

# UE LABEL VERT

- Label vert: La larve mangeuse de plastique
- Synthèse de nanoparticules d'argent à partir de peaux de fruits (gr 5)

# Label vert: La larve mangeuse de plastique

**Nom :** LE TOQUIN Juliette, SOUFIANI Noha, BOUATIR Fatima Ezzahraa, FERNANDES PEREIRA Alizée

**Projet :** La larve *Galleria Mellonella* mangeuse de plastique (PS/PEBD)

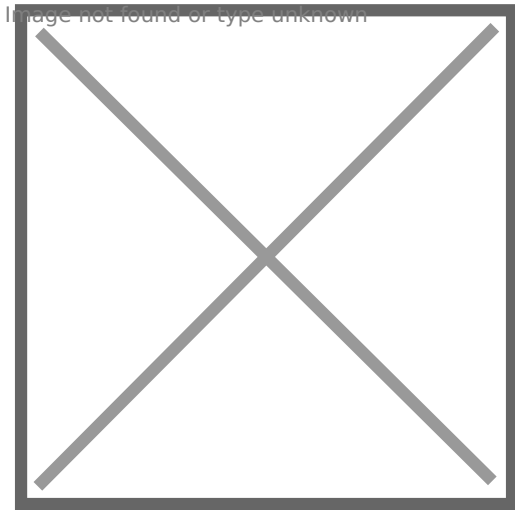
**Cadre:** UE Label Vert 2 (2022/2023)

## Introduction:

Le plastique est une matière qui pollue énormément et elle se retrouve bien trop souvent dans l'environnement. Le problème qui se pose est la dégradation totale ou partielle du plastique. On souhaite donc au travers de notre projet présenter une nouvelle méthode de dégradation du plastique qui est encore en cours de développement. En effet, des recherches récentes ont essayé de déterminer la capacité de certaines larves à dégrader le plastique.

**Objectif :** Notre projet a pour but d'étudier l'efficacité de l'une des larves étudiées, la larve *Galleria Mellonella*, à dégrader le plastique et de pouvoir comparer les différents résultats. Dans notre cas, nous prendrons deux types de plastiques différents: du polyéthylène basse densité (PEBD) et du polystyrène (PS). En effet, nous cherchons donc à mettre en confrontation nos différentes expériences.

- Etude bibliographique et documentation
- Création d'un poster
- Expérience au Fablab (Biologie-Chimie et Prototypage)



*Galleria mellonella* (Gm) est une espèce de Lepidoptera dans la famille Pyralidae. Nommée teigne de ruche, c'est une larve que l'on utilise principalement pour la pêche. Son cycle de développement varie de 4 semaines à 6 mois selon les conditions et comprend 4 phases (œuf, larve, nymphe et adulte). C'est dans les alentours de mars qu'elle se développe et atteint son pic autour d'août. Dans le cadre de ce projet, nous allons nous intéresser seulement à son stade de larve.

## Expérimentation/Manipulation:

### I/ Protocole expérimental: Préparation des tests + témoin

#### **Fablab prototypage :**

1. Broyer les bouteilles en PEBD

#### **Fablab de biologie/chimie:**

2. Nettoyer les béchers/erlenmeyers/cristallisoirs à l'éthanol
3. Faire des copeaux de cire d'abeille à l'aide d'un économe/scalpel
4. Émietter le PS en petits morceaux
5. Avant toutes préparations, peser les récipients, le PEBD, le PS, les copeaux de cire, et les larves à l'aide d'une balance de pesée
6. Mises en places des tests/témoins\* :

- Témoin: Bécher de 500 ml + 10.85 g de cire + 43 larves Gm (18.855 g)

- Test 1: Bécher de 250 ml (90,5968g) + 10.85 g de cire + 34 larves Gm (15.9 g) + 0.7 g de PS
- Test 2: Bécher de 250 ml (118,57g) + 10.85 g de cire + 36 larves Gm (15.5419 g) + 10.8 g de PEBD (broyé)
- Test 3: Erlenmeyer de 250 ml (134,4g) + 36 larves Gm (16.05g) + 17.15 g de PEBD (broyé)
- Test 4: Erlenmeyer de 250 ml (134,6g) + 44 larves Gm (20,27g) + 1 g de PS
- Test 5: Cristallisoir de 795 g + 29 larves Gm (14.6296 g) + 2,6301 g de PEBD (film alimentaire). Le cristallisoir est recouvert par son couvercle en verre.
- Test 6: Cristallisoir de 991.84 g + 10.88 g de cire + 38 larve Gm (18.1318 g) + 2.7634 g de PEBD (film alimentaire). Le cristallisoir est recouvert par son couvercle en verre.
- Test 7: Bécher de 800 ml (243.38 g) + 38 larves Gm (18.547 g) + 1.0735 g de PS

7. Mettre les tests/témoin dans une grosse boîte en plastique que l'on mettra dans une salle close, sans lumière, à 22-23°C.

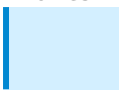
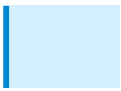
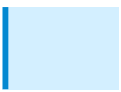
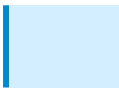
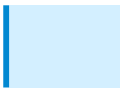
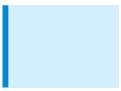
\* *réipients couverts avec du papier aluminium rempli de petits trous*

### Matériel nécessaire à la réalisation de nos expériences:

- **Fablab de Biologie:** 350 larves Gm vivantes, bloc de cire d'abeille, 1 bécher de 500 ml, 2 béchers de 250 ml, 2 erlenmeyers de 250 ml, 2 cristallisoirs, papier aluminium alimentaire, une Brucelles en plastique, plaque de polystyrène, 2 bouteilles en PEBD, thermomètre mercure, scalpel, économe
- **Fablab de Chimie:** Accessoire ATR diamant, éthanol de nettoyage
- **Fablab prototypage:** broyeuse

## II/ Observations : Début & fin d'expériences

Dates, T(°C),	Témoin	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
27/03/2023, 14h40, 22°C	8 mortes	8 mortes	10 mortes	X	X	X	X	X
29/03/2023, 16h21, 23°C	6 mortes	1 morte	4 mortes	12 mortes	9 mortes	X	X	X

31/03/2023, 9h57, 23°C	4 mortes*	5 mortes	1 morte*	8 mortes* + perte de PE	13 mortes*	X	X	X
03/04/2023, 11h17, 22°C	2 mortes * 	0 morte 	5 mortes * 	5 mortes	10 mortes	X	X	X
05/04/2023, 11h, 22.5°C	0 morte * 	0 morte * 	0 morte * 	0 mortes	6 mortes	X	X	X
07/04/2023, 12h, 24°C	0 morte	2 mortes	0 morte	1 morte	0 morte	X	X	X
11/04/2023, 13h53, 23°C	1 morte	0 morte	0 morte *	1 morte	1 morte	2 mortes	X	X
13/04/2023, 10h30, 23°C	0 morte	0 morte	0 morte	0 morte	0 morte	1 morte	1 morte	1 morte (+1 cocon)
14/04/2023, 14h, 22,5°C	0 morte	0 morte	1 morte	0 morte	1 morte	1 morte	0 morte	5 mortes
18/04/2023, 13h20, 23,5°C	1 morte	1 morte	1 morte	4 mortes	1 morte	1 morte	1 morte	8 mortes

