



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Telidji- Laghouat

FACULTE : TECHNOLOGIE

DÉPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS

MÉMOIRE DE MASTER

Présenté par : BENMOUIZA Messaoud

ZAOUI Tayeb

DOMAINE : Sciences et Technologies

FILIERE : Génie des Procédés

OPTION : Génie des Procédés des Matériaux

Thème

**Synthèse et Caractérisation des Nanoparticules
d'Argent élaborées par L-Cystéine pour la
détection des biomolécules**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
BOUTASSOUNA Nassima	MAA	Présidente
BOUKHALKHAL Sarah	MCA	Examinatrice
BOUSSOUAR Imène	MCA	Rapporteuse

Année Universitaire : 2022-2023

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu le tout puissant de nous avoir donné le souffle et l'aptitude pour mener à terme ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre enseignante *Mme. BOUSSOUAR Imène*, qui nous a encadrés et orientés, nous la remercions pour tous ses conseils et son aide à progresser dans nos recherches grâce à son esprit critique et son soutien tout le long de la réalisation de ce modeste travail.

Nous remercions également aux membres de jury, *Mme. BOUTASSOUNA Nassima* et *Mme. BOUKHALKHAL Sarah* d'avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions également monsieur le chef du département *Pr. BENALIA Mokhtar* et tous les enseignants du département génie des procédés pour tout ce qu'ils ont fourni, de près ou de loin, des études ou des conseils.

Grand merci aux membres du laboratoire pédagogique du département génie des procédés pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

DÉDICACE

*A nos parents si chers et précieux, qui ont
toujours été là pour nous avec leur soutien,
sacrifices et leur amour et qui nous ont donné
un magnifique modèle de labeur et de
persévérance.*

A nos très chers frères et sœurs,

Et toute la famille

A nos amis(es)

A tous ceux qui nous sont chers

Liste des figures

CHAPITRE I

Figure I.1 : Spectre d'absorption UV-vis de NPAg	3
Figure I.2 : Nanoparticules organiques: a - Dendrimères, b - Liposomes et c– micelles	4
Figure I.3 : Nanoparticules inorganiques	4
Figure I.4 : Nanoparticules à base de carbone: a - fullerènes, b - graphène, c - nanotubes de carbone, d- carbone nanofibres et e - noir de carbone	5
Figure I.5 : Caractérisations du NPsAg	10
Figure I.6 : Spectres d'absorption UV de la solution NPAg	10
Figure I.7 : Spectre FTIR de nanoparticules d'argent	11
Figure I.8 : Spectre DRX de nanoparticules d'Ag synthétisées à partir d'extrait de feuille de Melia dubia	11
Figure I.9 : Image TEM de nanoparticules d'argent 20 nm	12
Figure I.10 : Image MEB d'AgNPs formés à Callicarpa maingayi Extraction d'écorce de tige	12
Figure I.11 : Structure générale d'un acide aminé	14

CHAPITRE II

Figure II.1 : Synthèse des NPs Ag par la voie citrate	18
Figure II.2 : Schéma de montage de chauffage a reflux pour la préparation de la solution Colloïdale d'argent par la réduction de sel d'argent par le citrate	21
Figure II.3 : Image des NPs Ag avant et après modification par le L-Cystéine	22
Figure II.4 : Principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Visible	23
Figure II.5 : Principe de fonctionnement d'une spectroscopie Infra rouge	24
Figure II.6 : Principe de fonctionnement d'une microscopie électronique en transmission	25

CHAPITRE III

Figure III.1 : (a) les spectres UV-vis des solutions NPsAg bares et L-Cys-NPsAg et (b) images photographiques de NPsAg avant et après modification par L-Cystéine	28
Figure III.2 : Les spectres infrarouge des solutions L-Cystéine, NPs Ag et L-Cys-NPs Ag	29
Figure III.3 : Schéma représentatif du mécanisme de la modification des NPs Ag par L-Cystéine	30
Figure III.4 : Image de TEM des L-Cys-AgNPs synthétisées et la distribution granulométrique des L-Cys-NPs Ag	31
Figure III.5 : La stabilité des L-Cys-Ag NPs. Les spectres d'absorption UV-vis des L-Cys - Ag NPs enregistrés à différents moments.	32
Figure III.6 : L'effet du pH sur les spectres d'absorption UV-vis des L-Cys -Ag NPs	33
Figure III.7 : (A) les images photographiques et (B) les spectres UV-vis de la solution L-Cys-NPsAg en présence de 10 mM de la différente solution (5 sucres et 4 acides aminés)	34
Figure III.8 : Mécanisme possible illustratif le principe d'auto-assemblage des L-Cys-NPsAg lors de l'ajout de L-Lysine	35
Figure III.9 : Images TEM des solutions L-Cys-NPs Ag avant et après la détection de L-lysine avec barres d'échelle de 100 nm	36
Figure III.10 : (A) Le changement de couleur de la solution L-Cys-NPsAg après l'ajout des différentes concentrations de L-Lysine (de 10^{-2} M à 10^{-7} M) et (B) les spectres UV-vis des différentes concentrations de L-Lysine (de 10^{-2} M à 10^{-7} M)	37

Liste des tableaux

CHAPITRE I

Tableau I.1: les propriétés des nanoparticules	5
---	----------

CHAPITRE II

Tableau II.1 : produits chimiques utilisé	19
Tableau II.2 : Tableau des acides aminés et du sucre	25

Liste des abréviations

Ag : Le métal d'argent.

AgNP : Une nanoparticule d'argent.

AgNPs : Les nanoparticules d'argent.

AgNO₃ : Nitrate d'argent.

Ag⁺ : Ion d'argent.

Ag⁰ : Argent de charge neutre.

NPs : Les nanoparticules.

SPR : La résonance plasmonique de surface.

CNT : nanotubes de carbone

u : L'unité de masse atomique unifiée

°C : Celsius unité température

g/cm³ : L'unité de mesure de la masse volumique

HPLC : liquide haute performance chirale

CE : l'électrophorèse capillaire

FL : la fluorescence

C₆H₅O₇Na₃ : citrate de sodium

NaBH₄ : borohydrure de sodium

FT-IR : Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier

UV-vis : Spectroscopie UV-Visible

DRX : Diffraction des rayons X

MET : Microscopie électronique à transmission

MEB : Microscopie électronique à balayage

Al : aluminium

Cd : cadmium

Co : cobalt

Cu : cuivre

Au : or

Fe : fer

Pb : plomb

Ag : argent

Zn : zinc

Fe₂O₃ : oxyde de fer

Al₂O₃ : Oxyde d'aluminium

TiO₂ : Oxyde de titane

MEF : fluorescence des métaux

SERS : diffusion de surface Raman

L-Cys : L-Cystéine

Sommaires

Introduction générale	I
-----------------------------	---

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Introduction	2
I.2 Les nanoparticules	2
I.2.1. Définition	2
I.2.2. Origine des nanoparticules	3
I.2.2.1. Les nanoparticules d'origine naturelle	3
I.2.2.2. Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle	3
I.2.2.3. Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle	3
I.2.3. Types des nanoparticules	3
I.2.3.1. Nanoparticules organiques	3
I.2.3.2. Nanoparticules inorganiques	4
I.2.3.3. À base de carbone	4
I.2.4. Propriétés des nanoparticules	5
I.2.4.1. Effets de taille	6
I.2.4.2. Effets de composition	6
I.2.4.3. Effets de surface	6
I.3. L'argent	6
I.3.1. Définition	6
I.3.2. Propriétés physiques et chimiques	6
I.4. Nanoparticules d'argent	7
I.4.1 Définition	7
I.4.2. Propriétés des nanoparticules d'argent	7
I.4.2.1. Propriétés optiques	7
I.4.2.2. Propriétés catalytiques	7
I.4.2.3. Propriétés antibactériennes	8
I.4.3. Méthodes de synthèse	8
I.4.3.1. Méthodes physiques	8
I.4.3.1.1. Évaporation-condensation	8
I.4.3.1.2. Décomposition thermique	8
I.4.3.1.3. Décharge en arc électrique	8

I.4.3.2. Méthode chimique	9
I.4.3.3. Méthode biologique	9
I.5. Caractérisations des NPsAg	9
I.5.1. UV-Visible	10
I.5.2. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)	11
I.5.3. Diffraction des rayons X (DRX)	11
I.5.4. Microscopie électronique à transmission (TEM)	12
I.5.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)	12
I.6. Applications des nanoparticules d'argent	13
I.6.1. Applications biologiques	13
I.6.2. Applications optiques	13
I.6.3. Applications catalytiques	13
I.7. Les acides aminés	14
I.7.1. Définition	14
I.7.2. Propriétés physico-chimiques des acides aminés	14
I.7.2.1. Propriétés physiques	14
I.7.2.2. Propriétés chimiques	15
I.7.3. Applications des acides aminés	15
I.7.4. Détection colorimétrique	16
I.8. Conclusion	16

CHAPITRE II : PARTIE EXPÉRIMENTALE

II.1. Introduction	18
II.2. Matériels et Méthodes d'élaboration	18
II.2.1. Méthodologie d'élaboration des nanoparticules d'argent stable	18
II.2.2. Matériels utilisés	19
II.2.3. Réactifs	19
II.3. Protocole expérimental	20
II.3.1. Synthèse des nanoparticules nues NPs Ag	20
II.3.2. Synthèse des nanoparticules modifiées par L-Cystéine (L-Cys-NPs Ag) ...	22
II.3.3. Techniques de caractérisation	22
II.3.3.1. Spectroscopie UV-visible	22
II.3.3.2. Spectroscopie Infra rouge	23
II.3.3.3. Microscopie électronique en transmission	24

II.4. Stabilisation des nanoparticules d'argent modifiées par L-Cystéine	25
II.4.1 Détection sélective (le test colorimétrique)	25
II.5. Logiciels utilisés	26
II.5.1. Origin v 9.9	26
II.5.2. KingDraw	26
II.6. Conclusion	26

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Introduction	28
III.2. Analyse par spectrophotométrie UV-visible	28
III.3. Analyse par spectrophotométrie Infrarouge	29
III.4. Mécanisme schématique des nanoparticules d'argent fonctionnalisées par L-Cystéine	30
III.5. La taille et la dimension des nanoparticules L-Cys-NPs Ag	31
III.6. Stabilité des nanoparticules synthétisées L-Cys- NPs Ag	32
III.7. La détection colorimétrique	34
III.7.1. Les spectres UV-visible de la détection colorimétrique	34
III.7.2. Mécanisme schématique de la détection colorimétrique de L-Lysine	35
III.7.3. MET images des solutions colloïdales L-Cys-NPs Ag avant et après la détection de L-Lysine	35
III.7.4. La sensibilité et la limite de détection de L-Lysine	36
III.7. Conclusion	38
Conclusion général	39

Introduction générale

Introduction générale

La nanotechnologie et les nanosciences sont un domaine d'étude des systèmes qui mesurent moins de quarante nanomètres (rappelons qu'un nanomètre correspond à un milliardième de mètre, soit 0 000 000 001 mètres). Cependant, la nanotechnologie n'étudie pas seulement ces éléments car elle vise également à fabriquer et à manipuler des objets et des nanomatériaux à l'échelle nanométrique. En effet, les applications des nanotechnologies sont multiples, et ceci dans des domaines très divers. Les nanotechnologies sont utilisées dans de nombreuses disciplines scientifiques comme l'électronique, la mécanique, la chimie (on parle de nanochimie) ou encore la biologie et donc la médecine. Très récemment, ils ont un potentiel énorme dans le diagnostic, le traitement et la prévention de la COVID-19.

La synthèse de nanomatériaux a été développée au cours des dernières décennies. Cette caractéristique dimensionnelle confère à ces matériaux des propriétés ou des comportements particuliers, utilisés notamment pour des nouvelles applications technologiques. Les nanoparticules possèdent des différentes propriétés liées à leur taille et à leur forme. Les nanoparticules de métaux nobles (or et argent) ont fait l'objet de recherches ciblées en raison de leurs propriétés particulières. Dans notre étude, nous utiliserons des nanoparticules d'argent, qui sont parmi les nanomatériaux les plus étudiés en raison de leurs propriétés optiques et électroniques uniques.

La synthèse de nanoparticules par réduction chimique est sans contredit la technique la plus utilisée pour former des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre probablement le meilleur contrôle de taille, de forme et la meilleure versatilité. L'approche la plus commune pour la synthèse de nanoparticules d'argent est la réduction chimique par des agents réducteurs organiques et inorganiques. En général, les différents agents réducteurs, tels que le citrate de sodium ($C_6H_5O_7Na_3$), le borohydrure de sodium ($NaBH_4$), ont été utilisés pour la réduction des ions d'argent (Ag^+) dans des solutions aqueuses ou non aqueuses.

Les agents réducteurs précités réduisent les ions argent (Ag^+) et conduisent à la formation d'argent métallique (Ag^0), qui est suivie d'une agglomération en amas. Ces groupes conduisent finalement à la formation de particules d'argent métallique colloïdal.

Le réducteur est choisi pour réduire les espèces métalliques dissoutes afin qu'elles précipitent en particules métalliques et en ce qui concerne le surfactant, il joue le rôle d'agent protecteur

Introduction générale

des particules métalliques en s'adsorbant à la surface des particules permettant ainsi d'éviter qu'elles s'agglomèrent. La morphologie ainsi que la distribution en taille des nanoparticules sont contrôlées par le paramètre tel que la cinétique de réduction et la nature du stabilisant.

L'analyse chirale, continue de bénéficier d'une attention considérable. Enantiomères des médicaments chiraux diffèrent souvent dans leur pharmacologie-cal et le profil pharmacocinétique de l'activité. En effet, qu'il s'agisse d'une nanoparticule à cœur magnétique les nano-objets ouvrent une nouvelle branche de la recherche : il devient possible de traiter le cancer, d'injecter des particules de taille nanométriques et d'en contrôler la quantité, de localiser certains types de cellules.

Les acides aminés sont des substances bioactives. La recherche sur la reconnaissance des énantiomériques acides aminés peuvent fournir des informations importantes conduisant à une meilleure compréhension de reconnaissances chirale dans les systèmes biologiques et favoriser le développement des dispositifs moléculaire utile dans études biochimiques et pharmaceutique.

Le développement d'un dosage colorimétrique utilisant des nanoparticules d'argent (NPsAg) comme un élément basé sur ses propriétés uniques résonance de plasmons de surface, ce qui peut induire à l'agrégation induite par l'analyse des nanoparticules. L'effort considérable a été consacré à la synthèse et la caractérisation ligand chiral optiquement actif, enduites de nanoparticules d'argent.

