

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

**UNIVERSITE BLIDA 1**

**Faculté Des Sciences Technologiques**

Département de Chimie industrielle



**MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL**

**En Génie Des Procédés**

**Spécialité : Pharmacie Industrielle**

**Synthèse et valorisation des nanoparticules  
d'oxyde de zinc**

**Présenté par**

SIARI Maroua

TAIEB EZZRAIMI Meriem

**Encadré par :**

M<sup>lle</sup> MAKAOUI Nassima

**Co-Encadreur :**

Mr IMOUDACHE Hichem

Promotion 2020/2021

## **Remerciement**

*En tout premier lieu, on tient à remercier le Bon Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage et surtout la volonté d'entamer et du bien terminer ce travail.*

*En effet ce mémoire représente bien plus que de simples travaux. Ce mémoire est la finalité de cinq longues années d'étude*

*Nos sincères remerciements à nos très chers parents qui ont été toujours là pour nous, pour leurs soutiens et leurs encouragements.*

*Nos vifs remerciements à notre promotrice Madame MAKAOUI NASSIMA, pour sa patience, ses conseils précieux, ses orientations et sa motivation qui nous a permis de travailler dans des bonnes conditions, on la remercier aussi de nous avoir accueillis au niveau des laboratoires de centre de recherches et développements du groupe SAIDAL.*

*On tient également à exprimer nos remerciements à notre Co-promoteur Monsieur IMOUDACHE Hichem pour son aide pratique, son soutien et ses conseils*

*On tient à remercier toute l'équipe de laboratoire de chimie analytique et de microbiologie de CRD SAIDAL pour leurs accueils et leurs encouragements.*

*On remercie aussi madame Pr. HADJ ZIANE pour son soutien et ses conseils.*

*On tient à exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury pour leurs présences et d'avoir acceptés d'évaluer ce modeste travail.*

*Enfin, on remercie tout l'ensemble des enseignants du département de Génie des procédés pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont donné au cours de ces cinq ans passés à l'université SAAD DAHLEB Blida.*

**Merci !**

## *Dédicace*

*On a l'honneur de Didier ce modeste travail à nos très chers parents, pour leurs efforts, leurs amours et leurs sacrifices durant toute notre vie, leurs encouragements et soutiens durant toutes nos études et nos recherches.*

*À nos très chers frères et sœurs pour leurs présences à nos côtés*

*À nos grands-parents et ceux qui ont partagé avec nous tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.*

*À nos amis et nos proches pour leurs présences dans notre vie, leurs disponibilités et pour tous les moments que nous avons partagés ensemble.*

*À notre promotrice pour avoir accepté de nous encadrer, sa bonne humeur et sa patience qui nous a données la volonté à accomplir ce travail.*

## **Résumé**

L'objectif de ce travail est la synthèse, l'étude et l'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc, ainsi que leur activité antioxydante et anti-inflammatoire. Les nanoparticules de ZnO ont été synthétisées par voie chimique « sol-gel ». La caractérisation par DRX et MEB-EDX a confirmé la composition chimique ainsi que la taille des particules de ZnO qui est de 25 nm. L'étude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules de ZnO et d'un antibiotique a été réalisée sur différentes souches afin d'évaluer la synergie de ces derniers. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de piégeage de DPPH° et a présenté un pouvoir antioxydant très important des NPs de ZnO avec une IC (50) correspondant à 0,14µg/ml. L'activité anti-inflammatoire a été réalisée in vitro, les NPs de ZnO ont présenté un effet anti-inflammatoire plus important que celui obtenu avec le diclofenac sodique, avec un taux d'inhibition de 93% comparé à celui obtenu avec le diclofenac sodique qui est de 86%.

**Mots clés :** Nanoparticules ; ZnO ; voie sol-gel ; effet antibactérien ; effet antifongique ; activité antioxydante ; activité anti-inflammatoire.

## **Abstract**

The objective of this work is the synthesis, study and evaluation of the antibacterial and antifungal effect of zinc oxide nanoparticles, as well as their antioxidant and anti-inflammatory activity. ZnO nanoparticles have been synthesized by a chemical method « Sol-gel ». The characterization by XRD and SEM confirmed the chemical composition as well as the particle size of the ZnO nanoparticles, which is 25 nm. The study of the antibacterial and antifungal effect of ZnO nanoparticles and an antibiotic was carried out on different strains in order to assess their synergy. The antioxidant activity was achieved by the DPPH ° trapping method and exhibited a very significant antioxidant power of ZnO NPs with an IC (50) corresponding to 0.14 µg / ml. The anti-inflammatory activity was achieved in vitro; the ZnO NPs exhibited a greater anti-inflammatory effect than that obtained with diclofenac sodium, with an inhibition rate of 93% compared to 86% obtained with diclofenac sodium.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو تصنيع دراسة وتقييم التأثير المضاد للبكتيريا والفطريات لجزيئات أكسيد الزنك النانوية، بالإضافة إلى نشاطها كمضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات. تم تصنيع الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك بواسطة طريقة كيميائية "صول-جل". أكدت دراسة الميزات الهيكلية بواسطة مسح المجهر الإلكتروني الى جانب اختبار انتشار الأشعة السينية التركيب الكيميائي و حجم الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك التي تبلغ 25 نانومتر. تم إجراء دراسة التأثير المضاد للبكتيريا والفطريات لجسيمات أكسيد الزنك النانوية والمضاد الحيوي على سلالات مختلفة من أجل تقييم تآزر هذا الأخير. تم تنفيذ النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة محاصرة DPPH ° وقد أظهرت النتائج أن لجسيمات الزنك النانوية قوة مضادة للأكسدة كبيرة جداً مع (IC 50) يقابل 0.14 ميكروغرام / مل. تم تحقيق الفعالية المضادة للالتهابات في المختبر، وأظهرت أن لجسيمات أكسيد الزنك تأثيراً مضاداً للالتهابات أكبر من ذلك الذي تم الحصول عليه باستخدام ديكلوفيناك الصوديوم، حيث بلغت نسبة تثبيطه 93% مقارنةً بتلك التي تم الحصول عليها باستخدام الاستنساخ والتي تبلغ 86%.