- 23/03/2023, 12h, 23°C: mise en place du témoin et des tests 1 et 2 ( arrivée des larves depuis 2j (au frais))
- 27/03/2023, 14h50, 22°C: mise en place des tests 3 et 4 (arrivée jour même)
- 07/04/2023, 12h, 24°C: mise en place du test 5 (arrivée des larves la veille (au frais))
- 11/04/2023, 15h15, 23°C: mise en place des tests 6 et 7 (arrivée des larves le 6/04/23 (au frais))

03/05/2023 - 05/04/2023: diminution forte de la cire

\* présence de soie

III/ Résultats fin d'expérience

	Témoïn	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
Durée	3 semaines et 1 jour	3 semaines et 1 jour	3 semaines et 1 jour	2 semaines et 6 jours	2 semaines et 6 jours	1 semaine	5 jours	5 jours
Début	43 larves Gm : 18.855 g	34 larves Gm: 15.9 g	36 larves Gm : 15.5419 g	36 larves Gm : 16.05 g	44 larves Gm : 20,27 g	29 larves Gm : 14.6296 g	38 larve Gm : 18.1318 g	38 larves Gm : 18.547 g
Fin	20 larves vivantes : 6.4352g et un cocon	17 larves vivantes: 6.1753g	14 larves vivantes: 4.7291g et un cocon	5 larves vivantes: 1,712g	2 vivantes: 0.7676g et un cocon	23 vivantes: 10.462g et un cocon	35 vivantes: 14.966g et un cocon	23 larves vivantes: 9.647g et un cocon
Total de larve(s) morte(s)	23 mortes (12.4498g )	17 mortes (9.7247g)	22 mortes (10.8128g )	31 mortes (14.338g)	42 mortes (19.5024g )	6 mortes (4.1676g)	3 mortes (3.1658g)	15 mortes (8.9g)