Dans notre étude, nous allons décrire la méthode opératoire de synthèse des nanoparticules d'argent par voie de citrate de sodium (réduction chimique) et leur caractérisation par spectroscopies infrarouge FT-IR et UV-Visible qui fera l'objet de notre travail. La discrimination chirale raisonnable a été obtenue en utilisant la technique des nanoparticules d'argent tout en améliorant la sensibilité de la reconnaissance chirale est essentielle et reste une tâche difficile. On s'attend à ce que la spectroscopie UV-Visible soit une méthode réalisable pour améliorer la sensibilité de la discrimination d'analyse.

Nous présentons dans ce mémoire, un travail qui s'articule autour de la synthèse des nanoparticules d'argent enrobés de l'acide aminé L-Cystéine peut distinguer de façon spectaculaire la L-Lysine. La sensibilité de la détection s'est améliorée de près de 500 fois en utilisant la méthode des nanoparticules d'argent. En bref, la méthode mentionnée ci-dessous rend la détection du dérivé d'acide aminé chirale beaucoup plus facile que les analyses instrumentales conventionnelles.

Introduction générale

Le plan de ce manuscrit est le suivant :

Le premier chapitre est consacré aux rappels de quelques généralités sur les nanoparticules. Nous nous sommes intéressés à l'étude théorique des différentes propriétés et applications (optiques, catalytiques, antibactériens) des NPsAg. Nous présentons aussi des synthèses bibliographiques des différentes méthodes utilisées pour la préparation des NP-Ag.

Dans le deuxième chapitre, nous présentons la méthode et les protocoles expérimentaux utilisés pour la préparation des NPsAg ainsi que les différentes techniques de caractérisation utilisées. Le troisième chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus. On termine par une conclusion générale.

CHAPITRE I

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction

Les nanoparticules attirent l'attention dans un éventail de disciplines scientifiques et technologiques. Ces nanoparticules, lorsqu'elles sont examinées individuellement, présentent des propriétés distinctes de leurs homologues agrégés. Cela est dû à leurs propriétés physiques et chimiques uniques qui diffèrent de celles à l'état brut. L'importance de ses applications technologiques potentielles n'a d'égal que son utilité comme modèle de base pour l'étude de la croissance de la matière.

I.2. Les nanoparticules

I.2.1. Définition

Les nanoparticules sont des particules très petites, avec des dimensions en général comprises entre 1 et 100 nanomètres (un nanomètre équivaut à un milliardième de mètre). Elles peuvent être fabriquées à partir de différents matériaux tels que des métaux, des polymères, des céramiques, des semi-conducteurs, etc.

Les nanoparticules sont utilisées dans de nombreux domaines tels que la médecine, l'électronique, l'optique, la catalyse, la cosmétique, etc. En médecine, par exemple, les nanoparticules peuvent être utilisées pour délivrer des médicaments directement aux cellules malades ou pour imaginer les tissus du corps. En électronique, les nanoparticules peuvent être utilisées pour améliorer les performances des composants électroniques, tels que les transistors.

Les nanoparticules peuvent être divisées en deux types : organiques et inorganiques. Les nanoparticules inorganiques peuvent être aussi répertoriées en nanoparticules magnétiques, nanoparticules de métaux nobles (comme l'or et l'argent) et nanoparticules semi-conductrices telles que l'oxyde de titane ou de zinc [1]. En suspension colloïdale, la couleur et l'absorption optique des nanoparticules dépend de la taille tel que représenté sur la figure I.1

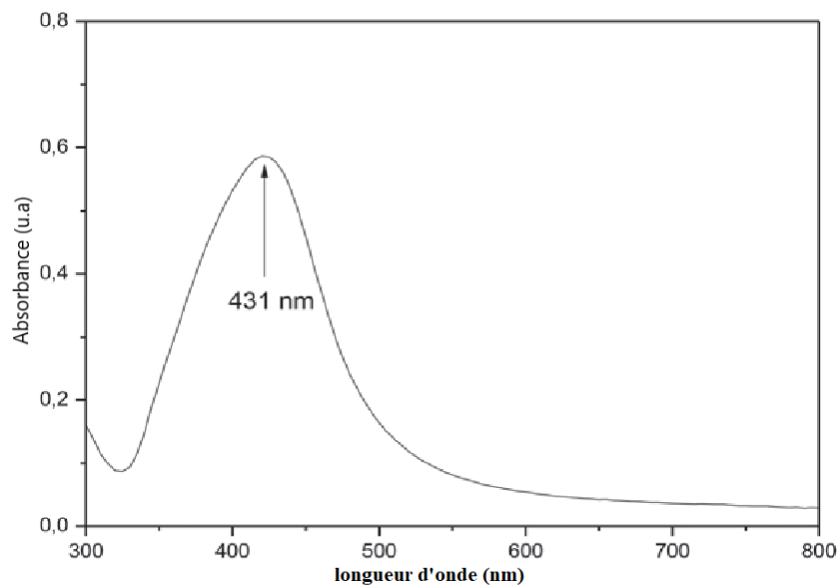


Figure I.1 : Spectre d'absorption UV-vis de NPAg [2]

I.2.2. Origine des nanoparticules

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

I.2.2.1. Les nanoparticules d'origine naturelle : résultent essentiellement des phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et vapeurs dans l'atmosphère (incendies, éruptions volcaniques ...).

I.2.2.2. Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle : issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs (pollutions, émissions diesel, combustions diverses ...).

I.2.2.3. Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle : nanoparticules manufacturées par l'industrie ou dans les laboratoires de recherche [3]

I.2.3. Types des nanoparticules

I.2.3.1. Nanoparticules organiques

Les dendrimères, micelles, liposomes et ferritine, etc. sont communément connus sous le nom de nanoparticules organiques ou les polymères. Ces nanoparticules sont biodégradables, non toxiques et certaines particules telles que les micelles et les liposomes ont un noyau creux ; également connu sous le nom de nanocapsules et sont sensibles à la chaleur et rayonnement électromagnétique tel que la chaleur et la lumière [4].

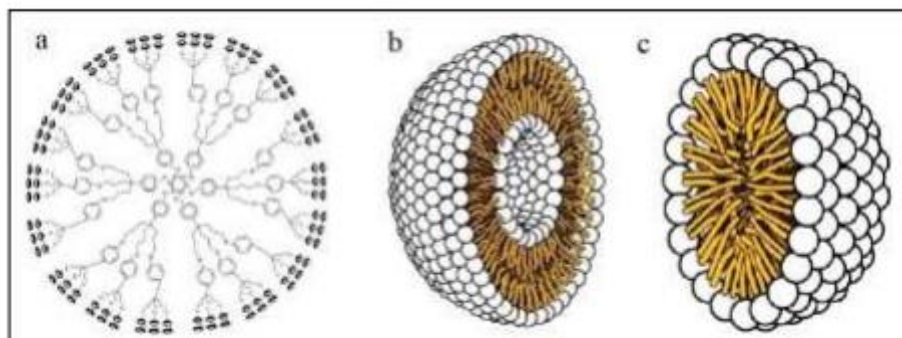


Figure I.2 : Nanoparticules organiques : a - Dendrimères, b - Liposomes et c- micelles [5].

I.2.3.2. Nanoparticules inorganiques

Les nanoparticules inorganiques sont des particules qui ne sont pas composées de carbone. À base de métal (aluminium (Al), cadmium (Cd), cobalt (Co), cuivre (Cu), or (Au), fer (Fe), plomb (Pb), argent (Ag) et le zinc (Zn) [6]. Et d'oxyde métallique (oxyde de fer (Fe_2O_3), Oxyde d'aluminium (Al_2O_3) Oxyde de titane (TiO_2) ...etc.), les nanoparticules sont généralement classées comme nanoparticules inorganique [7].

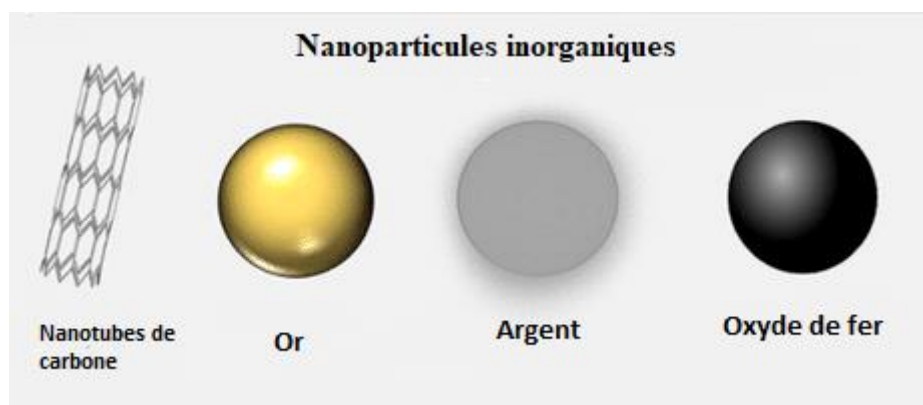


Figure I.3 : Nanoparticules inorganiques

I.2.3.3. À base de carbone

Les nanoparticules constituées entièrement de carbone sont connues sous le nom de carbone. Ils peuvent être classés en fullerènes graphène, nanotubes de carbone (CNT), nanofibres de carbone et noir de carbone et parfois du charbon actif en taille nanométrique et sont présentés dans la figure suivant [8].

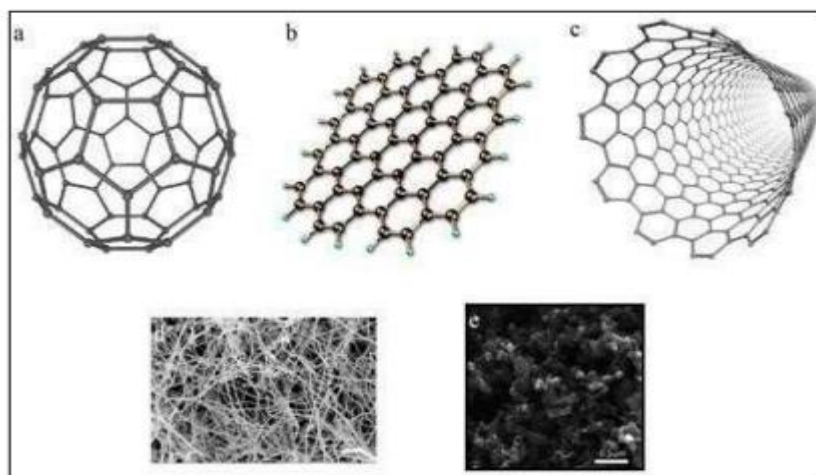


Figure I.4 : Nanoparticules à base de carbone : a - fullerènes, b - graphène, c - nanotubes de carbone, d- carbone nanofibres et e - noir de carbone [5].

I.2.4. Propriétés des nanoparticules

Les nanoparticules, jonction entre l'échelle atomique et le matériau, ont des particularités structurales très spécifiques. Les principales propriétés des nanoparticules sont : optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques [9].

Tableau 1 : Propriétés des nanoparticules.

Propriétés	Exemples	Réf
Optique	La couleur de la nanoparticule. Capacités de pénétration, d'absorption et de réflexion de la lumière.	[3]
Structurel	Des structures cristallines et amorphes, des formes comme sphérique et cylindrique.	[5]
Mécanique	Élastique, ductile, de traction forces et flexibilité.	[3]
Electrique et magnétique	Élastique, ductile, de traction forces et flexibilité.	[3]
Biologique	La réactivité et la sensibilité aux facteurs environnementaux tels que l'air, l'humidité, la chaleur et la lumière du soleil, etc.	[5]

En effet, contrairement aux matériaux classiques, les nanoparticules voient leurs propriétés changer en fonction des effets suivants :

I.2.4.1. Effets de taille : selon le matériau utilisé pour produire les nanoparticules, propriétés comme la solubilité, la transparence, couleur, longueur d'onde d'absorption ou d'émission, conductivité, le point de fusion et le comportement catalytique ne sont modifiés que par faire varier la taille des particules.

I.2.4.2. Effets de composition : il est clair qu'une particule d'une différente composition conduit à un comportement physique et chimique différent du matériau.

I.2.4.3. Effets de surface : propriétés telles que la dispersion, la conductivité, le comportement catalytique et les propriétés optiques changent avec différentes propriétés de surface de la particule [10].

I.3. L'argent

I.3.1. Définition

L'argent est un élément chimique de symbole Ag et de numéro atomique (47). C'est un métal précieux doux, malléable et malléable à haute conductivité électrique et thermique. L'argent est utilisé depuis des milliers d'années dans les bijoux, les ustensiles et les pièces de monnaie.

I.3.2. Propriétés physiques et chimiques

- L'argent est un métal de transition de couleur blanche argentée avec un lustre métallique brillant.
- Sa masse atomique est de 107,87 u.
- Son point de fusion est de 961,78 °C et son point d'ébullition est de 2 162 °C.
- Sa densité est de 10,5 g/cm³.
- L'argent est très ductile et très malléable, ce qui signifie qu'il peut être facilement étiré en fils et aplati en feuilles minces.
- Il est un excellent conducteur électrique et thermique, environ deux fois meilleur conducteur que le cuivre.
- L'argent est relativement inerte chimiquement, mais il peut réagir avec certains gaz pour former des composés tels que l'oxyde d'argent et le sulfure d'argent.
- Il a une valence de +1 et peut former des composés ioniques tels que le chlorure d'argent (Ag Cl) et le nitrate d'argent (AgNO₃).

- L'argent est également connu pour son activité antimicrobienne, ce qui en fait un matériau précieux dans les applications médicales et alimentaires.

I.4. Nanoparticules d'argent

I.4.1 Définition

Les nanoparticules d'argent sont des particules très petites de métal argent qui ont une taille inférieure à 100 nanomètres. Elles sont largement utilisées dans diverses applications, notamment en raison de leurs propriétés antimicrobiennes. Les nanoparticules d'argent ont la capacité de détruire les bactéries, les virus et les champignons, ce qui les rend utiles dans de nombreuses applications, notamment dans les textiles, les cosmétiques, les dispositifs médicaux et les produits alimentaires.[11]

I.4.2. Propriétés des nanoparticules d'argent

De nouvelles propriétés et caractéristiques apparaissent lors du passage de l'état massif vers l'état nano-objet. Dans ce qui suit nous présenterons un aperçu sur l'effet de la taille des nanoparticules sur quelques propriétés.

