avons préparé 4 béchers, contenant chacun un mélange d'extrait d'ortie et de sulfate d'argent. Chacun d'entre eux a été couvert avec du papier aluminium et traité pendant 1 heure de temps en lui imposant une température donnée choisie parmi la liste ci-contre : 20, 40, 60 et 80 °C.

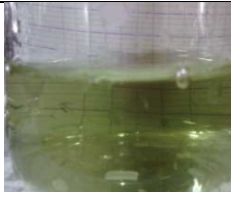




Nous notons que pour travailler à 20 °c, nous avons chauffé puis ajouté de la glace dans le cristalliseur a fin de baisser la température et la maintenir à 20 °c

III-1-1. Couleurs des solutions après le traitement thermique

Les couleurs de la solution du mélange et celles observées après le traitement thermique en imposant une température donnée, sont regroupées dans le tableau II-1.

Tableau. II. 1 : Couleurs du mélange:

Avant et après le traitement thermique (20, 40, 60 et 80°C).

				
Le mélange à t=ambiante	Après 1h à 20°C	Après 1h à 40°C	Après 1h à 60°C	Après 1h à 80°C

Avant le traitement thermique le mélange présente une couleur vert clair. Alors que, celle-ci change après le traitement thermique, et ce quel que soit la température adoptée, dont la couleur reste stable même après 7 jours de conservation (figure. II. 2). De plus, nous avons constaté que plus la température augmente, plus la solution devient foncée et elle passe d'une couleur vert olive vers une couleur marron claire puis foncée, lorsque elle subit un traitement à 20, 60 et à 80°C, respectivement.



Figure. II. 2 : Couleurs du mélange après 7 jours de conservation après traitement thermique réalisé à une température donnée (20°C, 40°C, 60°C et 80°C).

La graduation de la couleur obtenue, laisse penser qu'il existe bien une réaction entre les deux réactifs, dont la cinétique est probablement lente, car à 20°C le mélange ne présente qu'une couleur nuancée par rapport à celle observée avant le traitement. Ce point sera discuté ultérieurement.

Par ailleurs, ce constat visuel n'a de valeur que s'il est conforté par des résultats faisant appel à des techniques expérimentales dont nous allons faire appelle lors des parties suivantes.

III-1-2. Etude par conductimétrie et pH-métrie :

Pour chaque mélange étudié, les valeurs du pH sont regroupées dans le tableau. II. 2, alors que celles de la conductivité sont tracées sur la Figure. II. 3.

Tableau. II. 2 : Valeurs du pH avant et après traitement thermique à une température donnée.

		pH
Avant traitement thermique		6
Traitement thermique pendant 1heur	20 °C	7
	40 °C	7
	60 °C	7
	80 °C	8

Le pH du mélange avant traitement thermique, indique que la solution est légèrement acide (pH=6), alors que ce paramètre devient plutôt neutre en travaillant à 20, 40 et 60°C, voir basique avec 80°C. Il est, par conséquent, claire que le pH augmente, indiquant la participation des ions H^+ lors de la biosynthèse. De plus, ce paramètre est probablement bien plus basique. En effet, en travaillant avec des températures élevées, l'évaporation de l'eau devenant significative, rendant la solution plus concentrée par rapport à celle d'avant traitement, ce qui fait baisser artificiellement le pH par rapport aux valeurs reportées dans le tableau.

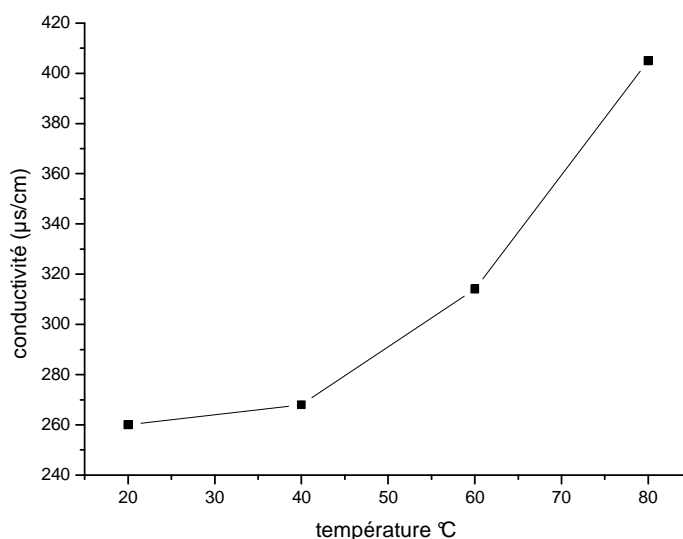


Figure. II. 3: Evolution de la conductivité avant et après le traitement thermique à une température donnée (20, 40, 60 et 80°C).

Dans le cas de la conductivité, en faisant augmenter la température du traitement thermique, nous notons qu'il ya une augmentation de la conductivité du mélange. Ce phénomène ne s'explique que par la génération d'un composé chargé, contribuant à la

conductivité totale du mélange. Nous pouvons alors légitimement supposer, que la réaction entre l'extrait d'ortie et le sel d'argent abouti à la formation d'un matériau portant une charge.

III-1-3. Etudes par UV-visible

Une acquisition spectrale dans la gamme souhaitée a été lancée et le spectre enregistré pour chaque solution 4 fois diluée avant analyse, est présenté sur la figure. II. 4. suivante :

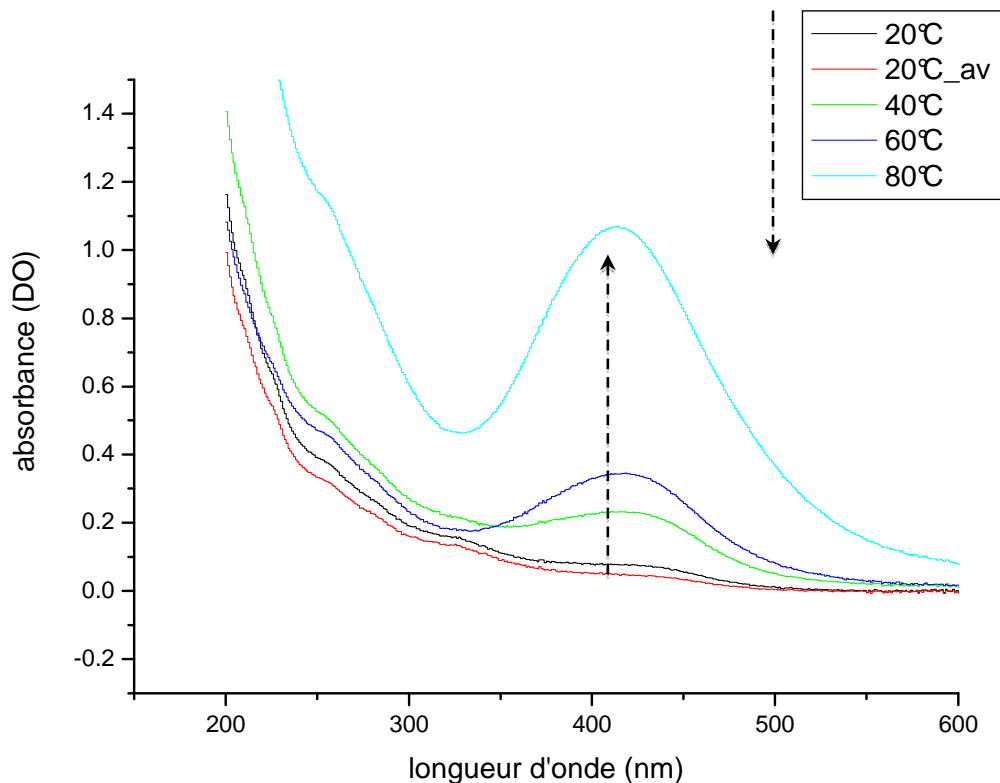
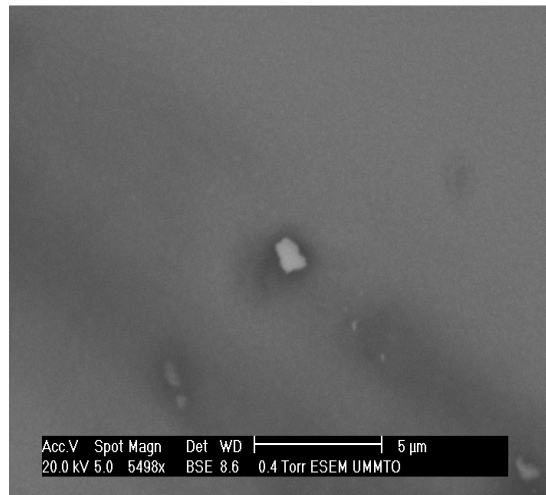
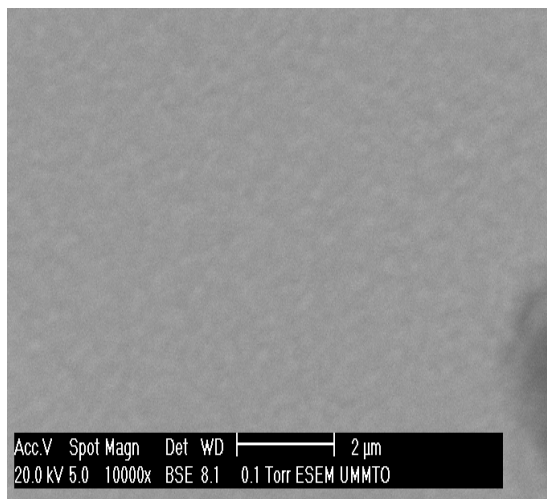