## Sommaire

Introduction générale.....	01
<b>CHAPITRE I : LES NANOPARTIULES.....</b>	<b>03</b>
I.1.Définition.....	03
I.2.Types des nanoparticules.....	04
I.2.1. Nanoparticules céramique.....	04
I.2.2. Nanoparticules biologiques ou bio-nanoparticules.....	05
I.2.3. Nanoparticules organiques.....	05
I.2.4. Nanoparticules inorganiques.....	05
a. Nanoparticules métalliques.....	05
b. Nanoparticules d'oxyde métallique.....	06
I.3.Les caractéristiques des nanoparticules.....	06
I.3.1. Taille.....	06
I.3.2. Forme.....	06
I.3.3. Surface spécifique.....	07
I.4.Agglomération des nanoparticules.....	07
I.5.Procédés de synthèses des nanoparticules.....	08
I.5.1. Approche descendante.....	08
I.5.2. Approche Ascendante.....	09
a. Par précipitation.....	09

b. Méthode hydrothermal.....	10
c. Méthode « Sol-gel » .....	10
I.6. Toxicité des nanoparticules.....	12
<b>CHAPITRE II : NANOPARTICULES D'OXYDE DE ZINC « propriétés et activités microbiologiques et pharmacologiques ».....</b>	<b>13</b>
II.1. Introduction.....	13
II.2. L'oxyde de zinc .....	13
II.3. Historique.....	14
II.4. Propriétés de ZnO.....	14
II.4.1. Structure cristalline.....	14
II.4.2. Propriétés physico-chimiques de ZnO.....	15
II.5. Propriétés des NPs de ZnO.....	15
II.5.1. Propriétés structurales.....	15
II.5.2. Propriétés optiques.....	16
II.5.3. Propriétés électriques et électroniques.....	16
II.6. Utilisation des nanoparticules de ZnO .....	17
II.7. Activités liées aux nanoparticules d'oxyde de zinc.....	17
II.7.1. Activité antibactérienne et antifongique.....	17
II.7.2. Activité antioxydante.....	19
II.7.3. Activité anti-inflammatoire.....	19
II.8. Quelques travaux scientifiques sur les NPs de ZnO.....	20

<b>CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES</b> .....	23
III.1. Introduction.....	23
III.2. Réactifs et matériels.....	23
III.2.1. Réactifs.....	23
III.2.2. Matériels.....	26
III.3. Synthèse des nanoparticules d'oxyde de Zinc .....	26
III.4. Caractérisation des nanoparticules de ZnO.....	29
III.4.1. Par Infra-rouge.....	29
III.4.2. Par Diffraction des rayons-X sur poudre (DRX).....	29
III.4.3. Par Microscopie électronique à balayage (MEB-EDX) .....	30
III.5. Contrôle physico-chimique des NPs de ZnO.....	31
III.5.1. Aspect des nanoparticules d'oxyde de zinc .....	31
III.5.2. Teneur des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	31
III.6. Étude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc et un antibiotique « Évaluation de la synergie NPs ZnO/Antibiotique ».....	33
III.6.1. Choix des souches microbiennes.....	33
III.6.2. Mode opératoire.....	35
III.7. Activité antioxydante des nanoparticules d'oxyde de zinc .....	38
III.8. Activité anti-inflammatoire des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	40

<b>CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	43
IV.1. Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	43
IV.1.1. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.....	43
IV.1.2. Diffraction des rayons-X sur poudre (DRX).....	44
IV.1.3. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	47
IV.2. Contrôle physico-chimie des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	48
IV.2.1. Aspect des nanoparticules de ZnO.....	48
IV.2.2. Teneur des nanoparticules de ZnO.....	49
IV.3. Etude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc et un antibiotique « Evaluation de la synergie NPs ZnO/Antibiotique » .....	50
IV.3.1. Étude de l'effet antibactérien des NPs de ZnO et d'un antibiotique.....	50
IV.3.2. Étude de l'effet antifongique des NPs de ZnO et d'un antibiotique.....	51
IV.4. Évaluation de l'activité antioxydante des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	53
IV.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des nanoparticules d'oxyde de zinc.....	54
<b>Conclusion</b> .....	56

## LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Gamme de tailles des NPs

Figure I.2 : Classification des nano-objets selon leur degré de dimension nanométrique

Figure I.3 : Différentes formes de regroupement des NPs

Figure I.4: Procédés « Top-Down » et « Bottom-Up »

Figure I.5 : Procédé générale d'obtention d'oxyde métallique par la méthode « Sol-gel »

Figure II.1: Représentation des trois structures cristallines de ZnO

Figure II.2 : Différentes familles de nanostructures

Figure II.3 : Mécanisme de ROS

Figure III.1 : Structure chimique de l'acétate de zinc dihydraté

Figure III.2 : Structure chimique d'acide oxalique dihydraté

Figure III.3 : Solution d'acétate de zinc dihydraté

Figure III.4 : Solution d'acide oxalique dihydraté

Figure III.5 : Préparation sol-gel de ZnO

Figure III.6 : Formation de la solution dense d'acétate de zinc et d'acide oxalique

Figure III.7 : Récupération du précipité ZnO

Figure III.8 : Titration de zinc par complexométrie

Figure III.9 : Ensemencement en stries en 3 quadrants

Figure III.10 : Suspension d'antibiotique

Figure III.11 : Mécanisme de réduction de radical DPPH (décoloration de la solution du DPPH du violet au jaune)

Figure IV.1 : Spectre infrarouge des NPs de ZnO synthétisées

Figure IV.2 : Spectre IR de ZnO commercialisé

Figure IV.3 : Diffractogramme des NPs de ZnO synthétisées

Figure IV.4 : Diffractogramme JCPDS, fiche N° 36-1451 de ZnO

Figure IV.5 : Taille des particules des NPs de ZnO synthétisées

Figure IV.6 : Agrandissement sous MEB qui démontre la forme rose de sable de notre NPs  
de ZnO synthétisées