I.4.2.1. Propriétés optiques

Les propriétés d'absorption et de diffusion des NPs Ag peuvent être modifiées en contrôlant la taille, la forme et l'indice de réfraction proche de la surface de la particule. Par exemple, les plus petites nanoparticules absorbent la lumière de longueur d'onde proche de 400 nm, tandis que les plus grosses présentent une diffusion accrue et ont des pics qui s'élargissent et se déplacent vers des longueurs d'onde plus grandes. Lorsque les NPs Ag sont exposées à une longueur d'onde électromagnétique spécifique, une oscillation cohérente des électrons libres à la surface des NPs Ag est induite. Ce phénomène provoque une séparation de charge par rapport au réseau ionique formant une oscillation atteignant son maximum à une fréquence spécifique, appelée résonance plasmode de surface (SPR). [12]

I.4.2.2. Propriétés catalytiques

D'un point de vue chimique, la diminution de la taille des nanoparticules rend les matériaux plus réactifs, ce qui en fait des candidats prometteurs pour les applications en catalyse. Il a été démontré expérimentalement que les nanoparticules métalliques ont des activités catalytiques élevées pour l'hydrogénation, carbonylation et l'hydroformylation [13,14]. Les propriétés catalytiques des NPs Ag supportées par des sphères de silice ont été étudiées. Partage de NPs Ag sur les sphères de silice, protègent efficacement les particules de métal d'agrégation, évitant ainsi la désactivation et l'empoisonnement des catalyseurs pendant la réaction catalytique [15].

I.4.2.3. Propriétés antibactériennes

Il existe différentes théories sur l'effet du NP-Ag sur les microbicides. Le NP-Ag a la capacité de s'accumuler, de s'ancrer sur la paroi cellulaire bactérienne et de s'infiltrer par la suite, provoquant des changements dans la structure de la membrane cellulaire et la mort cellulaire [16]. La formation de radicaux libres par le NP-Ag peut être considérée comme un autre mécanisme de mort cellulaire. Certains spectres de résonance de spin électronique indiquent que l'argent forme ces radicaux libres lorsqu'il entre en contact avec des bactéries. Ces radicaux libres peuvent endommager la membrane cellulaire et la rendre poreuse, entraînant la mort cellulaire [17].

I.4.3. Méthodes de synthèse

En règle générale, la synthèse de nanoparticules peut être réalisée à l'aide de trois approches différentes, notamment des méthodes physiques, chimiques et biologiques.

I.4.3.1. Méthodes physiques

Dans les méthodes physiques, les nanoparticules sont préparées par évaporation-condensation, décomposition thermique, décharge en arc électrique.

I.4.3.1.1. Évaporation-condensation

Cette méthode a pour objectif d'évaporer le métal argent par chauffage en utilisant un four tubulaire à pression atmosphérique [18]. Ensuite à condenser la vapeur dans le but d'avoir des nanoparticules nanométriques dispersées. La difficulté de ce procédé est le contrôle absolu et homogène des particules à l'échelle nanométrique. Les nanoparticules sont récupérées par refroidissement très rapide de la vapeur en métal [19]

I.4.3.1.2. Décomposition thermique

Cette méthode a été développée pour synthétiser le NP-Ag sous forme de poudre. Le NP-Ag est préparé en faisant réagir le complexe acide oléique Ag^{1+} avec AgNO_3 et l'oléate de sodium dans une solution aqueuse à 290°C . Ainsi, la taille moyenne du NP-Ag d'est de $9,5 \pm 0,7$ nm. Cela montre que la distribution de taille de NP-Ag est très étroite [20].

I.4.3.1.3. Décharge en arc électrique

Cette méthode permet de synthétiser une suspension de NP-Ag dans de l'eau déminéralisée sans ajout de tensioactifs. Dans cette synthèse, du fil d'argent (Gredmann, 99,99 %, 1 mm de diamètre) a été immergé dans de l'eau déminéralisée et utilisé comme électrode. Les résultats expérimentaux montrent que la suspension de NP-Ag préparée par la méthode de décharge à l'arc contient du NP-Ag métallique et des ions argent sans ajout de tensioactifs. Le taux de

consommation de bâtonnets d'argent est de 100 mg/min, donnant des NP-Ag métalliques de 10 nm et des ions d'argent obtenus à des concentrations d'environ 11 ppm et 19 ppm, respectivement [21].

I.4.3.2. Méthode chimique

Les méthodes chimiques sont très utilisées pour la synthèse des NPs Ag en raison de la simplicité de préparation en solution aqueuse. La préparation des NPs Ag par la méthode chimique nécessite l'utilisation d'agent stabilisant, agents réducteurs et le précurseur d'argent. Les nanoparticules peuvent être synthétisées en utilisant AgNO_3 comme précurseur et les citrates de sodium comme agent réducteur et stabilisant. Ces agents réduisent les ions Ag^+ et conduisent à la formation d'argent métallique (Ag^0), suivie d'une agglomération en grappes oligomères. Ces grappes finissent par conduire à la formation de particules d'argent métallique colloïdales [22].

I.4.3.3. Méthode biologique

Pour pallier les insuffisances des méthodes chimiques, les méthodes biologiques sont apparues comme des options viables. Récemment, la synthèse de nanoparticules par voie biologique s'est révélée être une approche simple, rentable, fiable et respectueuse de l'environnement. Une grande attention a été accordée à la production à haut rendement de nanoparticules d'argent de taille définie en utilisant divers systèmes biologiques, notamment des bactéries, des champignons, des extraits de plantes et de petites biomolécules comme les vitamines et les acides aminés, comme méthode alternative aux méthodes chimiques, non seulement pour les nanoparticules d'argent, mais aussi pour la synthèse de plusieurs autres nanoparticules, comme l'or et le graphène. [23 ,24]

I.5. Caractérisations des NPsAg

La caractérisation est une étape essentielle pour découvrir les NPsAg par leur taille, leur forme, morphologie, structure, chimie de surface, charge de surface, dispersité et superficie. Diverses techniques sont employées pour caractériser les NPsAg, qui sont indiquées ci-dessous [25].

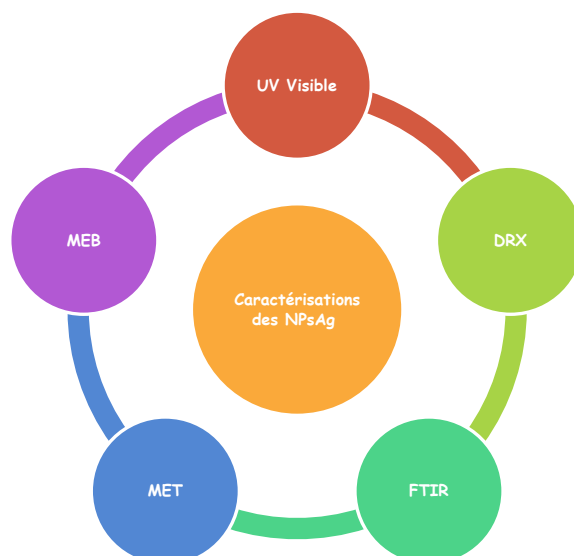


Figure I.5 : Caractérisations des nanoparticules d'argent

I.5.1. Spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-vis est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées qui est également utilisée pour vérifier les NPsAg synthétisées [26]. Le spectre d'absorption des NPsAg dépend de la morphologie, forme, taille et environnement chimique des nanoparticules synthétisées. De nombreuses études ont montré que les NPsAg produisent des bandes d'absorption à environ 200-800 nm dans la longueur d'onde du spectre UV-visible et il a été utilisé pour la caractérisation de nanoparticules avec une gamme de 2-100nm [27, 28].

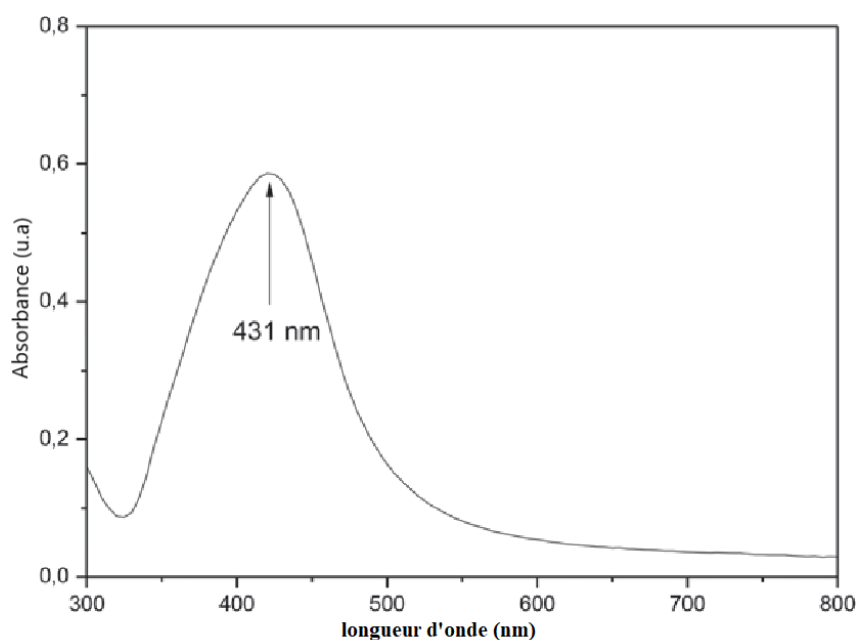


Figure I.6 : Spectre d'absorption UV de la solution NPsAg [29]

I.5.2. Spectroscopie Infrarouge à transformée de fourrier (FT-IR)

La spectroscopie FT-IR est utilisée pour étudier la chimie de surface des nanoparticules métalliques et pour trouver savoir si les biomolécules sont impliquées dans la synthèse des nanoparticules [30]. Le FT-IR est un non-invasif, approprié, précieux, rentable, et une technique simple pour étudier le rôle des biomolécules dans la réduction de l'AgNO₃ en argent [31].

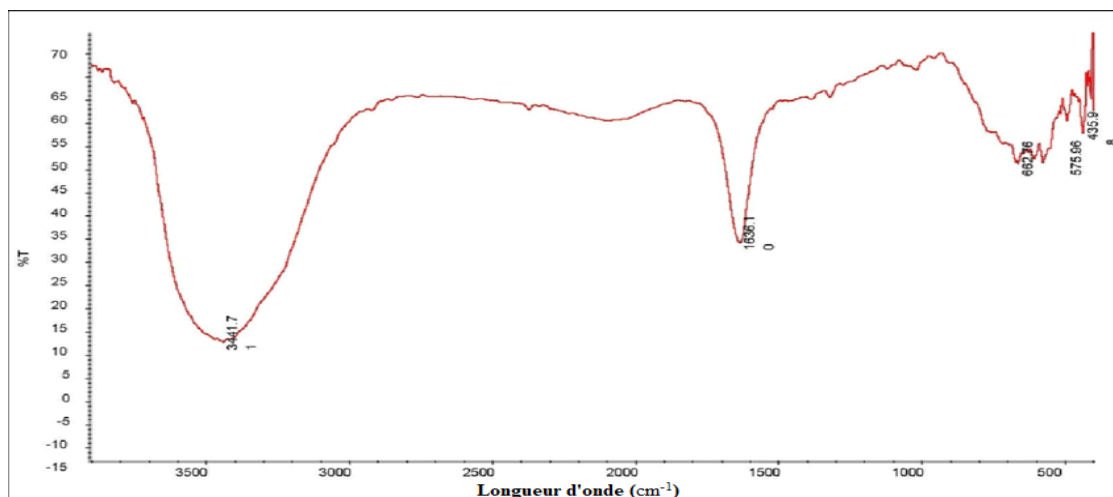


Figure I.7 : Spectre FTIR de nanoparticules d'argent [32]

I.5.3. Diffraction des rayons X (DRX)

L'identification de la phase et la détermination de la structure cristalline des NPs peuvent être déterminées par la diffraction des rayons X (DRX) [33]. Avec l'aide de DRX, la présence des NPsAg dans le produit de synthèse peut être confirmée. La confirmation a lieu par identification des pics du spectre DRX caractéristique de la structure cristalline cubique à faces centrées d'argent métallique [34].

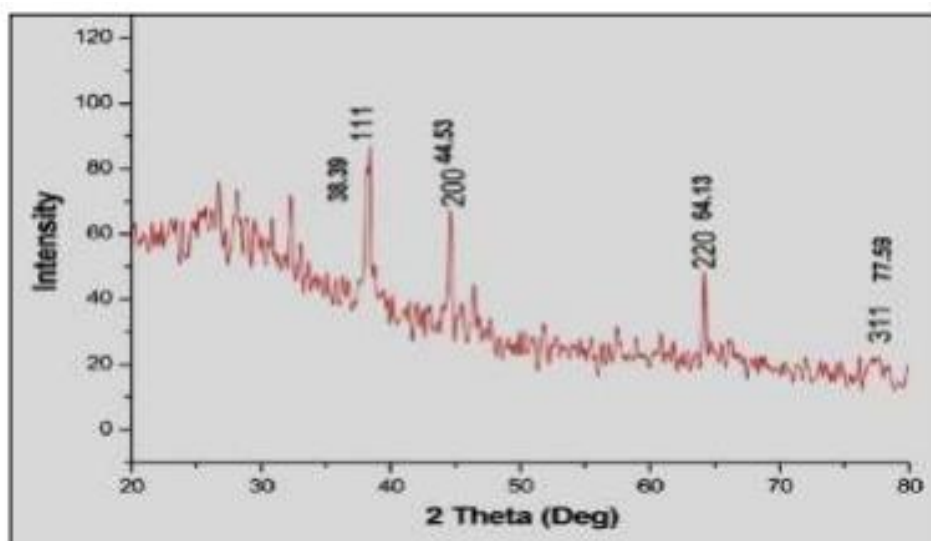


Figure I.8 : Spectre DRX de nanoparticules d'Argent synthétisées à partir d'extrait de feuille de Melia dubia [33].

I.5.4. Microscopie électronique à transmission (MET)

La microscopie électronique à transmission (MET) offre une puissante alternative à l'examen de certains éléments fins dont les dimensions caractéristiques inférieures à 100 nm [35].

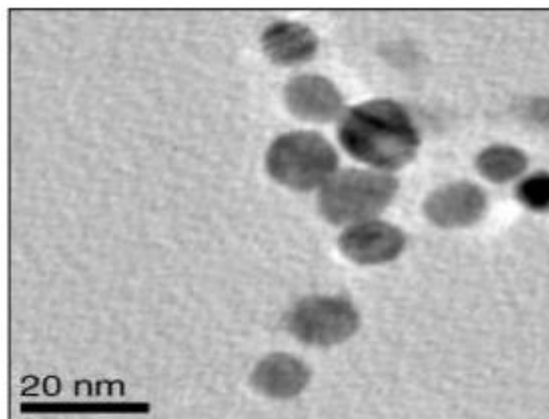


Figure I.9 : Image MET de nanoparticules d'argent 20 nm [36].

I.5.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une méthode d'imagerie de surface, entièrement capable de résolution de différentes tailles des particules, distributions de tailles, formes de nanomatériaux et morphologie de surface des particules synthétisées aux échelles micro et nanométrique [37]. MEB utilise un faisceau d'électrons à haute énergie qui est balayé sur la surface de l'échantillon des NPs_{Ag}, puis l'observation des électrons rétrodiffusés fournit les caractéristiques de l'échantillon [38].