Figure. II. 4 : Spectres UV-visible du mélange 4 fois dilué correspondant au mélange : Avant et après le traitement thermique (20, 40, 60 et 80°C).

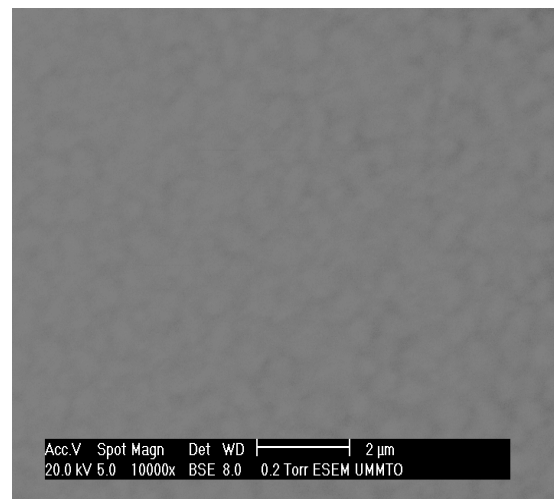
Les spectres reportés sur la figure II.4, sont similaires avec un maximum d'absorption situé vers 412 nm et dont la D.O augmente à mesure que la température du traitement thermique augmente. Ce résultat est attendu, compte tenu de la gradation de la couleur avec la température du traitement observée précédemment et donc sa D.O doit, par conséquent, augmenter. Un comportement similaire a déjà été rapporté en mélangeant le sel d'argent (AgNO_3) et l'extrait de peau de banane [11]. En effet, ces auteurs rapportent une augmentation de la D.O à 414 nm avec température du traitement, ce qui correspond à l'augmentation de la taille des nanoparticules d'argent formées. Ceci expliquerait-il les variations de la D.O observée dans notre cas? A savoir, le nombre et/ou la forme peuvent



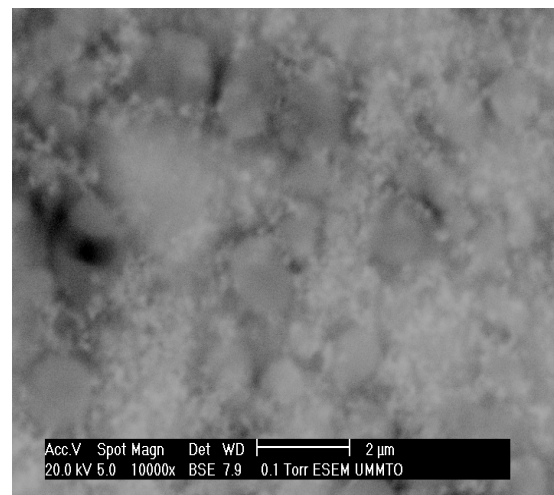
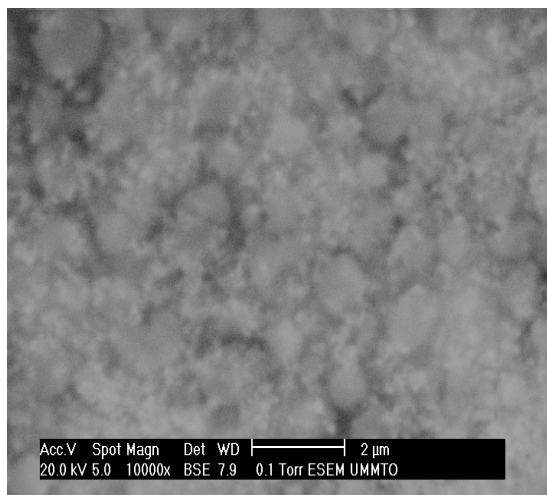
Traitement thermique à 20°C



