

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 antifongiques¹. 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'oxygène². 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 rides³. 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'argent⁴.

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 AgNO₃ 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 !** //

AgNO₃ 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°_{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 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 $\text{pH} = 14$. 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 $\rightarrow \text{pH} \approx 10$
- 1,5 mL de KOH $\rightarrow \text{pH} \approx 11$
- 2 mL de KOH $\rightarrow \text{pH} \approx 11-12$
- 3 mL de KOH $\rightarrow \text{pH} \approx 12$
- 4 mL de KOH $\rightarrow \text{pH} \approx 13$
- 5 mL de KOH $\rightarrow \text{pH} \approx 14$

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 $T^\circ \text{amb}$.

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

(Fichier Administrateur 02 (IR) \rightarrow 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°_{amb} . 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 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 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°C), les 7,5 mL de solution d'amidon et les 20 mL de 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°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 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' AgNO_3 pour réaliser nos mesures d'absorbance (clémentine seule, clémentine-amidon, clémentine-amidon- 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' 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' 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 forcés.

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 dépourvu 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 nm¹, 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 particules⁵ ;
- Une caractérisation par diffraction Rayon X, microscopie à balayage électronique ou à transmission électronique ;
- Une solution d'AgNO₃ 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 insuffisantes⁵. Le prix est aussi non négligeable, la solution de AgNO₃ 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 (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>

Revision #28

Created 27 February 2023 13:52:25 by Zheng Meline

Updated 19 July 2023 10:33:55 by Zheng Meline