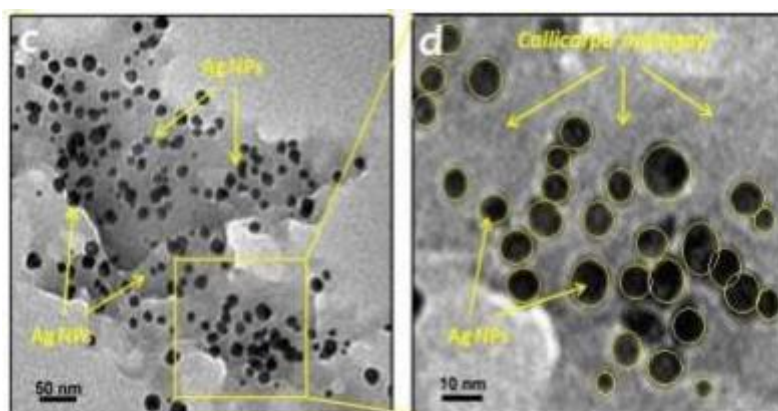


Figure I.10 : Image MEB des NPs_{Ag} formés à Extraction d'écorce de tige [39].

I.6. Applications des nanoparticules d'argent

I.6.1. Applications biologiques

En raison de leurs propriétés uniques, les nanoparticules d'argent ont été largement utilisées dans les ustensiles ménagers, dans l'industrie, des soins de santé et dans les applications de stockage des aliments, ainsi que dans la protection de l'environnement et aussi en biomédicales. Plusieurs revues et chapitres de livres ont été consacrés à divers domaines d'application des NP sAg. Nous souhaitons ici mettre l'accent sur les applications des NPsAg dans diverses applications biologiques et biomédicales, telles que les applications antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, anticancéreuses et anti-antigéniques.

I.6.2. Applications optiques

En raison de ses propriétés optiques extraordinaires, les NPsAg ont été utilisés dans les biocapteurs optiques. L'effet de résonance plasmonique de surface rend les NPsAg plus sensibles et peuvent être mesurés en temps réel [40]. Les NPsAg sont également utilisés pour collecter efficacement la lumière et améliorer la spectroscopie, y compris la fluorescence des métaux (MEF) et la diffusion de surface Raman (SERS) [41].

I.6.3. Applications catalytiques

Ces dernières années, l'une des applications les plus importantes des NP d'Ag a été observée dans la catalyse des réactions chimiques. Les "catalyseurs nano-argentés" avec leur réactivité et leur sélectivité uniques, stabilité, ainsi que leur recyclabilité. Dans les réactions catalytiques avec une économie d'atomes et une nature inoffensive pour l'environnement, ont accru l'intérêt pour la synthèse organique médiée par le nano-argent au cours des dernières années.

Des nano-argent de différentes formes et tailles ont catalysé de nombreuses transformations organiques telles que cyclisation, addition de Michael, alkylation, alcynylation, oxydation, réaction de couplage croisé, la réaction de Friedal-crafts, la réaction de Diel-Alder, et bien d'autres encore [42]. Les chercheurs sont fascinés par les nanoparticules d'argent, car elles ont permis des transformations sans précédent ou peu sélectives à des produits hautement réactifs et chimiquement dangereux [43]

I.7. Les acides aminés

I.7.1. Définition

Les acides aminés sont les éléments constitutifs des peptides et des protéines. Les séquences d'acides aminés confèrent des propriétés chimiques spécifiques et des fonctions très précises aux protéines. Ils sont essentiels à la régénération cellulaire et à de nombreux processus biologiques.

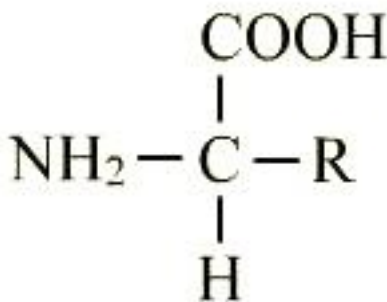


Figure I.11 : Structure générale d'un acide aminé

I.7.2. Propriétés physico-chimiques des acide amine

I.7.2.1. Propriétés physiques

- Les acides aminés sont des substances cristallines incolores.
- La plupart des acides aminés sont insipides mais certains sont sucrés. (Ex. Glycine, Alanine) et certains sont amers (Ex. Arginine)
- Les acides aminés ont un point de fusion élevé (200-300) °C en raison de la propriété ionique.
- La solubilité des acides aminés dépend de la polarité, du point isoélectrique, de la nature du solvant (pH) et de la température.
- Les acides aminés sont solubles dans l'eau et l'éthanol (c'est-à-dire un solvant polaire) et insolubles dans un solvant non polaire comme le benzène, l'éther, etc.
- Les acides aminés sont insolubles au point isoélectrique.
- La solubilité dépend du pH du solvant et de la température. Par exemple. La tyrosine est soluble dans l'eau chaude.

I.7.2.2. Propriétés chimiques

Les réactions chimiques des acides aminés sont importantes :

- Pour l'identification et l'analyse des acides aminés dans les protéines.
- Pour l'identification des séquences d'acides aminés dans les protéines.
- Pour l'identification de résidus d'acides aminés spécifiques de protéines natives nécessaires au fonctionnement biologique, par ex. l'hémoglobine (l'histidine y joue un rôle).
- Pour la modification chimique des résidus d'acides aminés dans les molécules de protéines afin de produire un changement dans l'activité biologique.
- Pour la synthèse chimique des polypeptides (à des fins médicales)

I.7.3. Applications des acides aminés

Les acides aminés sont des substances bioactives importantes. La recherche sur la reconnaissance énantiomérique des acides aminés peut fournir des informations importantes menant à une meilleure compréhension de la reconnaissance chirale dans les systèmes biologiques et favorisant le développement de dispositifs moléculaires utiles dans les études biochimiques et pharmaceutiques [44].

Ces dernières années ont vu le développement d'un test colorimétrique utilisant des nanoparticules d'argent (NPsAg) comme élément de détection basé sur ses propriétés uniques de résonance plasmonique de surface, qui peuvent induire une agrégation de nanoparticules induite par l'analyte [45]. En coiffant les NPs Ag avec une sélection des ligands chiraux ont attiré l'attention, et l'application aux technologies chirales est une perspective intéressante. Des efforts considérables ont été consacrés à la synthèse et à la caractérisation de ligands chiraux optiquement actifs recouverts de nanoparticules d'argent [46]. Par exemple, Graham et ses collègues ont rapporté que les conjugués oligonucléotides-nanoparticules d'argent permettent la détection d'une concentration plus faible d'une séquence d'ADN spécifique [47]. Ye a également démontré que les nanoparticules d'Ag coiffées de nucléotides (NPsAg) peuvent être utilisées comme plate-forme d'énantioséparation et de détection à très haute efficacité pour la D- et la L-cystéine [48]. Pour autant que nous le sachions, la limite de détection visuelle des NP Ag n'a atteint que le levier 10^{-7} M, ce qui a limité une analyse pratique. Ainsi, loin d'améliorer encore la sensibilité de la reconnaissance chirale à base de NPs Ag est une tâche fascinante dans l'application analytique pratique.

I.7.4. Détection colorimétrique

Les méthodes colorimétriques ont un avantage distinct en ce qu'elles peuvent permettre une analyse qualitative ou semi-quantitative en ligne, en temps réel, sans aucune instrumentation analytique compliquée.[49]

Récemment, des capteurs colorimétriques hautement sélectifs et sensibles, basés sur des nanoparticules (NP) d'argent et d'or fonctionnalisées, ont suscité un grand intérêt.[50]

En tant que caractéristique fondamentale des processus vitaux, la reconnaissance chirale suscite un intérêt croissant car les deux énantiomères d'un composé chiral ont généralement des activités biologiques différentes, en particulier dans les analyses biomédicales et pharmaceutiques.[51] Actuellement, diverses méthodes ont été développées pour la reconnaissance ou la séparation chirale, telles que comme la chromatographie liquide haute performance chirale (HPLC),[52] l'électrophorèse capillaire (CE),[53] la fluorescence (FL),[54] l'électrochimie,[55] etc.

Cependant, la plupart d'entre eux sont chronophages, coûteux et peu pratiques pour la détection en temps réel. Par conséquent, il est toujours difficile de développer un test plus général, simple et à haut débit pour la reconnaissance et la séparation chirales.

I.8. Conclusion

Le domaine nanométrique est un domaine vaste, dans le premier chapitre, nous avons abordé les différentes méthodes de synthèse et de caractérisation des nanoparticules d'argent. Où nous avons abordé l'origine et les types de nanoparticules, en plus de l'élément argent utilisé dans notre travail pour synthétiser les nanoparticules d'argent, et nous avons également abordé les applications des nanoparticules d'argent.

CHAPITRE II

PARTIE EXPÉRIMENTALE

II.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous décrirons la méthode utilisée ainsi que les différents protocoles expérimentaux que nous avons suivis pour synthétiser les NPsAg, tout en donnant un aperçu des différentes techniques de caractérisation utilisées dans nos travaux.

II.2. Matériels et Méthodes d'élaboration

II.2.1. Méthodologie d'élaboration des nanoparticules d'argent stable

Le processus de formation des nanoparticules en solution est très complexe, de nombreux paramètres étant susceptibles d'intervenir.

La méthode de synthèse de colloïdes d'argent utilisé est la méthode de « Turkevich ». Est une des techniques de synthèse les plus connues des NPsAg, Il est basé sur la réduction de AgNO_3 par le citrate de sodium dans l'eau, qui a été conçu par Turkevich en 1951. Dans cette méthode la solution de AgNO_3 est chauffée jusqu'à ébullition, et le citrate de sodium est ensuite rapidement ajouté dans la solution sous agitation vigoureuse. Après quelques minutes, la couleur de la solution passe du jaune clair au rouge vin. Cette méthode permet l'obtention des NPs d'environ 20 nm. Dans cette technique les ions citrate jouent un double rôle, agent stabilisant et réducteur. Les NPs obtenues par cette méthode sont stables thermiquement avec une taille variante de 1 à 5 nm.

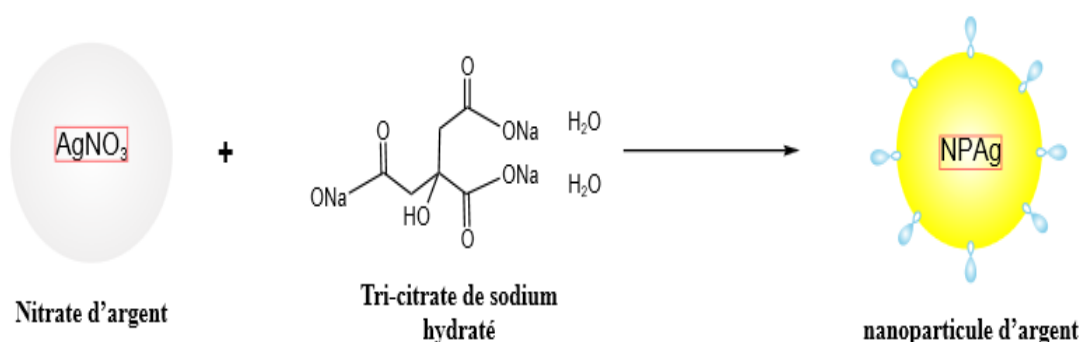


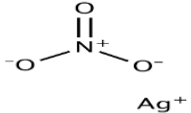
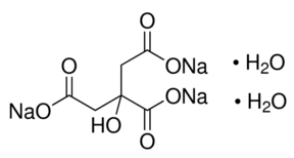
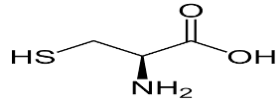
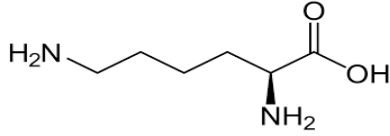
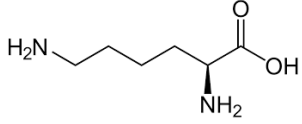
Figure II.1 : Synthèse des NPs Ag par la voie citrate

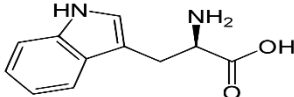
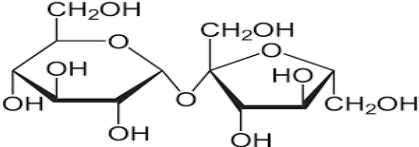
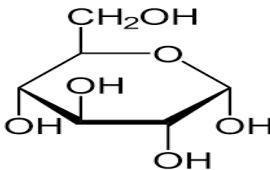
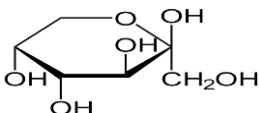
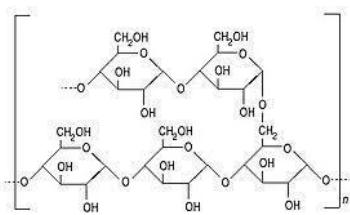
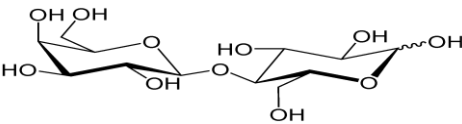
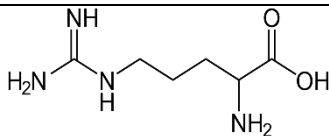
II.2.2. Matériels utilisés

- Ballon de 250 ml
- Réfrigérant
- Epprouvette graduées de 50 ml
- 2 pipettes de 10 ml et 5 ml
- Pissette
- Spatule et pincette
- 2 plaques chauffantes et agitateur magnétique
- 2 barreaux magnétiques
- Tube d'essais
- Balance de précision

II.2.3. Réactifs

Tableau II.1 : Produits chimiques utilisés

Matière	Formule	Masse molaire (g/Mole)	Structure
Nitrate d'argent	AgNO_3	169.87	
Tri-citrate de sodium hydraté	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	294.10	
L-Cystéine	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	163.19	
L-Lysine	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$	146.19	
L-Tyrosine	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	181.19	

L-Tryptophane	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	204.2	
D-Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.3	
D-Glucose	$C_6H_{12}O_6$	180.16	
Fructose	$C_6H_{12}O_6$	180.16	
Amidon	$C_6H_{12}O_6$	180.16	
Lactose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.3	
L-Arginine	$C_6H_{14}N_4O_2$	174.2	

II.3. Protocole expérimental

Les produits utilisés comme précurseurs dans l'expérience sont : le nitrate d'argent $AgNO_3$ comme source d'ions Ag et le citrate de sodium $Na_3C_6H_5O_7$ comme agent réducteur.