Traitement thermique à 40°C



Traitement thermique à 60°C



Traitement thermique à 80°C

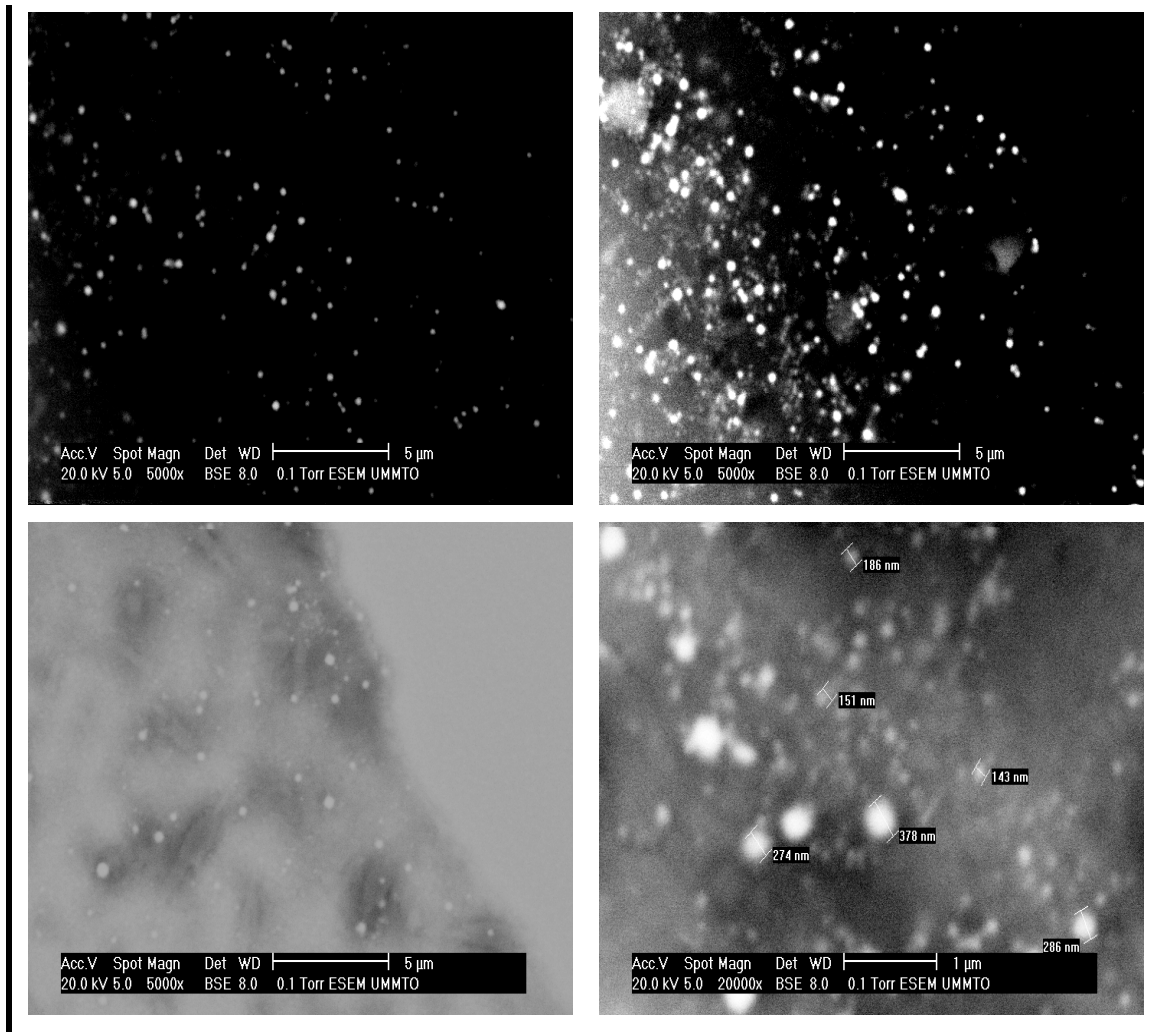


Figure. II. 5 (b) : Images MEB du mélange en mode BSE avant et après le traitement thermique à 80°C.

En comparant les images MEB obtenues pour des températures de traitement thermique différentes, nous pouvons noter les points suivants.

- Formation des nanoparticules à base d'argent de forme sphérique, car ce matériau apparaît en surbrillance en mode BSE et dont la forme ne dépend pas de la température du traitement appliquée.
- Il existe une corrélation directe entre la taille moyenne des particules avec la température.

Remarque: Il faut tout de même nuancer les résultats MEB, en disant que c'est une analyse plutôt locale et ne reflète pas l'ensemble de l'échantillon. Il faut pour cela faire appel au microscope électronique à transmission (MET)

III-1-5. Conclusion

Un traitement thermique d'un mélange constitué de 1 mL de sel d'argent + 10 mL de l'extrait d'ortie à une température donnée choisie parmi la liste ci-contre (20, 40, 60, 80°C), provoque dans tous les cas une réaction entre les deux réactifs avec une cinétique probablement lente et faisant intervenir des ions H^+ . En augmentant la température du traitement thermique, les solutions ainsi formées présentent une couleur de plus en plus foncée, se traduisant par un effet hyperchrome à 412 nm, dont l'origine est l'obtention de nanoparticules d'argent probablement chargée, dont la taille moyenne sont de plus en plus grande, alors que dans tous les cas elles présentent une forme sphériques.

Les études menées jusque-là, indiquent une réaction entres les deux réactifs plutôt lente, dont nous allons essayer d'en évaluer les paramètres en travaillant à une température donnée et faire varier sa durée. De plus, cette étude nous permettra de voir l'influence du traitement thermique sur la forme, la taille ainsi que sur la quantité des nanomatériaux formés.

III-2. Etude cinétique de la réaction entre Ag_2SO_4 et l'extrait d'ortie

En reprend le même protocole décrit précédemment, nous avons choisi de travailler avec deux températures la plus basses et la plus élevée c'est à dire. 20°C et 80°C, pour réaliser une étude cinétique. Nous avons préparé un volume de 200 mL du mélange (sel d'argent+extrait d'ortie), lequel subit un traitement thermique et à chaque 15 min, la solution a été caractérisée comme précédemment, dont les résultats sont présentés ci-dessous.

III-2-1. Etude cinétique en traitant la solution à 20 °C

III-2-1-1. Etude par conductimétrie et pH-métrie

Les valeurs du pH des prélèvements effectués toutes les 15 min durant le traitement thermique à 20°C, sont reportées dans le tableau. II. 3.

Tableau. II. 3 : Les valeurs du pH et de la conductivité du mélange extrait d'ortie et de sel d'argent traité à 20°C, en fonction de sa durée.

		pH	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Avant traitement thermique		6	150
Les temps de prélèvement pendant le traitement thermique	15 min	6,16	182
	30min	7,17	210
	45min	7,15	207
	1h	7,17	243
	1h 15min	7,17	215
	1h 30min	7,18	200
	1h 45min	7,23	213
	2h	7,18	233
	2h 15min	7,16	197
	2h 30min	7,24	203
	2h 45min	7,14	206
	3h	7,12	200

Le pH ainsi que la conductivité présentent une variation similaire avec celle constatée lors de l'étude précédente, effectuée en variant la température du traitement thermique. Par conséquent, nous pouvons conclure que, là aussi, la cinétique entre les deux réactifs consomme les ions H^+ et que les nanomatériaux d'argent formés sont probablement chargés.