Figure IV.7 : EDX-MEB des NPs de ZnO synthétisées

Figure IV.8 : EDX-MEB des NPs de ZnO de la littérature par Waheed Gul et al

Figure IV.9 : Aspect des NPs de ZnO

Figure IV.10 : Dosage par complexométrie des NPs de ZnO synthétisées

Figure IV.11 : Synergie des NPs de ZnO et de l'antibiotique sur *Bacillus subtilis*

Figure IV.12 : Effet de synergie des NPs de ZnO et de l'antibiotique sur *Saccharomyces  
cerevisiae*

Figure IV.13 : Profil de l'activité antioxydante des NPs de ZnO

Figure IV.14 : Profil de l'activité antioxydante de ZnO commercialisé

Figure IV.15 : Profil de l'activité anti-inflammatoire des NPs de ZnO et Diclofenac  
sodique

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimiques de ZnO

Tableau III.1 : Matériels utilisés pour la synthèse, la caractérisation et le contrôle des NPs de ZnO

Tableau III.2 : Généralités sur les différentes souches bactériennes utilisées

Tableau III.3 : Différentes levures utilisées dans l'étude de l'activité antifongique

Tableau IV.1 : Activité antibactérienne des échantillons sur différentes souches

Tableau IV.2 : Activité antifongique des échantillons sur deux levures

## LISTE DES ABREVIATIONS

ATCC	American type culture collection
ATR	Réflexion totale atténuée
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	Acide acétique
CO	Monoxyde de carbone
CRD	Centre de recherche et développement
CVD	Dépôt chimique en phase vapeur
2D	Deux dimensions
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DPPH°	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
DRX	Diffraction des rayons X
EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
FT-IR	Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier
g	Gramme
h	Heure
H <sub>2</sub>	Hydrogène
I%	Pourcentage d'inhibition
IC50	Concentration inhibitrice 50 %
IR	Infrarouge
ITO	Oxyde d'indium-étain
Kcal	Kilocalorie

KOH	Hydroxyde de potassium
Kv	Kilovolt
M	Mole
MEB	Microscopie électronique a balayage
MET	Microscopie électronique a transmission
mg	Milligramme
MH	Mueller Hinton
Min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MRSA	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline
MRSE	Staphylococcus Epidermidis résistant à la méticilline
N	Newton
Na <sub>2</sub>	Disodium
NaCl	Chlorure de sodium
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonate de sodium
nm	Nanomètre
NO <sub>2</sub>	Dioxyde d'azote
NPs	Nanoparticules
O <sub>3</sub>	Trioxygène (Ozone)
P. Aeruginosa	Pseudomonas Aeruginosa
P <sub>E</sub>	Prise d'essai
pH	Potentiel d'hydrogène

PVD	Dépôt physique en phase vapeur
ROS	Espèce réactives d'oxygène
Sol	Solution
S. Aureus	Staphylococcus aureus
S. Epidermidis	Staphylococcus Epidermidis
S. Tythimurium	Staphylococcus Tythimurium
T	Titre en ZnO
T°	Température
TiO <sub>2</sub>	Dioxyde de titane
TG/DTA	Analyse thermique. Thermogravimétrie et différentielle
TSA	Trypticase soja agar
UATR	Univers Réflexion totale atténuée
μg	Microgramme
μl	Microlitre
UV	Ultraviolet
UV-VIS	Ultraviolet-Visible
V	Volume
Zn	Zinc
ZnCl <sub>2</sub>	Chlorure de zinc
ZnCO <sub>3</sub>	Carbonate de zinc
Zn(C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	Acétylacétonate de zinc
ZnO	Oxyde de zinc
λ <sub>max</sub>	Longueur d'onde maximale

## INTRODUCTION GENERALE

La nanotechnologie représente un domaine scientifique et technique en plein essor. [1] Actuellement, le monde des nano connaît de multiples développements dans différents domaines à cause des propriétés physiques, chimiques, et biologiques des nanomatériaux. [2]

La nanonisation des produits est un facteur important dans les aspects économiques et aussi du côté médical/pharmaceutique, ce monde nous donne l'opportunité d'ouvrir de nouveaux horizons. [1]

Les nanoparticules sont appelées généralement particules contrôlées ou manipulées au niveau atomique. Les propriétés intrinsèques des nanoparticules métalliques telles que les NPs d'oxyde de zinc sont principalement caractérisées par leur taille, leur composition, leur cristallinité et leur morphologie. La réduction de la taille à l'échelle nanométrique peut modifier leurs propriétés chimiques, mécaniques, électriques, structurelles, morphologiques et optiques. [3]

Le ZnO à l'échelle nanométrique, a acquis une importance considérable au cours des dernières années en raison de leurs vastes éventails d'applications dans divers domaines de la science tels que les industries pharmaceutiques, électroniques, cosmétiques et médicales. [4] cependant, il présente des morphologies variables et constitue la famille des nanostructures la plus riche de tous les matériaux. [3]

L'oxyde de zinc de taille nanométrique montre une activité antibactérienne et antifongique significative sur un large spectre d'espèces bactérienne, [3] Des hypothèses sur l'utilisation des NPs de ZnO comme un nouvel agent antioxydant et anti-inflammatoire ont été émises lorsque ses derniers ont une taille nanométrique petite.

