

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Biosynthèse de nanoparticules a base d'extrait de
plantes et la caractérisation de leurs
activités biologiques**

Présenté par :

CHEBBI Amel & CHERIEF Fatima

Soutenu le : **21 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M^{me} BOULEKBACHE Lila

M^{elle} BRAHMI Fatiha

M^{elle} MEKHOUKHE Aida

MCA

MCB

MAA

Présidente

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu le tout puissant de nos avoir aidé à mener à bien ce travail.

Ce travail à été réalisé au niveau de laboratoire d'analyses instrumentales de département des sciences alimentaires au sein du bloc 9, dirigé par Madame GENDOUZ Naima.

Je ne remercierais jamais assez notre promotrice BRAHMI Fatiha pour avoir assuré l'encadrement de ce travail, de nos avoir guidé durant ces mois, et de nos avoir assuré les moyens pour effectuer ce travail dans les meilleures conditions.

Madame YALAOUI GUELAL Drifa pour ses valeurs humaines, fermes et authentiques qui nous a aussi dirigé et coordonné avec diligence et savoir-faire.

Madame BOULEKBACHE Lila de l'université de bejaia, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury, qu'elle trouve l'expression de notre profond respect.

Nous remercions également l'examinatrice, MEKHOUKHE Aida pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

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

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A ma très chère grand mère Yamina qui ma soutenu et encouragé, que
dieu la protège*

*A mes très chers parents qui m'ont soutenu tout au long de ma vie,
qu'ils trouvent ici ma reconnaissance.*

*A ma très chère sœur chahrazed qui ma soutenu tout au long de mon
cursus.*

A mes chères cousines: Amina, Norhanna, Sofie, Morgane, Helima

A toute la famille

A ma chère copine Amel qui a partagé le travail avec moi

*A mes très chères amis : Meriem, Najete, Lidia Halim qui m'ont toujours
soutenus*

A tous mes amis qui me connaisse de prés ou de loin.

Fatima

Dédicaces

Avec ma gratitude et grand amour, je dédie ce modeste travail

à :

 *La mémoire de ma chère grand mère « KHOUKHA », que dieu l'accueille dans son vaste paradis.*

 *Ma chère grand mère « DHAHBIA » pour qui je souhaite une longue vie pleine de santé.*

 *Mes parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études et la confiance qu'ils m'ont toujours témoigné. Merci à mon meilleur ami, mon frère et mon confident LOUNES.*

 *Ma copine et ma binôme : Fatima.*

 *Mes amis (es) depuis mon enfance à ce jour. Un grand merci pour votre compréhension, confiance et fidélité.*

 *À tout ma famille, sans oublier, mes cousins et cousines*

 *À tous ceux qui me sont chers.*

Amel

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Glossaire	

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie théorique

Chapitre I:Présentation des plantes étudiées

I. 1.*Sonchus oleraceus*

I. 1.1. Etude botanique.....	3
I. 1.2. Répartition et dénomination.....	4
I. 1.3. Composition phytochimique.....	4
I. 1.4. Effets thérapeutiques	5

I. 2. *Hedysarum coronarium*

I. 2.1. Etude botanique.....	5
I. 2.2. Répartition et dénomination.....	6
I. 2.3. Composition phytochimique.....	7
I. 2.4. Effets thérapeutiques	7

Chapitre II : Généralités sur les nanoparticules

II. 1. Définition des nanoparticules	8
II. 2. Propriétés des nanoparticules d'argent	
a) Propriétés biocides de l'argent	8
b) Propriétés physiques et chimiques de l'argent.....	9
c) Propriété désodorisante.....	9
II. 3. Production des nanoparticules d'argents	
II. 3.1. Sources des nanoparticules d'argents.....	9
II. 3.2. Stabilisation des nanoparticules d'argent.....	10
II. 3.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent	
a) Méthodes physiques.....	10

b) Méthodes chimiques.....	10
c) Méthodes biologiques.....	11
II. 4. Effet toxique des nanoparticules.....	11
II. 5. Applications des nanoparticules.....	12

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III. 1. Matériels et réactifs	
III. 2. Matériel végétal	
III. 2.1. Récolte et identification du matériel végétal.....	14
III. 3. Méthodes	
III. 3.1. Séchage et broyage	15
III. 3.2. Test d'humidité.....	15
III. 3.3. Extraction des substances bioactives	
a) Préparation des extraits aqueux des plantes	16
b) Détermination des rendements d'extraction.....	16
c) Biosynthèse des nanoparticules d'argent	16
III. 3.4. Dosage des polyphénols totaux	17
III. 3.5. Dosage des flavonoïdes.....	18
III. 3.6. Caractérisation des nanoparticules d'argent	
III. 3.6.1. Spectroscopie UV- visible.....	19
III. 3.6. 2. Spectroscopie infrarouge (IR).....	19
III. 3.6.3. Diffraction des Rayons X (DRX)	20
III. 3.7. Evaluation de l'activité biologiques	
III. 3.7. 1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH.....	20
III. 3.7. 2. Détermination du pouvoir réducteur.....	21
III. 3.8. Détermination de l'activité antibactérienne.....	22

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Extraction.....	24
IV.2. Test d'humidité	24

IV.3. Dosage des composés phénoliques	
IV. 3.1. Dosage des phénols totaux	25
IV. 3.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
IV. 4 Synthèse des nanoparticules.....	28
IV. 4.1 Techniques d'analyse et de caractérisation	
IV. 4.1.1 Spectroscopie d'absorption UV -Vis	29
IV. 4.1.2Analyse des spectres d'IR.....	31
IV. 4.1.3. Analyse des spectres de diffraction des rayons X(DRX)	34
IV. 5. Evaluation des activités Antioxydantes	
IV. 5.1 Activité scavenger du radical DPPH.....	36
IV. 5.2 Pouvoir réducteur.....	38
IV. 6. Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées.....	40
Conclusion.	44
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Liste des abréviations

- Ag : Argent
- AgNO₃: Nitrate d'Argent
- APG : Groupe Phylogénétiques des Angiosperme
- FCC :Cubique à Face Centré
- DPPH : 1,1diphenyl-2-hydrazyl
- EAG : Equivalent Acide Gallique
- EQ : Equivalent quercétine
- MS : Matière sèche
- PES : polyéthersulfone
- PPT : Polyphénols totaux
- SRP : résistance de plasmon de surface
- H. coronarium : Hedysarum coronarium
- S. oleraceus : Sonchus oleraceus
- FRAP : Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
- T **IC**₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%
- CA : Acide trichloracétique.

Liste des figures

Figure	Titre	page
Etude bibliographique : Généralités		
01	Photographie de <i>S. oleraceus</i> .	03
02	Photographie de <i>H. coronarium</i> .	06
03	Photographie des parties aériennes de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	12
04	Localisation géographique du lieu de récolte de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	14
Matériel et méthodes		
05	Protocole de dosage des composés phénoliques.	17
06	Protocole de dosage des flavonoïdes.	18
07	Le protocole d'évaluation de l'activité antioxydants (DPPH).	21
08	Le protocole d'évaluation du pouvoir réducteur.	22
09	Schéma générale de l'activité antibactérienne.	23
Résultats et discussion		
10	Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de <i>H. coronarium</i> et <i>S. oleraceus</i> .	24
11	Représentation graphique du taux de polyphénols totaux des extraits aqueux de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	25
12	Représentation graphique du taux de flavonoïde dans les extraits de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	27
13	Extraits aqueux de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> avant la biosynthèse de nanoparticules.	29
14	Extrait aqueux de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> après la biosynthèse de nanoparticules.	29
14	Spectre UV-Visible des NPs Ag synthétisées par les extraits aqueux de <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	31
15	Le spectre infrarouge à transformé de fourrier des NPs Ag synthétisées par <i>S. oleraceus</i> et <i>H. coronarium</i> .	33
16	Diagramme de DRX de synthèse NPs Ag en utilisant l'extrait de la partie aérienne de <i>S. oleraceus</i> .	35
17	Diagramme de DRX de synthèse NPs Ag en utilisant l'extrait de la	36

	partie aérienne de <i>H.coronarium</i> .	
18	Activité antioxydante au DPPH de l'extrait aqueux de <i>S.oleraceus</i> .	37
19	Activité antioxydant de l'extrait aqueux de <i>H.coronarium</i> .	38
20	Pouvoir réducteur de <i>S.oleraceus</i> .	39
21	Pouvoir réducteur de <i>H.coronarium</i> .	40
22	Zones d'inhibitions des NPs Ag synthétisées avec <i>S.oleraceus</i> et <i>H.coronarium</i> .	41
23	Histogramme des zones d'inhibitions des nanoparticules d'argent de <i>S.oleraceus</i> et de la solution AgNO ₃ .	42
24	Histogramme des zones d'inhibition des nanoparticules d'argent de <i>H.coronarium</i> et de la solution AgNO ₃ .	42
25	Photographies des boites de pétri de l'activité antibactérienne.	43

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Etude bibliographique : Généralités		
I	Classification botanique de <i>Sonchus oleraceus</i> selon APG	04
II	Différentes dénominations de <i>Sonchus oleraceus</i>	04
III	Classification botanique d' <i>Hedysarum coronarium</i> selon APG	06
IV	Différentes dénominations de <i>Hedysarum coronarium</i>	07
V	Propriétés physiques de l'argent.	09
Résultats et discussion		
VI	Résultats des spectres infrarouges de <i>S.oleraceus</i> .	34
VII	Résultats des spectres infrarouges de <i>H.coronarium</i>	34
VIII	Indexation de crêtes à partir de l'espacement d	35

Glossaire

- ❖ **Agglomération** : agrégation, regroupement.
- ❖ **Akène** : est un fruit sec dont la graine n'est pas soudé a son enveloppe a la différence des gousses, l'akène ne s'ouvre pas pour se vider de son contenu.
- ❖ **Antioxydant** : prévient l'oxydation et de l'altération des substances.
- ❖ **Biocide** : sont des substances chimique ou les microorganismes exercent une action sur ou contre les organismes nuisibles.
- ❖ **Colloïdes** : c'est des particules se trouvent suspendue dans un fluide.
- ❖ **La coalescence** : est un phénomène par lequel deux substances identique mais dispersées sous l'action de la tentions superficiele, de manière à attendre un minimum d'énergie.
- ❖ **Plasmon de surface** : est une oscillation de quantifiée de propagation des ondes électromagnétiques des deux coté d'interface d'un matériau.

Introduction

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention des substances bioactives qui sont à l'origine de plusieurs médecines modernes grâce à leur richesse en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques dotés de propriétés biologiques bénéfiques.

De nos jours, l'émergence de la nanotechnologie, qui fait référence à la production à l'échelle nanométrique (1 à 100 nm) de matériaux ou de produits de tailles et de structures contrôlées, est la conséquence de l'apparition de nouvelles propriétés physico-chimique plus avantageuses et uniques qui diffèrent largement des autres matériaux en raison de la faible taille des charges. Ces performances ont contribué à des changements radicaux dans divers domaines de la technologie et de la science (Ramsden 2016).

Les produits végétaux trouvent une utilisation impérative dans la synthèse des nanoparticules (NPs). L'argent(Ag) est le métal de choix parmi les métaux nobles pour des applications potentielles dans le domaine des systèmes biologiques, de la matière organique et de la médecine. (Zargar, Hamid et al. 2011)

Des méthodes biosynthétiques ont été étudiées pour la production des NPs d'Ag apparue comme une approche prompte et simple de synthèse, peu coûteuse, respectueuse de l'environnement et rentables (Zargar, Hamid et al. 2011).

Parmi les plantes à potentialités pharmacologiques importantes, *Sonchus oleraceus* et *Hedysarum coronarium* qui sont largement répandues et utilisées en Algérie. Leur activités biologique sont étroitement liée à leur richesse en substances actives, qu'elles renferment tels que les composés phénoliques.

Pour mieux comprendre l'intérêt des substances bioactives de *S.oleraceus* et *H. coronarium*, il nous a paru utile d'entreprendre ce présent travail qui porte sur la synthèse de nanoparticules d'argent en utilisant les extraits de ces deux plantes.

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Extraction des principes actifs de deux plantes médicinales qui sont *Sonchus oleraceus* et *Hedysarum coronarium* ;
- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des deux extraits ;
- Biosynthèse des nanoparticules d'argent à base d'extraits de ces deux plantes ;

- Caractérisation des nanoparticules par la spectroscopie UV-Vis, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie de diffraction des rayons X (DRX) ;
- Evaluation de l'effet anti-radicalaire de ces extraits et nanoparticules biosynthétisées en utilisant un radical synthétique (DPPH[•]) ;
- Evaluation de l'effet réducteur de fer de ces mêmes échantillons ;
- Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules comparativement aux extraits aqueux vis-à-vis de quatre souches de référence.

Partie
théorique

I.1. *Sonchus oleraceus*

I.1.1. Etude botanique

La classification botanique de *S. oleraceus* est donnée dans le tableau N° I qui montre qu'elle appartient à la famille des Astéracées, une large famille des angiospermes, classée la deuxième plus grande après les Orchidacées. Cette famille comporte 1000 genres et 20000 espèces dans le monde entier, qui sont réparties en Afrique tropicale, occidentale et centrale. Elle regroupe des arbustes, herbacées et surtout des herbes faciles à reconnaître par l'allure de leurs inflorescences. Ce sont des plantes annuelles ou biannuelles parfois grimpantes ou irruguées, leurs feuilles sont alternes ou opposées souvent dentées. Les plantes de cette famille sont hermaphrodites à un ovaire infère et leurs fruits sont des akènes (Letouzey 1982).

S. oleraceus est une plante herbacée diploïdes ($2n=32$), spontanée, annuelle qui atteint 1,4 m de hauteur avec une tige simple ou ramifiée, des pétioles rugueux et épineux qui sont collés à la tige principale, les feuilles sont dentées légèrement piquantes sur les contours. Les fruits sont des akènes légèrement aplatis rugueux qui atteignent 4 mm de long, à Pappus blanc de 7-8 mm de long, elle fleurit des fleurs jaunes peu nombreuses (Figure N°1) de mai à septembre et les graines murissent en juillet (Grubben 2004).



Figure N°1 : Photographie de *S. oleraceus*.

Tableau N°I : Classification botanique de *S. oleraceus* selon APG(Group 2009)

Règne	Planta
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Astéridées
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Sonchus
Espèces	<i>Sonchus Oleraceus</i>

I.1.2. Répartition et dénomination

S. oleraceus se rencontre fréquemment dans les terres cultivées du Nord Algérien, au bord des routes et dans les terrains vagues. Elle a une large répartition géographique, elle s'étend sur le Nord-Africain (région méditerranéenne), l'Asie tropicale et l'Europe (Grubben 2004). Le nom de cette plante varié d'un pays à un autre comme le montre le tableau N° II.

Tableau N° II : Différentes dénominations de *S. oleraceus*

Nom Latin	<i>Sonchus oleraceus</i>
Anglais	Sow thistle
Français	Laiteron maraicher
Kabyle et arabe	Tifaf, Tilfaf

I.1.3. Composition phytochimique

S. oleraceus est une source très importante des métabolites secondaires, l'étude phytochimique montre la présence de plusieurs substances bioactives telle que les tannins qui prédominent avec une teneur de 118,21 mg /g de poids sec. Des saponines, des phénols totaux et des alcaloïdes ont été également détectés. En revanche, le contenu en flavonoïdes n'est pas considérable.

Parmi les composés phénoliques identifiés le catéchol et l'acide férulique sont les plus abondants avec des concentrations de 10,4 et 7,92 mg/mL, respectivement, tandis que les acides caféique et *p*-coumarique sont moins abondants dont les teneurs sont seulement de 0,014 et 0,02 mg/mL, respectivement. En outre, la catéchine, la rutine et la quercétine sont les flavonoïdes dominants avec des concentrations de 0,092; 1,52 et 1,40 mg/mL, respectivement dans cette plante (Gomaa, Hassan et al. 2014). En plus des composés phénoliques, plusieurs minéraux ont été quantifiés dans cette plante tels que le sodium (Na=2582 mg/kg), le potassium (K=6225 mg/kg), le calcium (Ca=324mg/kg), le magnésium (Mg=759 mg/kg), le phosphore (P=580), le fer (Fe=37,8), le cuivre(Cu=2,9), le zinc(Zn=7,7) et le manganèse (Mn=12) (Guil-Guerrero, Giménez-Giménez et al. 1998).

I.1.4. Effets thérapeutiques

S. oleraceus est cultivée pour son intérêt médicinal (Grubben 2004). Les jeunes feuilles sont comestibles à l'état cru ou cuit et ont des propriétés antioxydantes (Xia, Yu et al. 2011). Dans les cultures chinoises ils utilisent cette plante pour traiter les maladies inflammatoires. D'autres études indiquent que cette plante a des effets bioactifs et utilisée comme antibactérienne, anti-tumorale et anti-âge (Torres-González, Cienfuegos-Pecina et al. 2018).

I.2. *Hedysarum coronarium*

I.2.1. Etude botanique

D'après la classification taxonomique (Tableau N° III), *H. coronarium* fait partie de la famille des Fabacées ou légumineuses qui est classée la troisième après les Astéracées et les Orchidacées. Cette famille comporte 17000 espèces répandues dans le monde entier où la forme arborescente prédomine dans les pays chauds et la forme herbacée dans les régions tempérées. Les feuilles des plantes de cette famille sont alternes, composées imparipennées stipulées et peuvent évoluer vers des feuilles simples ou composées-pennées, la foliole terminale peut se transformer en vrille. Les fleurs sont groupées en grappes plus ou moins allongées. Le fruit se présente sous forme de gousse ou légume (Dupont and Guignard 2007).

H.coronarium est une plante herbacée diploïde (2n=16), spontanée, annuelle fourragère (Hamon 2001), allogame et faiblement autogame (Grimaldi 1961). C'est aussi une plante rampante pouvant atteindre 1,5 m de longueur. Les feuilles sont pétiolées et se composent de 7-15 paires de folioles ovales avec une foliole terminale.

Les tiges sont épaisses, simples ou ramifiées (Figure N°2), les fleurs mesurent 1,5-2 cm, pédonculés et la corole est généralement rouge vif. Les gousses sont droites, larges 4-5mm (Quezel, Santa et al. 1962), les graines sont ovoïdes (Boussaid, Ben Fadhel et al. 1995).



Figure N°2 : Photographie de *H. coronarium*.

Tableau N° III: Classification botanique d'*H. coronarium* selon APG (Group 2009)

Règne	Planta
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Rosidées
Ordre	Fabale
Famille	Fabaceae
Genre	Hédysarum
Espèce	<u><i>Hedysarum Coronarium</i></u>

I.2.2. Répartition et dénomination

H. coronarium se répartie sur le Nord Algérien et les régions méditerranéennes de l'Afrique du nord, l'Europe, l'Amérique du nord à partir de l'Arizona jusqu'au Canada (Hamon 2001). Plusieurs dénominations sont attribuées à cette plante dans le monde entier dont certaines sont données en tableau N°IV.