II.3.1. Synthèse des nanoparticules bares NPs Ag

Pour une solution aqueuse de $AgNO_3$ de volume 40 ml et une concentration molaire 0.7 mM (5 mg) on l'a chauffé jusqu'à une température de $80^\circ C$, en remuant une solution de 5 ml et de 10^{-2} mM (13 mg) de citrate de sodium a été ajoutée sous agitation vigoureuse. Cette solution est chauffée jusqu'au reflux. On remarque un changement de couleur de la solution vire vers

l'or jaune indiquant la formation des nanoparticules d'argent. La solution obtenue est ensuite refroidie à la température ambiante. La formation des nanoparticules d'argent a également été confirmée par la spectroscopie UV-Vis et FTIR . Toutes les solutions colloïdales d'argent ont été préparées et conservées dans des fioles en verre soigneusement lavées.

Remarque

- Couvre le ballon contre la lumière pendant la réalisation
- Ne laisse pas la solution exposée à la lumière après le refroidissement
- Conservé la solution dans une température 2-8 °C.

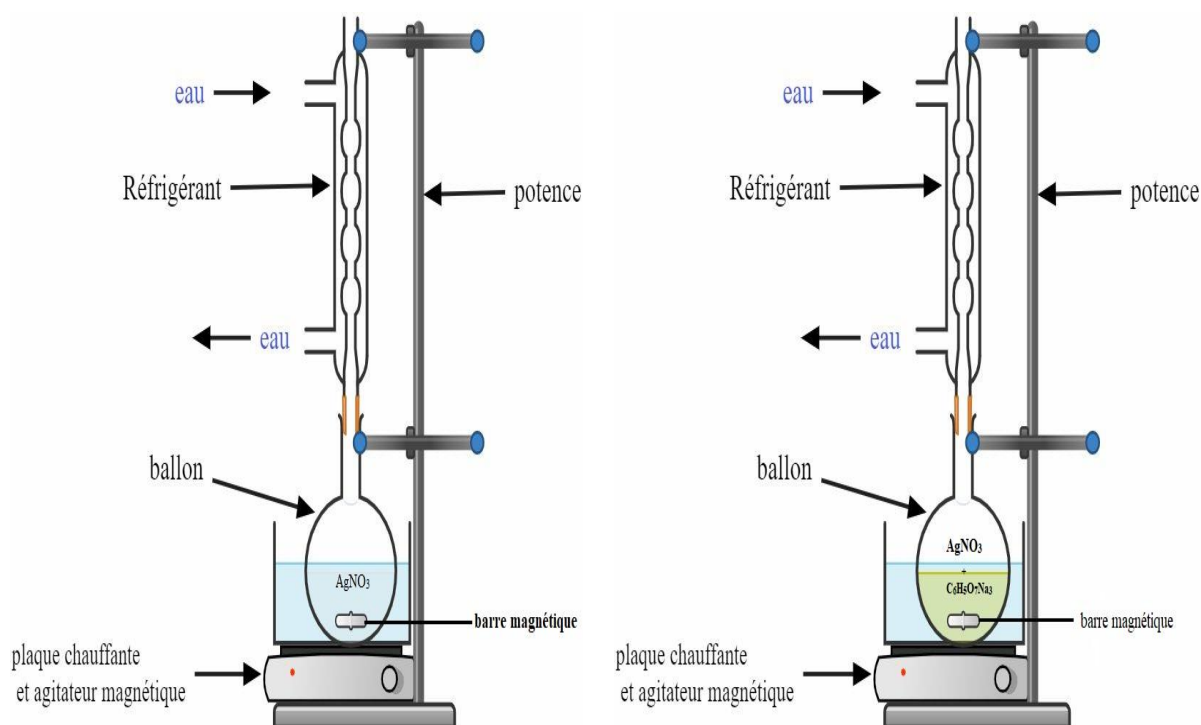


Figure II.2 : Schéma de montage de chauffage à reflux pour la préparation de la solution Colloïdale d'argent par la réduction de sel d'argent par le citrate.

La figure montre le protocole de préparation des colloïdes d'argent par la méthode de réduction par le citrate.

Le mécanisme de réaction peut être exprimé comme suit :



II.3.2. Synthèse des nanoparticules modifiées par L-Cystéine (L-Cys-NPs Ag)

Après la synthèse des nanoparticules d'argent nues, on prépare dans un flacon de 100 ml, 6 mg (10^{-2} M) de l'agent L-Cystéine dissous dans 55 ml de l'eau distillés.

On prend 5 ml de cette solution et ajouter dans 10 ml de la solution colloïdale des NPs Ag obtenue avec une agitation vigoureuse pendant 2h.

Dans cette étude, nous avons aussi utilisé la spectroscopie UV-Vis et la spectroscopie Infrarouge des solutions colloïdale du NPs Ag modifiées et nue pour faire la comparaison.

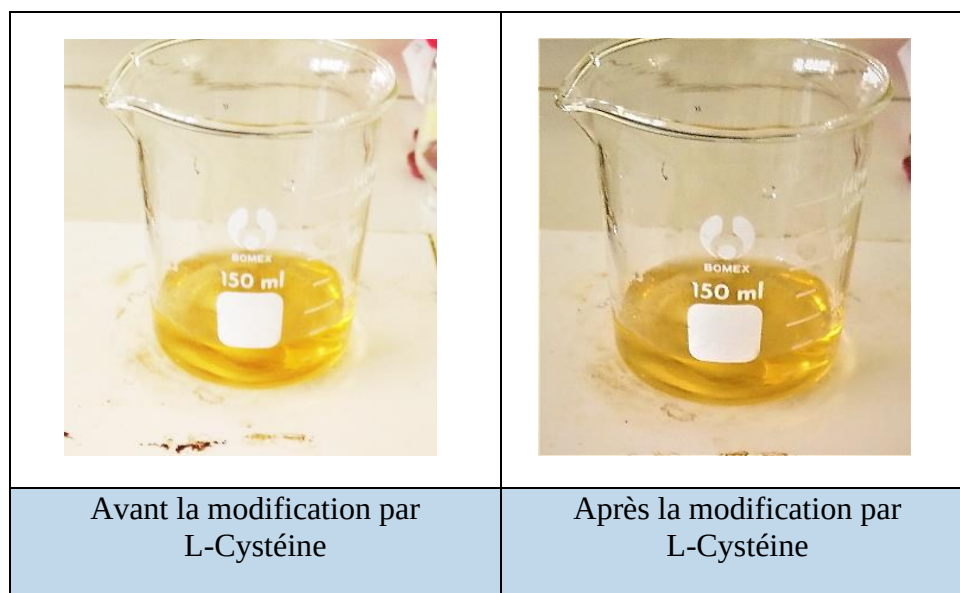


Figure II.3 : Image des NPs Ag avant et après modification par le L-Cystéine

La figure montre le protocole de préparation de NPs Ag modifiée par l'acide amine L-Cystéine.

II.3.3. Techniques de caractérisation

La caractérisation des nanoparticules est importante pour évaluer les caractéristiques des nanoparticules. Elle peut être effectuée en utilisant la spectroscopie infra rouge, la spectroscopie UV-vis. Ces techniques sont utilisées pour déterminer diverses propriétés telles que la taille, la forme, la cristallinité ...etc.

II.3.3.1. Spectroscopie UV-visible

Spectroscopie UV-visible utilisée de modèle : Optizen2120UV, Tension nominale : tension libre, Courant évalué : 1A, Serial Numbers : 2U0101-1408029-05, Compagnie : Ltd / Fabriqué en CORÉE. L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons analysés.

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance (ou densité optique) d'une substance chimique en solution dans le domaine allant de 190 à 800 nm ce qui correspond à l'ultraviolet (190-400 nm) et au visible (400- 800 nm). En utilisant une lumière sensiblement monochromatique. On peut ainsi, par exemple, déterminer la concentration d'une substance en mesurant l'absorption relative de la lumière par rapport à celle d'une substance de concentration connue.

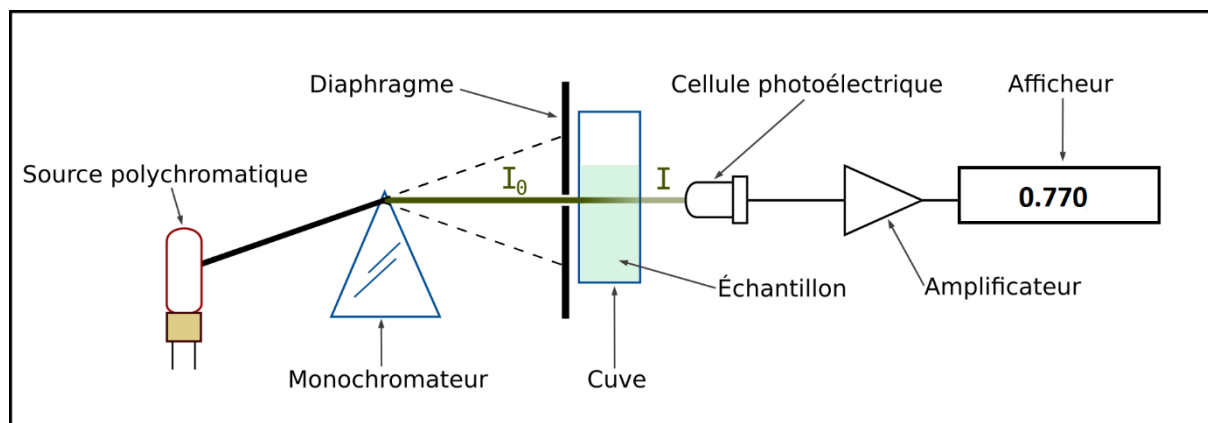


Figure II.4 : Principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Visible

II.3.3.2. Spectroscopie Infra rouge

Nous avons utilisé un spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) de model FT/IR- 4200 disponible au Laboratoire de Recherche. Serial Nombres : C083761018, puissance : 170 VA, Compagnie : Jasco corporation 192-8537 / Fabriqué en JAPON. Il est piloté par un micro-ordinateur, Les spectres sont enregistrés dans l'intervalle 4000 à 400 cm^{-1} à température ambiante.

On qualifie de rayonnement infrarouge (IR), un rayonnement électromagnétique de même nature que la lumière visible. Toutefois ses longueurs d'onde sont trop grandes pour être perceptibles par l'œil humain. Comprises entre 700 nm et 1 mm, elles sont supérieures à celles de la lumière visible et inférieures à celles du domaine submillimétrique (micro-ondes).

L'existence d'un rayonnement infrarouge a été mise en évidence en 1800 par William Herschel, un astronome anglais. Faisant voyager un thermomètre dans le spectre lumineux obtenu par un prisme de verre, il découvrit du côté du rouge, au-delà de la limite de la lumière visible, une chaleur marquée. Car lorsque les rayons infrarouges frappent par exemple la peau, atomes et molécules se mettent en mouvement. Il y a libération d'énergie. Une énergie que nous ressentons comme de la chaleur.

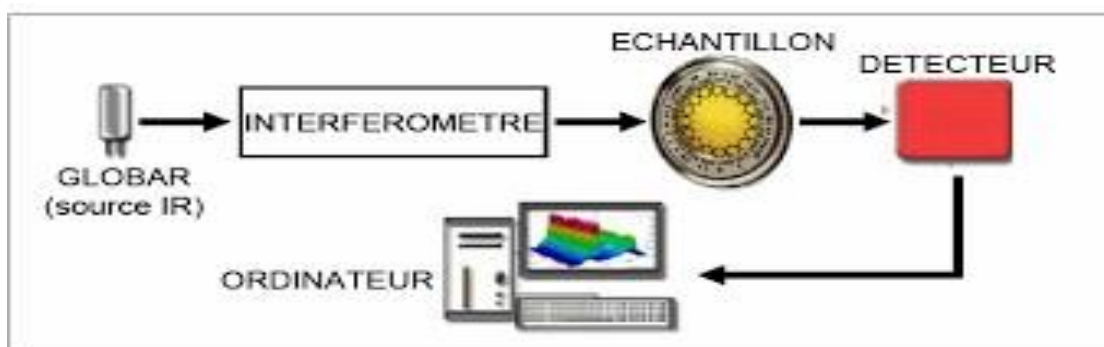


Figure II.5 : Principe de fonctionnement d'une spectroscopie Infra rouge

II.3.3.3. Microscopie électronique a transmission

Le microscope électronique en transmission (MET ou TEM en anglais) utilise un faisceau d'électron à haute tension, émis par un canon à électrons. Des lentilles électromagnétiques sont utilisées pour focaliser le faisceau d'électrons sur l'échantillon. En traversant l'échantillon et les atomes qui le constituent, le faisceau d'électrons produit différentes sortes de rayonnements. En général, seuls les électrons transmis sont alors analysés par le détecteur, qui traduit le signal en image contrastée.

Les échantillons doivent être préparés selon un protocole précis, qui doit à la fois conserver sa structure et être conducteur pour laisser passer le faisceau d'électrons. Des coupes très fines de l'échantillon sont réalisées à l'ultramicrotome (de 60 à 100 nanomètres). Des colorations aux métaux lourds sont également possibles pour augmenter les contrastes de structures particulières des échantillons, préalablement placées sur des grilles d'observation.

La morphologie de nouvelles nanoparticules synthétisées a été caractérisée par microscopie électronique transmission (MET) de type JEOJEM 2010 fonctionnant à 200 KV. Les mesures du nano-détecteur ZetaSize ont été effectuées sur un instrument Zetasizer Nano-ZS90 .