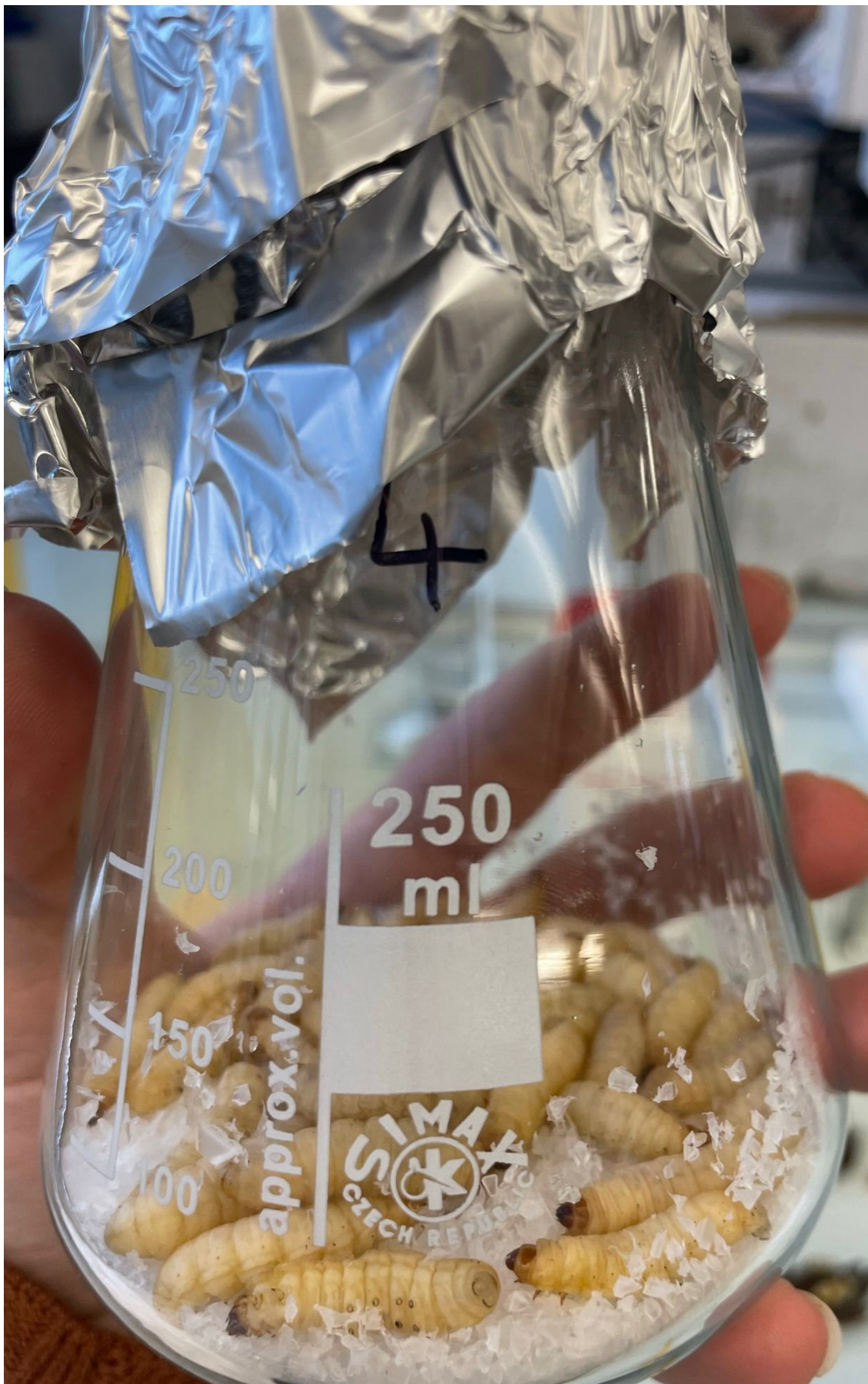
Photos expériences

Témoïn + Test 1 + Test 2











## Test 4



## Test 5



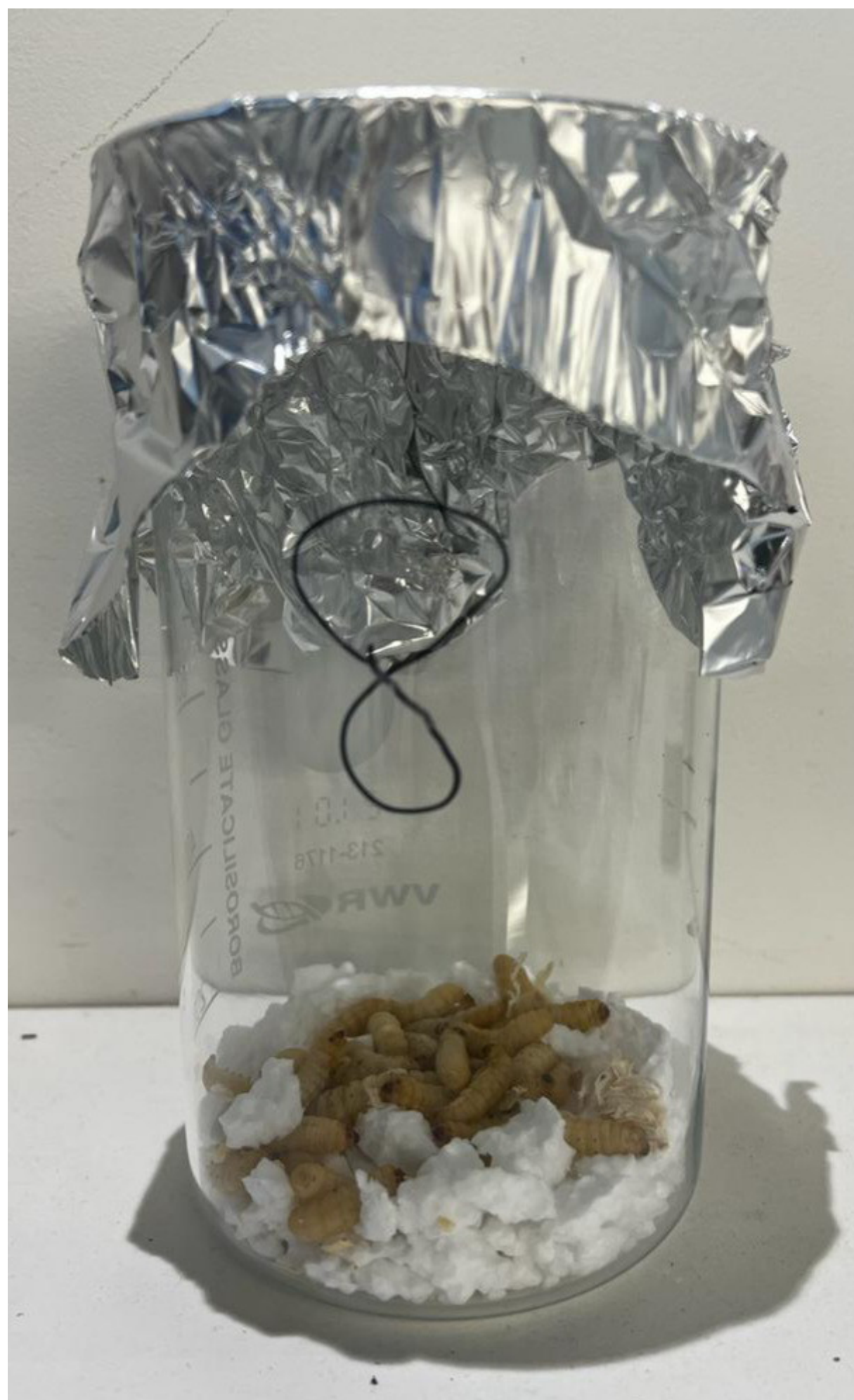
## Test 6



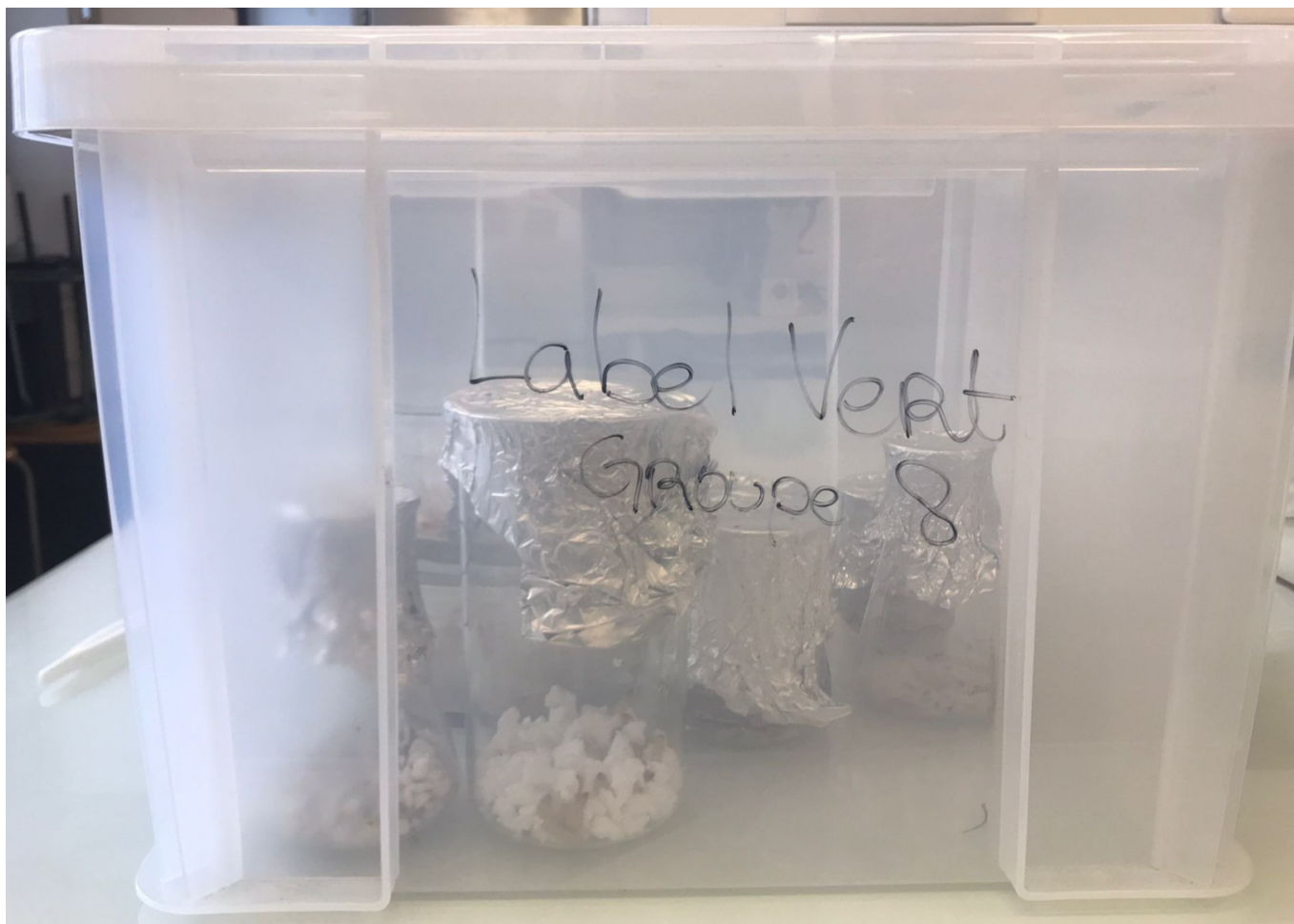








**Témoign + Test 1 à 7**





## IV/ Analyses expérimentales

### Analyse Statistique & Biologique

	Témoin	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
% en masse de larve Gm morte	66.03 %	61.16 %	69.57 %	89.33 %	96.21 %	28.49 %	17.46 %	47.99 %