Tableau N°IV : Différentes dénominations d' *H. coronarium*

Nom Latin	<i>Hedysarum coronarium</i>
Nom Anglais	Italien sainfoin
Nom Français	Sainfoin d'Espagne, Sainfoin d'Italie, Hedysarum a bouquet, Sulla du Nord
Nom Espagnole	Esparcet d'España, Sulla
Nom Kabyle	Tasulla
Nom arabe	Sulla toudjeya

I.2.3. Composition phytochimique

Dans l'environnement méditerranéen *Hedysarum coronarium* montre une grande variabilité dans la composition des tannins condensés et une haute valeur protéique qui varié de 8 à 50 g/Kg de la matière sèche entière (Min, Barry et al. 2003). Elle renferme aussi des phénols et des flavonoïdes, des terpènes. Les sels minéraux identifiés et quantifiés sont le potassium (K=30,3%), le calcium (Ca=23,1%), le phosphore (P=2,9%), le sodium (Na=63,40%), le magnésium (Mg=3,45%), le manganèse (Mn=32,40%), le cuivre (Cu=11,9%) et le zinc (Zn=30,70%) (Arab, Haddi et al. 2009).

I.2.4. Effets thérapeutiques

H. coronarium est cultivée par plusieurs pays pour son intérêt industrielle (Hamon 2001). Elle joue le rôle d'un agent antibactérien et antioxydants, elle est employés pour traiter le diabète, la diphtérie, le mal de tête, le rhumatisme, le cancer, (Bektaş, Kaltalıoğlu et al. 2018). Elle est considérée comme laxatif, anti-hypercholesteramie et lutte contre la résistance aux parasites gastro-intestinaux (Burlando, Pastorino et al. 2017).

II.1. Définition des nanoparticules

Les nanoparticules (NPs) sont des agrégats de petites molécules de taille nanométrique (dimension entre 1 et 100 nm) constitués de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. La taille nanométrique augmente la surface de contacts entre les matériaux, ce qui leur confère une plus grande réactivité (Delay and Frimmel 2012).

L'argent (Ag) est le deuxième élément du premier groupe secondaire (IB) du tableau périodique, c'est un métal noble plus réactif que l'or. Ce métal, est exploité pour sa grande résistance mécanique (Silver 2003). C'est un métal de transition mou, blanc, brillant possédant diverses propriétés comme la conductivité électrique et thermique élevée et il est utilisé sous plusieurs formes telles que colloïdes comme lotions. Il est intervenu en médecine en tant qu'agent thérapeutique contre les maladies infectieuses et les infections chirurgicales. L'argent a bien beaucoup d'avantage que de facteurs de risque (Firdhouse and Lalitha 2015).

C'est l'un des métaux les plus utilisés pour la conception des nanoparticules. Les nanoparticules d'argent pouvant rassembler environ 20-15 000 atomes d'argent, ont montré les mêmes propriétés physico-chimiques et activités biologiques que l'argent, en plus des propriétés uniques des nanoparticules (Wijnhoven, Peijnenburg et al. 2009).

II.2. Propriétés des nanoparticules d'argent

a. Propriétés biocides de l'argent

Depuis la fin des années 1990, l'utilisation des nanoparticules d'argent colloïdal connaît un essor extrêmement important en raison de leur réactivité élevée, et leur pouvoir à limiter la propagation des infections, ainsi que l'amélioration de l'hygiène quotidienne. Elles ont également une capacité à libérer progressivement, et de manière contrôlée et durable, les ions Ag^+ (Lok, Ho et al. 2007).

Les nanoparticules d'argent sont couramment utilisées pour leurs propriétés bactéricides dont leur état d'oxydation joue un grand rôle. En effet, seules les nanoparticules d'Ag contenant la forme oxydée sont toxiques au contraire des nanoparticules métalliques de degré d'oxydation nul. La toxicité augmente lorsque la taille des nanoparticules diminue ce qui est directement corrélé avec une augmentation de la fraction d'ions Ag^+ adsorbée en surface des particules (Lok, Ho et al. 2007).

b. Propriétés physiques et chimiques de l'argent

Les propriétés physiques de l'argent sont données en tableau V. Ses différents états d'oxydation sont : Ag^0 , Ag^+ , Ag^{2+} , Ag^{3+} , il se trouve sous forme de trace dans la nature, d'un aspect brillant, de couleur blanc, et une forme malléable (Wijnhoven, Peijnenburg et al. 2009).

L'argent ionique, Ag^+ , forme des sels ou des complexes (ex. AgNO_3 , AgCl) solubles ou insolubles par l'association avec d'autres éléments organiques ou inorganiques (Luoma 2008) et (Wijnhoven, Peijnenburg et al. 2009).

Tableau V : Propriétés physiques de l'argent (Djeghboub 2010).

Numéro atomique-poids	47-107,87
Densité (g/cm^3)	10,5
Rayon atomique (nm)	0,153
Résistivité électrique ($\mu\Omega\text{cm}$)	1,59 (20°C)
Température de fusion (K)	1235,43
Température de d'ébullition (K)	2485
Conductivité thermique ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$)	429
Conductivité thermique (S m^{-1})	63 106
Electronégativité	1,93

c. Propriété désodorisante

Le nano-argent a des propriétés désodorisantes employées dans des réfrigérateurs pour éliminer les mauvaises odeurs (Birla, Tiwari et al. 2009).

II.3. Production des nanoparticules d'argents

II.3.1. Sources des nanoparticules d'argents

Les nanoparticules d'argents, sont des objets relativement fréquents produites soit à partir du métal naturel, soit à partir de l'argent ionique (Tolaymat, El Badawy et al. 2010). Ils existent en effet différentes sources de production des nanoparticules d'argent:

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

II.3.2. Stabilisation des nanoparticules d'argent

Les agents stabilisants sont diversifiés, en plus de protéger les colloïdes de la coalescence et de l'agglomération, ces agents chimiques définissent la solubilité des nanoparticules et leur confèrent une fonction à la surface. Dans la stabilisation des colloïdes comme les nanoparticules, deux mécanismes distincts sont utilisés :

- La stabilisation stérique : les dispersions stabilisées stériquement sont stables au cisaillement dans une large gamme de tailles de particules. Elles peuvent flocculer en changeant la solvabilité du milieu ou par la désorption du stabilisant (Bajpai, Bajpai et al. 2013).
- La stabilisation électrostatique : les particules peuvent aussi être stabilisées par des forces électrostatiques générées par l'ionisation de la surface de la particule entraînant l'apparition d'une charge de surface et la formation d'une double couche électrochimique. Cette dernière est due à une répartition des ions près de la surface différente de celles du cœur de la solution (Sharma, Yngard et al. 2009).

II.3.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent

a) Méthodes physiques

Les méthodes mécaniques, telles que l'homogénéisation et le broyage ont été utilisées pour préparer des nanoparticules d'argent pour application antimicrobienne. Cependant, les nanoparticules d'argent obtenues ont formé des agrégats et ont montré un mauvais effet bactéricide et inhibiteur. Dans les procédés physiques récents, les nanoparticules d'argent sont généralement synthétisées par évaporation-condensation (Simchi, Ahmadi et al. 2007).

b) Méthodes chimiques

Les méthodes chimiques de préparation de nanoparticules d'argent incluent la réduction chimique en solution aqueuse (Wang, An et al. 2012) (Li, Hong et al. 2010) ou organique, (Gibbons and Getman 1914), la réduction électrochimique (Cheng, Dong et al. 2002), la voie micellaire inverse (Zhang, Qiao et al. 2007), la réduction biochimique (Narayanan and Sakthivel 2010) ...etc.

De par sa simplicité, la synthèse de nanoparticules par réduction chimique est la technique la plus utilisée pour former des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques (Bulgakova and Bulgakov 2001) (Shannon, Mao et al. 1995). De plus, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre probablement le meilleur contrôle de taille et de forme

(Dupont, Caminat et al. 1995) (Vogel, Noack et al. 1999). Elle repose principalement sur l'utilisation de trois composants, soit : un précurseur métallique, un agent réducteur et un agent stabilisant (Simchi, Ahmadi et al. 2007).

c) Méthodes biologiques

Les méthodes chimiques permettent la préparation des nanoparticules de taille uniformes et contrôlables ; cependant elles emploient des solvants organiques présentant des risques potentiels pour l'environnement (Nair, Sasidharan et al. 2009). En outre, la réduction biologique est développée comme une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que des sources suffisantes de matériaux, des conditions de réaction modérées, et une bonne dispersion des nanoparticules ainsi que l'absence d'additifs chimiques et des sous-produits chimiques (Shankar, Rai et al. 2004).

Il a donc été nécessaire de recourir aux méthodes biologiques pour développer une approche respectueuse de l'environnement pour la synthèse des nanoparticules d'argent en utilisant des microorganismes (Nair, Sasidharan et al. 2009), des enzymes (Willner, Baron et al. 2006) et des plantes ou des extraits de plantes (Shankar, Rai et al. 2004).

Hamid, Zargar and others 2011 ont démontré la perspective d'employer l'extrait méthanolique des feuilles de plantes pour la synthèse des nanoparticules d'argent par une méthode biologique. (Jang, Yang et al. 2016) Ont effectué une étude sur l'activité anticancéreuse *in vitro* des nanoparticules argentées synthétisés à partir d'extraits de plantes. (Taşkıran, UZUNOĞLU and others. 2017) Ont réalisé une recherche sur la caractérisation et la détermination des propriétés adsorbantes des nanoparticules d'argent synthétisées avec l'extrait de feuilles d'*Acacia cyanophylla*. (Kumar, Kumar et al. 2018) Ont opté pour la synthèse verte des nanoparticules d'argent en utilisant l'extrait d'*Antidysenterica holarrhena* et la détermination de leur activité larvicide contre des vecteurs de dengue et de filariose.

II.4. Effet toxique des nanoparticules

L'argent sous forme de nanoparticules peut pénétrer dans le corps humain par différentes voies. Après ingestion ou par contact dermique en présence d'une lésion cutanée, les nanoparticules métalliques peuvent se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique et s'accumuler dans les organes, comme les ions Ag^+ (Panyala, Peña-Méndez et al. 2008)

Il a été supposé que le complexe NP-corona serait responsable de cette toxicité puisque c'est lui qui dicte les mécanismes d'internalisation et qui guide la distribution. Ainsi, dans un système biologique complexe, les NPs seraient toxiques d'après leur composition et aussi d'après la nature de leur corona (Allouni, Cimpan et al. 2009) (Monopoli, Åberg et al. 2012). Aussi, il a été publié que les NPs ont la capacité de passer à travers les différentes barrières dont la barrière hémato-encéphalique et le placenta (Hadrup and Lam 2014).

Toutefois, l'absorption des NPs semble dépendre de l'exposition puisque certaines études indiquent que les NPs qui pénètrent par contact dermique sont sans danger et que leur internalisation par les cellules est négligeable (Cross, Innes et al. 2007) (Nohynek, Antignac et al. 2010) (Zvyagin, Zhao et al. 2008). La dernière étape est celle de l'excrétion, il s'agit de l'évacuation des NPs par l'organisme. (Loeschner, Hadrup et al. 2011) ont présenté des résultats indiquant que des NPs Ag ingérées étaient retrouvées dans les excréments des rats. Il a aussi été observé que l'excrétion de l'argent aurait aussi lieu via le système biliaire et les urines (Hadrup and Lam 2014). Il n'est pas encore déterminé si après un certain temps, les NPs sont complètement évacuées ou si des résidus persistent (Busquets, Sabaté et al. 2014).

En outre, les quantités de nanoparticules d'argent utilisées actuellement dans les différents domaines ne reflètent pas les niveaux auxquels les êtres humains sont pour le moment confrontés (Hussain and Schlager 2009). De plus, de nombreuses études montrent que l'argent ionique n'induit pas des conséquences négatives pour l'être humain, aux concentrations requises pour obtenir une activité antimicrobienne (Busquets, Sabaté et al. 2014).

II.5. Applications des nanoparticules

En raison de leurs propriétés spécifiques, les nanoparticules d'argent (NPs Ag) ont été employées intensivement dans des outils de ménage, l'industrie de soins de santé, et dans le stockage et l'emballage de nourriture, et elles ont aussi des applications biomédicales.

L'argent est employé dans l'industrie alimentaire pour éviter les contaminations microbiennes et prévenir l'apparition d'un goût métallique. (Smith and Zysk 1987).

Les emballages antibactériens sont utilisés pour empêcher la contamination bactérienne dans les produits alimentaires. Si des nano composites antimicrobiens à base d'argent sont incorporés dans des matériaux d'emballage, la contamination microbienne peut être contrôlée

en réduisant le taux de croissance des micro-organismes. des chercheurs ont essayé d'incorporer des nanoparticules d'argent dans les matériaux d'emballage tels que du papier filtre, du polyéthylène basse densité (LDPE), et le poly (méthacrylate de méthyle) (PMMA) (Mtimet 2011).

Les nanoparticules d'argent ont été utilisées dans les stations d'épuration pour le traitement des eaux usées et ont montré une activité antibactérienne intéressante. La dispersion d'argent sur les surfaces de la membrane a amélioré l'activité antimicrobienne contre *E. coli* et *S. aureus*. Les résultats de cette recherche ont confirmé que la membrane Ag-PES peut inhiber presque la croissance bactérienne à 100% (Jain and Pradeep 2005). Les symptômes de maladies liées à l'eau telles que la diarrhée et la déshydratation peuvent être réduits par l'amélioration de la qualité de l'eau potable (Lv, Liu et al. 2009).

Elles sont utilisées en tant qu'agents antimicrobiens dans les pansements pour empêcher les infections de blessure, et en tant qu'agents anticancéreux (Firdhouse and Lalitha 2015).

Les nanoparticules d'argent sont aussi utilisées comme additif antimicrobien dans les ciments osseux poly (méthacrylate diméthyle) (PMMA) (Alt, Bechert et al. 2004). L'argent imprégnés dans Les dispositifs implantables, et les masques chirurgicaux indiquent une efficacité antimicrobienne importante (Fu, Ji et al. 2006).

L'argent est doté également d'une activité cytoprotectrice des cellules de l'infection par le VIH-1 (Elechiguerra, Burt et al. 2005).

Partie pratique

III.1. Matériels et réactifs

III.2. Matériel végétal

III.2.1. Récolte et identification du matériel végétal

Les parties aériennes de *Sonchus oleraceus* et d'*Hedysarum coronarium* illustrées dans les figures ci-dessous (Figure N° 3), ont été récoltées au mois de mars 2018. *S. oleraceus* dans la région de Tazmalt de la commune Ikherbane, située à 117,8 Km de la wilaya de Bejaia, et *H. coronarium* dans la région de Bejaia au niveau de campus universitaire de TargaOuzmour de Bejaia (Figure N°4), loin de tout impact de pollution. Les deux plantes ont été choisies sur la base de leur rentabilité, disponibilité et propriétés médicinales. L'identification botanique des deux plantes à été réalisée par Dr. Ourari chercheuse du laboratoire d'environnements dans la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

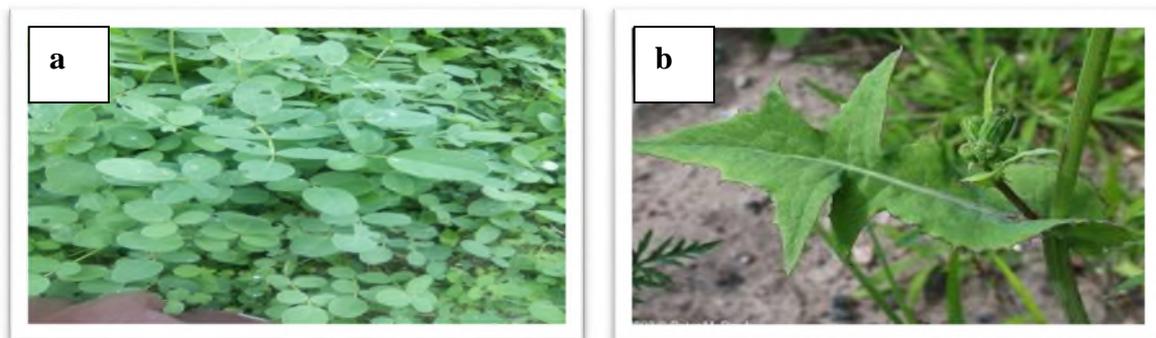


Figure N°3 : Photographies des parties aériennes de (a) *H. coronarium* et (b) *S. oleraceus*



Figure N°4 : Localisation géographique du lieu de récolte de *H. coronarium* et *S. oleraceus*

III.3.Méthodes**III.3.1. Séchage et broyage**

La partie aérienne des deux plantes fraîchement récoltée, est utilisée pour le test d'humidité et l'autre partie a été lavée à l'eau courante afin de la débarrasser des poussières et autres particules, puis séchée dans une étuve à 40°C pendant trois jours. La température de 40°C permet de préserver de la dégradation des substances thermolabiles telles que les polyphénols et les vitamines...etc.

Après le séchage, le matériel végétal a été broyé, à l'aide d'un broyeur électrique, en une poudre fine pour permettre une meilleure extraction, cette dernière a été ensuite conservée dans des bocaux en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

III.3.2.Test d'humidité**a) Principe**

La teneur en humidité des plantes a été déterminée selon la méthode utilisée par Pinelo and others.(2004). Elle consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve à 105°C.

Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$\%H = \frac{(p.e-m)}{p.e} * 100$$

Où:

H % : d'humidité de l'échantillon

p.e : Prise d'essai (g)

m : masse après séchage (g)

b) Mode opératoire

Le protocole du test d'humidité effectué consiste à placer trois échantillons, pour les deux plantes fraîches, de 10 g chacun dans une étuve à une température de 105°C jusqu'à stabilisation du poids.

III.3.3. Extraction des substances bioactives

a. Préparation des extraits aqueux des plantes

Brièvement, les poudres de plantes (5g) ont été mises en contact avec de l'eau distillée (50 mL) et le mélange a subi un chauffage (50 °C) et une agitation (500rpm) à l'aide d'une plaque agitatrice pendant 24 heures. Le mélange est ensuite filtré en utilisant du papier Whatman n°1 pour obtenir des solutions claires, qui ont été séchées dans une étuve à 40°C afin d'avoir l'extrait sec après évaporation totale de solvant. Les extraits concentrés obtenus après reconstitution avec de l'eau distillée ont été maintenus dans des flacons sombres à 4°C jusqu'à utilisation (Mollick and others, 2015).

b. Détermination des rendements d'extraction

Le rendement d'extraction dépend du solvant et de la méthode d'extraction, du temps de macération et du volume du solvant (Eloff, 1998 ; Hayouni and others., 2007). Le rendement est le rapport de la quantité de composés phénoliques recueillie après extraction par les solvants sur la quantité de la biomasse.

Il est déterminé selon Owen et Johns (1999) par la formule suivante :

$$Rd (\%) = \frac{P_1 - P_0}{E_I} \times 100$$

Rd : Rendement.