III-2-1-2. Etude par UV-visible

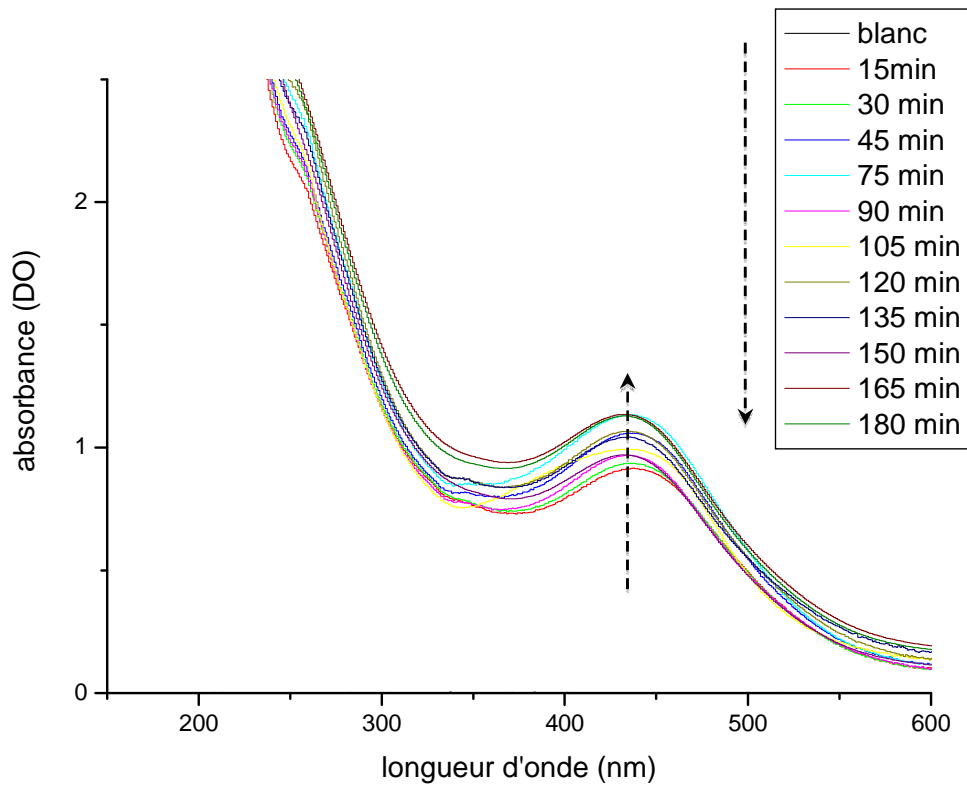
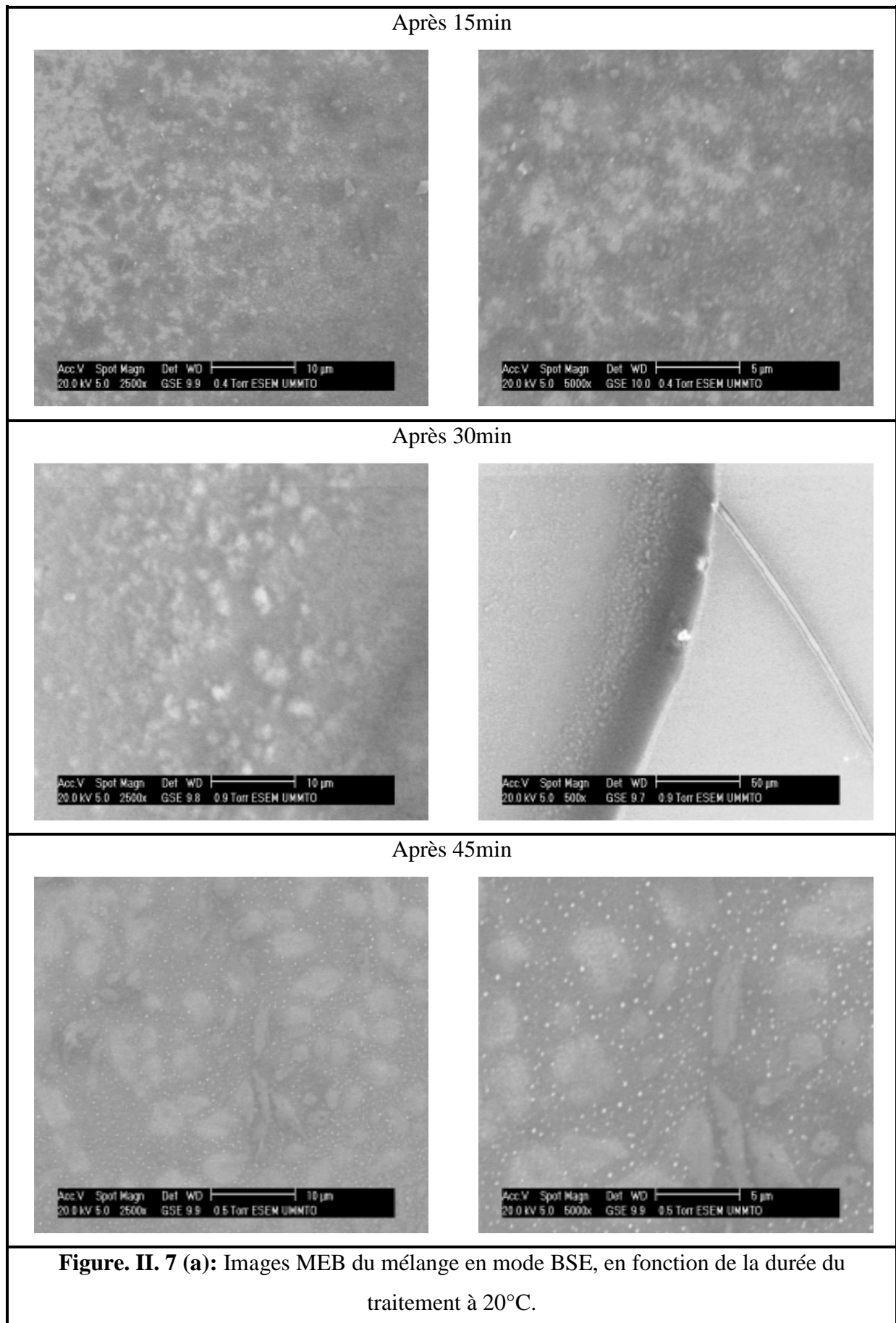


Figure. II. 6 : Spectres UV-Visible correspondant au mélange avant et après le traitement thermique à 20°C en variant sa durée

La figure. II. 6 présente une superposition de spectres d'adsorption similaires, avec une sensible augmentation de la D.O à 414 nm, même après 180 min de traitement à 20°C, confirmant ainsi un résultat déjà évoqué à savoir une cinétique lente entre l'extrait d'ortie et le sulfate d'argent.

III-2-1-3. Etude par microscope électronique à balayage

Les images des figures. II. 7 (a-b) obtenues en mode BSE, après plusieurs durées de traitement thermique, indiquent la formation de nanoparticules d'argent, dont le début de formation est d'environ 45 min, par rapport à la résolution de l'appareil utilisé. De plus, la taille moyenne des particules d'argent augmente avec l'augmentation du temps de traitement thermique. Elles atteignent même une taille moyenne micrométrique, pour des durées de traitement au voisinage de 2h.