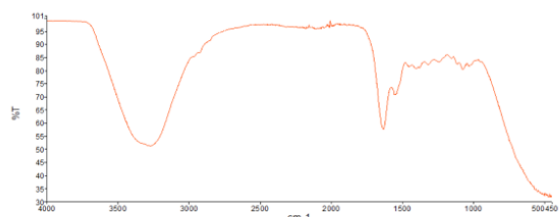
- Forte diminution de cire dans les test 1 & test 2 à contrario de la quantité des plastiques (PS, PEBD broyé, PEBD film)
- 18/04/2023: Larves très actives dans les test 5 & test 7

### Analyse IR en ATR

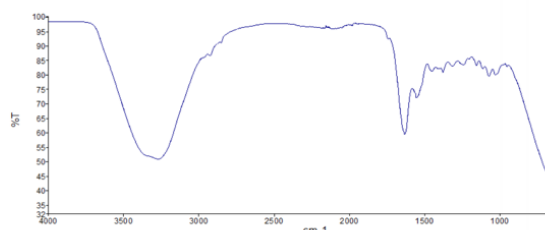
Nom du plastique	PEBD	PS
Pics Caractéristiques	Alcane <ul style="list-style-type: none"><li>• Elongation C-H: 2850-3000 <math>\text{cm}^{-1}</math> (forte intensité)</li><li>• Déformation C-H: 1350-1480 <math>\text{cm}^{-1}</math> (moyenne intensité)</li></ul>	Alcane (voir à gauche) Aromatique <ul style="list-style-type: none"><li>• Elongation C-H: 3000-3100 <math>\text{cm}^{-1}</math> (moyenne intensité)</li><li>• Déformation C-H: 680-900 <math>\text{cm}^{-1}</math> (forte intensité)</li><li>• Elongation C=C: 1500-1650 <math>\text{cm}^{-1}</math> (forte intensité)</li></ul>