P₀ : Poids de la fiole vide (g)

P₁: Poids de l'extrait sec avec la fiole après évaporation du solvant (g)

E_I: Poids de l'échantillon (poudre) en gramme (5 g)

c) Biosynthèse des nanoparticules d'argent

nous avons opté pour la synthèse des nanoparticules ont utilisent une méthode biologique en suivant le protocole de (Mollick and others, 2015). Brièvement, 90 mL de la solution de nitrate d'argent (AgNO₃) à 1mM a été préparée dans un Erlenmeyer de 250 mL et 10 mL d'extrait aqueux de chaque plante ont été ajoutés pour la réduction des ions d'Ag⁺. Le mélange a été laissé sous agitation à 500 rpm sur une plaque agitatrice magnétique avec chauffage à une température de 100°C pour la bioréduction complète d'AgNO₃ aux ions Ag⁺ qui a été confirmée par le changement de la couleur. En effet, la réduction est complète quand la couleur de la solution vire d'une couleur jaunâtre au brun jaunâtre à brun-rougeâtre.

Les réactions sont effectuées à l'obscurité (pour éviter la photoactivation d'AgNO₃ (Mollick and others, 2015)).

III.3.4. Dosage des polyphénols totaux

a) Principe

La quantification colorimétrique des polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode décrite par (Dorman and others, 2003) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Ces derniers, lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 760 nanomètres est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot and Charpentier, 2006).

b) Mode opératoire

Le protocole utilisé par (Dorman and others, 2003) pour le dosage des composées phénoliques totaux est schématisé dans la figure suivante :

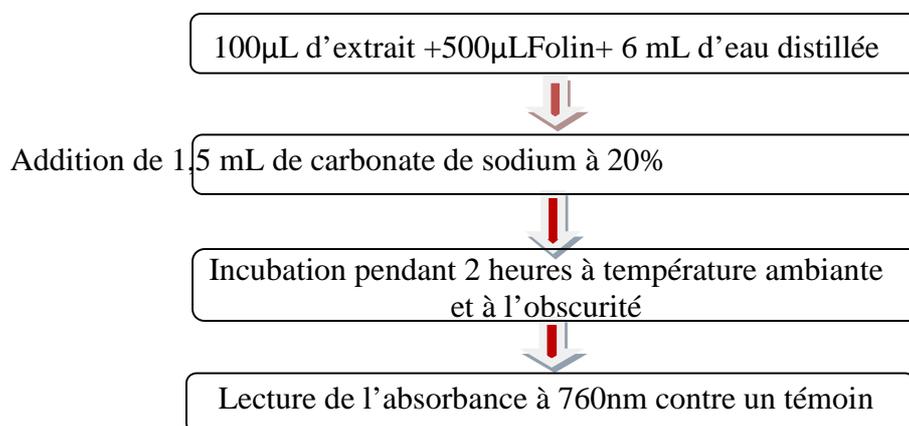


Figure N° 5: Protocole de dosage des composées phénoliques (Dorman and others, 2003).

c) Expression des résultats

Les concentrations en polyphénols totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique. Les

résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par un gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (Dorman and others, 2003). (Annexe 1)

III.3.5. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

Les flavonoïdes sont constitués d'une large gamme de composés naturels appartenant aux polyphénols qui existe chez la majorité des plantes. Certains de leurs groupements structuraux sont susceptibles de former par chélation des complexes jaunâtres avec les métaux notamment l'aluminium et le fer.

Les ions métalliques M^{++} interagissent avec deux oxygène de la molécule phénolique agissant comme un donneur d'électron pour formation d'un complexes (Ribéreau-Gayon, 1968).

b) Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes de l'extrait étudié est évaluée selon la méthode décrite par Djeridane et ses collaborateurs (2006) (Figure N°6).

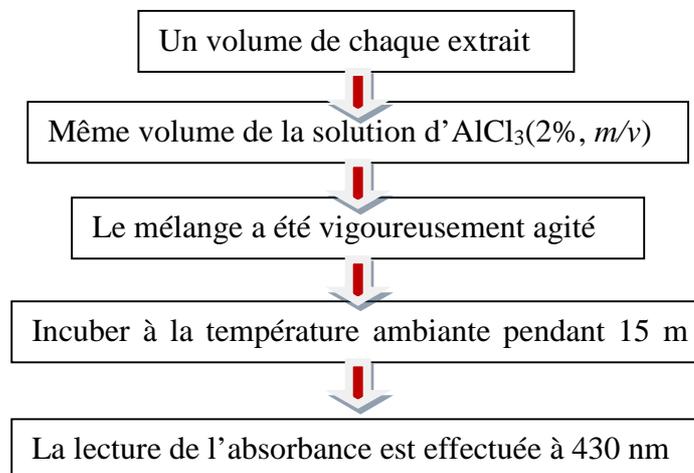


Figure N° 6: Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane and others, 2006).

c) Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent quercétine par un gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). (Annexe 1)

III.3.6. Caractérisation des nanoparticules d'argent

III.3.6.1. Spectroscopie UV- visible

a. Principe

La spectroscopie UV-Visible est une technique très utilisée pour les substances organiques et minérales, elle repose sur la transition d'électrons de valence qui passent de l'état fondamental à l'état excité grâce à une onde électromagnétique. Cette transition s'accompagne des propriétés rotationnelles et vibrationnelles des molécules qui requiert une énergie assez forte qui correspond à la longueur d'onde de l'UV-visible (Huang and Yang, 2004).

b. Mode opératoire

Les mesures spectrophotométriques ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau UV-visible (Thermo) pour les deux extraits préparés en utilisant une cuve en quartz de 10 mm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostatée à 25°C. L'analyse est effectuée entre 190 et 700 nm. L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons analysés.

III.3.6. 2. Spectroscopie infrarouge

a. Principe

L'infrarouge est une méthode très utilisée pour la caractérisation et l'identification des composés ou de leurs groupements fonctionnels (liaisons chimiques) dans un mélange d'extraits. L'identification des liaisons se fait à l'aide du nombre d'onde correspondant et la détermination de groupe caractéristique par un spectre d'un composé inconnu qui sera identifié par comparaison à la bibliothèque des composés connus (Mollick and others, 2015).

b. Mode opératoire

Nous avons utilisé un Spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) de type Agilent Cary 640 disponible au Laboratoire de chimie du département génie alimentaire, en utilisons le protocole d'écrit par (Mollick and others, 2015).

La poudre des nanoparticules d'argent préparées à base d'extraits de plantes a été déposée entre deux plaques KBr et les spectres sont enregistrés dans l'intervalle de 4000 à 400 cm^{-1} .

III.3.6.3. Diffraction des Rayons X (DRX)

a.Principe

La technique de diffraction des rayons X est une méthode qui permet de déterminer les phases cristallisées d'un échantillon et d'identifier l'arrangement de ces atomes ainsi que leur distance interatomique. Cette technique consiste à observer l'interaction des rayons X avec la matière, lorsque la matière est bombardée par des rayons X un rayonnement émis dans toutes les directions avec des ondes de même phase, de la même longueur d'onde, cette diffusion entraîne l'interférence entre les ondes diffusées par chaque plan atomique formant ainsi une onde diffractée dont les caractéristiques dépendent de la structure cristalline de la matière, le diffractogramme est enregistré sous forme d'un spectre. Les spectres peuvent être obtenus à partir d'un fragment solide ou de petite quantité de poudre (Shin and others, 2008)

b. Mode opératoire

Les poudres obtenues des nanoparticules préparées à base d'extraits des deux plantes ont été déposées sur une lame en verre puis analysées par DRX. Cette dernière a été effectuée sur un diffractomètre de type Expert Prof Panalytical, il est doté d'un tube à anode de Cu, pds passe (programme divergence slit, programme antiscatér) a générateur de voltage de 40 Kv et le tube courant est de 30mA.

III.3.7. Evaluation de l'activité antioxydantes

III.3.7. 1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

a) Principe

Le DPPH[•] est un radical libre organique stable, généralement utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes de toutes substances *in-vitro* (Loganathan and others, 2011). Lorsque une solution de DPPH est mélangée avec la substance qui agit comme donneur d'hydrogènes, le DPPH[•] (1,1diphényl-2-hydrazyl) de couleur violette (forme oxydée) se réduit en 1,1diphényl-1-hydrazine de couleur jaune (Athamena and others, 2010).

b) Mode opératoire

Le protocole d'évaluation de l'activité antioxydantes par le test au DPPH est donné par (Debbabi and others, 2016) (Figure N°7).

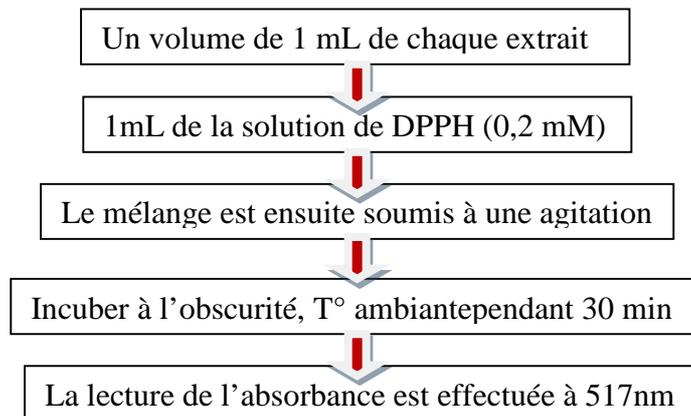


Figure N°7 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydants (DPPH)

c) Expression des résultats

Les résultats sont déterminés en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec le Trolox et sont exprimés en mg/g équivalent Trolox. (Annexe 1)

III.3.7. 2. Détermination du pouvoir réducteur**a) Principe**

Le pouvoir réducteur est étudié pour déterminer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique « Fe^{3+} » du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux « Fe^{2+} ». Cette réduction se traduit par une coloration vert mesurée à 700 nm et dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (Oyaizu, 1986).

b) Mode opératoire

Le protocole adopté dans ce test est celui donné par Debbabi and others. (2016) (Figure N°8).

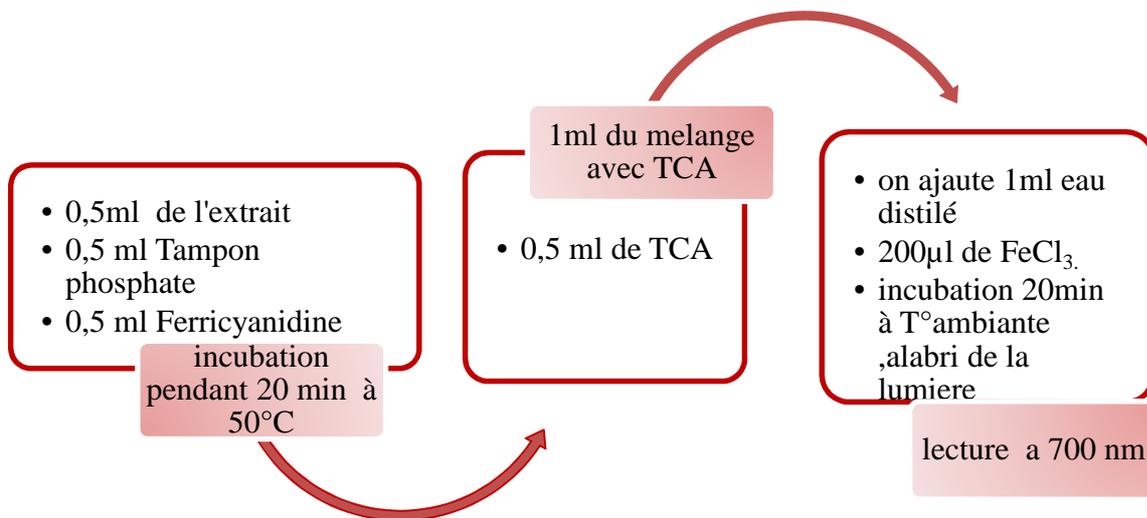


Figure N°8: Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur(Debbabi and others, 2016)

c) Expression des résultats

Les résultats sont déterminés en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec le Trolox et les résultats sont exprimés en mg/g équivalent Trolox (Annexe 1).

III.3.8. Détermination de l'activité antibactérienne

a) Principe

L'activité antibactérienne consiste à estimer l'inhibition de la croissance bactérienne d'un produit synthétisé par la « méthode de diffusion sur gélose par puits ». Les extraits de plantes et les produits synthétisés (nanoparticules d'argent (Ag) sont testés pour leur activité antibactérienne vis-à-vis de quatre souches :

Escherichia coli (bactérie à Gram négatif), *Pseudomonasaeruginosa*(bactérie à GRAM négatif), *Staphylococcus aureus* (bactérie à GRAM positif), *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline(SARM) : (bactérie à GRAM positif).

b) Mode opératoire

La mise en évidence de l'activité antibactérienne est réalisée selon la méthode d'écrite par (Mollick and others, 2015) comme le montre le schéma ci-dessous (Figure N°9):

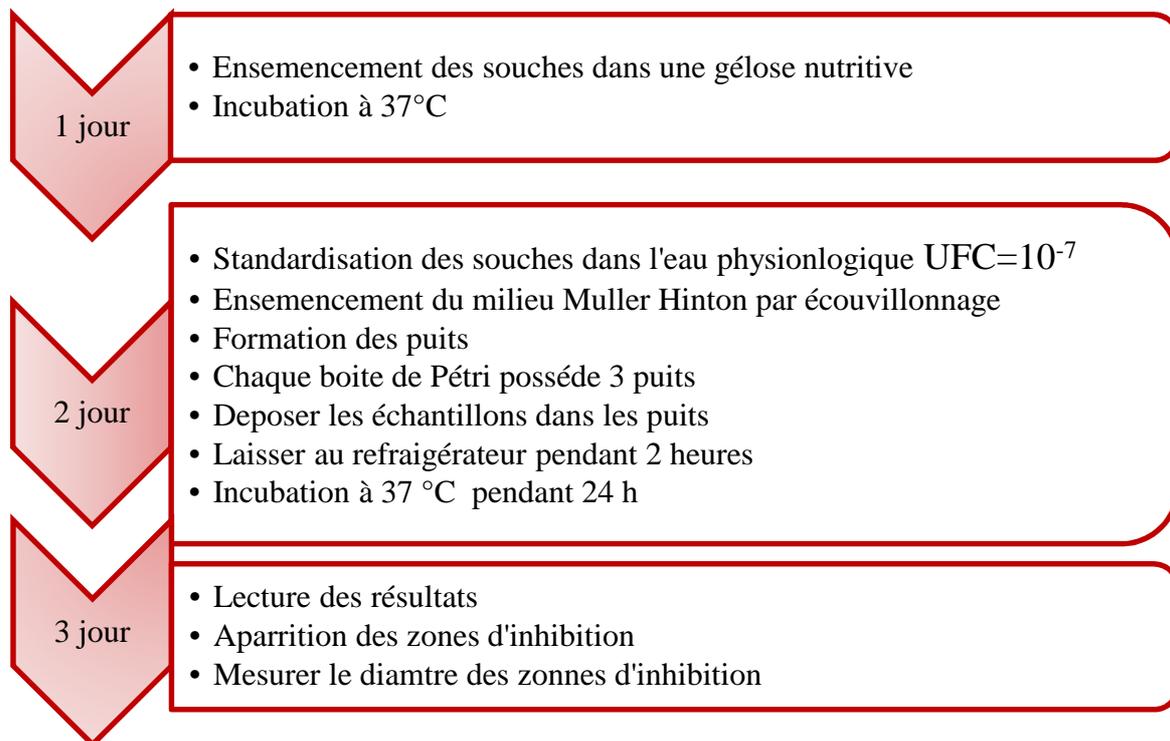


Figure N°9: Schéma Général de l'activité antibactérien

Les échantillons ont été déposés dans trois puits comme suit :

a)Puits N°1 : solution de Ag ; b)Puits N°2 : solution des nanoparticules ; c)Puits N°3 : solution d'extrait de plante.

IV.1. Extraction

L'extraction par macération est une procédure importante qui préserve les structures des métabolites d'origine végétale. Par conséquent, elle est largement employée pour l'évaluation de la composition chimique des extraits bruts de plantes, mais aussi pour estimer les teneurs de certains constituants spécifiques solubles dans un solvant particulier (Benchaachoua and others. 2016).

Les rendements des deux extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances végétales extraites sur la quantité de matière végétale utilisée, ils sont exprimés en pourcentage (%). *S. oleraceus* montre un rendement de 6,4% et *H. coronarium* de 8%.

Avant de procéder à la fabrication de nanoparticules à base des deux plantes choisies dans ce présent travail, leurs extraits ont été analysés. Les paramètres déterminés sont les teneurs en eau, polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

IV.2. Test d'humidité

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des parties aériennes de *S. oleraceus* d'*H. Coronarium*. Le séchage de trois essais de chaque échantillon a révélé des taux d'humidité qui sont $92,13 \pm 0,12\%$ et $89,06 \pm 0,15\%$, respectivement (Figure N°10). Ces résultats indiquent que plus de $\frac{3}{4}$ du poids des deux plantes fraîches sont constitués d'eau, mais c'est la partie aérienne de *S. oleraceus* qui a révélé une teneur plus importante avec une différence significative à $P < 0,05$) (Annexe I).

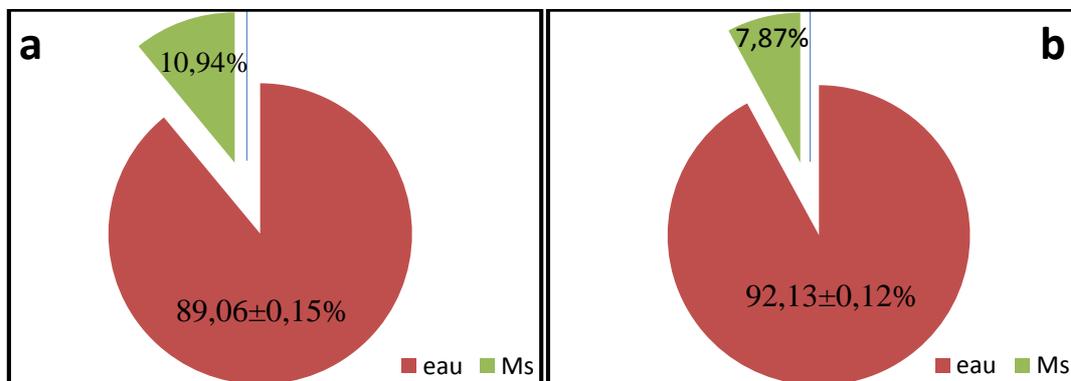


Figure N°10 : Représentation graphique de la teneur en eau de la partie aérienne de (a) *H. coronarium* et (b) *S. oleraceus*.

Ms : matière sèche

IV.3. Dosage des composés phénoliques

L'extraction est une étape importante pour l'isolement, l'identification et la quantification des composés phénoliques. Ces composés issues de différentes plantes présentent une variabilité dans leurs structures. Il est donc très difficile de développer une méthode d'extraction standardisée, qui extrait simultanément tous les composés phénoliques inhérents (Bucić-Kojić and others, 2011).

IV.3.1. Dosage des phénols totaux

La quantité en polyphénols totaux dans les extraits est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe N°D), dans une gamme de concentrations allant de 0 à 10 $\mu\text{g/mL}$, et les résultats sont illustrés dans la figure N°11.

Les valeurs moyennes des concentrations en polyphénols totaux des extraits aqueux *S. oleraceus* et *H. coronarium* sont de $1,76 \pm 0,34$ et $2,45 \pm 0,32$ mg EAG/g de matière sèche respectivement.