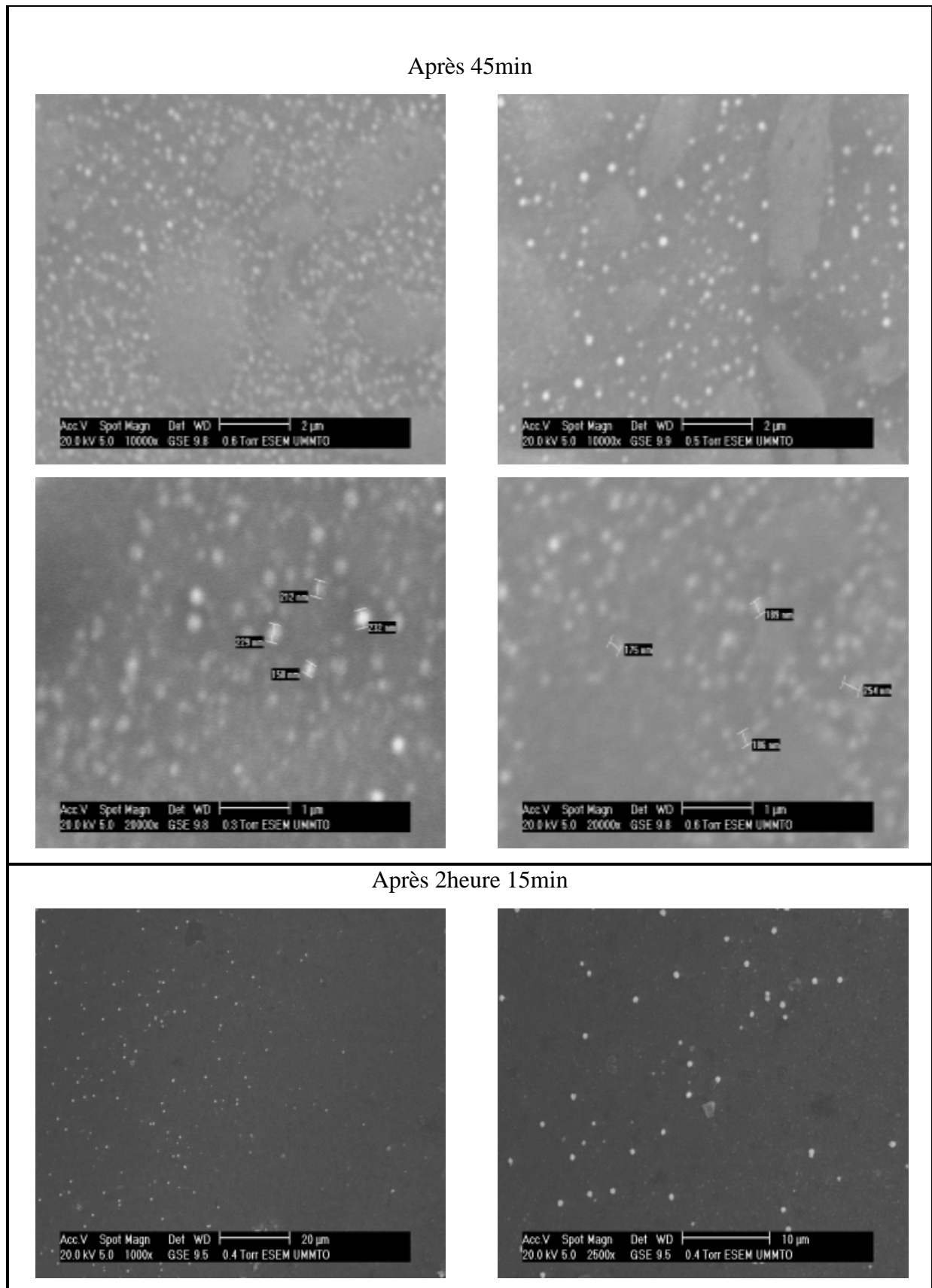


Figure. II. 7 (b): Images MEB du mélange en mode BSE, en fonction de la durée du traitement à 20°C.

III-2-2. Etude cinétique en traitant la solution à 80 °C

III-2-2-1. Etude par conductimétrie et pH-métrie

Comme précédemment, nous avons reporté dans le tableau. II. 4, les valeurs du pH des prélèvements de solution après différents temps de traitement à 80°C et celles de la conductivité sont tracées dans la figure. II. 8.

Tableau. II. 4 : Valeurs du pH et de la conductivité d'un mélange traité à 80°C en fonction de sa durée.

		pH	Conductivité (μS/cm)
Avant traitement thermique		6	150
Les temps de prélèvements durant le traitement thermique	15min	6,60	133,3
	30min	6,30	159,2
	45min	6,20	178,2
	1heur	6,10	211
	1h 15min	5,95	293
	1h 30min	5,84	317
	1h 45min	5,83	328
	2heur	5,79	364
	2h 15min	5,75	411
	2h 30min	5,69	437
	2h 45min	5,63	504
	3heur	5,59	620
	3h 15min	5,54	800
	3h 30min	4,97	1122

Dans le cas où le mélange est traité à 80°C, en faisant un suivi du pH et de la conductivité en fonction de la durée, nous constatons que le pH devient plus acide, contrairement à ce que nous avons observé lors des études précédentes, indiquant la participation des ions OH⁻ dans la cinétique de formation des nanoparticules.

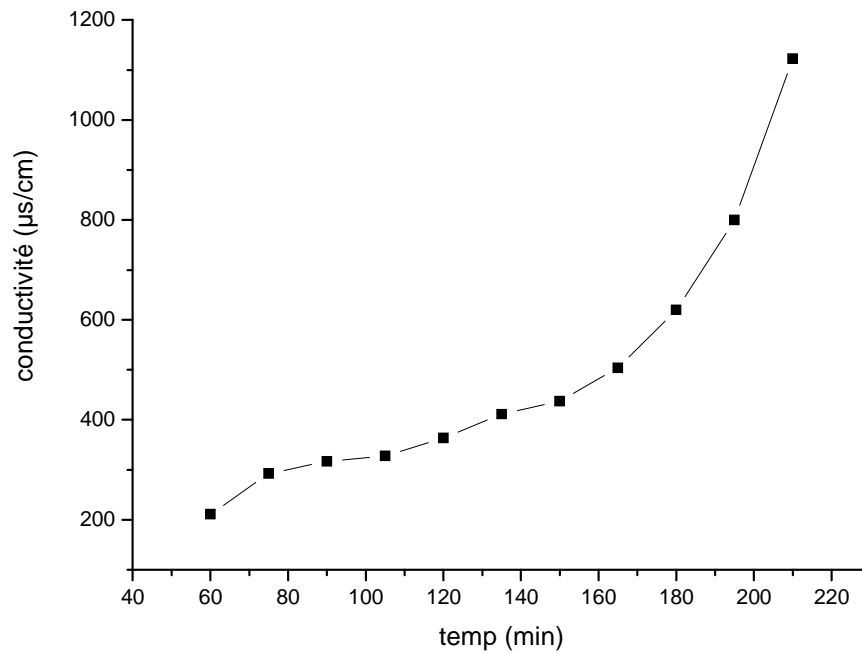


Figure. II. 8 : Evolution de la conductivité du mélange traité à 80°C, en fonction de sa durée.

Cependant, les valeurs de la conductivité augmentent de façon considérable par rapport aux études d'avant, indiquant comme cela a déjà été suggéré, la formation de nanoparticules d'argent chargées.

III-2-2-2. Etude par microscope électronique à balayage

Les images en mode BSE regroupées dans la figure. II. 9, indiquent que la formation des particules d'argent commence après 45 min de traitement, similaire au temps noté si le mélange est traité à 20 °C, alors que leurs formes sont différentes. En effet, dans le cas présent nous avons constaté la formation des particules d'argent de forme dendritiques de taille moyenne plutôt micrométrique, dont l'origine est l'agglomération des nanoparticules.

Discussion : Nous avons mis en évidence, lors de cette partie une diminution du pH, ceci peut trouver son origine dans la forme ou l'agglomération des nanoparticules d'argent, comme l'indique les images MEB obtenues, ou encore leurs natures chimiques dont elles sont constituées. Dans ce cas, elles peuvent être des oxydes d'argent [11]. Ces hypothèses, doivent faire l'objet d'une vérification ultérieure.