### Spectres IR (31/03/2023)

Larves du témoin



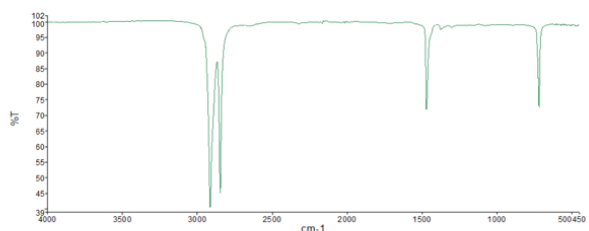
Larves du test 1



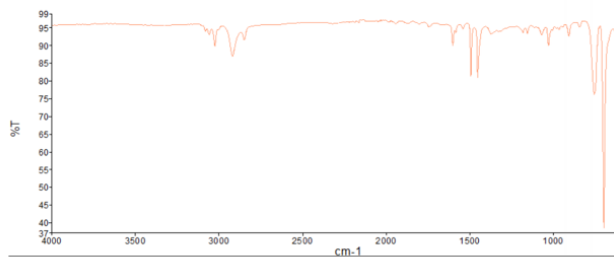
Larves du test 2



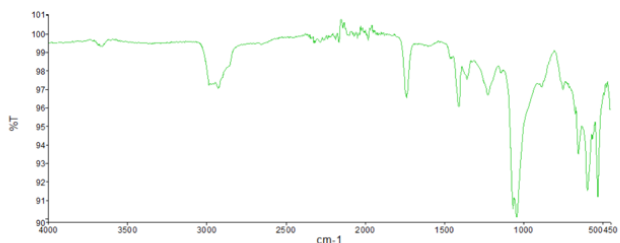
PEBD



Polystyrene

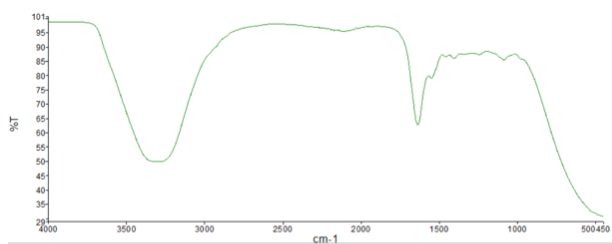


Film plastique

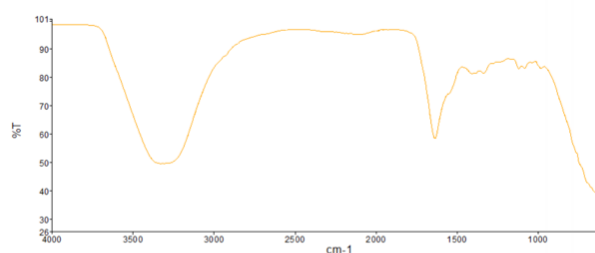


## Spectres IR (18/04/2023)

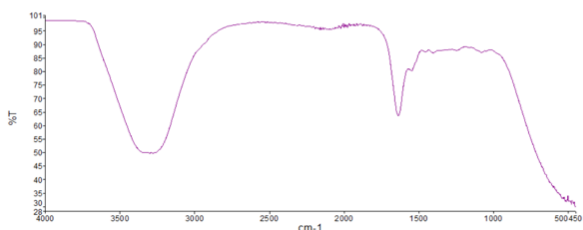
Larves du test 4



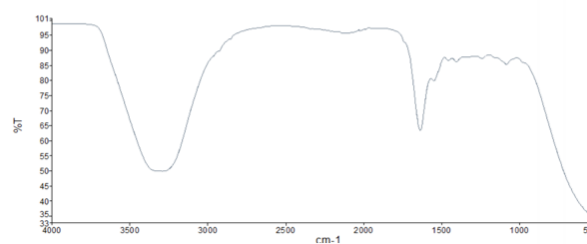
Larves du test 5



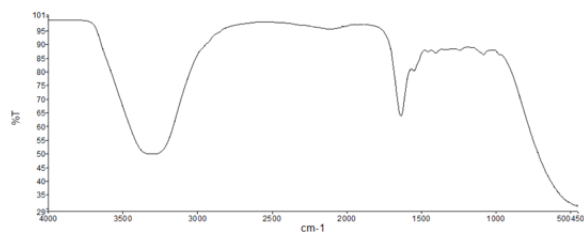
Larves du test 6



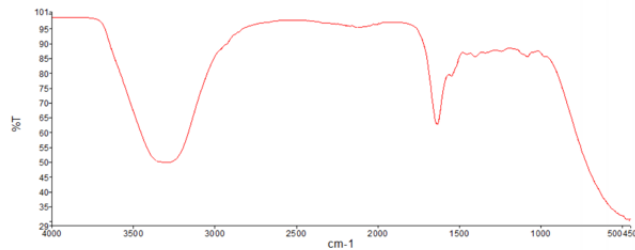
Larves du test 7



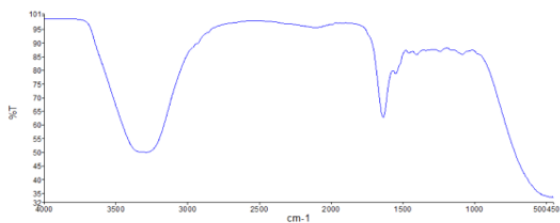
Larves dans le b cher témoin



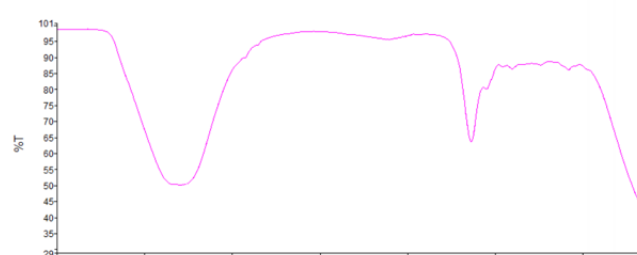
Larves dans le b cher test 1



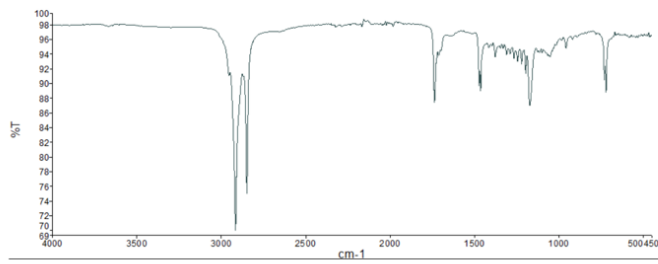
Larves dans le b cher test 2



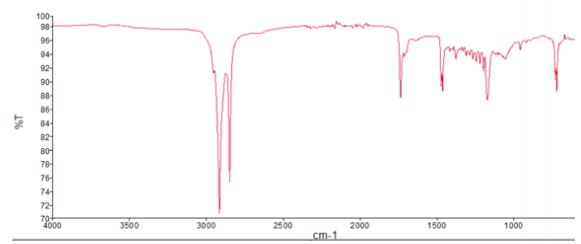
Larves du test 3



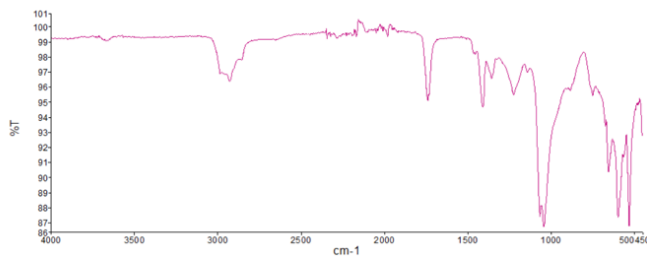
PEBD test 3 avec de la soie



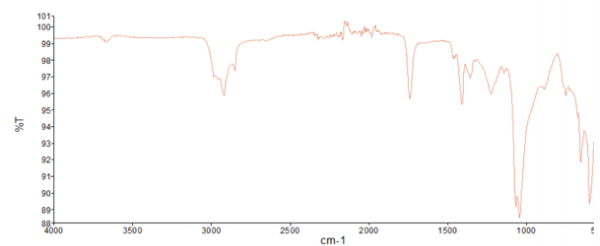
PEBD test 4



Film plastique test 6



Film plastique test 7



## EXPLOITATION DES RESULTATS

### Statistique & Biologique

- Cire + plastique (PS/PEBD) : % de larves mortes proches --> car larves on plus mangé la cire que le plastique
- Plus de larves mortes en présence de PS seul

### IR en ATR

- **Comparaison du spectre IR du PEBD avec les deux spectres des "Larves test 2" et celui des "Larves test 3"**: Nous pouvons observer que les pics caractéristiques du PEBD ne sont pas présents sur les spectres des larves, dont les tests sont composés de PEBD. Pour illustrer ce propos, nous pouvons relever que les 2 pics de forte intensité à  $2800\text{ cm}^{-1}$  et  $2900\text{ cm}^{-1}$  présent sur le spectre IR du PEBD, ne sont pas observable sur sur les spectre du test 2 et 3.
- **Comparaison du spectre IR du PS avec les deux spectres des "Larves test 1" et celui des "Larves test 4"**: Même observation que celle pour le PEBD: nous

n'observons pas de pics caractéristiques du PS sur les spectres des larves.

- **Comparaison du spectre IR des "Larves du témoin" avec tous les autres spectres des larves:** Les spectres des larves sont tous similaires malgré leurs conditions différentes.
- **Comparaison du spectre des plastiques de départ (PEBD, PS, film plastique) avec les plastiques de fin d'expérience:** Ce sont les mêmes.

## **CONCLUSION**

Notre expérience a permis l'étude et l'observation du développement des larves *Galleria Mellonella*. Celles exposées uniquement aux plastiques s'en sont nourries et semblent anormalement plus grandes et grosses que celles se nourrissant aussi de cires. La spectroscopie IR en ATR ne présente pas de résultats concluants, car elle ne permet pas de obtenir une analyse de caractérisation assez précise. La présence de résidus de PS et PEBD nous est donc indiscernable.

Les résultats observés peuvent avoir été causé par de nombreux paramètres que nous avons du changer comparer à ceux établit dans les articles de références. Ainsi nous avons utilisé des plastiques (PEBD et PS) non stérilisés, effectuer des analyses IR en ATR, effectuer nos tests dans des béchers/erlenmeyers/cristallisoirs. Or eux, dans leurs cas, le plastiques avaient été stérilisés avant son introduction dans les tests à partir d'éthanol, ils ont caractérisé leurs éléments à travers des analyses plus précises de l'ATR: FTIR, GC-MS ou l'imagerie hyperspectral.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- Lou, Yu, et al. « Biodegradation of Polyethylene and Polystyrene by Greater Wax Moth Larvae ( *Galleria Mellonella* L.) and the Effect of Co-Diet Supplementation on the Core Gut Microbiome ». *Environmental Science & Technology*, vol. 54, no 5, mars 2020, p. 2821-31. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07044>
- Yang, Jun, et al. « Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms ». *Environmental Science & Technology*, vol. 48, no 23, décembre 2014, p. 13776-84. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1021/es504038a>
- Cassone, Bryan J., et al. « Role of the Intestinal Microbiome in Low-Density Polyethylene Degradation by Caterpillar Larvae of the Greater Wax Moth, *Galleria Mellonella* ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 287, no 1922, mars 2020, p. 20200112. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0112>



- Bombelli, Paolo, et al. « Polyethylene Bio-Degradation by Caterpillars of the Wax Moth *Galleria Mellonella* ». *Current Biology*, vol. 27, no 8, avril 2017, p. R292-93. ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.060>.