L'activité biologique des nanoparticules d'oxyde de zinc dépend principalement de leur taille, de leur surface et de la concentration de la nanoparticule. L'utilisation biomédicale des introductions de nanoparticules d'oxydes métalliques suscite l'intérêt des chercheurs en raison de leurs activités antibactériennes à faibles concentrations. [5]

## ***Introduction***

---

De nombreuses méthodes ont été décrites dans la littérature pour la production des nanostructures d'oxyde de zinc telles que, l'ablation laser, les méthodes hydrothermales, la méthode sol-gel, le dépôt chimique...etc. [6]

Pour cela l'objectif de notre étude est la synthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc, avec la méthode sol-gel, qui est une méthode simple, non coûteuse et basée sur des réactions chimiques. Elle nous a permis d'obtenir des poudres homogènes et assez fines. Ainsi, l'étude de la synergie de l'activité antibactérienne et antifongique pour montrer l'effet antibactérien des NPs de ZnO synthétisées et la valorisation de leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires.

Le présent document est organisé en deux grandes parties. La première est consacrée à la synthèse bibliographique sur les nanoparticules, en particulier les nanoparticules d'oxyde de zinc, leurs propriétés et activités microbiologiques et pharmacologiques avec des petits résumés sur quelques travaux scientifiques sur les NPs de ZnO.

La partie expérimentale de ce travail est présentée dans les chapitres trois et quatre.

Le troisième est consacré à la synthèse des NPs de ZnO ; nous présentons la démarche expérimentale, ainsi les techniques des caractérisations comme le FT-IR, DRX et MEB avec les méthodes d'études des effets antibactériens, antifongiques, antioxydants et anti-inflammatoires.

Le quatrième chapitre est basé sur la discussion des résultats des échantillons obtenus avec l'interprétation de chaque résultat.

Enfin une conclusion, qui est la dernière partie de ce travail, elle contient les principaux résultats obtenus, ainsi que les voies envisagées pour une suite d'étude plus approfondie.

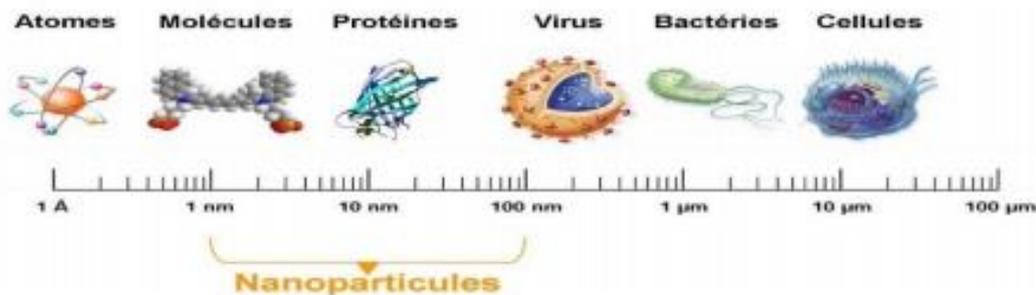
## CHAPITRE I : LES NANOPARTICULES

La nanotechnologie fait référence à un domaine scientifique émergent qui comprend la synthèse et le développement de divers nanomatériaux. Elles regroupent l'ensemble des techniques qui permettent de fabriquer, de manipuler et de caractériser la matière à l'échelle nanométrique. [7], [8]

### I.1. Définition

Une nanoparticule est également appelée particule ultrafine, est un assemblage de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, formant un objet de taille nanométrique.

Les nanoparticules sont définies comme des nano-objets (nanomatériaux) dont les trois dimensions sont à l'échelle nanométrique, tel que le diamètre est inférieur à 100 nanomètres. [9], [10]



**Figure I.1 :** Gamme de tailles des NPs

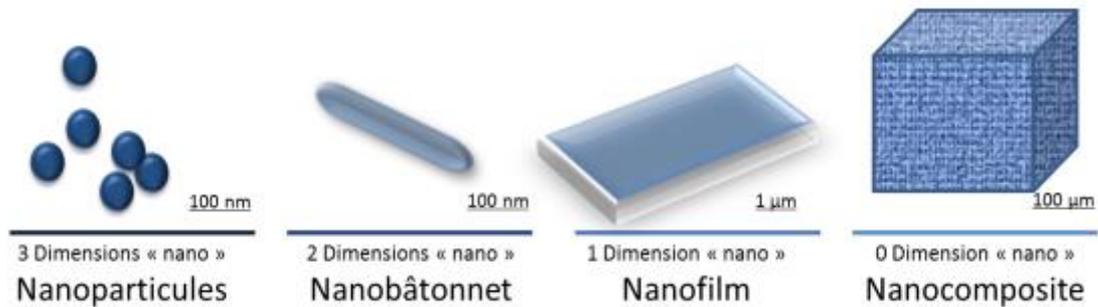
Selon la recommandation de la Commission Européenne du 8 Octobre 2011 :

Un nanomatériau est défini comme « un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm. » [8], [11], [12], [13]

Selon la norme ISO TS 80004-1 : 2015, modifié (pour ISO 2017)

« Un matériau dont au moins une dimension externe est à l'échelle nanométrique ou qui possède une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique. » [8], [11]

Les nano-objets peuvent être classés selon le nombre de dimension possédée à l'échelle nanométrique [14] comme montré dans la figure ci-dessous :



**Figure I.2 :** Classification des nano-objets selon leur degré de dimension nanométrique

Les nanoparticules ont la capacité, en fonction de leur design de :

- Changer la pharmacocinétique du médicament.
- Améliorer la solubilité du médicament.
- Fonctionner en tant que réservoirs de principe actif (dans le cas des formes à libération prolongée).
- Protection de la dégradation.
- Réduction de l'élimination. [15]

### I.2. Types des nanoparticules

Les nanoparticules sont classées en différents types sur la base de la morphologie, la taille et la forme. [16]

#### I.2.1. Nanoparticules céramique

Les nanoparticules de céramique sont également appelées solides inorganiques non métalliques, elles sont synthétisées par chauffage ou refroidissement successif ; elles peuvent être de forme poly cristalline, amorphe, poreuse, dense ou creuse. [16], [17]

### I.2.2. Nanoparticules biologiques ou bio nanoparticules

Les nanoparticules biologiques ou bios sont un assemblage d'atomes ou de molécules qui est préparé dans le système biologique ayant au moins une dimension dans la gamme de 1 à 100 nm. Toutes les bios nanoparticules sont des nanoparticules naturelles qui sont divisées en deux catégories : structure intracellulaire et structure extracellulaire. [16]

### I.2.3. Nanoparticules organiques

Les nanoparticules organiques sont également appelées nanoparticules polymères. La forme la plus connue des nanoparticules organiques ou polymères est la nano-sphère ou la nano-capsule, elles sont un choix idéal pour l'administration de médicaments en raison de ces caractéristiques. [16]

### I.2.4. Nanoparticules inorganiques

Les nanoparticules inorganiques sont des NPs qui ne possèdent pas d'atomes de carbone, elles ont les propriétés suivantes :

- Ne sont pas toxiques.
- Sont hydrophiles.
- Sont très stables que les substances organiques.