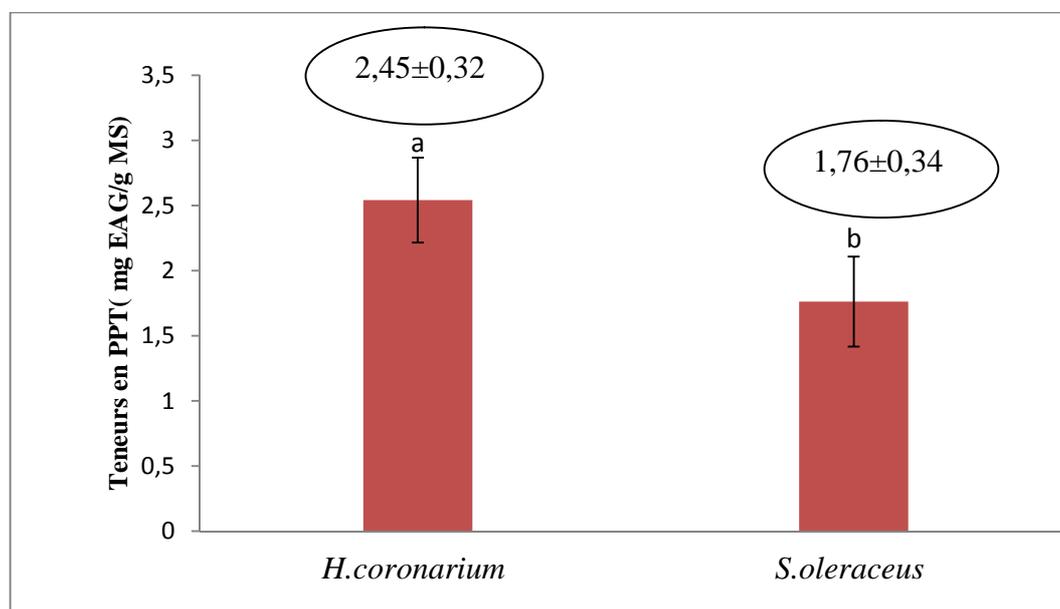


Figure n°11: Représentation graphique du taux de polyphénols totaux des extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium*.

Les barres verticales représentent les écarts type

Les lettres a et b montrent l'existence d'une différence significative à $P \leq 0,05$.

La teneur en PPT de *S. oleraceus* obtenue dans ce présent travail ($1,76 \pm 0,34$ mg EAG/g MS) est largement inférieure à celle obtenue par (Seal, 2011), ($17,32 \pm 0,10$ mg EAG/g MS) pour la même espèce de l'Inde. De même, plusieurs chercheurs (Khan, 2012), ont révélé que d'autres espèces du genre *Sonchus* (*S. arvensis*) sont plus riches en polyphénols totaux où la partie aérienne de *S. oleraceus* a donné $6,07 \pm 0,07$ mg EAG/g MS (Jimoh and Afolayan, 2011), $40,5 \pm 0,0$ mg EAG/g MS (Yin et al., 2007) et $66,5 \pm 8,92$ mg EAG/g MS (Gomaa et al., 2014). En outre, les parties aériennes de *S. arvensis* et *S. asper* ont enregistré des teneurs respectivement de $420 \pm 6,9$ mg EAG/g MS (Khan, 2012) et $332 \pm 1,53$ mg EAG/g MS (Khan et al, 2012). Toutefois, Hussain et al. (2010) ont détecté une concentration plus faible ($1,44 \pm 0,13$ mg EAG/g) dans l'extrait de la partie aérienne de *S. asper* et Juhaimi et al. (2017) ont trouvé une teneur ($1,74 \pm 0,02$ mg EAG/g MS) assez proche.

Quant à l'espèce *H. coronarium*, les valeurs des concentrations en PTT mesurées par d'autres auteurs sont plus importantes ; Di Trana and others. (2015) et Burlando and others (2017) ont trouvé que les teneurs en PTT sont respectivement de 9,26 et 38 ± 1 mg EAG/g MS pour la même espèce. De même, les résultats de l'étude réalisée par (Bektaş and others, 2018), ont révélé que *H. cappadocicum* est plus riche en PPT avec une concentration de $50,96 \pm 1,01$ mg/g EAG. Par contre, pour l'espèce *H. flexuosum* (Errassi and others, 2018) ont trouvé une teneur en PTT de $2,29 \pm 0,28$ mg EAG/g MS, ce qui est assez proche du résultats trouvé dans la présente étude.

D'après (Levizou and others, 2004) les variations observées dans les taux en composées phénoliques, pourraient être attribuées essentiellement aux conditions d'extraction ainsi qu'aux conditions environnementales, à la saison de récolte et aux facteurs morphogénétiques. D'autre part, d'après (Boizot and Charpentier, 2006) le dosage au réactif de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols ; il réagit avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane, protéine, acide tartrique et les sulfites) et d'autres composés.

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

La quantité en flavonoïdes dans les extraits est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (Annexe N°I), et les résultats sont illustrés dans la figure N°12. L'extrait aqueux d'*H.coronarium* a révélé une concentration plus élevée ($0,79\pm 0,03$ mg EQ/g de MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$ comparativement à celui de *S.oleraceus* ($0,47\pm 0,02$ mg EQ/g MS)

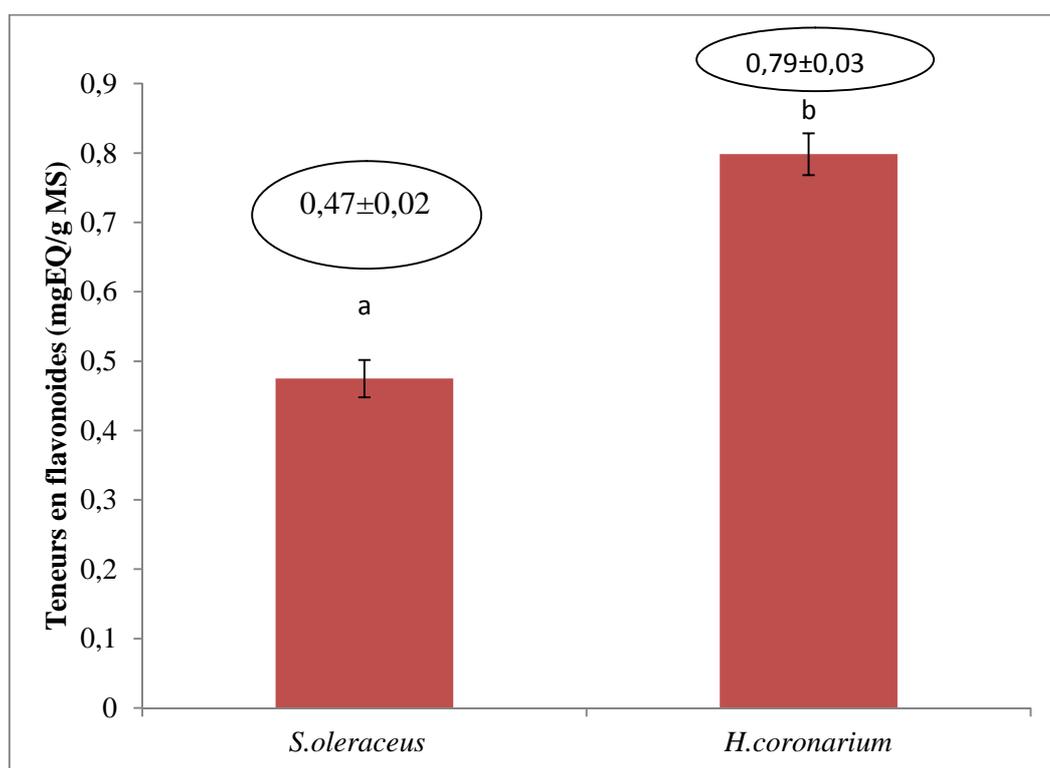


Figure n°12: Représentation graphique du taux de flavonoïdes dans les extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium*

Les barres verticales représentent les écarts type

Les lettres a et b montre l'existence d'une différence significative à $P \leq 0,05$.(Annexe I)

Les travaux menés par (Khan, 2012) sur *S. arvensis* ont révélé que cette plante est très riche en flavonoïdes. Les recherches réalisées par différents auteurs sur certaines espèces du genre *Sonchus* ont montré des teneurs en flavonoïdes largement supérieure au résultat trouvé dans ce présent travail. Il s'agit de *S. oleraceus* de différentes origines qui renferme $0,66\pm 0,0$ mg/g EQ d'extrait sec (Jimoh and Afolayan, 2011), $2,95\pm 0,44$ mg/g de poids sec (Gomaa and

others., 2014) ou $14,1 \pm 2,3$ mg/g (Yi and others., 2007) et de *S. asper* qui contient $1,34 \pm 0,10$ mg/100g de poids sec (Hussain and others., 2010) ou $11,4 \pm 0,45$ mg/g MS (Khan and others., 2012). En outre, *S. arvensis* contient une teneur importante en flavonoïdes qui est de $23,4 \pm 1,2$ mg/g d'extrait sec (Khan, 2012). Cependant, (Jimoh and Afolayan, 2011) ont trouvé pour *S. asper* une concentration assez proche ($0,63 \pm 0,12$ mg/g EQ d'extrait sec) de celle trouvée dans ce présent travail.

Concernant *H. coronarium*, l'étude menée par (Burlando and others, 2017) a révélé que cette plante est très riche en flavonoïdes avec une concentration de 13 ± 8 mg/g EQ. Ces auteurs ont utilisé des solvants différents de ceux que nous avons utilisés ce qui pourrait expliquer ces différences. De plus, selon (Cai and others, 2004) et (Djeridane and others, 2006), la méthode d'extraction, la famille, et la partie de plante utilisée influencent également la teneur en flavonoïdes.

IV.4. Synthèse des nanoparticules

Dans la présente étude, la synthèse de nanoparticules d'argent a été réalisée avec succès en utilisant les extraits aqueux des parties aériennes de *S. oleraceus* et d' *H. coronarium*. Une couleur brun-jaunâtre (Figure N°13). Qui a changé en brun très foncé (Figure N°14), a été observée après addition de 10 mL de l'extrait dans 90 mL de la solution de nitrate d'argent à 1mM et sous agitation continue. Le développement de cette coloration est un indice de la capacité des extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium* à réduire biochimiquement le nitrate d'argent, et la synthèse des nanoparticules d'argent en excitant les vibrations de plasmon de surface. Le taux de réduction a été augmenté par incubation du mélange à 37 °C pendant 24 heures (Verma and others, 2016).

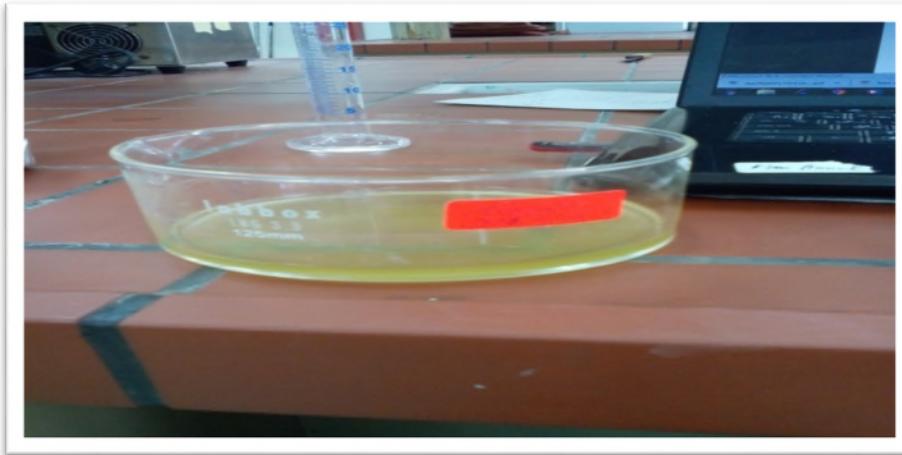


Figure N°13 : Extraits aqueux de *S.oleraceus* et *H.coronarium* avant la biosynthèse de nanoparticules.



Figure N°14 Extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium* après la biosynthèse de nanoparticules.

IV.4.1 Techniques d'analyse et de caractérisation

IV.4.1.1 Spectroscopie d'absorption UV -Vis

La formation de nanoparticules d'argent (NPs Ag) a été suivie en mesurant le spectre d'absorption UV-Vis du milieu réactionnel dans la gamme de longueurs d'onde de 190 à 700 nanomètre. Les propriétés optiques de NPs Ag synthétisées ont été étudiées en utilisant la spectroscopie UV-Vis et les spectres enregistrés sont montré dans la figure N°14. Ces spectres montrent une bande d'absorbance nette à environ 414 nm (*H. coronarium*), et absence d'une bande d'absorbance nette pour l'extrait de *S. oleraceus* à la température ambiante. Des résultats similaires sont rapportés dans la littérature (Mollick and others, 2015), (Nayak and others, 2015) ; (Zargar and others, 2011).

Comme nous l'avons déjà mentionné, les extraits de *S. oleraceus* et d'*H. Coronarium* ont réduit l'ion d'argent dans la solution aqueuse (AgNO_3) ayant pour résultat le changement de couleur de la solution de sa couleur jaune-clair à Jaune-brun en raison de la formation NPs Ag.

Le comportement d'absorption est dû à la résonance extérieure de plasmon (SPR), qui est le résultat de l'oscillation des électrons dans la bande de conduction des NPs Ag induit par le champ électromagnétique. Il est bien connu que NPs Ag présentent une couleur brun-jaunâtre en solution aqueuse (AgNO_3) en raison de l'excitation des vibrations de plasmon de surface dans les NPs Ag (Shankar and others, 2004).

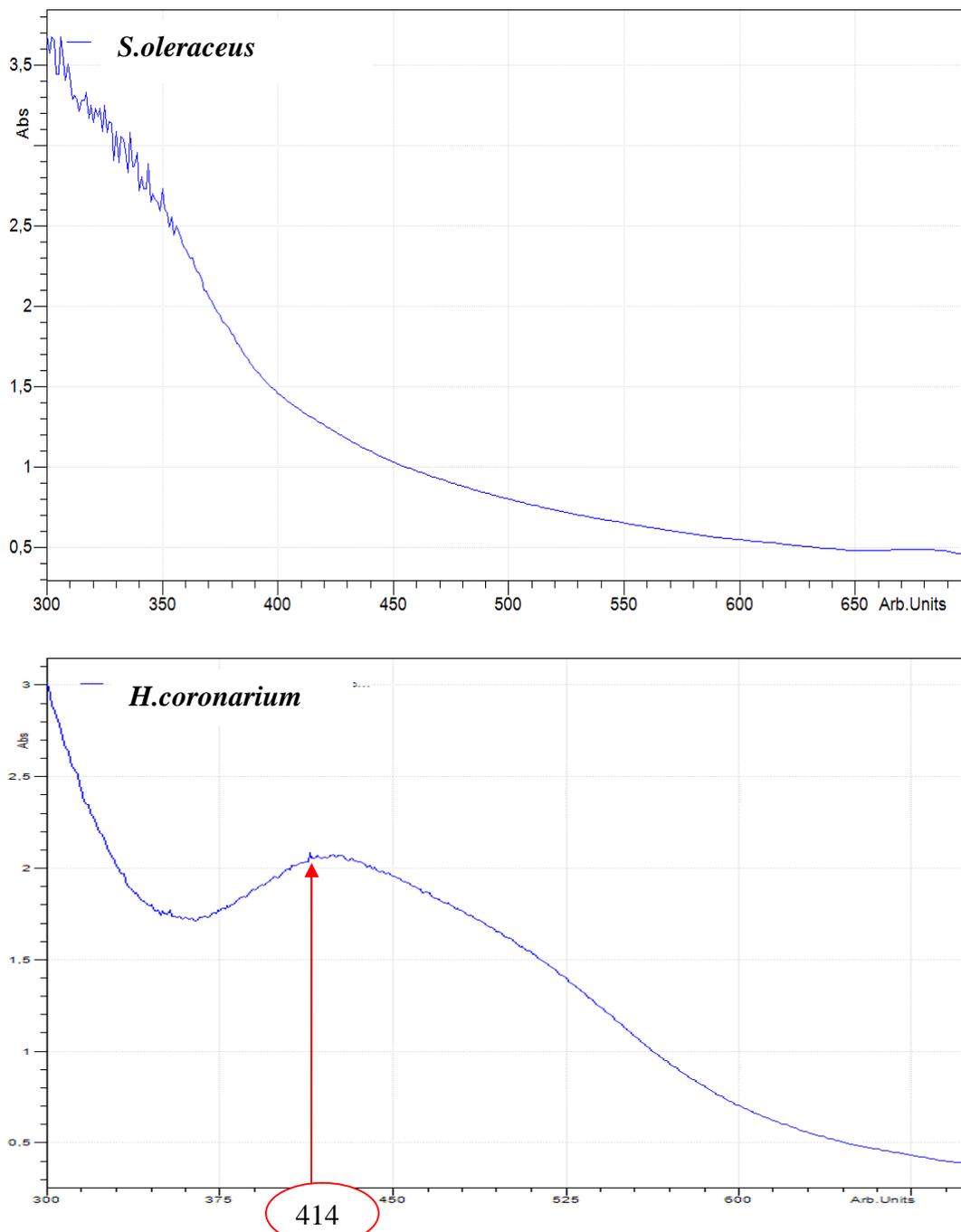


Figure N°14 : Spectre UV-Vis des NPs Ag synthétisées par les extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium*.

IV.4.1.2. Analyse des spectres d'IR

Le spectre infrarouge à transformée de fourrier (FTIR) représente les pics moléculaires d'absorption et de transmission qui correspondent à la fréquence des vibrations entre les

atomes du matériel. La (Figure N°15) représente les bandes d'absorption des NPs Ag synthétisées à partir de *S. oleraceus* et *H. coronarium* dans la gamme 400-4000 cm^{-1} . Plusieurs bandes d'absorption ont été observées en analysant la poudre des NPs Ag synthétisées par *S. oleraceus*. Il s'agit de bandes à 3383, 1651, 1556, 1417, 1114 et 617 cm^{-1} . Pour les NPs Ag synthétisées par *H. coronarium*, les pics d'absorption sont observés à 3386, 1614, 1556, 1421, 1402 et 1118,665 cm^{-1} .

Selon la littérature la bande 3394 cm^{-1} correspond au groupement (N-H) (MubarakAli and others, 2011), 1650 cm^{-1} correspond au groupement (C=C) et au bande (N-H) des akène et amine primaire (Chahardoli and others, 2017), 1629 cm^{-1} correspond au groupement (O-H) d'acide carboxylique et au groupement amine primaire (N-H), 1588 cm^{-1} représente le groupement aromatique (C-C) (Kumar and others, 2016), 1410 cm^{-1} est un groupement aromatique (C=C) (Taşkiran and others, 2017), 1402 cm^{-1} est un groupement (C-N), 1120 cm^{-1} indique la présence des carbonyles et alcool (Rajkuberan and others, 2017) et 660 cm^{-1} correspond au groupement (C-H) aromatique (Taşkiran and others, 2017).