# Synthèse de nanoparticules d'argent à partir de peaux de fruits (gr 5)

## Informations

- Mouna Karihila, Julia Krystyanczuk, Isabelle Zheng, Meline Zheng
- mouna.Karihila@etu.sorbonne-universite.fr , julia.Krystyanczuk@etu.sorbonne-universite.fr, isabelle.Zheng@etu.sorbonne-universite.fr, meline.zheng.1@etu.sorbonne-universite.fr
- L3 Chimie et Double-Majeure Chimie-Biologie
- 30 septembre 2022 - 22 avril 2023

## Contexte

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont déjà utilisés dans certains de nos produits cosmétiques comme les sprays désinfectants, et sont particulièrement intéressantes pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques<sup>1</sup>. En revanche, les phytonanoparticules d'argent issues d'une synthèse verte à partir de déchets alimentaires procurent à ces particules des effets supplémentaires tels qu'un fort pouvoir réducteur pour lutter contre le stress oxydant dû à un excès d'espèces réactives à l'oxygène<sup>2</sup>. En effet, cela peut causer des maladies comme le cancer mais est aussi à l'origine du vieillissement cutané car les radicaux libres dégradent le collagène et font apparaître ce qu'on appelle des rides<sup>3</sup>. Les AgNPs ont la particularité de percer la membrane bactérienne et de s'infiltrer pour se fixer sur les composants cellulaires internes essentiels leur empêchant ainsi la prolifération de la colonie bactérienne. Une bactérie anéantie par l'argent est capable de condamner des bactéries vivantes atteignant à une mortalité jusqu'à 99,99% qu'on appelle "l'apocalypse zombie" induit par l'effet de l'argent<sup>4</sup>.

## Objectifs

On souhaite alors, dans notre expérience, synthétiser des nanoparticules d'argents à partir de peaux de fruits. Pour cela, on s'est basée sur un protocole retrouvé sur des articles scientifiques. On va prendre des peaux de fruits de banane et d'agrumes, ici l'orange et la clémentine. On va caractériser nos produits de synthèse par spectroscopie UV-visible et par infrarouge.

# Protocole

- Prélever environ 0,2 g de zeste d'orange et laver avec de l'eau désionisée.
- Broyer à l'aide d'un mélangeur domestique, puis remuer pendant environ 20 min dans 50 ml d'eau à 50 °C.
- Laisser refroidir à température ambiante.
- Filtrer et garder l'extrait aqueux.
- Préparer 7,5 mL de solution d'amidon soluble à 5 % (pourcentage/volume) avec 6 mL d'extrait aqueux
- Ajouter 20 mL de AgNO<sub>3</sub> à 0,01 M.
- Ajuster le pH jusqu'à atteindre un pH autour de 14 à l'aide d'une solution aqueuse de 2 M KOH.
- La solution devient progressivement noire, ce qui indique la formation de nanoparticules d'argent.
- Centrifuger avec de l'eau désionisée puis 1 fois avec l'acétone ou éthanol à 6 000 tr/min pendant 15 min.

// **Précaution à prendre !** //

AgNO<sub>3</sub> 0,01 M : corrosif, lésions oculaires

KOH : corrosif

## Matériel

- Amidon soluble de PROLABO
- Peaux d'orange, de clémentine et de banane
- Balance et Coupelle pour peser
- Mélangeur domestique (Blender)
- Bain Marie + spatule pour mélanger (→ Eau à 50°C)
- Eprouvette graduée de 50 mL
- Bécher de 100/250 mL
- Pipette jaugée de 20 mL
- Filtre à café
- Entonnoir (pour solide et liquide)
- Pipettes Pasteur
- pH mètre (papier pH)
- Centrifugeuse
- Bidon de récupération pour métaux lourds
- Cuve en quartz pour la caractérisation
- Mortier et pilon
- Pissette d'eau distillée

## Machines utilisées

## Journal de bord

### Vendredi 24 février 2023

≈ 2h au Fablab

Tout d'abord, nous avons séché nos peaux d'orange/clémentine et banane grâce au dessiccateur. On les a laissé plusieurs jours au dessiccateur.

On a préparé la solution d'amidon 5% qui nous est nécessaire, avec 5g d'amidon soluble et 100 mL d'eau.

De plus, on a préparé notre solution aqueuse de KOH avec 11,2g de KOH solide (56,11g/mol) pour 100 mL d'eau.

### Lundi 6 mars 2023

≈ 5h au Fablab

Des substances macromoléculaires se sont formées dans notre solution d'amidon, on doit donc refaire celle-ci à chaque fois qu'on va l'utiliser. Pour cela, on va préparer 7,5 mL de solution d'amidon en utilisant 0,375 g d'amidon soluble solide avec 7,5 g d'eau.

On a réussi à broyer nos peaux d'orange, de clémentine et de banane avec un mixeur. On a obtenu un solide hétérogène (avec gros grains et petits grains) pour la clémentine et l'orange, quant à la banane, on a continué au mortier et pilon pour avoir des grains encore plus fins.

On a tout d'abord commencer avec les **peaux d'orange**.

Pour cela, on en a prélevé 0,2g et on les a remué pendant 20 mins dans un bain d'eau à 50°C avec 50 mL d'eau distillée pour ensuite les laisser refroidir à  $T^{\circ}_{\text{amb}}$ . L'extrait aqueux est filtré à l'aide d'un filtre à café. Nous avons mesuré les valeurs d'absorbance pour cet extrait.

Dans un nouveau bécher, 6 mL de solution aqueuse ont été prélevée puis 7,5 mL de solution d'amidon 5% y ont été ajoutés. Une nouvelle mesure d'absorbance a été faite.

On rajoute 20mL de  $\text{AgNO}_3$  dans le mélange puis on procède une autre mesure d'absorbance. Ces mesures représentent les zéros de nos expériences.

Le pH de notre solution de départ est de 5-6.

Par la suite, on a décidé après de mesurer la valeur d'absorbance après chaque ajout de KOH (0,5 à 1 mL à chaque fois) jusqu'à atteindre pH = 14. La mesure s'est faite à l'aide de papier pH qui malheureusement ne fut pas très précis.