Les nanoparticules inorganiques sont classées en nanoparticules de métal et d'oxyde métallique. [16]

#### a) Nanoparticules métalliques

Les nanoparticules métalliques possèdent des propriétés opto-électriques uniques en raison des caractéristiques de résonance du plasma. [16], [18]

Les nanoparticules métalliques présentent des propriétés distinctives en raison de leur petite taille : propriétés de surface, la charge de surface, la taille des pores, la densité de charge de surface, la structure (cristalline et amorphe). [19] Les formes (sphériques, en bâtonnets, hexagonales, tétraogonales, cylindriques et irrégulières), la couleur et le facteur environnemental (lumière du soleil, humidité, air et chaleur). [16]

b) Nanoparticules d'oxyde métallique

Les oxydes métalliques sont généralement des semi-conducteurs, ce sont des composés chimiques acides, résultant de l'association d'atomes métalliques avec des atomes d'oxygène.

Nous pouvons classer les oxydes métalliques, soit selon la nature de la conduction par électrons ou par trous, ou selon que les oxydes métalliques sont simples ou complexes. [20]

Le but de la synthèse de nanoparticules d'oxyde métallique est de modifier la propriété de leurs nanoparticules métalliques respectives telles que les nanoparticules de fer sont oxydées en nanoparticules d'oxyde de fer.

La réactivité des nanoparticules d'oxydes de fer est augmentée par rapport aux nanoparticules de fer.

Les exemples de nanoparticules d'oxyde métallique sont l'oxyde de zinc, le dioxyde de silicium, l'oxyde de fer, l'oxyde d'aluminium, l'oxyde de cérium, l'oxyde de titane et la magnétite. [16]

**I.3. Caractéristiques des nanoparticules**

Les caractéristiques des nanoparticules sont très différentes de celles des atomes ou autres matériaux. Elles leurs sont spécifiques et nous permettent de les classées selon :

I.3.1. Taille

La taille joue un rôle très important dans la réactivité des particules ; grâce à la petite taille des nanoparticules, deux types de dispersion sont distingués :

- Mono dispersion : une seule et même taille
- Poly dispersion : une gamme de plusieurs tailles plus ou moins importantes. [11]

I.3.2. Forme

Les nanoparticules sont caractérisées par leurs diverses formes (sphériques, tubes, plaques...), généralement il est difficile de les classer à cause de leurs grands nombres. [11]

### I.3.3. Surface spécifique

La surface spécifique est la surface réelle totale d'une particule par unité de masse de produit par rapport à sa taille apparente.

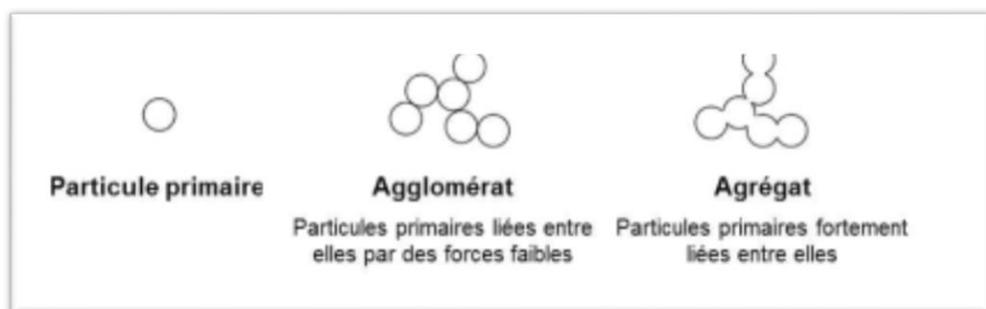
Les nanoparticules possèdent une propriété de réactivité avec le milieu où elles se présentent à cause de ce que la plupart de ces atomes se trouvent sur la surface.

Grâce à cette caractéristique, plus la surface spécifique augmente, plus la taille des particules diminue, donc, plus leur réactivité chimique et biologique augmente. [11]

### I.4. Agglomération des nanoparticules

Les nanoparticules peuvent se présenter sous trois formes grâce à leur surface particulière et selon le milieu dans lequel elles se trouvent :

- Nanoparticules primaires.
- Agrégats : ce sont des liaisons des nanoparticules primaires par des liaisons chimiques très fortes telles que les liaisons de covalence.
- Agglomérats : ce sont des liaisons de nanoparticules primaires par des liaisons très faibles telles que les liaisons de Van Der Waals. [11]



**Figure I.3 :** Différentes formes de regroupement des NPs

L'agglomérat est un amas friable de particules ou d'agrégats dont la surface externe globale correspond à la somme des surfaces de ses constituants individuels [21], dans un agglomérat les nanoparticules sont faiblement liées entre elles et sont faciles à séparer. [22]

L'agglomération correspond à un état instable des particules en suspension. La première étape de l'agglomération est la formation de doublets de particule qui engendrent par la suite de plus gros agglomérats. [23]

Les particules ultrafines ont une forte tendance à s'agglomérer et forment des agrégats de dimensions parfois micrométriques qui peuvent agir vis à vis des cellules comme une microparticule unique de structure poreuse si les forces d'attractions entre particules sont fortes. [24]