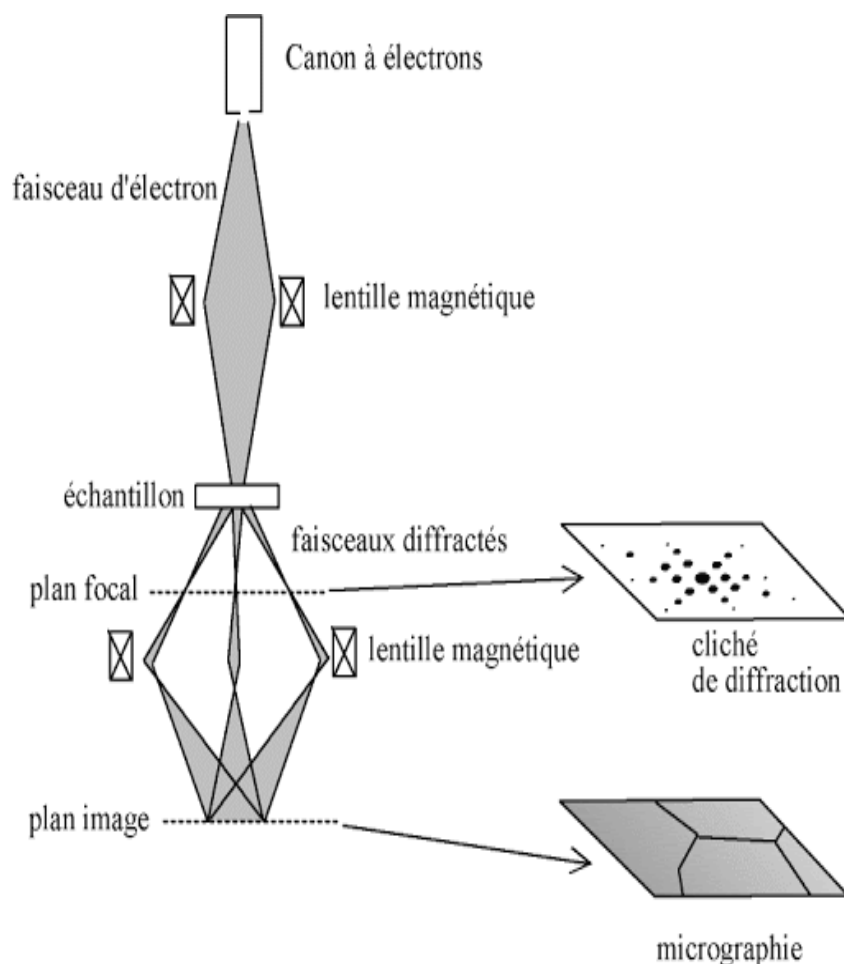


Figure II.6 : Principe de fonctionnement d'une microscopie électronique en transmission

II .4. Stabilisation des nanoparticules d'argent modifiées par L-Cystéine

II.4.1 Détection sélective (le test colorimétrique)

Dans cette partie, nous préparons un ensemble de solutions en utilisant les composés (acides aminés et sucres) mentionnés dans le tableau II.1, où nous prenons une quantité de concentration 10^{-2} et la dissolvons dans 3 ml d'eau distillée pour obtenir les solutions par lesquelles nous effectuons une détection sélective.

On ajoute **1.5 ml** de la solution des NPs Ag dans un petit flacon, puis nous ajoutons **0.5 ml** de diverses solutions dans chaque flacon et après **5 min** les solutions ont été testées.

II.5. Logiciels utilisés

II.5.1. Origin v 9.9

Origin est un logiciel de traitement et d'analyse de données scientifiques pour environnement Microsoft Windows développé par OriginLab.

Il permet notamment de tracer des graphes 2D et 3D et possède des fonctions d'analyse de pics. Il est aussi capable d'importer des fichiers de divers formats tels que Excel, ASCII, Mathematica ou SigmaPlot (en), et d'exporter les graphes en format JPEG, GIF, TIFF etc. Une version avancée, OriginPro, offre quelques fonctionnalités en plus.

II.5.2. KingDraw

KingDraw App est un éditeur de dessin chimique gratuit qui permet aux utilisateurs d'esquisser des molécules et des réactions ainsi que des objets et des voies de chimie organique. Les utilisateurs peuvent également l'utiliser pour prédire la propriété composée. Convertir les structures chimiques en noms IUPAC, visualiser les structures 3D, etc.

II.6. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons discuté les méthodes de synthèses des nanoparticules et nous avons présentés la méthode chimique de synthèse en milieu aqueux utilisée pour l'élaboration des nanoparticules d'argent (Ag) ainsi que les produits chimiques utilisés. Nous avons également parlé des techniques de caractérisation utilisés dans notre travail, Spectroscopie UV-visible et Le microscope électronique en transmission (MET ou TEM en anglais) et diffraction des rayons X (DRX) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) .

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons présenter et discuter les résultats d'élaboration et de fonctionnalisation des nanoparticules d'argent et leurs caractérisations par spectrophotométrie UV-Vis et FT-IR. La première technique a été utilisée pour mesurer l'absorption caractéristique des colloïdes préparés, tandis que la seconde technique a été utilisée pour assurer la formation des NPsAg et déterminer les différents types de liaisons présentes dans les nanoparticules d'argents synthétisées.

III.2. Analyse par spectrophotométrie UV-visible

L'attribut unique des nanoparticules d'argent est leur capacité à absorber la lumière dans la plage visible du spectre. Cette bande d'absorption particulière, communément appelée " bande plasmons", permet d'identifier les qualités de la nanoparticule. Plus précisément, la largeur et le placement de la bande donnent un aperçu de la dispersion et de l'ampleur des nanoparticules.

La bande d'absorption des nanoparticules d'argent nues est détectée à environ 435 nm, tandis que les NPsAg modifiées par la L-cystéine présentent une bande d'absorption à environ 445 nm, qui se produit en raison de l'excitation du plasmon causée par la lumière incidente. Les spectres d'absorption des deux solutions préparées à l'aide des procédures décrites dans le deuxième chapitre sont illustrés dans la figure III.1.

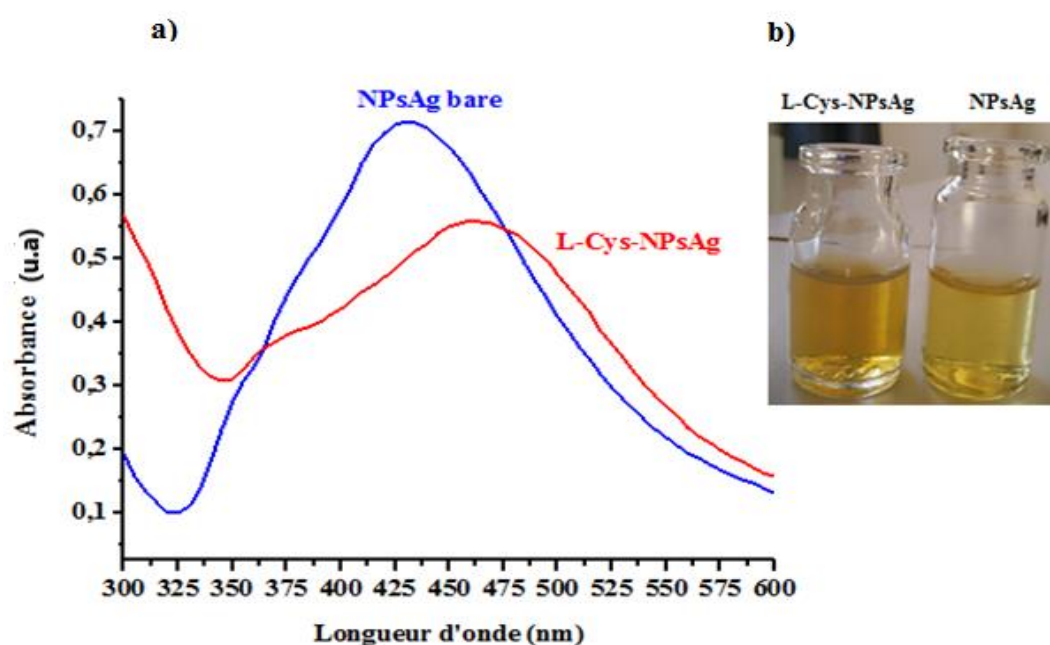


Figure III.1 : (a) les spectres UV-Vis des solutions NPsAg bares et L-Cys-NPsAg et (b) Images photographiques des NPsAg avant et après modification par L-Cystéine.

D'après le spectre d'adsorption des nanoparticules d'argents fonctionnalisées par l'acide aminé, il existe un pic maximum et singulier, qui est dû à l'excitation résonnante des oscillations plasmoniques, appelée résonance plasmonique de surface. Cependant, par rapport à la résonance plasmonique de surface des NPs Ag bares de même taille, le spectre des NPs-Ag-L Cys augmente de plus de 10 nm. Ce déplacement du spectre est une transition bien connue qui indique une interaction entre les nanoparticules d'argent et l'acide aminé L-cystéine. Cette interaction se traduit par une modification de la surface plasmonique des nanoparticules d'argent due à l'augmentation de l'indice optique du milieu environnant.

III.3. Analyse par spectrophotométrie Infrarouge

L'utilisation de la spectrométrie infrarouge confirme l'interaction entre l'argent et l'acide aminé L-cystéine. Pour identifier la réaction transpirante entre les nanoparticules d'argent et la L-Cystéine, il faut noter le déplacement des bandes uniques attribuées aux différents groupes fonctionnels présents dans les deux réactifs. Ces groupes fonctionnels sont les groupes carbonyle et sulfhydryle-SH, qui à leur tour créent un thiol et une amine.

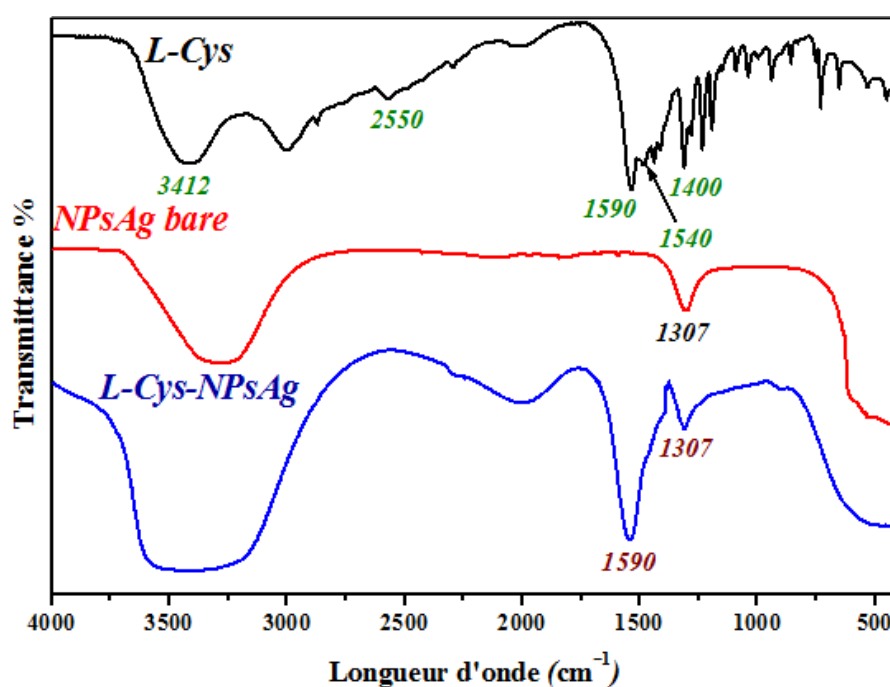


Figure III.2 : Les spectres infrarouge des solutions L-Cystéine, NPs Ag et L-Cys-NPs Ag.

La figure III.2 présente les spectres typiques de la L-cystéine, du NPsAg et du NPsAg modifiées par la L-cystéine par analyse FT-IR. Le spectre de Fourier de L-Cys, comme la montre la Figure III.2, est défini par l'allongement de l'asymétrique et du symétrique (COO) à 1590 cm^{-1} et 1400 cm^{-1} , respectivement, ainsi que par une vibration de flexion (-NH) à 1540 cm^{-1} .

¹. Une bande de groupe très large est observée dans la gamme 3000-3500 cm^{-1} , ce qui correspond aux tronçons (-NH₃) et (-CH). De plus, une bande subtile proche de 2550 cm^{-1} est attribuée au groupe (-SH) de la molécule de cystéine. Le spectre L Cys-NPsAg Fourier affiche des bandes vibrationnelles presque identiques.

III.4. Mécanisme schématique des nanoparticules d'argent fonctionnalisées par L-Cystéine

Des études ont montré que l'argent ionique et les nanoparticules d'argent (NPsAg) possèdent une attraction significative pour les composés soufrés inorganiques et organiques. Il a été constaté que les NPs Ag interagissent avec les acides aminés soufrés comme la cystéine via le groupe thiol de la molécule. De plus, certaines recherches ont suggéré que les protéines pouvaient également être liées aux NPsAg via leurs groupes thiol. Le groupe acide cystéine chiral peut se connecter à la particule d'argent par des liaisons hydrogène et servir d'unité de liaison. Cette configuration peut améliorer la stabilité du complexe.

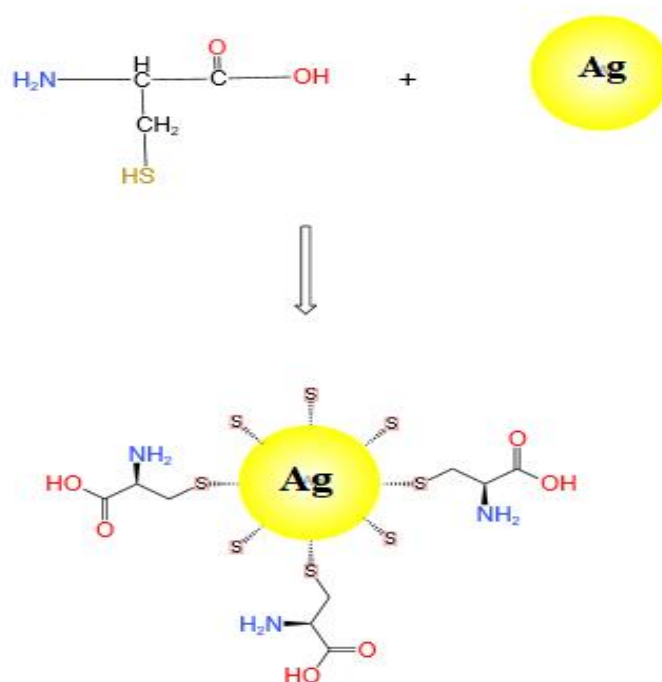


Figure III.3 : Schématisation du mécanisme de la modification des NPs Ag par L- Cystéine.

III.5. La taille et la dimension des nanoparticules L-Cys-NPs Ag

Le microscope électronique à transmission JEOL-JEM 2010, qui fonctionne à 200 kV, a été utilisé pour capturer des nanoparticules d'argents synthétisées. L'image MET affichée sur la figure III.4 montre que les NPsAg, qui avaient été modifiées par la L-cystéine, étaient uniformément répartis dans toute la solution. Cette observation confirme que l'acide aminé L-cystéine a été greffé avec succès sur la surface des NPsAg, résultant en un degré exceptionnel de monodispersité, et les particules étaient toutes de taille uniforme, mesurant 9,0 nm.