Suivi de KOH ajouté:

- 1 mL de KOH → pH ≈ 10
- 1,5 mL de KOH → pH ≈ 11
- 2 mL de KOH → pH ≈ 11-12
- 3 mL de KOH → pH ≈ 12
- 4 mL de KOH → pH ≈ 13
- 5 mL de KOH → pH ≈ 14

Une solution noire / marron est obtenue après le premier ajout de KOH - on a bien la synthèse des AgNPs !

Après un premier passage à la centrifugeuse à 6000 rtm pendant 15 mins à 25 °C, le surnageant obtenue est de couleur jaune, le culot est de couleur noire - ce sont nos AgNPs. On avait 3 tubes de centrifugation de 15 mL où 9,3 mL de solution se trouvaient dans chaque tube. Pour bien équilibrer dans la centrifugeuse, on a ajouté un quatrième tube de centrifugation avec 9,3 mL d'eau.

On a alors éliminé le surnageant (que l'on a tout de même gardé de côté). On doit ensuite laver avec de l'eau dans chacun de nos tubes contenant les culots. C'est ainsi que l'on ajoute 9,5 mL d'eau distillée dans chaque tube.

Pour la prochaine fois, il faut faire une nouvelle centrifugation avec les mêmes paramètres que précédemment sans oublier de bien agiter les tubes avant de démarrer (ne rien ajouter dans les tubes, ils sont prêts pour la centrifugeuse). Et enfin, ce lavage à l'eau, réaliser un lavage à l'acétone en procédant de la même façon.

## Vendredi 10 mars 2023

≈ 2h au Fablab

On a commencé par lancer la centrifugation à 6000 rtm pendant 15 mins à 25 °C, ce qui a permis de faire le lavage à l'eau de nos *particules*. Puis, on a enlevé le surnageant et réaliser le lavage à l'acétone. On laisse sécher à T°amb.

On a réalisé les spectres InfraRouge des différents peaux de fruits que nous avons grâce à la spectrométrie FTIR-ATR.

(Fichier Administrateur 02 (IR) → peau de banane )

En parallèle, on a débuté ce même protocole pour la peau de clémentine et de banane. Ainsi, on a prélever 0,2 g de chaque que l'on a remué pendant 20 mins dans un bain d'eau à 50°C avec 50 mL d'eau distillée pour les laisser refroidir à T°<sub>amb</sub>. Pour la clémentine, l'extrait aqueux

est filtré à l'aide d'un filtre à café. Pour la banane, nous avons gardé notre extrait aqueux avec les grains de peaux de banane. Nous avons mesuré les valeurs d'absorbance pour ces deux extraits.

Aujourd'hui, nous avons débuté par la **clémentine**. 7,5 mL de solution d'amidon 5% sont ajoutés à notre extrait de aqueux. On a ajouté les 20 mL de  $\text{AgNO}_3$  et on a procédé aux mesures d'absorbance. ET C'EST À PARTIR DE LÀ QU'ON REMARQUE QUE L'ON A OUBLIÉ DE PRÉLEVER LES 6 ML D'EXTRAIT AQUEUX... On doit alors tout refaire mais la prochaine fois...

**Note pour plus tard** : ne pas oublier de prélever seulement 6 mL d'extrait aqueux pour la caractérisation. Ne pas prendre tout l'extrait !

On a alors débuté la mesure de l'absorbance de la **banane** avec 6 mL d'extrait, où l'on a ajouté les 20 mL de  $\text{AgNO}_3$ . On a réalisé une mesure d'absorbance. Par manque de temps, on a laissé notre solution dans un récipient sombre que l'on a mis au placard.

**Pour la prochaine fois**, refaire la solution aqueuse de peau de clémentine. Prévoir le chauffage (de 20 mins à  $50^\circ\text{C}$ ), les 7,5 mL de solution d'amidon et les 20 mL de  $\text{AgNO}_3$ .

Si on est à plusieurs, en parallèle du chauffage de 20 mins, faire les mesures d'absorbance ET de pH pour les peaux de banane.

Pour faire la caractérisation de la clémentine, ne pas oublier de ne prélever QUE 6 mL d'extrait aqueux.

## Vendredi 24 mars 2023

≈2h

On a commencé par prélever 0.2g de clémentine que l'on a versé dans un bécher contenant 50mL d'eau distillée. Après 20 mins de chauffage à  $50^\circ\text{C}$ , on a laissé refroidir et filtré avec un filtre à café.

On a préparé une solution d'amidon, avec 0.382g d'amidon soluble et 7.5mL d'eau distillée.

On a souhaité faire l'ATR de nos nanoparticules d'argent à partir de l'extrait de peau d'orange qu'on avait laissé sécher depuis la séance précédente. Cependant, dans nos tubes, on avait vraiment eu peu de produits, lors de notre analyse en IR, il n'y avait pas assez de nanoparticules pour recouvrir le diamant du spectromètre IR. Ainsi, on peut tout de même conclure que la synthèse a marché grâce à notre caractérisation par UV. Mais nous n'avons aucune certitude sur la 'véracité' de notre produit qu'on a formé, pour cela une caractérisation sous rayon X serait pertinente pour pouvoir comparer nos résultats avec ceux présentés sur l'article. En effet, on ne peut déterminer si ce produit correspond bel et bien à nos nanoparticules d'argent qu'on souhaitait synthétiser qu'avec une caractérisation UV, puisque la couleur observée peut être également due à la présence de d'autres éléments.

De plus, on a souhaité faire les mesures d'absorbance pour les peaux de banane. Cependant, notre solution est devenue noire, sûrement dû à une réaction d'oxydation depuis la dernière séance (temps de réaction trop long - presque 2 semaines). Ainsi, on n'a pas pu réaliser nos mesures car on s'attendait à obtenir une solution jaune après ajout de  $\text{AgNO}_3$ , comme présenté dans l'article.

Pour finir, on a alors prélevé 6mL d'extrait de clémentine, où on ajoute la solution d'amidon, les 20 mL d' $\text{AgNO}_3$  pour réaliser nos mesures d'absorbance ( clémentine seule, clémentine-amidon, clémentine-amidon- $\text{AgNO}_3$ ,...)

Ecrire le suivi du KOH :

- 1 mL de KOH  $\rightarrow$  pH  $\approx$  9
- 2 mL de KOH  $\rightarrow$  pH  $\approx$  10
- 3 mL de KOH  $\rightarrow$  pH  $\approx$  10
- 4 mL de KOH  $\rightarrow$  pH  $\approx$  12

Pour la prochaine fois, faire les centrifugations, les différents lavages pour la clémentine. Peut-être recommencer l'expérience de la banane en fonction du temps restant.

## **Lundi 27 mars 2023**

Pour la solution de clémentine, on a préparé 3 tubes de centrifugation de 15mL  $\rightarrow$  18,48g dans chaque tube.