Les agglomérats sont liés entre eux par des forces relativement faibles (forces de Van der Waals), qui deviennent prédominantes pour des agglomérats secs. Une contrainte d'agglomération peut alors être définie, celle-ci dépendant de ces forces mais aussi de la taille des particules, des agglomérats ou encore de la dimension fractale. [25]

### **I.5. Procédés de synthèse des nanoparticules**

Diverses méthodes peuvent être employées pour la synthèse des NPs, ces méthodes sont globalement divisées en deux classes principales à savoir : Approche ascendante en réduisant la taille de microsystèmes existants et Approche descendante en créant des structures à l'échelle atomique ou moléculaire. Ces approches se divisent en outre en diverses sous-classes en fonction du fonctionnement, des conditions de réaction et des protocoles adoptés. [18], [26]

#### **I.5.1. Approche descendante**

Le procédé « Top-Down » est issu de la microélectronique. [8] C'est une approche destructive en partant d'une molécule plus grosse, qui s'est décomposée en unités plus petites, puis ces unités sont converties en NPs appropriées. [18]

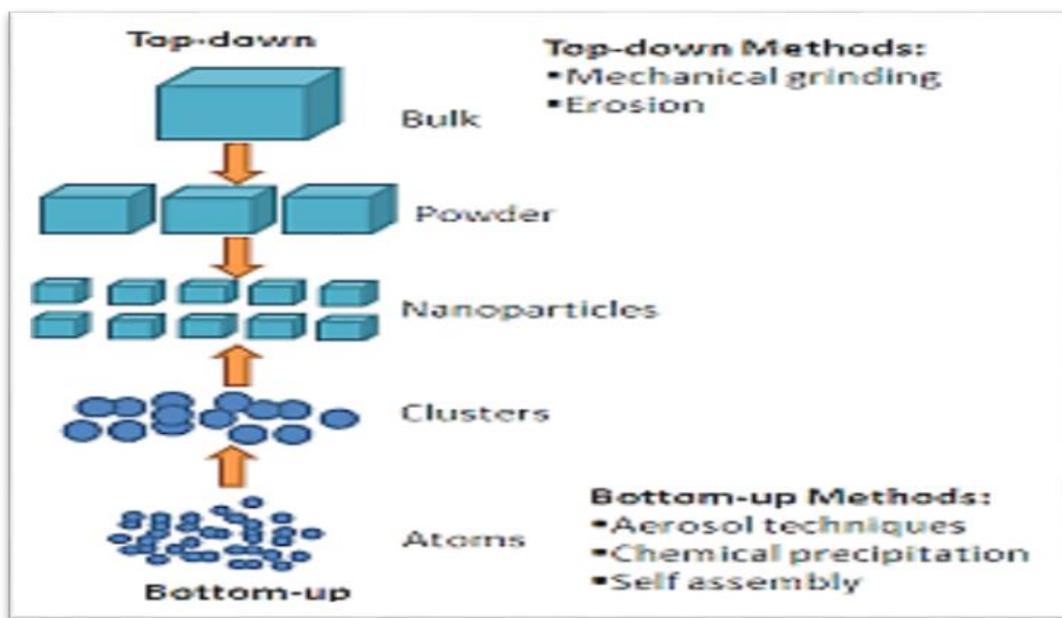
Cette approche englobe les méthodes physiques de la synthèse des NPs tel que :

- Le broyage
- Dépôt physique en phase vapeur (PVD)
- Dépôt chimique en phase vapeur (CVD) : En 2000, Kashiwara et al ont préparé avec succès par la méthode CVD à la pression atmosphérique des films de ZnO en utilisant de l'acétylacétonate de zinc ( $Zn(C_5H_7O_2)_2$ ) et de l'oxygène comme précurseurs. [27]

I.5.2. Approche Ascendante

Le procédé « Bottom-Up » est une approche constructive, dont les NPs sont formées à partir de substances relativement plus simples. [18]

Cette approche contient les méthodes chimiques de la synthèse des NPs car elles partent de molécules et utilisent les atomes métalliques, elles ont aussi l'avantage d'être simple, peu coûteuse en termes d'instrumentations avec des températures de synthèse assez basse et présentent la possibilité de dopage d'atomes ou ions étrangers lors de la synthèse. [28]



**Figure I.4:** Procédés « Top-Down » et « Bottom-Up »

Parmi les méthodes chimiques on trouve, à titre d'exemple :

a) Par précipitation

De nombreuses publications font état de la synthèse de NPs de ZnO de 2 à 3 nm par précipitation. [29]

Il s'agit en général d'une réaction de précipitation par ajout d'une base à une solution d'un sel de zinc. L'oxyde de zinc a pu ainsi être préparé par ajout de KOH à une solution aqueuse d'acétate de zinc. [30]

### **b) Méthode hydrothermal**

La synthèse a procédé hydrothermal a lieu dans un autoclave seulement et ne nécessite ni l'utilisation de solvants organiques ni aucun traitement supplémentaire du produit, comme le broyage ou la calcination.

Ce procédé présente de nombreux avantages comme la possibilité de réaliser la synthèse à basse température, l'obtention de diverses formes et tailles de cristaux en fonction de la composition du mélange de départ, de la température du procédé et de la pression, le produit synthétisé possède un haut degré de cristallinité, et la matière obtenue est pure. [30]

### **c) Méthode « Sol-gel »**

La méthode « Sol gel » a été adoptée pour la réalisation de notre travail, c'est pour cela qu'on a suggéré important de la présentée dans ce chapitre.

Ce procédé s'effectue dans des conditions dites de chimie douce, c'est un processus de polymérisation inorganique analogue à la polymérisation organique, plus connue.