Les deux plantes utilisées pour la synthèse des NPs Ag partage plusieurs bande d'absorption. La majorité des bandes de FTIR a montré les groupes fonctionnels caractéristiques d'amines, de phénol et alcools, de flavonoïdes et des terpènes de la partie aérienne des deux plantes qui joue un rôle actif dans la bio-réduction des NPs Ag synthétisées.

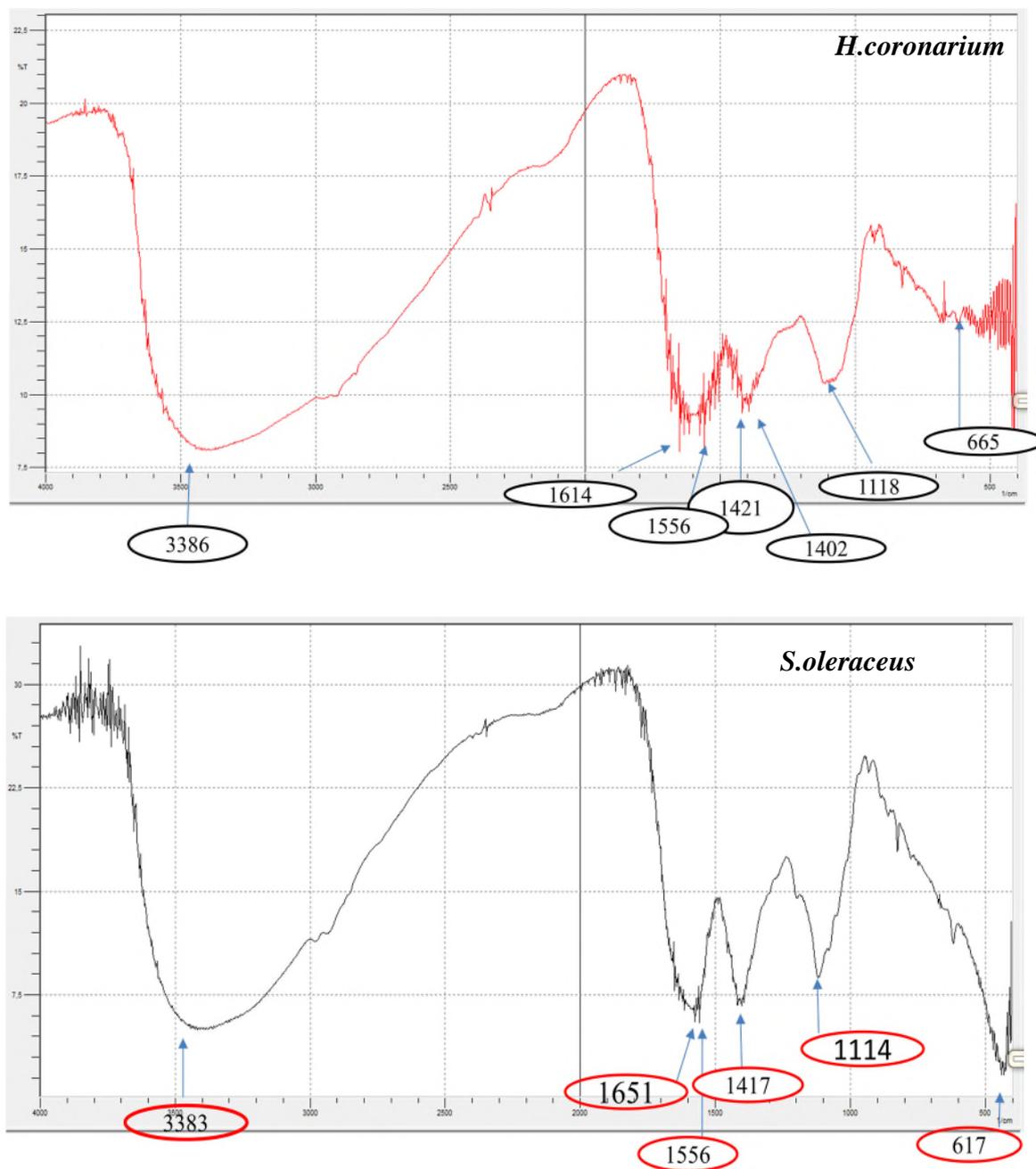


Figure N°15: Le spectre infrarouge à transformée de fourrier des NPs Ag synthétisées par *S.oleraceus* et *H.coronarium*

Tableau N°VI: Résultat des spectres infrarouge de *S. oleraceus*.

<i>S. oleraceus</i>	groupements
3383cm ⁻¹	3394(NH)
1651cm ⁻¹	1629(OH) ou (NH)
1556cm ⁻¹	1558(C-C)
1417cm ⁻¹	1410 (C=C)
1114cm ⁻¹	1120(OH)
617cm ⁻¹	660(C-N)

Tableau N°VII: Résultat des spectres infrarouge de *H. coronarium*.

<i>H. coronarium</i>	groupements
3386 cm ⁻¹	3394(NH)
1614 cm ⁻¹	1629(OH) ou(NH)
1556 cm ⁻¹	1558(C-C)
1421 cm ⁻¹	1410 (C=C)
1402 cm ⁻¹	1402(C-N)
1118 cm ⁻¹	1120(OH)
665 cm ⁻¹	660(C-N)

IV.4.1.3. Analyse des spectres de diffraction des rayons X(DRX)

Le modèle de diffraction des rayons X (DRX) des NPs Ag synthétisés en utilisant les extraits aqueux des parties aériennes de *S. oleraceus* et *H. coronarium* est montré sur la figure N°16 et N°17 respectivement. Le profil de DRX des nanoparticules argentées montre l'information structurale et la nature cristalline des NPs Ag synthétisées. L'indexation maximale est faite d'abord et des index de Miller (h k l) ont été assignés à chaque crête (Tableau: VI).

Quatre crêtes à la valeur de 2 thêtas de 27.85, 32.29, 46.28, et 57.55 correspondant à la réflexion de Bragg (111), (200), (220) et à (222) de plans d'argent observés ont été alors comparées à la carte en poudre standard du comité mixte sur les normes de diffraction de poudre (JCPDS), le numéro argenté 04-0783 de dossier.

Les valeurs de l'espacement (d calculé) sont 3.200, 2.770, 1.960, et 1.600Å (Tableau VIII) pour (111), (200), (220) et (222) respectivement. Les résultats obtenus correspondent aux valeurs d argent standard.

La crête intense élevée pour le matériel cubique à face centrée est généralement (1 1 1) réflexion, qui est observée dans l'échantillon. Ainsi l'étude de DRX confirme que les particules en résultant sont les nanoparticules argentées cubiques à face centrée (FCC).

Nos résultats sont en accords avec les résultats obtenus par d'autres chercheurs qui ont rapporté un genre semblable de valeurs de crêtes pour les NPs Ag synthétisées en utilisant différents extraits de plantes.

Il y a certaines crêtes insignifiantes qui peuvent être attribuées à d'autres substances organiques d'extraits de plantes (Allouni and others, 2009) La fausse diffraction indique la présence des impuretés cristallographiques.

Tableau N° VIII : Indexation de crêtes à partir de l'espacement d

h.k.l	2Θ	d (calculé)	1000/d^2	%
111	27,858	3,2000	97,65	40
200	32,292	2,7700	130,32	100
220	46,284	1,9600	260,30	75
222	57,559	1,6000	390,62	25

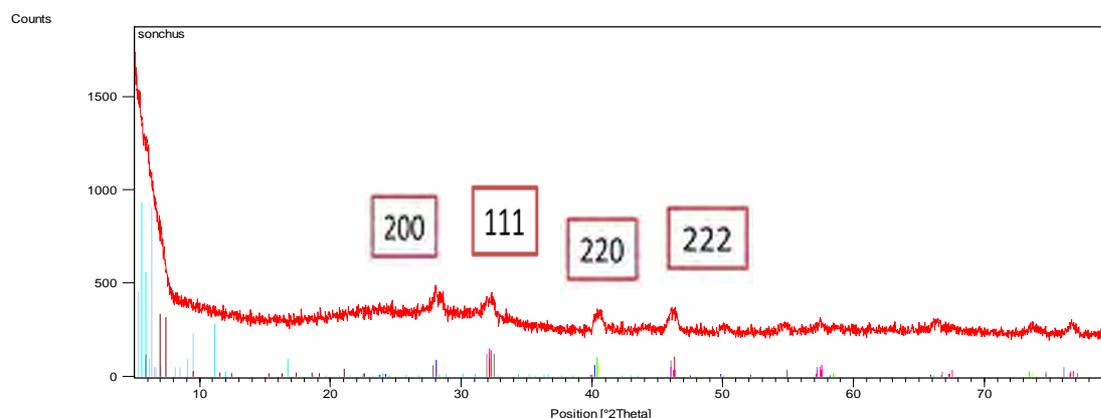


Figure N°16: Diagramme de DRX de synthèse NPs Ag en utilisant l'extrait de la partie aérienne de *S. oleraceus*

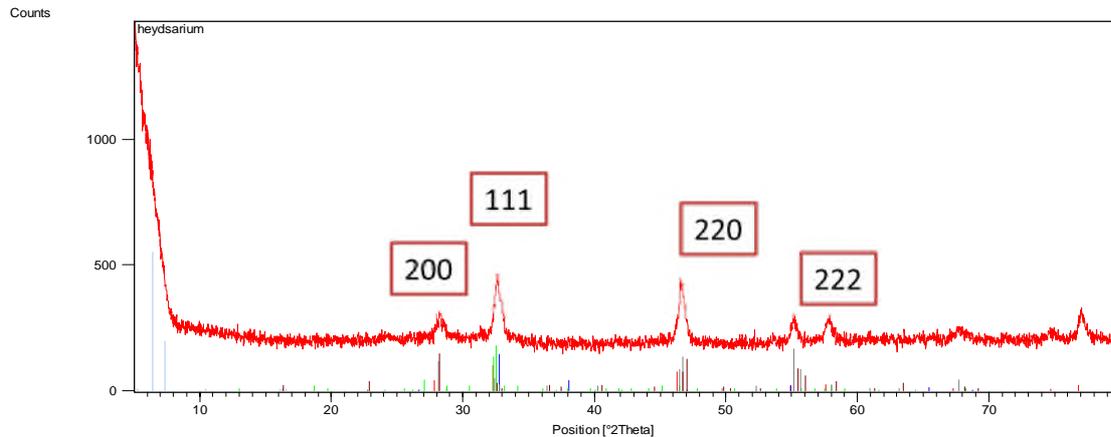


Figure N°17 : Diagramme de DRX de synthèse NPs Ag en utilisant l'extrait de la partie aérienne de *H. coronarium*.

IV.5. Evaluation des activités antioxydantes :

Les composés phénoliques généralement retrouvés chez les végétaux, sont responsables de multiples effets biologiques, y compris des propriétés antioxydantes (Navnath and others, 2010).

L'activité antioxydant des extraits de *S. oleraceus* et d'*H. coronarium* et des nanoparticules fabriquées à base de ces extraits a été évaluée par deux méthodes : le test au DPPH et le test FRAP.

IV.5.1 Activité scavenger du radical DPPH'

Les figures N°18 et N°19 illustrent les résultats de test au radical DPPH' exprimés en équivalent trolox des extraits aqueux de *S. oleraceus* et *H. coronarium* ainsi que des nanoparticules d'argent fabriquées à base de ces extraits.

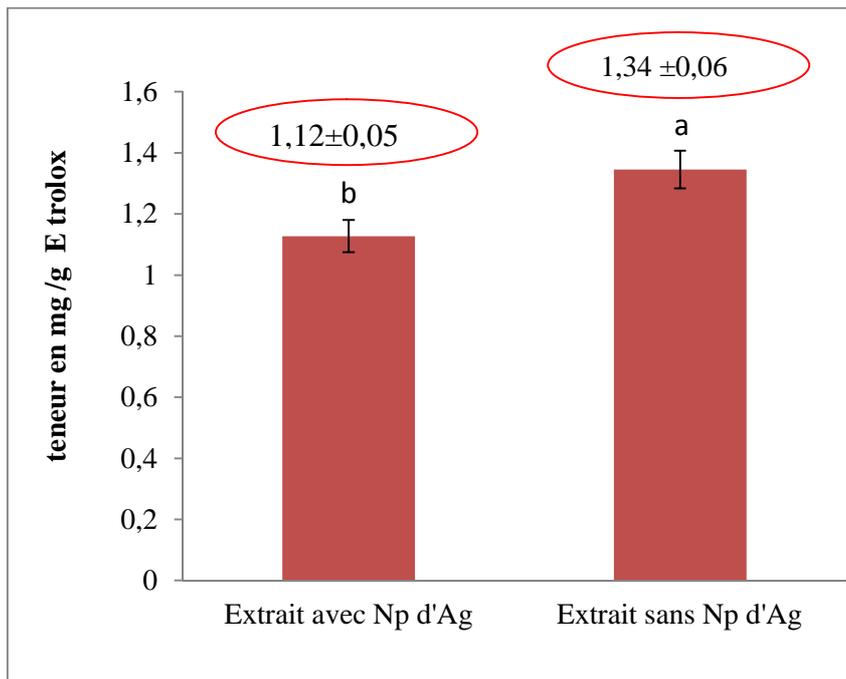


Figure N°18 : Activité antioxydantes au DPPH de l'extrait aqueux de *S. oleraceus*.

D'après l'histogramme ci-dessus, les capacités à piéger le radical DPPH[•] de l'extrait aqueux de *S. oleraceus* et de l'extrait contenant des nanoparticules d'argent sont de $1,34 \pm 0,06$ et $1,12 \pm 0,05$ mg/g équivalent Trolox, respectivement. D'après ces résultats c'est l'extrait aqueux qui a présenté une activité antioxydant plus élevé que celui de l'extrait contenant les nanoparticules. Ce résultat est du à la réduction des nanoparticules d'argent par ces antioxydants ce qui a induit a la réduction de la quantité des antioxydants interagissent avec le radical DPPH[•].

D'après la littérature, *S. oleraceus* présente activité antioxydantes plus intéressante que celle révélée dans cette présente étude. Selon Khan et al. (2012), l'extrait de cette plante a montré une capacité antioxydant égale à $3,4 \pm 0,3$ mg/g équivalent Trolox. Juhaima and others. (2017) ont également trouvé un effet antioxydant plus prononcé ($82,78 \pm 0,19$ mg/g équivalent Trolox). Cette divergence pourrait être attribuée aux conditions d'extraction ainsi qu'aux conditions environnementales, la saison de la récolte et les facteurs génétiques (Levizou and others, 2004).

Quant aux résultats donnés par l'extrait aqueux d'*H. coronarium* et par le même extrait contenant des nanoparticules, aucune différence significative à $P < 0,05$ n'est notée. Leur

capacité à piéger le radical DPPH^{*} sont de $1,578\pm 0,2$ et $1,579\pm 0,07$ mg/g équivalent Trolox respectivement (Figure N° 19).

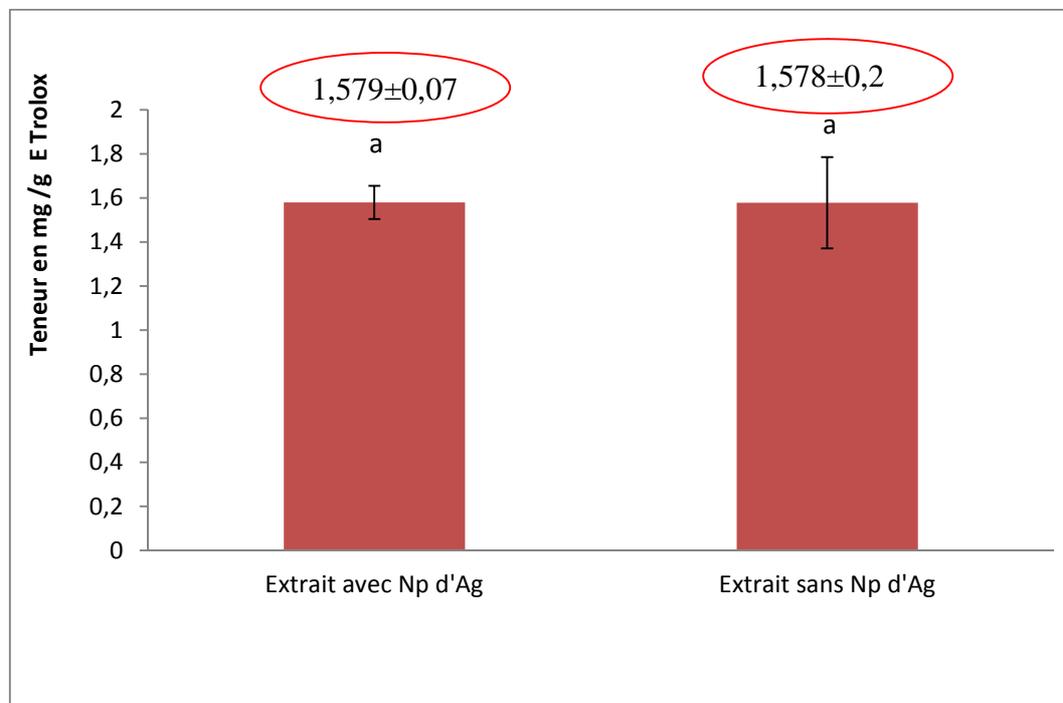


Figure N° 19 : Activité antioxydant de l'extrait aqueux de *H. coronarium*.

L'extrait de *H. coronarium* analysé dans cette présente étude a révélé une capacité à piéger le radical DPPH^{*} plus élevée par rapport à celui étudié par Ray et al. (2018) dont la capacité est à ($IC_{50}=1,34\pm 0,03$ mg/g). La variation de l'activité entre notre échantillon et celui de ces auteurs pourrait être attribuée aux conditions d'extraction ainsi qu'aux conditions environnementales, la saison de la récolte et les facteurs génétiques (Levizou and others, 2004).

IV.5.2 Pouvoir réducteur

La mesure du pouvoir réducteur est un essai souvent employé pour évaluer la capacité d'un éventuel antioxydant à donner des électrons (Zouari and others, 2013). Cette aptitude de réduction peut servir d'indicateur significatif de ses activités antioxydantes. Dans cet essai, le virage de couleur allant de jaune à vert-bleuâtre de la solution indique l'importance du pouvoir réducteur de l'échantillon (Moreira and others, 2008).

L'extrait aqueux de *S. oleraceus* et l'extrait contenant des nanoparticules d'argent ont montré une capacité réductrice de $1,19\pm 0,09$ et $1,46\pm 0,22$ mg/g équivalent Trolox,

respectivement (Figure N°20). De ce fait, l'extrait contenant des nanoparticules a montré une meilleure capacité à réduire le fer ferrique en fer ferreux avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Cependant, l'extrait de cette plante étudié par Jimoh et Afolayan (2011) a enregistré un fort pouvoir réducteur ($29,86 \pm 4,85$ mg/g équivalent FeII).