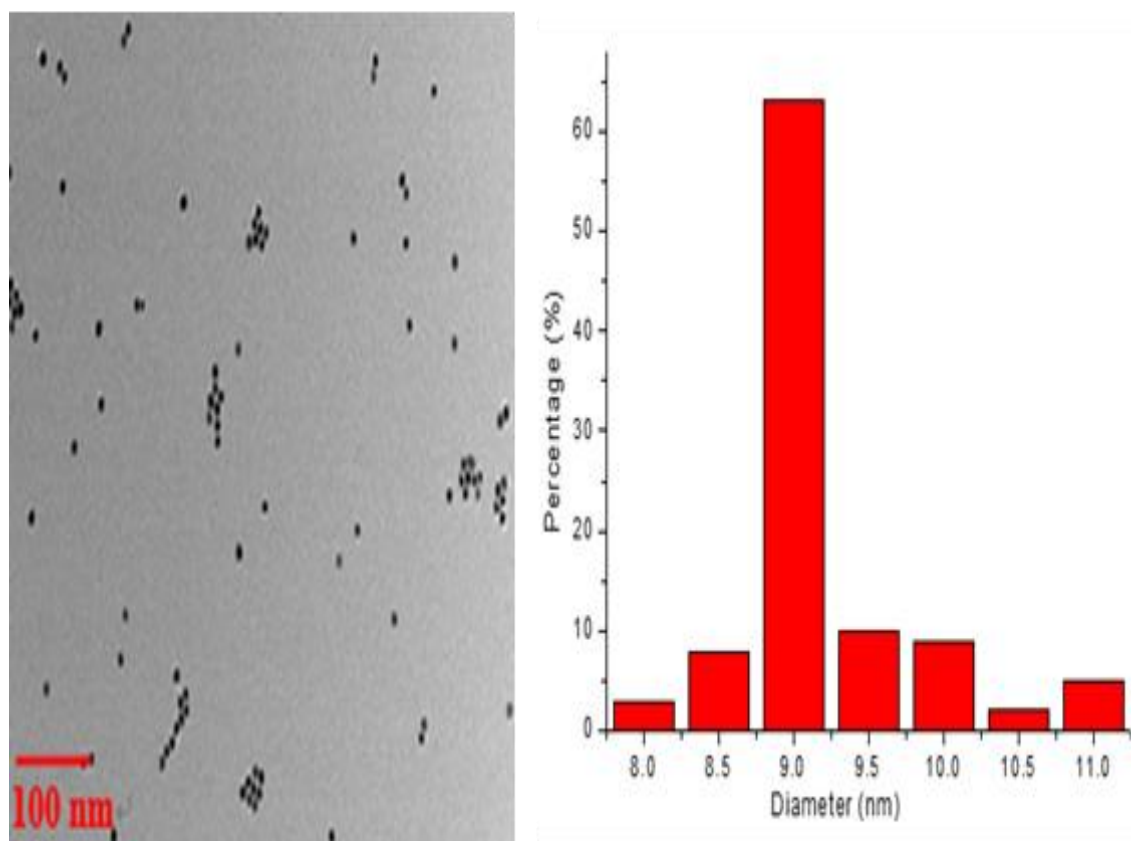


Figure III.4 : Image de MET des L-Cys-AgNPs synthétisées et la distribution granulométrique des L-Cys-NPs Ag

III.6. Stabilité des nanoparticules synthétisées L-Cys- NPs Ag

La stabilité des L-Cys- NPs Ag par rapport au temps a été démontrée dans la figure III.5

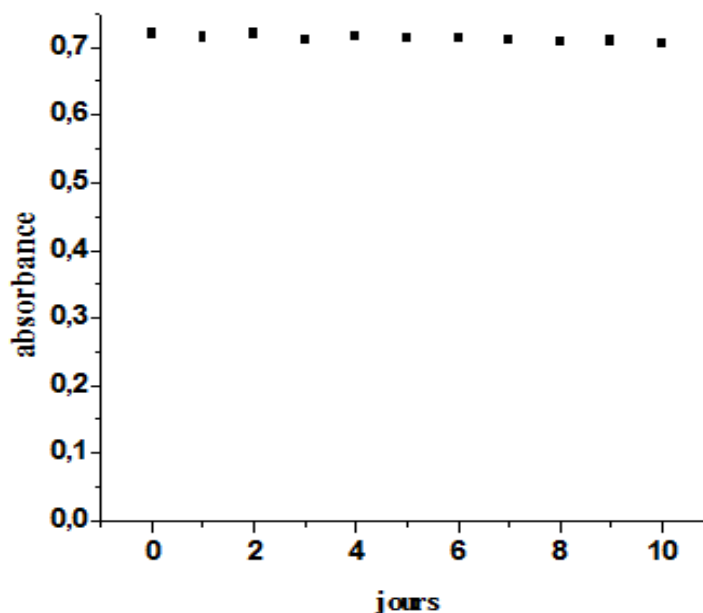


Figure III.5 : La stabilité des L-Cys-NPsAg. Les spectres d'absorption UV-Vis des L-Cys - NPsAg enregistrés à différents moments.

La figure montre la spectroscopie d'absorbance UV-Vis des nanoparticules d'argent modifiées en surface par L-Cystéine enregistrées à différents moments. Pour les L-Cys-AgNPs, il n'y a pas eu de changement évident dans la forme, la position et la symétrie du pic d'absorption UV-Vis pendant les 10 premiers jours. En outre, il n'y avait pas de changement de couleur visible au cours de la période de 10 jours.

Le résultat indique que les L-Cys-NPsAg sont relativement stables à une température ambiante sans protection particulière.

L'effet du pH des capteurs L-Cys-NPsAg est représenté dans la figure III.6. La méthode appliquée et basée sur l'ajout d'une solution acide de HCl dans la solution des nanoparticules d'argent modifiées en surface par L-Cystéine pour étalonner le milieu acide et aussi par l'utilisation d'une solution de NaOH pour étalonner le milieu basique. Puis on mesure l'absorbance des solutions obtenues. La concentration des solutions HCl et NaOH utilisées est de 10^{-3}M .

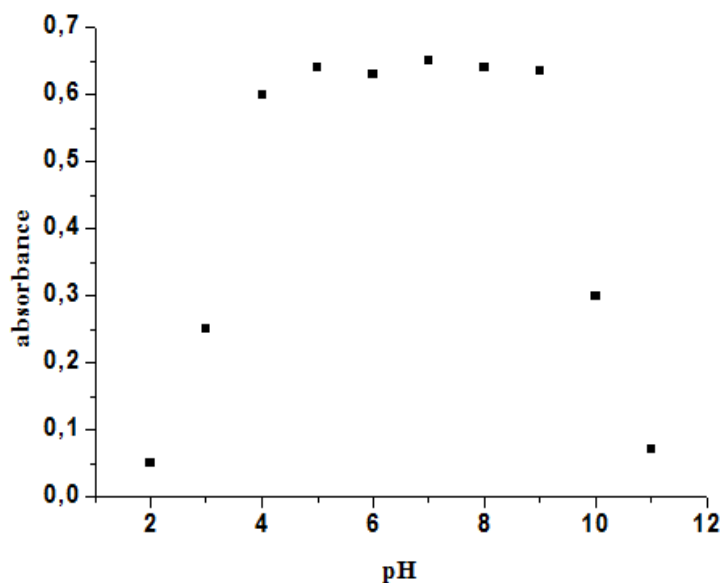


Figure III.6 : L'effet du pH sur les spectres d'absorption UV-vis des L-Cys -NPsAg

D'après le graphique, nous pouvons constater que les L-Cys-NPsAg nouvellement synthétisées sont extrêmement stables dans l'intervalle de 4,0- 9,0. Cette stabilité pourrait être imputée à la présence de citrate de sodium dans NPsAg qui joue à la fois le rôle du réducteur chimique ainsi qu'un stabilisateur. Le résultat indique que les L-Cys-NPsAg affichent une excellente stabilité dans le milieu neutre.

III.7. La détection colorimétrique

III.7.1. Les spectres UV-visible de la détection colorimétrique

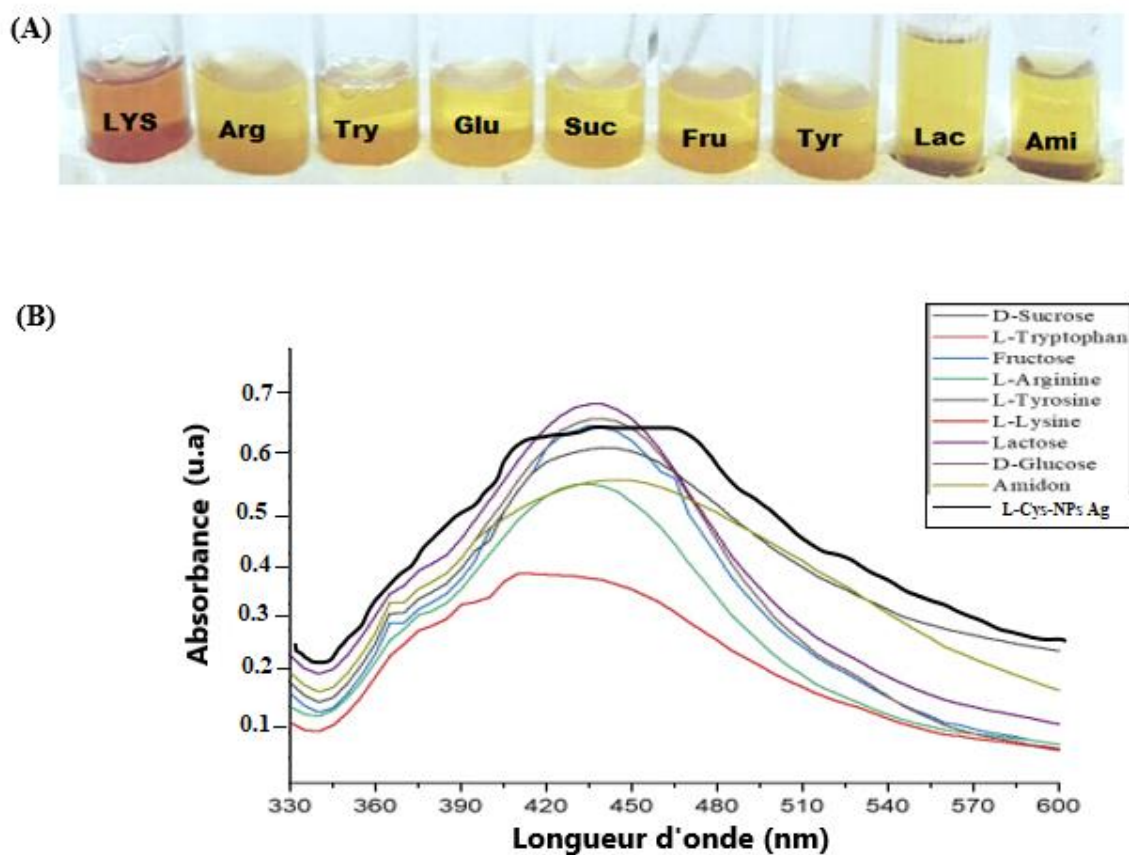


Figure III.7: (A) les images photographiques et (B) les spectres UV-Vis de la solution L-Cys-NPsAg en présence de 10 mM des différentes solutions préparées respectivement.

La figure III.7 (A) montre un changement de couleur sur le flacon contenant l'acide aminé chiral L-lysine. Le changement de couleur du jaune au rouge brique est évident après l'ajout de la solution de L-lysine, ce qui ne prend que cinq minutes. De plus, une variation est observée dans le spectre de la L-lysine par rapport à la solution témoin (L-Cys-NPs Ag), tandis que les autres spectres restent stables, comme le montre la Figure III.7 (B). Ce changement correspond à une diminution significative de l'intensité d'absorption et à un déplacement de la longueur d'onde de 450 à 420 nm. Cela signifie qu'un rapport élevé était associé à des particules dispersées, ce qui entraînait une couleur jaune, tandis qu'un rapport faible était associé à des particules agrégées, ce qui entraînait une couleur rouge brique.

III.7.2. Mécanisme schématisé de la détection colorimétrique de L-Lysine

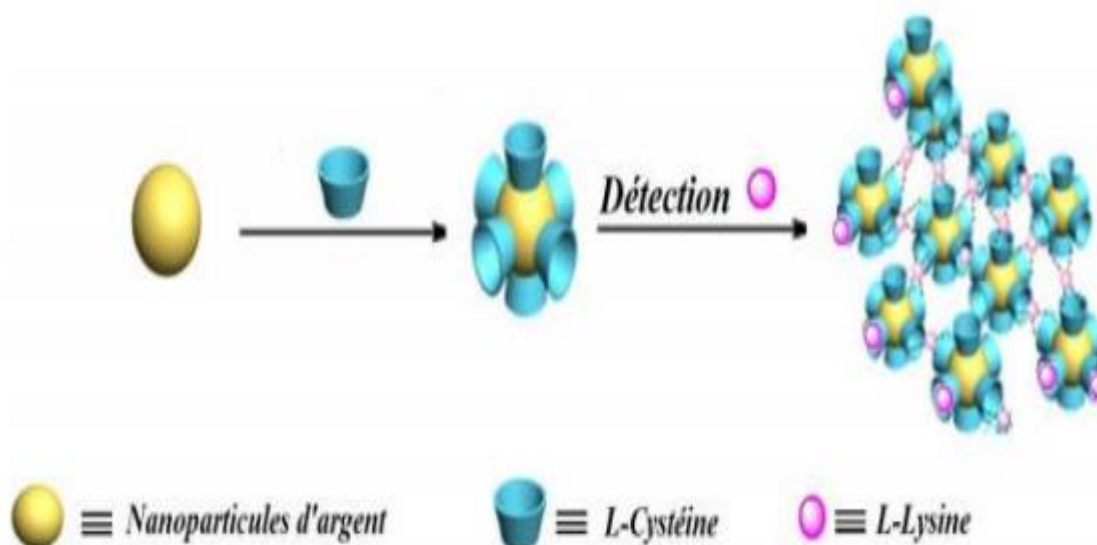


Figure III.8 : Mécanisme possible illustratif le principe d'auto-assemblage des L-Cys-NPsAg lors de l'ajout de L-Lysine.

Dans le système représenté sur la figure III.8, les nanoparticules d'argent modifiées par la L-cystéine (L-Cys-NPs Ag) présentent une sensibilité remarquable à la présence de L-lysine, provoquant une augmentation significative de la taille et de l'aggrégation des particules.

III.7.3. MET images des solutions colloïdales L-Cys-NPs Ag avant et après la détection de L-Lysine

À l'échelle nanométrique, la microscopie électronique à transmission (MET) est un instrument essentiel pour l'examen des matériaux. Pour justifier le changement de couleur et d'absorption UV-Vis, nous avons analysé l'image MET avant et après l'inclusion de L-Lysine. Dans l'illustration ci-dessous, la structure des nanoparticules d'argent modifiées par la L-cystéine est représentée avant et après la détection de L-lysine est testée par l'utilisation de la microscopie électronique à transmission (MET).