La méthode « solution- gélification » est la méthode la plus utilisée pour la préparation des composés inorganiques et notamment les oxydes nano-structurés par hydrolyse de précurseurs métalliques, généralement des alco-oxydes en solution alcoolique ou des sels métalliques en solution aqueuse. [29], [30]

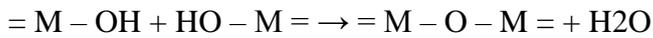
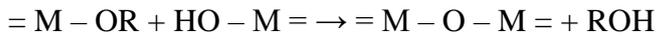
**Le sol :** l'abréviation de solution, est une suspension colloïdale, constitué d'une phase solide, de granulométrie comprise entre un nanomètre et un micromètre, dispersée dans un liquide. [31]

**Le gel :** est un état intermédiaire entre un liquide et un solide, qui se forme à partir d'un sol par augmentation de la concentration dispersée. La transition sol-gel est accompagnée d'un accroissement de viscosité, en créant un réseau tridimensionnel qui emprisonnera le solvant. [31]

Les synthèses par voie sol-gel commencent par une étape d'hydrolyse d'un alco-oxyde, selon la réaction : 
$$= M - OR + H_2O \rightarrow = M - OH + ROH$$

Où M est un cation métallique et R un groupe organique alkyl.

Cette étape est suivie d'une étape de condensation pour former un réseau covalent, dit gel, selon deux types de réactions :

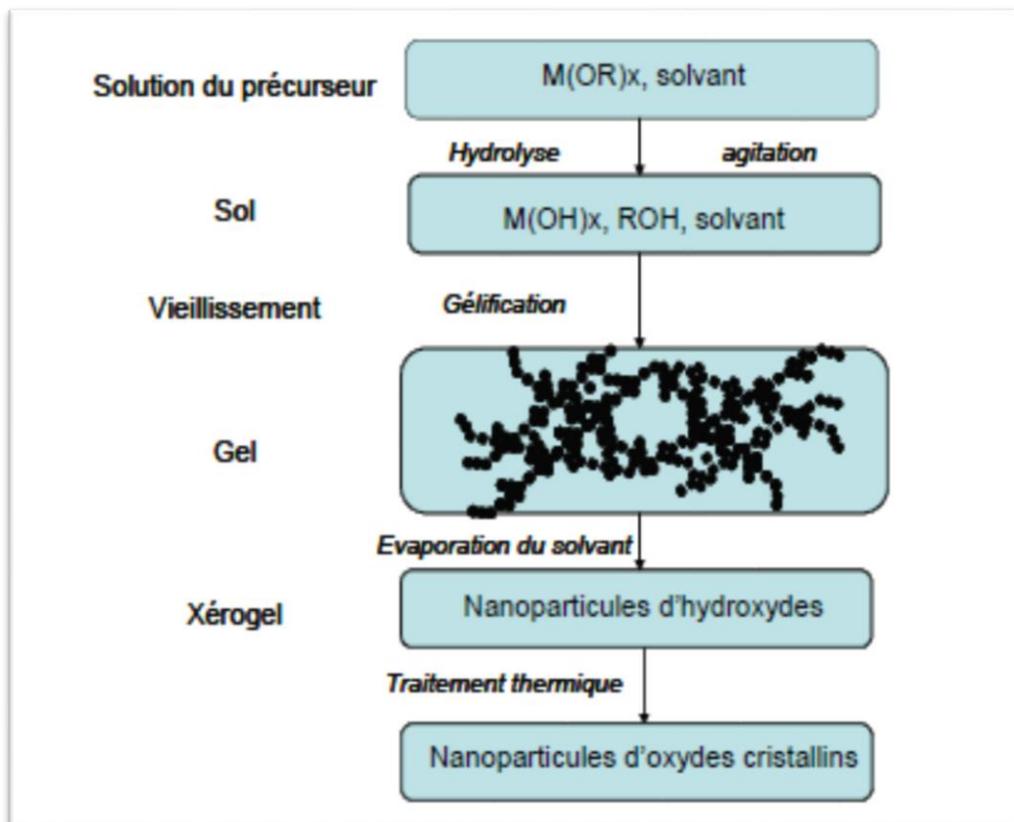


L'étape de séchage du gel aboutit à une poudre solide (xérogel).

La dernière étape est la déshydratation du gel à haute température pour obtenir l'oxyde métallique.

Dans le cas où la poudre ainsi obtenue est amorphe, l'augmentation de la cristallinité est assurée par un traitement thermique prolongé et peut être suivie par diffraction aux rayons X. [30]

La Voie « sol gel » donne des résultats reproductibles et autorise un certain contrôle de morphologie lors que tous les paramètres sont fixes de manière judicieuse. L'ajout de surfactants permet un contrôle efficace de la morphologie des nanoparticules. [29]



**Figure I.5** : Procédé générale d'obtention d'oxyde métallique par la méthode « Sol-gel »

## **I.6. Toxicité des nanoparticules**

La toxicologie est la science qui mesure la capacité d'une substance chimique à provoquer des effets nocifs et mauvais sur les organismes vivants. [32]

Plusieurs NPs possèdent des effets toxicologiques dépendent de nombreux paramètres physico-chimiques tel que : composition chimique, taille, forme, structure...etc.

Chaque nanoparticule possède un profil toxicologique qui lui est propre. Actuellement peu de connaissances sont disponibles sur leurs effets sur l'être humain. Mais des études laissent suspecter l'éventualité d'avoir d'effets inflammatoires, respiratoires, cardiovasculaires ou neurologiques. [8]

## CHAPITRE II : NANOPARTICULES D'OXYDE DE ZINC

### « Propriétés et activités microbiologiques et pharmacologiques »

#### II.1. Introduction

Ces dernières années, de nombreuses méthodes ont été décrites dans la littérature pour la production de nanostructures de ZnO en tant que matériaux céramiques importants utilisés dans des secteurs industriels complètement différents tels que les médicaments, les matériaux cosmétiques, et les micro-organismes opposés. [33]

Les nanoparticules d'oxyde de zinc sont un oxyde de métal, fonctionnel, stratégique, prometteur et polyvalent avec une large gamme d'application ; il peut être utilisé en toute sécurité comme médicament, conservateur dans l'emballage et agent antimicrobien. [34], [35]