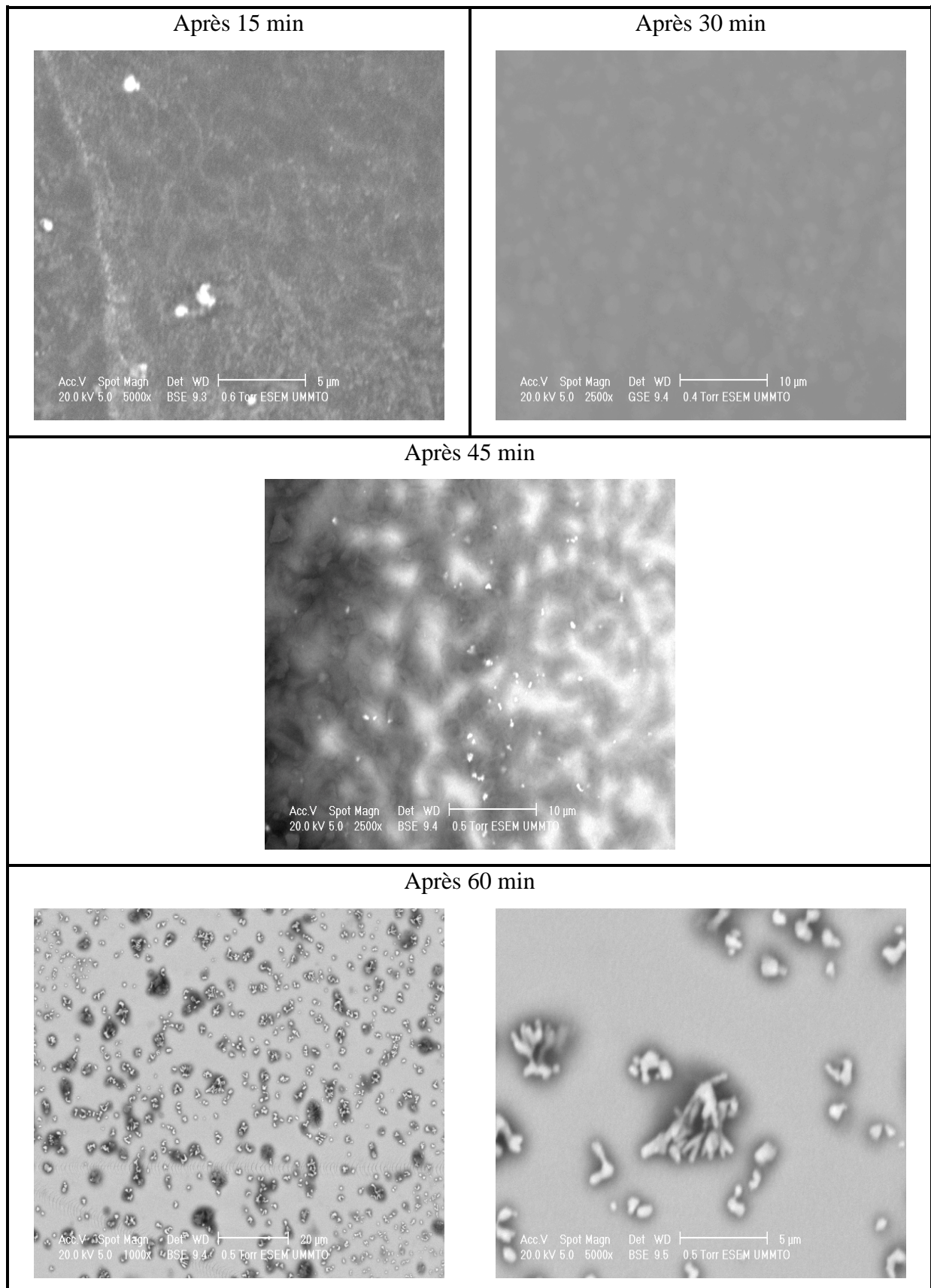


Figure. II. 9 : Images MEB du mélange en mode BSE, en fonction de la durée du traitement à 80°C.

III-2-2-3. Etude par UV-visible

Le suivi cinétique avec un enregistrement UV-Visible du mélange traité à 80°C en fonction de sa durée, nous a mené à enregistrer et à regrouper de spectres dans la figure. II.10.

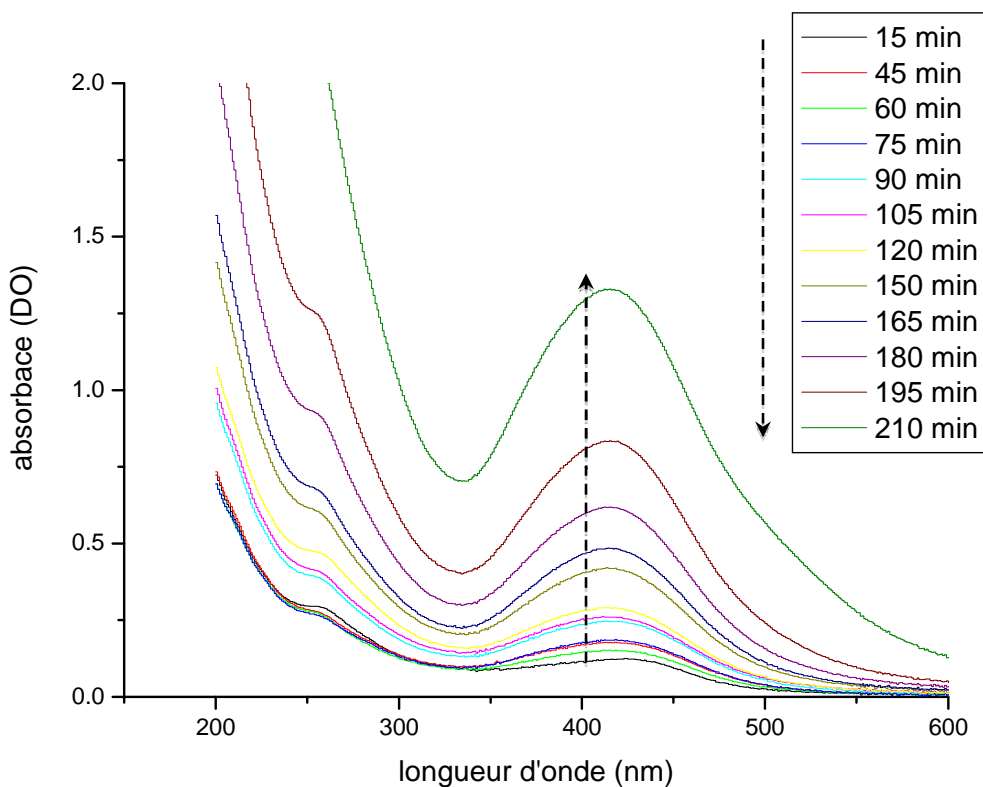


Figure. II. 10 : Spectres UV-Visible correspondant au mélange avant et après le traitement thermique à 80°C, en variant sa durée

Comme à 20°C, la solution du mélange traité à 80 °C présente une augmentation de la D.O à 412 nm à mesure que la durée avance, dont la cinétique est appréhendée ci-dessous pour déterminer son ordre. Notons qu'après 210 min, un épaulement vers 500 nm est observé, pouvant indiquer l'obtention d'une autre forme [12].

III-2-2-4. Conclusion

En maintenant le mélange à 20 et 80°C pendant plusieurs minutes, nous remarquons que les nanomatériaux commencent à apparaître après 45 min du traitement, dont la taille moyenne augmente avec la durée. Elles présentent une forme sphérique quelque soit la durée du traitement à 20°C et également si le mélange est traité à 80°C pendant 1 heure et pour des

durées plus élevées, les nanomatériaux présentent une forme dendritique, probablement par agglomération des nanoparticules à base d'argent.

III-2-3. Conclusion

Le but de ce travail est l'obtention des nano-objets à base d'argent. Pour cela nous avons mélangé 1 mL du sel d'argent + 10 mL d'extrait d'ortie. Avec le traitement thermique, une réaction se produit entre eux avec une cinétique relativement lente et aboutissant, au bout d'environ 45 min, à la formation des nanomatériaux probablement chargés à base d'argent et cela malgré tous les paramètres expérimentaux explorés au cours de ce travail, alors que nous avons mis en évidence quelques différences.

Dans le cas où la durée du traitement est fixée à 1 h, en travaillant à une température donnée, nous notons une consommation des ions H^+ . De plus, en passant progressivement de 20, 40, 60 et à 80°C, nous notons une graduation des couleurs stables, malgré le stockage, allant d'un vert clair vers un marron foncé, se traduisant par un effet hyperchrome à 412 nm et caractéristique de la formation de nanoparticules de taille moyenne de plus en plus grande.

L'influence de la durée du traitement a été appréhendée. Dans le cas où la température est fixée à 20°C, nous notons une cinétique H^+ consommatrice avec la formation des nanoparticules sphériques et cela quelque soit la durée. Alors qu'à 80°C, une forme dendritique, dont l'origine est une probable agglomération des nanoparticules a été mise en évidence avec une cinétique, faisant plutôt intervenir des ions OH^- , pouvant suggérer la formation d'un matériau plutôt à base d'oxyde d'argent.

I. Introduction

Nous avons réussi lors de la partie précédente à réaliser la biosynthèse des nanoparticules à base d'argent, dont la forme et le nombre dépendent des conditions opératoires choisies.