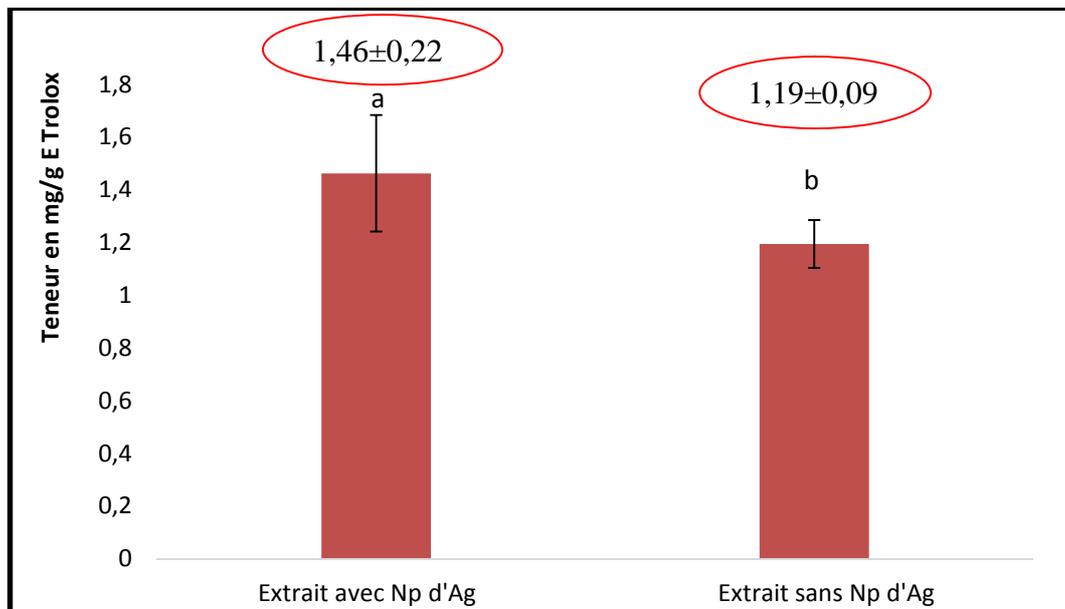


Figure N°20 : pouvoir réducteur de *S. oleraceus*.

Concernant *H. coronarium*, son extrait aqueux a révélé une capacité réductrice plus grande ($1,32 \pm 0,02$ mg/g équivalent Trolox) avec une différence significative à $P \leq 0,05$ que l'extrait contenant les nanoparticules ($0,96 \pm 0,10$ mg/g équivalent Trolox) (Figure N°21). Ray et al. (2018) ont trouvé une capacité réductrice modérée ($IC_{50} = 1,32 \pm 0,03$ mg/mL) pour l'extrait *H. coronarium*.

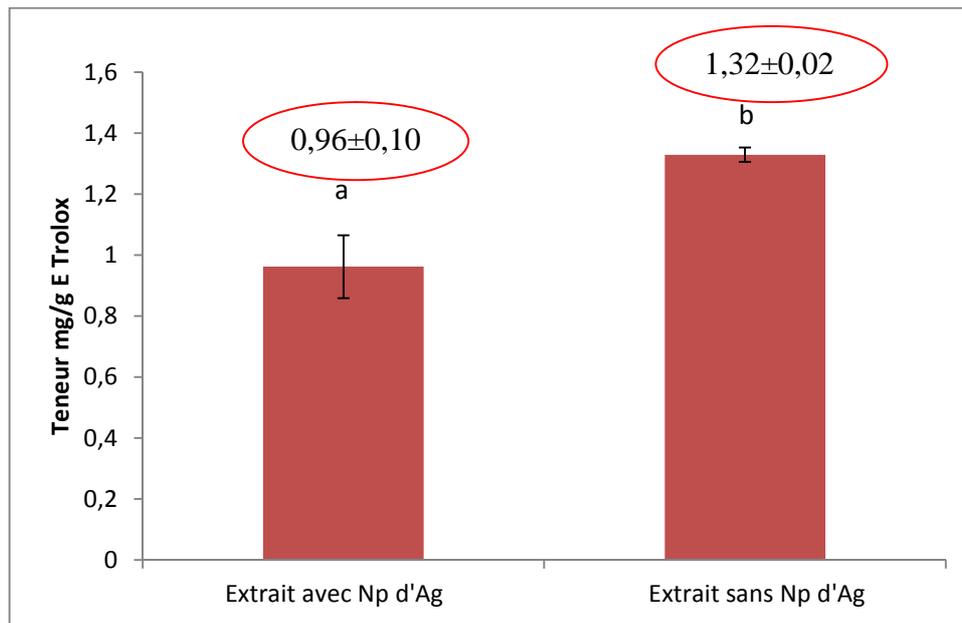


Figure N°21: Pouvoir réducteur d'*H. coronarium*.

IV.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées

Dans cette partie du travail nous avons testé l'activité antibactérienne des NPsAg, de la solution de nitrate d'argent, ainsi que les extraits aqueux des deux plantes étudiées (*S. oleraceus* et *H. coronarium*) sur quatre souches bactériennes. Il s'agit de :

- *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Bactérie à GRAM négatif).
- *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (*SARM*) (Bactérie à GRAM positif).

Ce test a été développé pour déterminer l'activité antibactérienne d'un échantillon en mesurant une zone d'inhibition de la croissance des bactéries autour de l'échantillon. Cette zone d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antibactérien. Les photographies des boîtes de Pétri sont illustrées dans la (figure N°25).

Les nanoparticules argentées synthétisées à partir de *S. oleraceus* et *H. coronarium* ont montré une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de toutes les bactéries utilisées dans la présente étude. Toutefois, les nanoparticules argentées synthétisé à partir de *H. coronarium* montrent une forte activité antibactérienne par rapport à celles synthétisées avec *S. oleraceus* vis-à-vis de trois souches : *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *SARM*. L'effet était faible seulement à

l'égard d'*E. Coli*. Les résultats obtenus des diamètres des zones d'inhibition sont illustrés dans la Figure N°22.

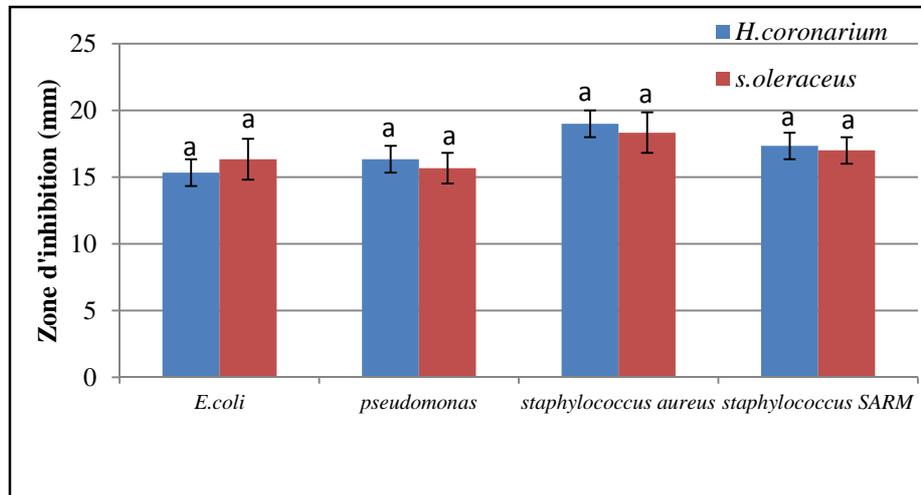


Figure N°22: zones d'inhibitions des NPs Ag synthétisées avec *S. oleraceus* et *H. coronarium*.

Les nanoparticules argentées synthétisés à partir de *S. oleraceus* (Figure N°23) ont montré une forte inhibition de la croissance de *S. aureus* ($18,33 \pm 1,52$ mm). Elles ont également inhibé la croissance de *SARM*, *E. coli* et *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibition respectivement de 17 ± 1 , $16,33 \pm 1,52$ et $15,66 \pm 1,15$ mm.

Quant aux nanoparticules argentées synthétisées avec *H. Coronarium* (Figure N°24), elles ont montré une zone d'inhibition élevée chez *S. aureus* (19 ± 0 mm). Les diamètres des zones d'inhibition pour *SARM*, *P. aeruginosa* et *E. coli* sont de $17,33 \pm 2,51$, $16,33 \pm 0,57$ et $15,33 \pm 1,15$ mm, respectivement.

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

En outre, il a été signalé d'une part que les nanoparticules argentées synthétisées à partir des deux plantes utilisées ont montré une forte zone d'inhibition par rapport à la solution d' AgNO_3 (Figure N°23) (Figure N°24). D'autre part, les extraits de plantes seuls n'ont pas montré d'activité.

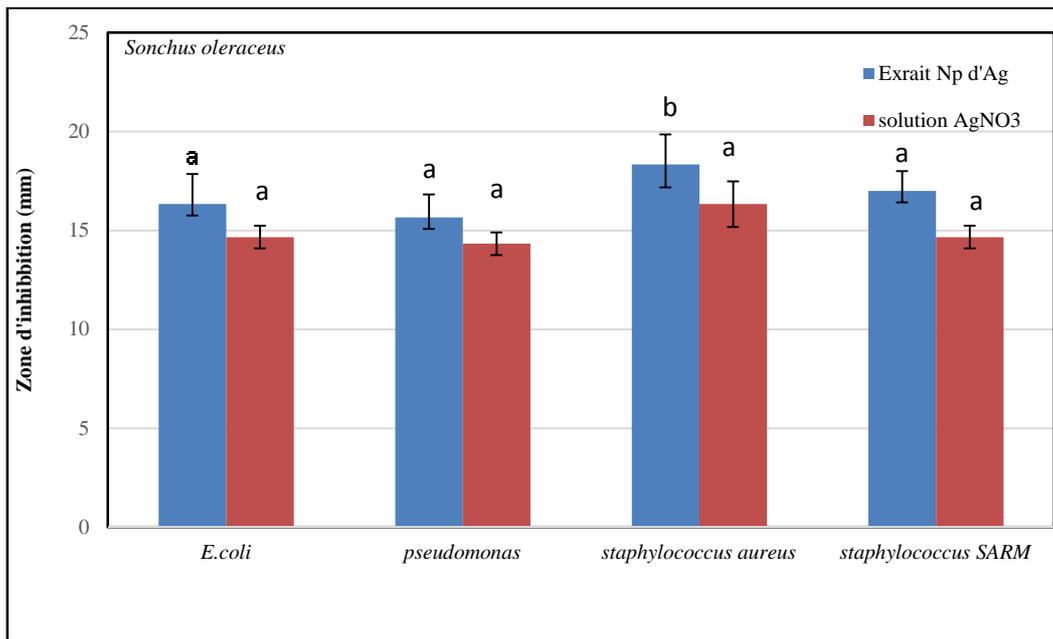


Figure N°23 : Histogramme des zones d’inhibitions des nanoparticules d’argent de *S. oleraceus* et de la solution AgNO₃

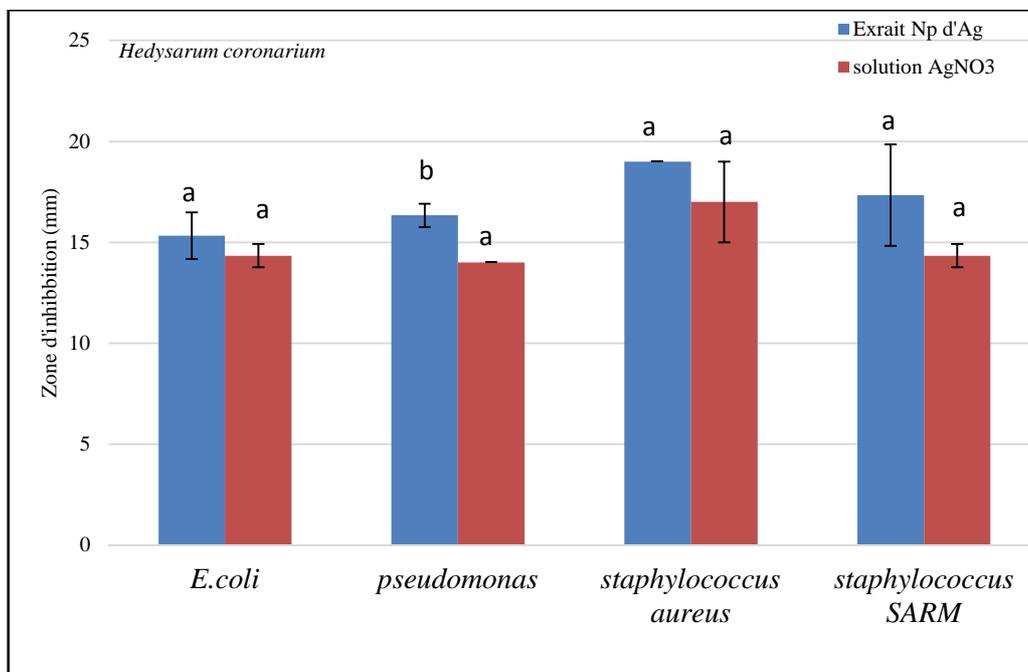
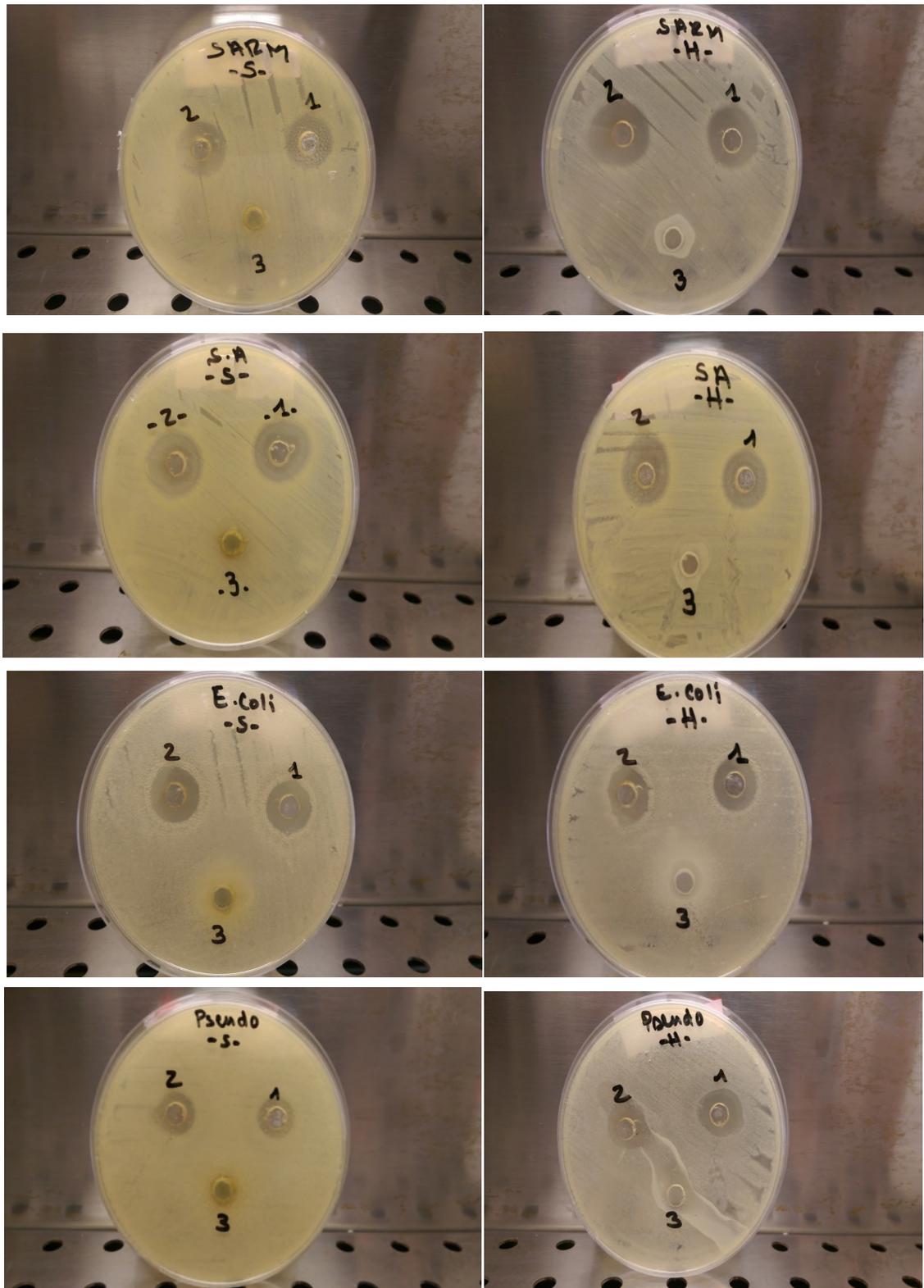


Figure N°24 : Histogramme des zones d’inhibitions des nanoparticules d’argent de *H. coronarium* et de la solution AgNO₃



Figure°25 : photographies des boîtes de Pétri de l'activité antibactérienne.
 1: AgNO₃; 2:Mélange; 3 : Extrait de plante aqueux ; S: *Sonchus oleraceus*; H: *Hedysarum coronarium*

Conclusion

L'objectif principal de ce travail est de proposer de nouvelles voies de biosynthèse des nanoparticules métalliques d'argent (Ag) en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques. A cet effet, nous avons choisi deux plantes médicinales qui sont *Sonchus oleraceus* et *Hedysarum coronarium* afin de mettre en œuvre la fabrication de nanoparticules biologiques.

La teneur en eau a été déterminée au départ où les deux plantes ont montré une richesse hydrique avec des valeurs de $92,13 \pm 0,12\%$ et $89,06 \pm 0,15\%$ pour *S. oleraceus* et *H. coronarium*, respectivement. L'extraction des composés actifs a été réalisée par la méthode de macération en utilisant l'eau comme solvant d'extraction. Cette méthode d'extraction a permis de donner des rendements modérés qui sont de 6,4% et 8,0% respectivement pour *S. oleraceus* et *H. coronarium*. Ensuite, une partie de ces extraits est utilisée pour déterminer respectivement les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes de *S. oleraceus* ($2,54 \pm 0,32$ mg EAG/g MS ; $0,47 \pm 0,02$ mg EQ/g MS) et *H. coronarium* ($1,76 \pm 0,34$ mg EAG/g MS, $0,79 \pm 0,03$ mg EQ/g MS). D'autre part, une autre partie de ces extraits est utilisée en tant qu'agent réducteur des ions métalliques d'Ag dans le milieu aqueux.

La caractérisation des nanoparticules d'argent synthétisées a été réalisée en associant des méthodes de caractérisation de surface telles que l'UV-visible, l'infrarouge (IR) et la diffraction aux rayons X (DRX). Les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits aqueux et des nanoparticules élaborées ont été évaluées. L'activité anti-radical au DPPH^{*} a révélé une grande activité chez l'extrait aqueux de *S. oleraceus* par rapport à l'extrait contenant les nanoparticules ($1,34 \pm 0,06$; $1,12 \pm 0,05$ mg/g équivalent Trolox) par contre *H. coronarium* montre une activité similaire chez les deux extraits ($1,578 \pm 0,2$; $1,579 \pm 0,07$ mg/g équivalent Trolox) et la capacité à réduire le fer ont révélé l'extrait contenant des nanoparticules a une meilleure capacité antioxydante que l'extrait aqueux de *S. oleraceus* ($1,46 \pm 0,22$; $1,19 \pm 0,22$ mg/g équivalent Trolox) et l'extrait aqueux sans NPsAg a une meilleure capacité antioxydante que l'extrait contenant des nanoparticules chez *H. coronarium* ($1,32 \pm 0,02$; $0,96 \pm 0,1$ mg/g équivalent Trolox).