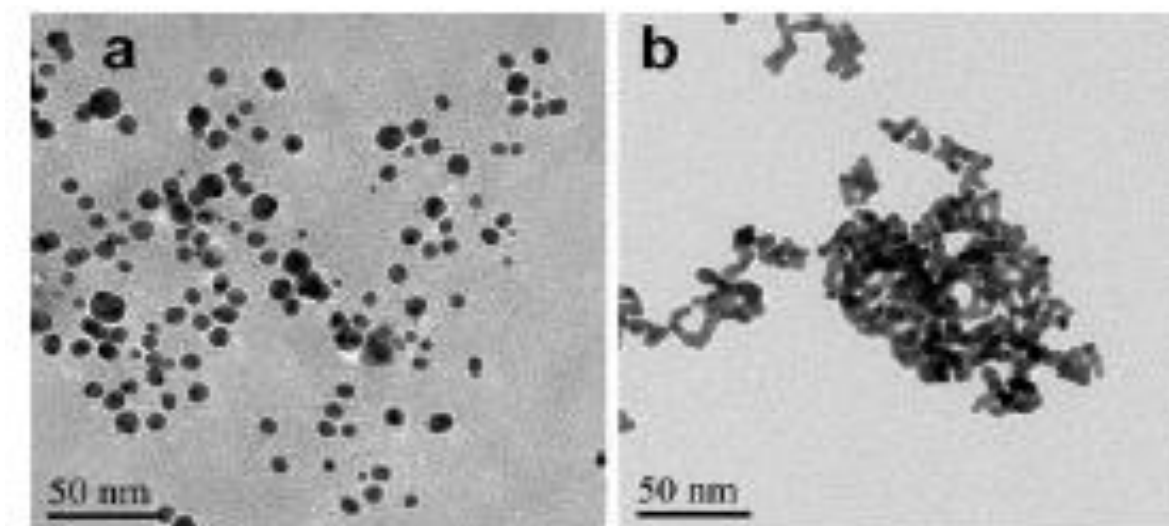


Figure III.9 : Images MET des solutions L-Cys-NPs Ag avant et après la détection de L-Lysine avec barres d'échelle de 100 nm.

Dans la solution aqueuse illustrée dans la figure III.9 (A), les particules ont été uniformément dispersées avant l'ajout de la L-lysine. Cependant, lors de l'ajout de L-Lysine, la taille des particules a augmenté et devenue fortement agrégée. Cette agrégation a fait passer la couleur du jaune au rouge brique, ce qui indique l'interaction entre les particules à l'état agrégé. Sur la base des spectres d'absorption UV-Vis et des images MET, on peut conclure que les NPs Ag qui ont été altérées par la L-cystéine ont montré une réaction distincte à la L-lysine.

III.7.4. La sensibilité et la limite de détection de L-Lysine

La sensibilité de la visualisation colorimétrique directe de la L-Lysine a été évaluée en effectuant un test simple, et les résultats sont démontrés dans la Figure III.10. Afin de déterminer la concentration minimale d'une solution aqueuse de lysine pouvant être détectée par un changement de couleur, un volume de 1,5 ml de L-Cys-NPsAg a été utilisé. Par la suite, nous avons créé différentes concentrations de L-Lysine, allant de 10^{-2} M jusqu'à 10^{-7} M, et introduit 0,5 ml de chaque solution dans des flacons séparés. Après avoir laissé pendant 5 minutes, nous avons effectué des analyses par spectroscopie UV-Vis des solutions.

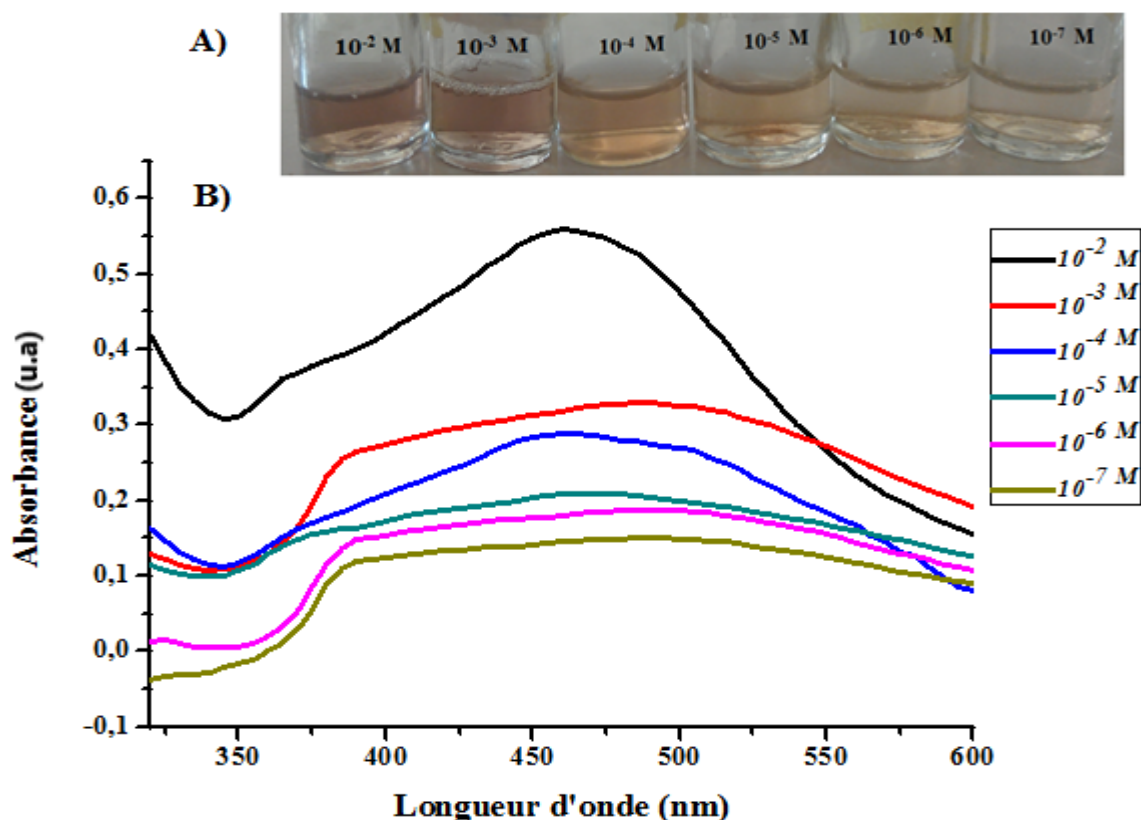


Figure III.10 :(A) Le changement de couleur de la solution L-Cys-NPsAg après l'ajout des différentes concentrations de L-Lysine (de 10^{-2} M à 10^{-7} M) et (B) les spectres UV-vis des différentes concentrations de L-Lysine (de 10^{-2} M à 10^{-7} M)

Lors de l'ajout de L-Lysine à la solution colloïdale des nanoparticules d'argent synthétisées par la L-Cystéine à température ambiante, une altération notable de la couleur se produit, comme le témoigne la figure III.10 (A). Plus précisément, lorsque la concentration de L-Lysine est augmentée de 10^{-2} M à 10^{-7} M, un changement de couleur de la solution de L-Lys-L-Cys-NPs Ag est observé. La figure III.10 (B) présente les spectres UV-Vis des différentes concentrations de L-Lysine (allant de 10^{-2} M à 10^{-7} M) dans une solution colloïdale de nanoparticules d'argent synthétisées par la L-Cystéine à température ambiante. Cet ajout de L-Lysine entraîne une augmentation de la taille des amas d'argent, entraînant de gros agrégats et une différence d'absorption UV-Vis, qui explique également les changements de couleur observés. Après examiner les spectres, on constate qu'il existe une large bande située à environ 470 nm. Cette bande affiche une diminution d'intensité par rapport aux colloïdes isolés en solution, comme le montre le spectre de la solution témoin de L-Cys-NPs Ag. De plus, il est possible que la courbe se stabilise dans le cas où la concentration de L-lysine dépasse 10^{-7} M. Sur cette base, on peut conclure que la limite de détection de la L-lysine par la méthode colorimétrique est de 10^{-7} M.

III.8. Conclusion

En utilisant la technique de caractérisation UV-Vis pour obtenir les spectres d'absorption optique, il a été révélé que les nanoparticules d'argent présentent une forte absorption dans le visible. La bande d'absorption maximale, observée à 435 nm et 445 nm respectivement pour les colloïdes nus et modifiés.

Les nanoparticules d'argent qui ont été modifiées par la L-cystéine se sont avérées incroyablement stables pendant une période allant jusqu'à 10 jours. Ces nanoparticules modifiées ont une plage de stabilité extraordinaire limitée entre 0,4 et 0,9. En utilisant la microscopie électronique à transmission MET, on a pu créer des nanoparticules d'argent modifiées par la cystéine avec une forme unique, ce qui permet la détection sélective de la L-lysine. En utilisant la détection colorimétrique optique, le NPsAg modifiées avec de la L-cystéine a pu être généré. Cette modification peut permettre aux nanoparticules de différencier les acides aminés chiraux avec une limite de 10^{-7} M. Les spectres d'absorption UV-Vis ont subi une altération notable, faisant passer la couleur de la solution du jaune au rouge en raison de l'accumulation de NPsAg induite par la L-Lysine.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce mémoire porte principalement sur la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'argent. L'intention est d'explorer l'impact de divers paramètres de synthèse sur la taille et la distribution des nanoparticules. Pour mener cette recherche, la spectrophotométrie UV-Visible, l'infrarouge et la microscopie électronique à transmission seront utilisées pour l'analyse. Pour créer des nanoparticules d'argent, des nitrates d'argent ont été utilisés comme précurseur, tandis que des citrates de sodium ont été utilisés comme agent réducteur ou stabilisant.

En utilisant un spectrophotomètre UV-Vis pour obtenir des spectres d'absorption optique, il a été révélé que les nanoparticules d'argent présentent une absorption puissante dans le domaine visible. Les maximums de la bande d'absorbance, qui ont été observés à 435 nm et 445 nm pour les colloïdes nus et modifiés respectivement. L'interaction entre l'argent et la L-cystéine a été confirmée par spectroscopie infrarouge FT-IR, qui a détecté une forte bande de liaison du groupe (-SH) de la molécule de cystéine à environ 2550 cm^{-1} . Fait intéressant, la bande de (-SH) n'a pas été observée dans ce spectre, indiquant une liaison covalente forte qui n'était pas présente dans le spectre de L Cys NPs-Ag et confirmant l'existence d'une liaison covalente forte (Ag-S).

Les nanoparticules d'argent modifiées par la L-cystéine démontrent une stabilité remarquable jusqu'à 10 jours et présentent une plage de stabilité exceptionnelle entre 0,4 et 0,9. L'utilisation du microscope électronique à transmission MET a permis la création de nanoparticules d'argent modifiées par la L-cystéine avec une morphologie qui comprend un agrégat de grande taille, permettant la détection sélective de la L-lysine. En utilisant la détection colorimétrique visuelle, nous avons pu créer des NPsAg modifiées par L-cystéine. Ces NPsAg possédaient la capacité de distinguer l'acide aminé chiral L-Lysine avec une limite de détection de 10^{-7}M . Les spectres d'absorption UV-Vis ont subi un changement apparent et la couleur de la solution est passée du jaune au rouge en raison de l'agrégation des Ag NPs induite par la L-Lysine. Cette expérience confirme que la limite de détection de la L-Lysine est bien atteignable. Le procédé mentionné ci-dessus rend la détection du dérivé chiral d'acide aminé lysine beaucoup plus facile que les analyses instrumentales conventionnelles.

عنوان المذكرة: توليف وتوصيف جسيمات الفضة النانوية التي ينتجها السيستين للكشف عن الجزيئات الحيوية

المؤطر: بوضوار إيمان

الاسم: مسعود

اللقب: بن مويزة

طبيب

زاوي

ملخص: في مختلف المجالات العلمية والتكنولوجية مثل البيولوجيا والطب، تلعب جزيئات الفضة ومقاييس النانومتر دورًا مهمًا نظرًا لتصنيفها كجزيئات فردية تتراوح من 1 إلى 50 نانومتر، والتي تعرفها على أنها جزيئات نانوية. كان تطوير مستشعر قياس لوني حساس للغاية وبسيط لتحديد إل-ليسين هو محور هذا البحث. تم تزيين الجسيمات النانوية الفضية بالحمض الأميني السيستين. عند التعرض لليسين، تتضخم مجاميع الجسيمات النانوية الفضية، وتغير لون المحلول وتظهر الاختلافات في امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية. الجانب الأكثر جاذبية لهذه الطريقة الجديدة مقارنة بالتقنيات البصرية الأخرى هو الانتقائية العالية والحساسية. تم تحديد الحد الأدنى للكشف عن إل-ليسين عند 10^{-7} مول. **كلمات مفتاحية:** الجسيمات الفضة النانوية، سترات الصوديوم، السيستين، الليزين، لكشف اللوني

Dissertation title: Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles produced by L-Cysteine for the biomolecules detection

**Name: BENMOUIZA
ZAOU**

**First name: Messaoud
Tayeb**

Directed by: BOUSSOUAR Imene

Abstract: In various scientific and technological fields like biology and medicine, silver particles and nanometer scale play an important role due to their classification as individual molecules ranging from 1 to 50 nm, which defines them as nanoparticles.

The development of a very sensitive and simple colorimetric sensor for the identification of L-Lysine was the focus of this research. The silver nanoparticles have been adorned with the amino acid L-Cysteine. Upon exposure to L-Lysine, aggregates of Ag NPs enlarged, changing the color of the solution and exhibiting differences in UV-Vis absorption. The most attractive aspect of this new method compared to other optical techniques is the high selectivity and sensitivity. The minimum detection limit of L-Lysine has been established at 10^{-7} M.

Key words: Silver Nanoparticles, Sodium Citrate, L-Cysteine, L-Lysine, Colorimetric detection

Titre du mémoire : Synthèse et Caractérisation des Nanoparticules d'Argent élaborées par L-Cystéine pour la détection des biomolécules

**Nom : BENMOUIZA
ZAOU**

**Prénom : Messaoud
Tayeb**

Encadreur : BOUSSOUAR Imène

Résumé : Dans divers domaines scientifiques et technologiques comme la biologie et la médecine, les particules d'argent et l'échelle nanométrique jouent un rôle important en raison de leur classification en tant que molécules individuelles allant de 1 à 50 nm, ce qui les définit comme des nanoparticules.

Le développement d'un capteur colorimétrique très sensible et simple pour l'identification de la L-Lysine était au centre de cette recherche. Les nanoparticules d'argent ont été ornées d'acide aminé L-Cystéine. Lors de l'exposition à la L-Lysine, les agrégats de NPs Ag se sont agrandis, modifiant la couleur de la solution et présentant des différences d'absorption UV-Vis. L'aspect le plus attrayant de cette nouvelle méthode par rapport à d'autres techniques optiques est la sélectivité et la sensibilité élevées. La limite minimale de détection de la L-Lysine a été établie à 10^{-7} M.

Mots clés : Nanoparticules d'argent, Citrate de sodium, L-Cystéine, L-Lysine, Détection colorimétrique