Dans la suite de ce manuscrit, nous allons essayer d'étudier l'effet antibactérien de ces nanomatériaux sur deux bactéries pathogènes portant deux Gram différents, en comparant l'effet des mélanges contenant les nanomatériaux préparés à une température de 20, 60 ou 80°C pendant 1h versus l'effet de la solution de sulfate d'argent seul, additionnée à celui de l'extrait d'ortie seul.

Ces tests ont été réalisés avec des produits non dilués et selon le protocole décrit ci-dessous au sein du laboratoire de production amélioration et protection des végétaux de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'UMMTO, avec le professeur Mansour Malika.

II. Tests microbiologiques

Les tests microbiologiques consistent à rechercher l'activité antibactérienne et antifongique de nos échantillons (extrait d'ortie, sel d'argent, et le mélange des deux réactifs à différentes températures), sur la croissance des microorganismes (bactérie et moisissure) selon la méthode de diffusion sur le milieu gélosé.

II-1. Souches microbiennes utilisées

Deux souches bactériennes de collection ont été choisies pour cette étude. Elles sont généralement impliquées dans différentes pathologies infectieuses: il s'agit d'une bactérie à Gram positif bacillus et une autre bactérie à Gram négatif Echerichia coli. La différence entre ces deux souches se trouve dans la structure et la composition chimique de leur paroi, la bactérie à Gram+ présente une paroi épaisse tandis que la bactérie à Gram- est moins épaisse.

✚ Escherichia coli (gram -) *CEREUS 10876*

C'est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales.

✚ Bacillus subtilis (gram+) ATCC 25922

Un agent pathogène humain opportuniste qui est parfois associé à des infections provoquant des maladies parodontales et d'autres infections plus graves.

II-2. Milieu de culture utilisé

Nous avons choisi d'utiliser le milieu de culture Muller-Hinton-Agar (MHA), qui est une gélose nutritive pour ces bactéries [13].

II-3. Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries préalablement gardées au réfrigérateur à 4°C ont été revivifiées, c'est-à-dire rajeunies. Pour cela, quelques colonies de chaque souche ont été prélevées et mises dans des tubes contenant un Bouillon BHIB, à raison d'une souche de bactéries par tube. Ces derniers subissent, ensuite, une incubation à 37°C pendant 18 à 24h.

Après la revivification, vient l'étape de la préparation de l'inoculum, consistant à réaliser des suspensions bactériennes, de chaque souche, dans l'eau physiologique à 0,9% avec une concentration correspondante à une densité optique située entre 0,08 et 0,1, laquelle a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre avec une longueur d'onde monochromatique située à 620nm. S'ensuit alors, l'étape de l'ensemencement dans une zone stérile, qui doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum [13]

II-4. Diffusion sur le milieu gélosé

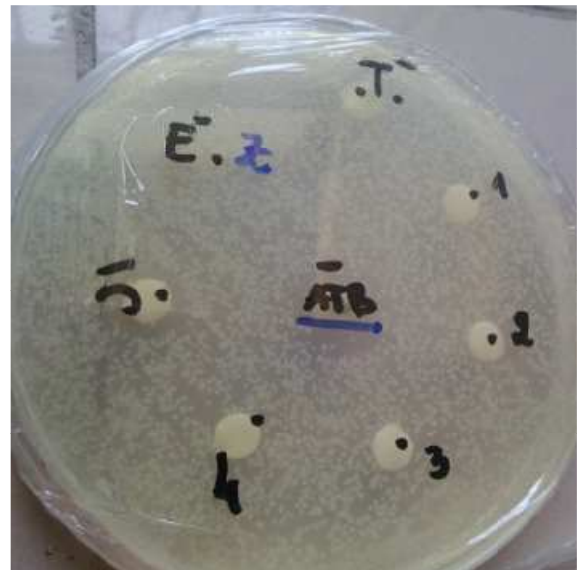
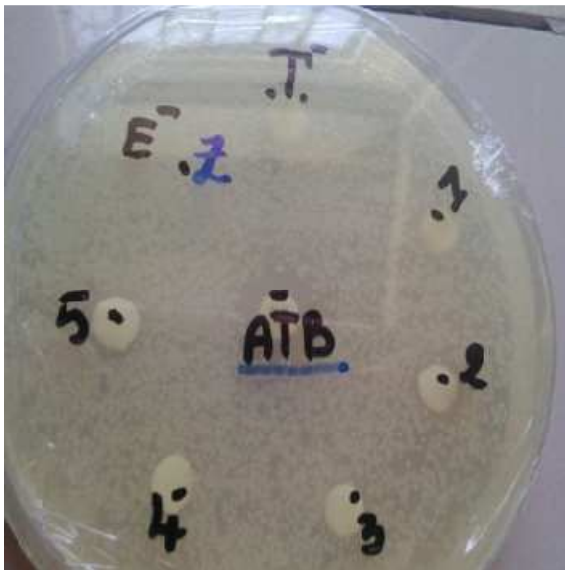
Avec un écouvillon, l'ensemencement de 15 mL environ de notre milieu de culture a été réalisé sur une boîte de pétrie après qu'elle a été rempli avec un milieu de culture appelé milieu gélosé. Ensuite, à l'aide d'une pince stérile nous prélevons des disques en papier buvard de 6 mm de diamètre et chacun d'entre eux est imbibé d'une solution parmi celles étudiées, que nous allons déposer sur les boîtes de pétries déjà ensemencées. Enfin, les boîtes sont incubées à l'étuve réglée à 37°C pendant 24h.

La lecture se fait à l'aide d'une règle graduée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque et les résultats obtenus sont exposés ci-dessous.

II.5. Effet antibactériens des solutions de l'étude sur *E. coli* et *Bacillus subtilis*

La figure III-1, ci-dessous présente la multiplication des bactéries, dont les résultats sont regroupés dans les **Tableau III-1** et **III**

Escherichia coli gram -



Bacillus subtilis gram +



Figure. III. 1 : Résultats de l'effet antibactérien des solutions de synthèse et témoins sur les deux souches utilisées

Témoins : l'eau distillée

S1 : extrait d'ortie

S2 : mélange ortie + sel d'argent traité à 20°C

S3 : mélange ortie + sel d'argent traité à 60°C

S4 : mélange ortie + sel d'argent traité à 80°C

S5 : sel d'argent AgSO_4

Tableau . III. 1 : Effet antibactérien de nos échantillons sur E. coli

	Diamètres Mesurés (mm)	Antibiotique (Gentamicine)	Eau distillée	S1	S2	S3	S4	S5
Essai 1	D1	15	-	-	09	-	-	2
	D2	15	-	-	07	-	-	4
Moyenne		15	-	-	08	-	-	3
Essai 2	D1	15	-	-	08	-	-	9
	D2	13	-	-	06	-	-	10
Moyenne		14	-	-	07	-	-	9,5
Essai 3	D1	15	-	-	-	-	-	9
	D2	10	-	-	-	-	-	7
Moyenne		12,5	-	-	-	-	-	8
Moyenne générale		13,8	-	-	5	-	-	7

Tableau. III. 2 : Effet antibactérien de nos échantillons sur *Bacillus subtilis*

	Diamètres Mesurés (mm)	Antibiotique (Gentamicine)	Eau distillée	S1	S2	S3	S4	S5
Essai 1	D1	2	-	24	-	13	9	12
	D2	26	-	13	-	14	18	16
Moyenne		23	-	18,5	-	13,5	13,5	14
Essai 2	D1	18	13	-	-	-	-	-
	D2	20	10	-	-	-	-	-
Moyenne		19	11,5	-	-	-	-	-
Essai 3	D1	25	15	16	-	15	16	-
	D2	30	22	25	-	20	20	-
Moyenne		27,5	18,5	20,5	-	17,5	18	-
Moyenne générale		23,1	10	13	-	10,3	10,5	4,6

«-» : Pas de zones d'inhibition

S1 : extrait d'ortie

S2 : mélange ortie + sel d'argent traité à 20°C

S3 : mélange ortie + sel d'argent traité à 60°C

S4 : mélange ortie + sel d'argent traité à 80°C

S5 : sel d'argent AgSO₄

Interprétation des résultats : Comme le montrent les tableaux ci-dessus, les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis de nos mélanges testés. En effet, la bactérie à gram négatif *Escherichia coli* n'a pas révélée une activité significative vis-à-vis des solutions contenant les nanoparticules. De même que la bactérie *Bacillus subtilis* au regard de la solution de mélange d'extrait d'ortie et de sulfate d'argent préparé à 20°C, alors que cette bactérie présente une sensibilité significative vis-à-vis des mélanges préparés avec 60 ou 80°C, dont les diamètres avoisinant les 10 mm. Il semblerait que plus le nombre et/ou la taille

des nanoparticules augmentent plus leurs effets est grand par rapport au *Bacillus subtilis* gram+.