Cependant, l'activité antibactérienne des extraits est améliorée nettement après biosynthèse des nanoparticules d'Ag. Les nanoparticules d'argent synthétisées avec *H. coronarium* ont donné des zones d'inhibition avec des diamètres respectivement de 19,

0 ±0; 17,3 ±2,51; 16,3±0,57 ; 15,33±1,15 mm pour *S. aureus*, *SARM*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. En outre, les nanoparticules fabriquées à base de *S. oleraceus* ont révélé des zones avec des diamètres de 18,33 ±1,52; 17 ±1; 15,66±1,52 et 14,33±1,15 mm pour *S. aureus*, *SARM*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, respectivement.

Bien que cette partie de travail n'a pas été plus performante et plus affinée mais elle nous a permis d'avoir une idée sur les propriétés des nanoparticules d'argent synthétisées à base de *S. oleraceus* et *H. coronarium*, ainsi que sur leurs activités biologiques.

En perspectives certains points restent à approfondir, il serait donc intéressant de compléter cette étude par :

- L'utilisation de microscopie électronique à transmission (MET) afin de mettre en évidence la forme nanométrique des nanoparticules d'argent synthétisées ;
- Il est également souhaitable d'étendre l'étude antibactérienne à d'autres souches et déterminer le mécanisme et la cinétique d'inhibition de la croissance bactérienne par ces nanoparticules ;
- Réalisation d'une application à l'échelle industrielle afin de mener au bien être de l'Homme et tirer profit de toutes les caractéristiques bénéfiques des nanoparticules d'Ag dans les divers domaines.

Références bibliographiques

A

- Allouni ZE, Cimpan MR, Hol PJ, Skodvin T, Gjerdet NR.** (2009). Agglomeration and sedimentation of TiO₂ nanoparticles in cell culture medium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 68(1):83-87.
- Alt V, Bechert T, Steinrücke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E, Domann E, Schnettler R.** (2004). An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials* 25(18):4383-4391.
- Arab, H, ML Haddi, and S Mehennaoui.** (2009) "Evaluation De La Valeur Nutritive Par La Composition Chimique Des Principaux Fourrages Des Zones Aride Et Semi-Aride En Algerie." *Sciences & Technologie C*, no. 30: 50-58.
- Athamena S, Chalghem I, Kassah-Laouar A, Laroui S, Khebri S.** (2010). Activité Antioxydante et Antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L. *Lebanese Science Journal* 11(1):69-81.

B

- Bajpai S, Bajpai M, Gautam D.** (2013). In situ formation of silver nanoparticles in regenerated cellulose-polyacrylic acid (RC-PAAc) hydrogels for antibacterial application. *Journal of Macromolecular Science, Part A* 50(1):46-54.
- Bektaş E, Kaltaloğlu K, Şahin H, Türkmen Z, Kandemir A.** (2018). Analysis of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial properties of some endemic medicinal plants. *International Journal of Secondary Metabolite* 5(2):75-86.
- Birla S, Tiwari V, Gade A, Ingle A, Yadav A, Rai M.** (2009). Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology* 48(2):173-179.
- Boizot N, Charpentier J-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour

l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques:79-82.

Boussaid, M. Ben Fadhel, N., et al. (1995). "Les espèces Méditerranéennes du genre *Hedysarum* L." *Ressources Génétiques des Plantes Fourragères et à Gazon*. (Eds JM Prospero, P Guy, F Balfourier) pp: 115-130.

Bucić-Kojić A, Planinić M, Tomas S, Jokić S, Mujić I, Bilić M, Velić D. (2011). Effect of extraction conditions on the extractability of phenolic compounds from lyophilised fig fruits (*Ficus carica* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 61(3):195-199.

Bulgakova, N. and A. Bulgakov (2001). "Pulsed laser ablation of solids: transition from normal vaporization to phase explosion." *Applied Physics A* 73(2): 199-208.

Burlando B, Pastorino G, Salis A, Damonte G, Clericuzio M, Cornara L. (2017). The bioactivity of *Hedysarum coronarium* extracts on skin enzymes and cells correlates with phenolic content. *Pharmaceutical biology* 55(1):1984-1991.

Busquets MA, Sabaté R, Estelrich J. (2014). Potential applications of magnetic particles to detect and treat Alzheimer's disease. *Nanoscale research letters* 9(1):538.

C

Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H.(2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences* 74(17):2157-2184.

Chahardoli A, Karimi N, Fattahi A.(2017). Biosynthesis, Characterization, Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Silver Nanoparticles Using *Nigella arvensis* Seed Extract. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 16(3):1167.

Cheng W, Dong S, Wang E.(2002). Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles. *Electrochemistry communications* 4(5):412-416.

Cross SE, Innes B, Roberts MS, Tsuzuki T, Robertson TA, McCormick P. (2007). Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: in-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation. *Skin pharmacology and physiology* 20(3):148-154.

D

Delay, M. and F. H. Frimmel (2012). "Nanoparticles in aquatic systems." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 402(2): 583-592.

Djehboub, W. (2010). "Nanoparticules d'or et d'argent déposées sur oxyde de cérium synthétisées sous irradiation."

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* 97(4):654-660.

Di Trana A, Bonanno A, Cecchini S, Giorgio D, Di Grigoli A, Claps S. (2015). Effects of Sulla forage (*Sulla coronarium* L.) on the oxidative status and milk polyphenol content in goats. *Journal of dairy science* 98(1):37-46.

Dorman HD, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry* 51(16):4563-4569.

Debbabi M, Nury T, Zarrouk A, Mekahli N, Bezine M, Sghaier R, Grégoire S, Martine L, Durand P, Camus E. (2016). Protective effects of α -tocopherol, γ -tocopherol and oleic acid, three compounds of olive oils, and no effect of trolox, on 7-ketocholesterol-induced mitochondrial and peroxisomal dysfunction in microglial BV-2 cells. *International journal of molecular sciences* 17(12):1973.

Dupont A, Caminat P, Bournot P, Gauchon J.(1995). Enhancement of material ablation using 248, 308, 532, 1064 nm laser pulse with a water film on the treated surface. *Journal of Applied Physics* 78(3):2022-2028.

Dupont, F. and J. L. Guignard (2007). *Botanique: systématique moléculaire*, Elsevier Masson.pp156

E

- El-Nour KMA, Eftaiha Aa, Al-Warthan A, Ammar RA.** (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry* 3(3):135-140.
- Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, Yacaman MJ.** (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of nanobiotechnology* 3(1):6.
- Errassi A, Ayadi M, Chabbi M, Noutfia A, Jaber A.** (2018). Phenolic composition of *Hedysarum flexuosum* (Sulla) in Northwestern Morocco
- Evanoff, D. D. and G. Chumanov** (2005). "Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays." *ChemPhysChem* 6(7): 1221-1231.

F

- Firdhouse, M. J. and P. Lalitha** (2015). "Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications." *Journal of Nanotechnology* 2015.
- Freestone, I., N. Meeks, et al.** (2007). "The *Lycurgus cupa roman* nanotechnology." *Gold bulletin* 40(4): 270-277.
- Fu J, Ji J, Fan D, Shen J.** (2006). Construction of antibacterial multilayer films containing nanosilver via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan-silver ions complex. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 79(3):665-674.

G

- Gibbons, V. L. and F. Getman** (1914). "CORRECTION. The Potential of Silver in Non Aqueous Solutions of Silver Nitrat." *Journal of the American Chemical Society* 36(10): 2091-2091.
- Gomaa NH, Hassan MO, Fahmy GM, González L, Hammouda O, Atteya AM.**(2014). Allelopathic effects of *Sonchus oleraceus* L. on the germination and seedling growth of crop and weed species. *Acta Botanica Brasilica* 28(3):408-416.

Group Angiosperme phythogénitique. (2009). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III." *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2): 105-121.

Grubben, G. J. H. (2004). *Légumes*, Fondation PROTA.

Guil-Guerrero, J. L., A. Giménez-Giménez, et al. (1998). "Nutritional composition of *Sonchus* species (*S. asper*L, *S. oleraceus*L and *S. tenerrimus*L)." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76(4): 628-632.

H

Hadrup, N. and H. R. Lam (2014). "Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver—a review." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 68(1): 1-7.

Hamon, S. (2001). *Des modèles biologiques à l'amélioration des plantes*, IRD.

Hayouni, E. A., M. Abedrabba, et al. (2007). "The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts." *Food chemistry* 105(3): 1126-1134.

Hussain J, Muhammad Z, Ullah R, Khan FU, Khan IU, Khan N, Ali J, Jan S. (2010). Evaluation of the chemical composition of *Sonchus eruca* and *Sonchus asper*. *J Am Sci* 6(9):231-235.

J

Jain, P. and T. Pradeep (2005). "Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter." *Biotechnology and bioengineering* 90(1): 59-63.

Jang SJ, Yang IJ, Tettey CO, Kim KM, Shin HM. (2016). In-vitro anticancer activity of green synthesized silver nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. *Materials Science and Engineering: C* 68:430-435.

Jimoh FO, Afolayan AAAAJ. (2011). Comparison of the nutritive value, antioxidant and antibacterial activities of *Sonchus asper* and *Sonchus oleraceus*. *Records of Natural Products* 5(1):29.

Juhaimi FA, Ghafoor K, Ahmed IM, Babiker E, Özcan M. (2017). Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. *Journal of Food Measurement and Characterization* 11(4):1745-1751.

K

Kumar D, Kumar G, Agrawal V. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Holarrhena antidysenterica* (L.) Wall. bark extract and their larvicidal activity against dengue and filariasis vectors. *Parasitology research* 117(2):377-389.

Kumar M, Lalit M, Thakur R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Leptadenia pyrotechnica* root extract and evaluation of their antimicrobial activities. *IJSER* 7(2):1040-1044

Khan RA. (2012). Evaluation of flavonoids and diverse antioxidant activities of *Sonchus arvensis*. *Chemistry Central Journal* 6(1):126.

Khan RA, Khan MR, Sahreen S, Ahmed M. (2012). Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chemistry Central Journal* 6(1):12

L

Levizou E, Petropoulou Y, Manetas Y. (2004). Carotenoid composition of peridermal twigs does not fully conform to a shade acclimation hypothesis. *Photosynthetica* 42(2):591-596.

Li D, Hong B, Fang W, Guo Y, Lin R. (2010). Preparation of well-dispersed silver nanoparticles for oil-based nanofluids. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 49(4):1697-1702.

Lida, Y., A. Tsuge, et al. (1991). "Laser ablation in a liquid medium as a technique for solid sampling." *Journal of analytical atomic spectrometry* 6(7): 541-544.

Loeschner K, Hadrup N, Qvortrup K, Larsen A, Gao X, Vogel U, Mortensen A, Lam HR, Larsen EH. (2011). Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Particle and fibre toxicology* 8(1):18.

Min B, Barry T, Attwood G, McNabb W. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology* 106(1-4):3-19.

Mollick MMR, Rana D, Dash SK, Chattopadhyay S, Bhowmick B, Maity D, Mondal D, Pattanayak S, Roy S, Chakraborty M. (2015). Studies on green synthesized silver nanoparticles using *Abelmoschus esculentus* (L.) pulp extract having anticancer (in vitro) and antimicrobial applications. *Arabian journal of chemistry*.

Monopoli MP, Åberg C, Salvati A, Dawson KA. (2012) Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nature nanotechnology* 7(12):779.

Mtimet, I. (2011). Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent, Rouen, INSA.

MubarakAli D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 85(2):360-365.

Moreira L, Dias LG, Pereira JA, Estevinho L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical toxicology* 46(11):3482-3485.

N

Nair S, Sasidharan A, Rani VD, Menon D, Nair S, Manzoor K, Raina S. (2009). Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 20(1):235.

Narayanan, K. B. and N. Sakthivel (2010). "Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes." *Advances in colloid and interface science* 156(1-2): 1-13.

Navnath P, Karmabeer J, Dusmant M, Dattatray G, Tanaji J.(2010). Free radical scavenging potential, reducing power, phenolic and biochemical constituents of *Porphyra* species from India. *Journal of Algal Biomass Utilization* 1(3):29-42.

Nayak D, Pradhan S, Ashe S, Rauta PR, Nayak B. (2015). Biologically synthesised silver nanoparticles from three diverse family of plant extracts and their anticancer activity against epidermoid A431 carcinoma. *Journal of colloid and Interface science* 457:329-338.

O

Owen, P. L. and T. Johns (1999). "Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout." *Journal of ethnopharmacology* 64(2): 149-160.

Oyaizu, M. (1986). "Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction." *Jpn. J. Nutr* 44(6).

P

Pinelo M , Rubilar M, Sineiro J, et al. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chem ;* 85: 267-73

Q

Quezel, P., S. Santa, et al. (1962). "Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales-v. 1-2."

R

Rajkuberan C, Prabukumar S, Sathishkumar G, Wilson A, Ravindran K, Sivaramakrishnan S. (2017). Facile synthesis of silver nanoparticles using *Euphorbia antiquorum* L. latex extract and evaluation of their biomedical perspectives as anticancer agents. *Journal of Saudi Chemical Society* 21(8):911-919.

Ray A, Jena S, Dash B, Kar B, Halder T, Chatterjee T, Ghosh B, Panda PC, Nayak S, Mahapatra N. (2018). Chemical diversity, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from Indian populations of *Hedychium coronarium* Koen. *Industrial Crops and Products* 112:353-362.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon, Dunod.*

S

- Seal T.** (2011). Determination of nutritive value, mineral contents and antioxidant activity of some wild edible plants from Meghalaya State, India. *Asian Journal of Applied Sciences* 4(3):238-246.
- Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M.** (2004a). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid and Interface science* 275(2):496-502.
- Shankar SS, Rai A, Ankamwar B, Singh A, Ahmad A, Sastry M.** (2004b). Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nature materials* 3(7):482.
- Shannon MA, Mao XL, Fernandez A, Chan W-T, Russo RE.** (1995). Laser ablation mass removal versus incident power density during solid sampling for inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. *Analytical Chemistry* 67(24):4522-4529.
- Sharma VK, Yngard RA, Lin Y.** (2009) Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science* 145(1-2):83-96.
- Shin Y, Bae I-T, Arey BW, Exarhos GJ.** (2008). Facile stabilization of gold-silver alloy nanoparticles on cellulose nanocrystal. *The Journal of Physical Chemistry C* 112(13):4844-4848.
- Silver, S.** (2003). "Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds." *FEMS microbiology reviews* 27(2-3): 341-353.
- Simchi A, Ahmadi R, Reihani SS, Mahdavi A.** (2007) Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process. *Materials & design* 28(3):850-856.
- Smith, G. and E. Zysk** (1987). "Corrosion of the noble metals." *ASM Handbook*. 13: 793-807.

T

- Taşkıran F, UZUNOĞLU D, Özer A.** (2017). Biosynthesis Characterisation and Determination of Adsorbent Properties of Silver Nanoparticules with Cyprus ACACIA (*Acacia cyanophylla*) LEAF EXTRACT. *Anadolu Üniversitesi*

Torres-González, L., E. Cienfuegos-Pecina, et al. (2018). "Nephroprotective Effect of *Sonchus oleraceus* Extract against Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats." *Oxidative medicine and cellular longevity* .

Tolaymat TM, El Badawy AM, Genaidy A, Scheckel KG, Luxton TP, Suidan M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of the Total Environment* 408(5):999-1006.

V

Vogel A, Noack J, Nahen K, Theisen D, Busch S, Parlitz U, Hammer D, Noojin G, Rockwell B, Birngruber R. (1999). Energy balance of optical breakdown in water at nanosecond to femtosecond time scales. *Applied Physics B* 68(2):271-280.

W

Wang D, An J, Luo Q, Li X, Yan L. (2012). Synthesis, characterization and application of silver-based antimicrobial nanocomposites. *Nano-Antimicrobials*: Springer. p 47-84.

Wijnhoven SW, Peijnenburg WJ, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EH, Roszek B, Bisschops J, Gosens I, Van De Meent D. (2009). Nano-silver—a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 3(2):109-138.

Willner I, Baron R, Willner B. (2006). Growing metal nanoparticles by enzymes. *Advanced Materials* 18(9):1109-1120.

X

Xia, Dao-Zong, Xin-Fen Yu, Zhuo-Ying Zhu, and Zhuang-Dan Zou (2011):"Antioxidant and Antibacterial Activity of Six Edible Wild Plants (*Sonchus* Spp.) in China." *Natural product research* 25, no. 20 1893-1901.

Y

Huang, H. and X. Yang (2004). "Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method." *Carbohydrate research* 339(15): 2627-2631.

Z

- Zargar M, Hamid AA, Bakar FA, Shamsudin MN, Shameli K, Jahanshiri F, Farahani F.** (2011). Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. *Molecules* 16(8):6667-6676.
- Zvyagin AV, Zhao X, Gierden A, Sanchez W, Ross J, Roberts MS.** (2008). Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin in vitro and in vivo. *Journal of biomedical optics* 13(6):064031.
- Zouari S, Ketata M, Boudhrioua N, Ammar E.** (2013). *Allium roseum* L. volatile compounds profile and antioxydant activity for chemotype discrimination–Case study of the wild plant of Sfax (Tunisia). *Industrial Crops and Products* 41:172-178.

Annexes

Annexes

Annexe N°I : Résultats des courbes d'étalonnage

1. Courbe d'étalonnage des polyphénols.

-Courbe d'étalonnage de l'acide gallique, dans une gamme de concentrations allant de 0 à 8 $\mu\text{g/mL}$.