Equilibration avec de l'eau dans un quatrième tube. On peut alors procéder aux différentes étapes de lavage.

Notre surnageant est noir. On a ensuite réalisé un lavage à l'eau avec un nouveau programme : 10 000 rtm pendant 15min à 20°C. Le surnageant est de couleur roux. On lave à présent à l'acétone. On a souhaité relaver à l'acétone pour avoir un meilleur lavage.

En parallèle, on a retenté notre caractérisation UV avec la peau de banane en utilisant 6mL d'extrait de peau de banane, 20 mL d' $\text{AgNO}_3$ , et du KOH.

Le pH initial était de 5.

Suivi du KOH :

- 1 mL de KOH  $\rightarrow$  pH  $\approx$  14

On a alors arrêté l'expérience, notre pH était déjà trop basique. On a supposé que le KOH était trop concentré. La couleur initialement jaune de notre extrait de banane avec l' $\text{AgNO}_3$  est devenue noire après ajout de KOH.

On passe ainsi notre solution à la centrifugeuse pour 10 000 rtm pendant 15 mins à 20°C . Puis on réalise un lavage à l'eau de nos tubes pour la banane.



On a changé nos paramètres car nos nanoparticules sont trop légères, nécessitant ainsi plus de puissance pour centrifuger. De plus, on a perdu beaucoup de produit car nos surnageants étaient foncés.

On a finalement préparé des boîtes de pétri pour l'extrait de clémentine. Permettant le séchage de nos particules sous la hotte.

A faire prochainement, la centrifugation avec l'acétone pour la banane puis boîte de pétri pour banane. Les tubes sont laissés dépourvus d'acétone sur notre paillasse. Faudra ajouter acétone.

### Lundi 3 avril

On a commencé par ajouter de l'acétone dans nos tubes de centrifugation. (masse de nos tubes  $\approx 18.17\text{g}$ ). On laisse centrifuger à 10 000 rtm pendant 15 mins à 20°C.

Pendant la centrifugation, on réalise l'infrarouge ATR de notre produit de clémentine.

### Vendredi 7 avril

Dans la suite, nous avons appliqué le même protocole mais avec de l'eau au lieu de l'extrait aqueux.

Prélèvement des mesures UV, au bout de 2 mL de KOH (2M), la solution a atteint un pH de 14.

On a introduit le mélange dans 3 tubes pour centrifuger à 15000 rpm pendant 15min à température ambiante. Ensuite on a utilisé le même programme pour procéder aux lavages à l'eau et l'acétone. Ne pas oublier de secouer à chaque lavage et s'assurer que les tubes font chacun le même poids.



Laisser sécher à T° ambiante dans une boîte de pétri sous hotte et caractérisation ensuite par FTIR ATR.

## Résultats

D'après notre bibliographie, on devrait observer en UV une augmentation progressive de l'absorbance à 404 nm<sup>1</sup>, ce qui indiquerait la formation des nanoparticules d'argent. Nous n'avons pas réussi à observer cela, ce qui peut être dû à la présence d'impuretés, la solution de KOH trop concentrée ou encore le prélèvement d'un volume assez faible de nitrate d'argent peu concentré. Un résultat plutôt favorable, avec une augmentation progressive de l'absorbance, est observé dans le cas de la peau de clémentine. Les spectres IR sont différents de la littérature, et nous n'observons aucun pic qui serait caractéristique à une vibration de liaison impliquée dans les

AgNPs.

Pour compléter cette étude, il serait intéressant de réaliser :

- Une application sur des bactéries pour illustrer les propriétés antibactériennes et observer s'il y a potentiellement une résistance qui s'est développée contre ces particules<sup>5</sup> ;
- Une caractérisation par diffraction Rayon X, microscopie à balayage électronique ou à transmission électronique ;
- Une solution d'AgNO<sub>3</sub> plus concentrée - pour obtenir un meilleur rendement (moins de solvant).

## Conclusion

Il est difficile de caractériser les particules d'Argent avec des outils simples et accessibles. Les caractérisations effectuées ne nous permettent pas de confirmer si nous avons bien synthétisé des AgNPs. La synthèse est complexe avec un rendement faible. L'utilisation de métaux lourds nécessite une filtration laborieuse pour récupérer les métaux.

Les risques sanitaires et environnementaux associés à ces nanoparticules sont également énormes : des travaux montrent que ces nanoparticules sont particulièrement néfastes pour les animaux aquatiques et terrestres, de plus les études sur la dangerosité de ce matériau pour la peau sont encore insuffisantes<sup>5</sup>. Le prix est aussi non négligeable, la solution de AgNO<sub>3</sub> est très coûteuse.

La part des contraintes est plus importante que les bénéfices, elles doivent être prises en compte lors de notre synthèse. La valorisation des déchets est certes intéressante mais l'utilisation de l'argent contrebalance cette idée de synthèse de AgNPs à partir de peaux de fruits.

### Sources

(1) Konwarh, R.; Gogoi, B.; Philip, R.; Laskar, M. A.; Karak, N. Biomimetic Preparation of Polymer-Supported Free Radical Scavenging, Cytocompatible and Antimicrobial "Green" Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of Citrus Sinensis Peel. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2011, 84 (2), 338-345. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.01.024>.

(2) Paiva-Santos, A. C.; Herdade, A. M.; Guerra, C.; Peixoto, D.; Pereira-Silva, M.; Zeinali, M.; Mascarenhas-Melo, F.; Paranhos, A.; Veiga, F. Plant-Mediated Green Synthesis of Metal-Based Nanoparticles for Dermopharmaceutical and Cosmetic Applications. *Int. J. Pharm.* 2021, 597, 120311. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120311>.

(3) Ecocentric. Radicaux libres, vieillissement de la peau & cosmétique. Ecocentric. [http://www.ecocentric.fr/blog/index/billet/13505\\_radicaux-libres-antioxydants-cosmetique](http://www.ecocentric.fr/blog/index/billet/13505_radicaux-libres-antioxydants-cosmetique) (accessed 2023-04-10).

(4) Silver turns bacteria into deadly zombies. <https://www.science.org/content/article/silver-turns-bacteria-deadly-zombies> (accessed 2023-04-10). (5) Exposition aux nanoparticules

d'argent : mise à jour des connaissances. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. <https://www.anses.fr/fr/content/exposition-aux-nanoparticules-d%E2%80%99argent-mise-%C3%A0-jour-des-connaissances> (accessed 2023-04-07).

(5) Exposition aux nanoparticules d'argent : mise à jour des connaissances. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. <https://www.anses.fr/fr/content/exposition-aux-nanoparticules-d%E2%80%99argent-mise-%C3%A0-jour-des-connaissances> (accessed 2023-04-07).

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.01.024>

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.07.024>