III. Conclusion

Les solutions contenant les nanoparticules d'argent préparées à une température donnée à 20, 60, ou 80°C ont été stérilisées et testées vis-à-vis de deux souches bactériennes *Escherichia coli* gram - et *Bacillus subtilis* gram +. Cette étude indique que la bactérie à gram- n'est presque pas inhibée par aucune des solutions de nanoparticules testées. Cependant, la bactérie à gram + présente une sensibilité aux mélanges préparés à 60 ou 80°C et aucune par rapport au mélange préparé avec 20°C, indiquant que plus le nombre et /ou taille des nanoparticules d'argent augmentent, plus elles agissent sur la bactérie *Bacillus subtilis* gram+. Au final, nous pouvons dire que les nanoparticules biosynthétisées, au cours de ce travail, agissent que sur *Bacillus subtilis* gram + et peu, voir du tout, par rapport à l'*Escherichia coli* gram -. Il sera alors intéressant de tester d'autres souches bactériennes à gram + et gram -, pour confirmer cette conclusion.

Dans le but de l'obtention des nano-objets à bases d'argent, nous avons choisi de travailler avec un mélange constitué de 1 mL du sel d'argent + 10 mL de l'extrait d'ortie lequel a subi un traitement thermique à différentes températures (20, 40, 60, 80°C). Une réaction se produit entre les deux réactifs avec une cinétique relativement lente et aboutissant, au bout d'environ 45 min, à la formation de nanomatériaux probablement chargés à base d'argent et cela quelque soit les conditions expérimentales explorées au cours de ce travail.

Dans le cas où la durée du traitement est fixée à 1 h, en travaillant à une température donnée, nous notons une consommation des ions H^+ . De plus, en passant progressivement de 20, 40, 60, 80°C, nous constatons une graduation des couleurs stables, malgré le stockage, allant d'un vert clair vers un marron foncé, se traduisant par un effet hyperchrome à 412 nm et caractéristique de la formation des nanoparticules de taille moyenne de plus en plus grande et ou plus nombreuses. Une étude cinétique a été également entreprise en adoptant le même protocole décrit précédemment et en travaillant à 20°C et 80°.

Dans le cas où la température est fixée à 20°C, nous notons la formation des nanoparticules sphériques et cela quelques soit la durée du traitement. Alors qu'avec 80°C, une forme dendritiques, dont l'origine est une probable agglomération des nanoparticules a été mise en évidence avec une cinétique, faisant plutôt intervenir des ions OH^- , pouvant suggérer la formation d'un matériau plutôt à base d'oxyde d'argent.

Nous avons réussi lors de la partie précédente à réaliser la biosynthèse de nanoparticules à base d'argent. Dans la suite de ce manuscrit, nous avons étudié leurs effets antibactériens sur deux bactéries pathogènes *Escherichia coli* gram- et *Bacillus subtilis* gram+, en comparant l'effet des mélanges contenant les nanomatériaux préparés à une température de 20, 60 ou 80°C pendant 1h versus à l'effet de la solution de sulfate d'argent seule additionnée à celui de l'extrait d'ortie seul. Cette étude indique que la bactérie à gram -, n'est presque pas inhibée par aucune des solutions de nanoparticules testées. Cependant, la bactérie à gram + présente une sensibilité aux mélanges préparés à 60 ou 80°C et aucune par rapport au mélange préparé avec 20°C, indiquant probablement que plus le nombre et /ou la taille des nanoparticules d'argent augmentent, plus elles agissent sur la bactérie *Bacillus subtilis* gram +.

Et comme perspectives nous proposons ce qui suit :

- Il sera alors intéressant de tester d'autres souches bactériennes à gram+ et gram- pour confirmer cette conclusion.
- Continuer le suivi de la cinétique de la réaction entre les deux réactifs pendant de longues durées.
- Evaluer les paramètres cinétiques de formation des nanoparticules

Référence bibliographique

- [1] W.djeghboub, thèse de doctorat, « Nanoparticules d'or et d'argent déposées sur oxyde de cérium synthétisées sous irradiation », université Constantine(2010).
- [2] N.Jal.,P.Marilleau., A.Sirven," Les nanomatériaux :enjeux, risques et éléments deréflexion sur la réponse opérationnelle des sapeurs-pompiers", Service départemental d'incendie et de secours, Isère
- [3] Ruiz H. L Ortega H. B., Lima S. R., Santillan R., Farfan N., (2011) Phenylboronic acid catalyzed-cyanide promoted, one-pot synthesis of 2-(2-hydroxyphenyl) benzoxazole derivatives , Tetrahedron , 52, 4308-4312
- [4] Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam P.S., (2010) Brazilian Journal of Microbiology 41: pp.1070-1078.
- [5] Harrar A., (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnusalaternus L, mémoire de magistère, Sétif, 29-30,
- [6] AFSSET. 2006. Les Nanomatériaux «Effet sur la santé de l'homme et sur l'environnement». France : AFSSET
- [7] T xia., RF hamilton., JC bonner.; ED crandall., A elder.; F fazlollahi., TA girtsman ., K kim., S mitra., S addontim., G orr , M tagmount., AJ taylor., D telesca., A tolic., CD vulpe., AJ walker., X wang., FA witzmann., N wu., Y xie., JI zink., A nel ., A holian. 2013. Interlaboratory Evaluation of in Vitro Cytotoxicity and Inflammatory Responses to Engineered Nanomaterials: The NIEHS NanoGo Consortium. Environ HealthPerspect.
- [8] B trouiiler., R reliene., A westbrook., P solaimani., RH schiestl 2009.Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. Cancer Res. 69, 22, 49-878.
- [9] E.blas .,M.ecot ., K.gillouard., M.kerveillant ., F.krimpzer ., A.lepennetier ., P.lugan .,P.masson ., A.petigny., M.rodriquez, « Multi-valorisation des orties », Rapport Projet , France (2012)
- [10] K.Jyoti., M.Baunthiyal., A.Singh, (2016)« Characterization of silver nanoparticles synthesized using Urtica dioica Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics », Journal of Radiation Research and Applied Sciences-217-227.
- [11] M.M. Ibrahim, (2015) « Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative », Journal of Radiation Research and Applied Sciences ESEVIER-266-275.

Référence bibliographique

[12] A.Z. Bazeeraa ., S.Selvarajb ., A.M.Syed., M.A. Irfana , (2017)” Biosynthesis of Silver Nano Particles Using Indian Nettle Leaves”, Trend in Research and Development (IJTRD)-,India27-30.

[13] Rota M.C., Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A., and Jordán M.J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food Control, 19, 681 – 687(2008).