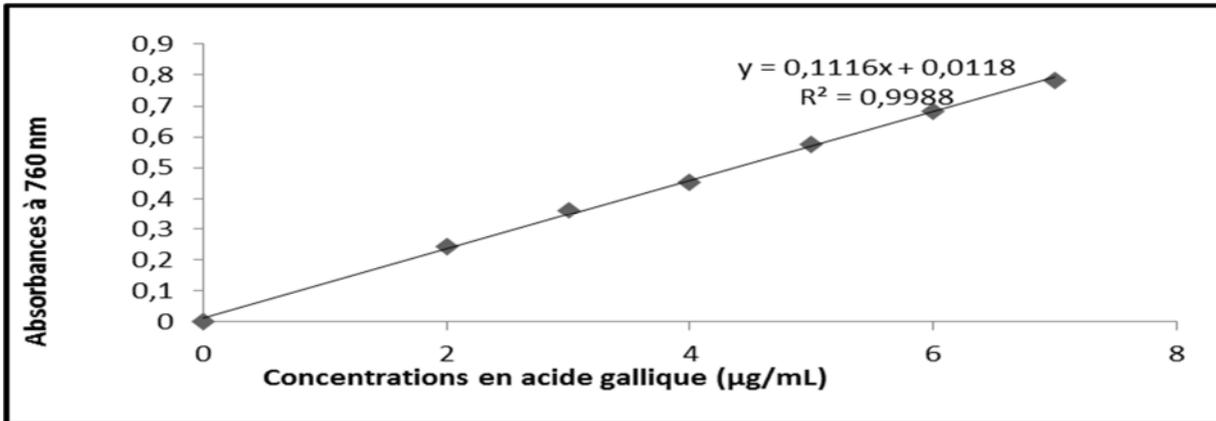


Figure n°1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

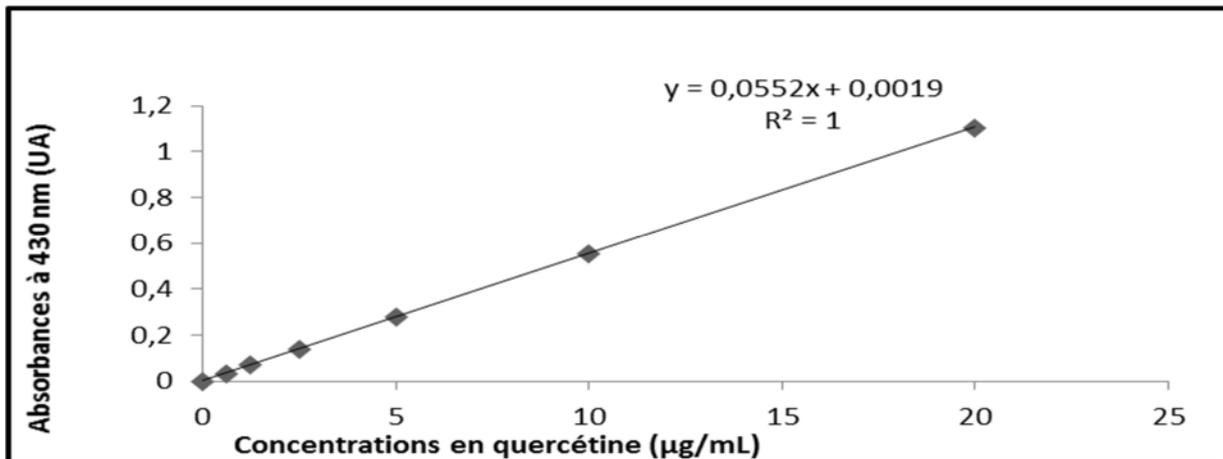


Figure n° 2: courbe d'étalonnages pour le dosage des flavonoïdes.

Annexes

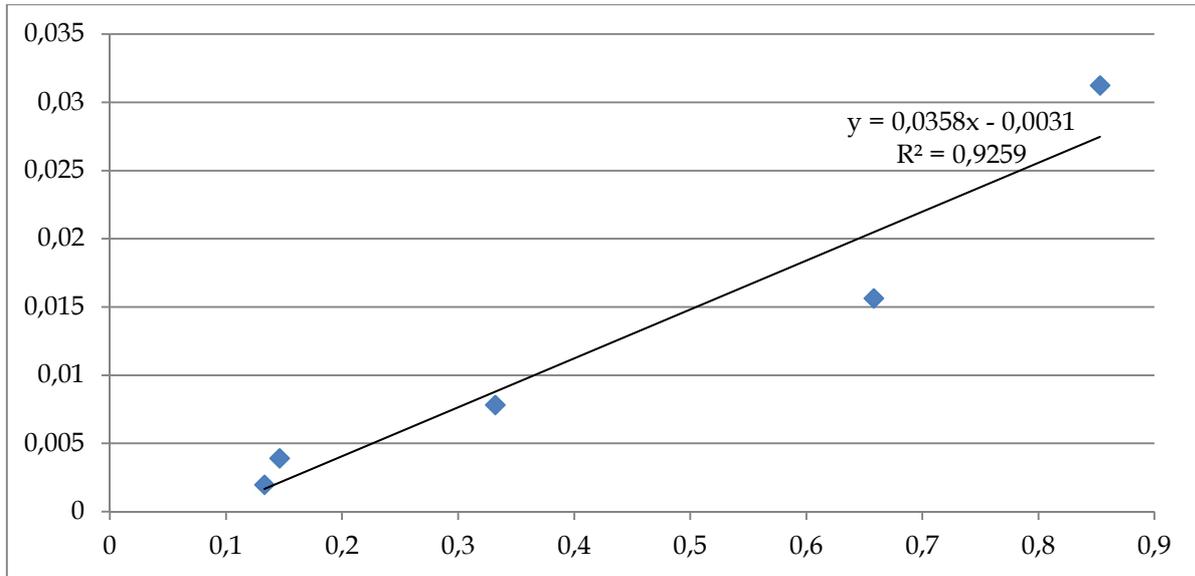


Figure n°3 : courbe d'étalonnage de DPPH.

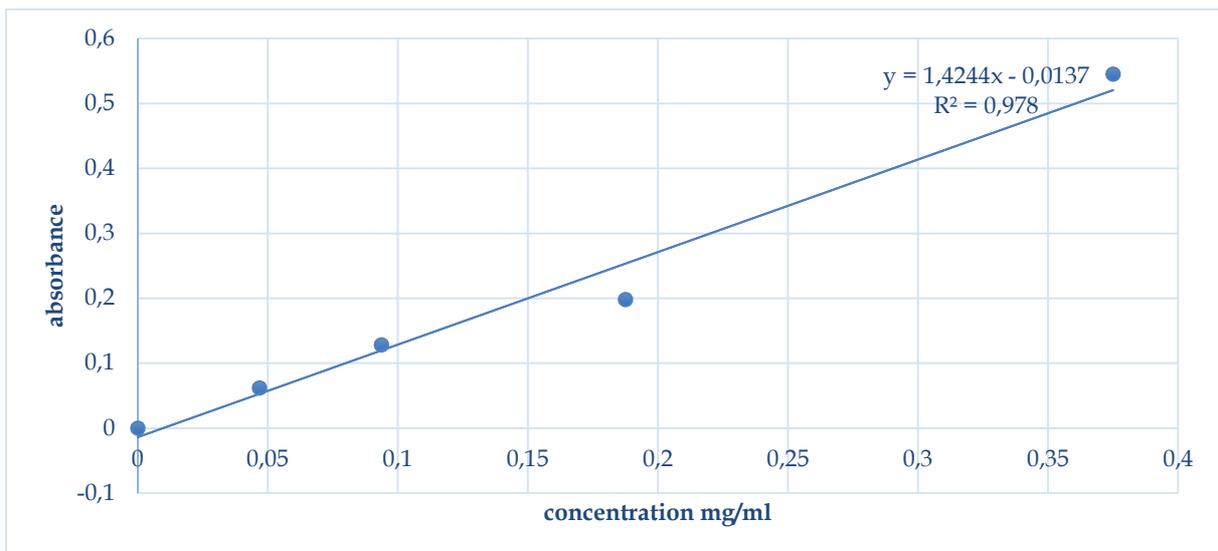


Figure n°4 : courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur en équivalents trolox.

Annexes

Annexes N°II

- Résultats d'analyses statistiques des composées polyphénols

1-Dosage des polyphénols :

Test LSD ; variable polyphenol (Feuille de données)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,11313, dl = 6,0000				
Cellule N°	Var1	polyphenol Moyenne	a	b
1	s	1,762485	****	
2	h	2,541697		****

2-Dosage des flavonoïdes

Test LSD ; variable flavonoïde (Feuille de donnée)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,00082, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var1	flavonoïde Moyenne	a	b
1	s	0,474821	****	
2	h	0,798483		****

-Résultats statistique de teste d'humidité :

Test LSD ; variable HUMIDITÉ (Feuille de données)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,01833, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var1	HUMIDITÉ Moyenne	a	b
2	h	89,06667	****	
1	s	92,13333		****

-Résultats d'analyses statistiques de l'activité antioxydantes

1- Activités antioxydantes du pouvoir réducteur

Test LSD ; variable Var2 (Feuille pouvoir reducteur)					
Groupes Homogènes, alpha = ,05000					
Erreur : MC Inter = ,01804, dl = 7,0000					
Cellule N°	Var1	Var2 Moyenne	a	b	c
3	ha	0,962071	****		
2	ss	1,195202	****	****	
4	hs	1,329180		****	****
1	sa	1,463075			****

Annexes

2-Activités antioxydantes DPPH

Test LSD ; variable DPPH (Feuille)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,01377, dl = 8,0000				
Cellule N°	ECHT	DPPH Moyenne	a	b
1	S.A	1,127360	****	
2	S.S	1,345387	****	
4	H.S	1,578027		****
3	H.A	1,579733		****

Annexe N°III

- résultat statistiques de l'Activité Antibactérienne

1-Résultats des analyses statistique des zones d'inhibition vis-à-vis des NPs d'Ag

Test LSD ; variable Var8 (Feuille de données6)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,16667, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var7	Var8 Moyenne	a	b
2	hagp	14,00000	****	
1	hap	16,33333		****

Test LSD ; variable Var6 (Feuille de données6)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = 3,3333, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var5	Var6 Moyenne	a	
2	hags	14,33333	****	
1	has	17,33333	****	

Test LSD ; variable Var4 (Feuille de données6)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = 2,0000, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var3	Var4 Moyenne	1	
2	haga	17,00000	****	
1	haa	19,00000	****	

Test LSD ; variable Var2 (Feuille de données6)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = ,83333, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var1	Var2 Moyenne	a	
2	hage	14,33333	****	
1	hae	15,33333	****	

Annexes

Test LSD ; variable Var2 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 1,3333, dl = 4,0000			
Cellule N°	Var1	Var2 Moyenne	a
2	sAgNO3.e	14,66667	****
1	sae	15,66667	****

Test LSD ; variable Var4 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,66667, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var3	Var4 Moyenne	a	b
2	sAgNO3.s	14,66667	****	
1	sas	17,00000		****

Test LSD ; variable Var6 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 1,8333, dl = 4,0000			
Cellule N°	Var5	Var6 Moyenne	a
2	sAgNO3.a	16,33333	****
1	saa	18,33333	****

Test LSD ; variable Var8 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,83333, dl = 4,0000			
Cellule N°	Var7	Var8 Moyenne	a
2	sAgNO3.p	14,33333	****
1	sap	14,33333	****

2-Résultats des analyses statistique des zones d'inhibition vis-à-vis des souches :

Test LSD ; variable Var2 (Feuille de données17) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 1,7500, dl = 8,0000					
Cellule N°	Var1	Var2 Moyenne	a	b	c
4	SAP	14,33333	****		
1	SAE	15,66667	****	****	
3	SAS	17,00000		****	****
2	SAA	18,33333			****

Test LSD ; variable Var5 (Feuille de données17) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 2,0000, dl = 8,0000				
Cellule N°	Var4	Var5 Moyenne	a	b
1	HAE	15,33333	****	
4	HAP	16,33333	****	
3	HAS	17,33333	****	****
2	HAA	19,00000		****

Annexes

Annexe N°VI: résultats d'analyse DRX

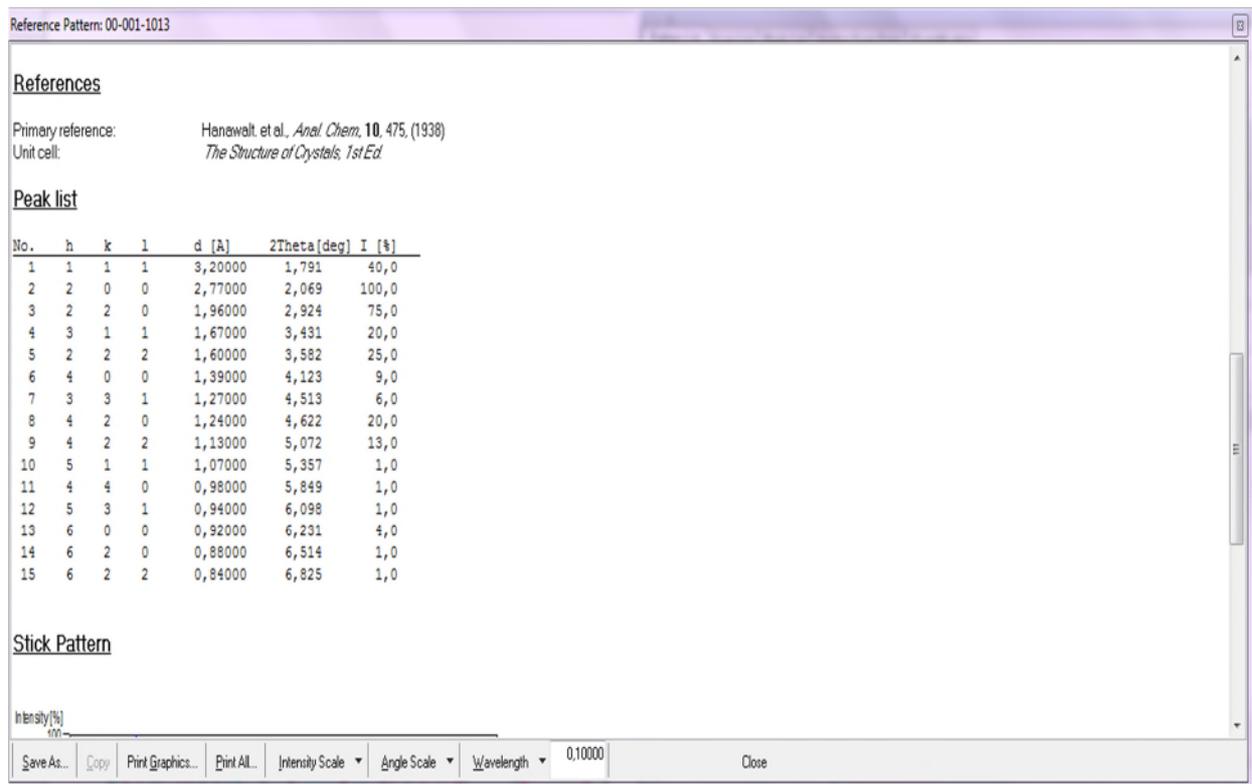


Tableau : Indexation de crêtes à partir de l'espacement d

Annexes N°V

-composition des milieux de cultures utilisées

1-Bouillon nutritif

Peptone 10g

Extrait de viande 5g

Chlorure de sodium 5g

pH 7,2

2-Gélose Mueller Hinton

Extrait de viande 2 g

Hydrolysate acide de caséine 17,5 g

Amidon 1,5 g

Agar 10 g

pH 7,4

- Matériel et produits utilisés

1-Appareillage

Hotte (FASTER TWO30)

Autoclave.

Bain-marie (Raypa).

Balance de précision (RADWAG).

Annexes

Broyeur (Kika Labortechnik).
Centrifugeuse SIGMA.
Etuve MEMMERT.
Spectrophotomètre UV-visible (RAYLEIGH 1800).
Vortex(VELP).

2- Produits chimiques

Acetone Eau physiologique (1g NaCl dans un litre d'eau distillée).
Acide gallique.
Agar 2%
Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
Chlorure d'aluminium (AlCl_3).
Ethanol: ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), 99%, MM=46.07 g/mol, d=0.81.
Folin-Ciocalteu.
Quercétine.
Trolox.

Résumé

La biosynthèse verte des nanoparticules se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle, et ce phénomène est particulièrement marqué pour les nanoparticules d'argent responsables de protection de denrées alimentaires, et leurs utilisation comme puissant agent antibactérien. L'objectif de ce travail c'est la caractérisation des nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir d'extraits de deux plantes comestibles *Sonchus oleraceus* et *Hedysarum coronarium*. Au préalable, le test d'humidité a montré que les parties aériennes des deux plantes ont montré une richesse hydrique de l'ordre de $92,13 \pm 0,12$ et $89,06 \pm 0,15\%$, respectivement. L'extraction par macération a fourni des rendements de l'ordre de 6,4 et 8%, respectivement pour *S.oleraceus* et *H.coronarium*. Le dosage phytochimique a révélé des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes respectivement de $2,54 \pm 0,32$ mg EAG/g MS et $0,47 \pm 0,02$ mg EQ/g MS pour *S.oleraceus* et $1,76 \pm 0,34$ mg EAG/g MS et $0,79 \pm 0,03$ mg EQ/g MS pour *H.coronarium*. Entre autres, ces extraits sont utilisés en tant qu'agent réducteur des ions métalliques d'Ag dans le milieu aqueux. Ensuite, les nanoparticules fabriquées ont été caractérisées par la spectroscopie UV-Vis, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie de diffraction des rayons X (DRX). Ces différentes méthodes ont confirmé la présence des nanoparticules d'argent et leur interaction moléculaire ainsi que leur nature cristallines. L'activité anti-radicalaire (DPPH[•]) et le pouvoir réducteur des deux extraits aqueux et des nanoparticules fabriquées présentent des valeurs respectivement de l'ordre de $1,12 \pm 0,05$ et $1,58 \pm 0,07$ mg/g équivalent Trolox pour *S.oleraceus* et $1,46 \pm 0,22$ et $0,96 \pm 0,10$ mg/g E Trolox pour *H.coronarium*. La présente étude a permis de démontrer l'absence de l'activité antibactérienne des deux extraits mais une activité antibactérienne importante est notée pour les nanoparticules biosynthétisées à base des deux espèces à l'égard de *Staphylococcus aureus* et SARM

Mots clés : *Sonchus oleraceus* ; *Hedysarum coronarium* ; nanoparticules ; composés phénoliques ; activité antioxydante ; activité antibactérienne.

Abstract

The green biosynthesis of nanoparticles is growing rapidly and almost universally, and this phenomenon is particularly pronounced for silver nanoparticles responsible for the protection of foodstuffs, and their use as a powerful antibacterial agent. The objective of this study is the characterization of silver nanoparticles biosynthesized by the extracts of two edible plants *Sonchus oleraceus* and *Hedysarum coronarium*. Previously, the moisture test showed that the aerial parts of both plants showed a water richness of about 92.13 ± 0.12 and $89.06 \pm 0.15\%$, respectively. Extraction by maceration yielded about 6.4 and 8% for *S. oleraceus* and *H. coronarium*, respectively. The phytochemical assay revealed total phenolics and flavonoid contents respectively of 2.54 ± 0.32 mg EAG / g MS and 0.47 ± 0.02 mg EQ/g DM for *S. oleraceus* and 1.76 ± 0.34 mg EAG / g MS and 0.79 ± 0.03 mg EQ/g DM for *H. coronarium*. Among other things, these extracts are used as a reducing agent for Ag metal ions in the aqueous medium. Then, the manufactured nanoparticles were characterized by UV-Vis spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction spectroscopy (XRD). These different methods have confirmed the presence of silver nanoparticles and their molecular interaction as well as their crystalline nature. The anti-radical activity (DPPH[•]) and the reducing power of the two aqueous extracts and the nanoparticles manufactured have values respectively of 1.12 ± 0.05 and 1.58 ± 0.07 mg/g Trolox equivalent for *S.oleraceus* and 1.46 ± 0.22 and 0.96 ± 0.10 mg/g Trolox E for *H.coronarium*. The present study has demonstrated the absence of the antibacterial activity of the two extracts but a significant antibacterial activity is noted for the nanoparticles biosynthesized by the two species with respect to *Staphylococcus aureus* and MRSA.

Keywords: *Sonchus oleraceus*; *Hedysarum coronarium*; nanoparticles, phenolic compounds; antioxidant activity; antibacterial activity.