Les NPs de ZnO sont considérés comme un semi-conducteur avec une conductivité électrique et piézoélectrique unique et par conséquent sont très efficace pour bloquer les rayons UV. [35], [36]

#### II.2. Oxyde de zinc

L'oxyde de zinc est un composé chimique inorganique de formule « ZnO ». Il se présente généralement sous forme de poudre inodore, de couleur blanche, appelée « zinc blanc » ou « blanc de zinc ». Il est présent dans la nature sous forme de zincite minéral comportant souvent du manganèse et ayant une coloration jaune à rouge. [32]

Il est utilisé généralement comme additif dans de nombreuses applications, telles que la fabrication de verres, de céramiques, dans la composition d'aliments. Il est également largement utilisé pour traiter une variété d'autres affections cutanées dans des produits tels que le talc pour bébé et les crèmes protectrices pour traiter les éruptions cutanées, la crème de calamine, les shampooings antipelliculaires et les onguents antiseptiques. [37]

### **II.3. Historique de ZnO**

Au cours du 12<sup>e</sup> siècle, les premières usines de manufacture d'oxyde de zinc sont créées. En commençant par l'Inde, la technologie va alors se déplacer en Chine pour ensuite s'étendre jusqu'en Europe au cours du 17<sup>e</sup> siècle.

Au 19<sup>e</sup> siècle, les pharmaciens chimistes utilisaient ses propriétés antibactériennes et antiseptiques pour des préparations médicales ou d'hygiène. [38]

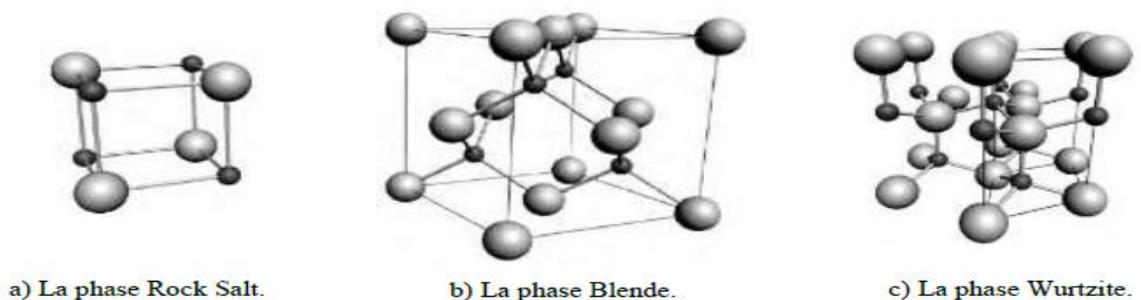
Aujourd'hui, sa forte capacité d'absorption des rayons UV en fait un ingrédient incontournable des crèmes solaires. [38]

L'oxyde de zinc, est un matériau abondant sur terre et non toxique, il est également de faible coût contrairement à d'autres matériaux comme l'ITO et le TiO<sub>2</sub>. [39]

### **II.4. Propriétés de ZnO**

#### II.4.1. Structure cristalline

L'oxyde de zinc, connu sous le nom de zincite à l'état naturel, possède trois phases cristallographiques différentes selon les conditions d'élaboration : la structure Würtzite hexagonale, la structure zinc blende et la structure rocksalte cubique. [39], [40]



**Figure II.1 :** Représentation des trois structures cristallines de ZnO

La structure de ZnO la plus stable thermodynamiquement est hexagonal Würtzite. Elle cristallise selon la structure hexagonale compacte, où chaque atome de zinc est entouré de quatre atomes d'oxygène situés aux sommets d'un tétraèdre. [41]

La structure cubique, est instable et qui apparaît sous des pressions élevées et la structure Rock –Salt apparaît sous des pressions très élevées. [39]

### II.4.2. Propriétés physico-chimiques de ZnO

L'oxyde de zinc pur se trouve sous forme de poudre blanche.

Le ZnO est thermo chromique, sa couleur change du blanc au jaune lorsqu'il est chauffé à l'air et il revient blanc par le refroidissement. Ce changement de couleur est causé par une faible perte d'oxygène à des températures élevées. [42], [43]

Pour garder la transparence, et donc des bonnes propriétés optiques il faut alors éviter l'utilisation à très fortes températures.

**Tableau II.1** : Caractéristiques physico-chimiques de ZnO [44], [45], [46]

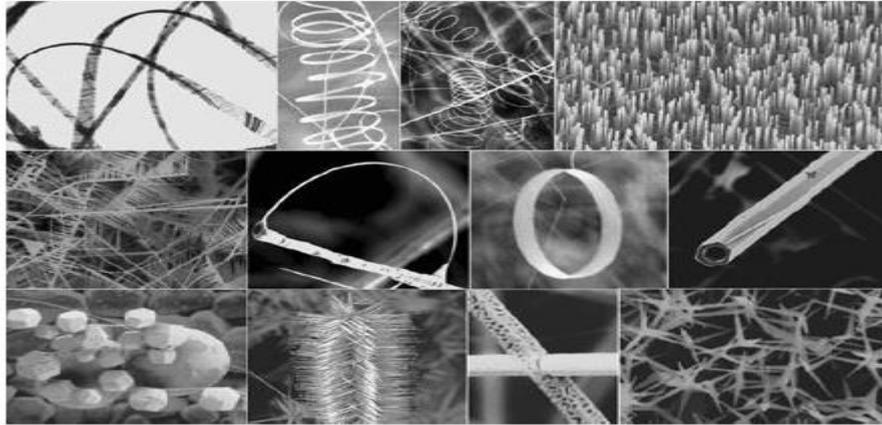
Formule brute	ZnO
Solubilité	- Insoluble dans l'eau. - Soluble dans l'acide acétique et forme l'acétate de zinc de forme $Zn(C_2H_3O_2)_2$ . - Soluble dans l'acide chlorhydrique et forme $ZnCl_2$ .
Masse molaire	81.37
Température de fusion	1975 °C
Densité	5.606g/cm <sup>3</sup>
Force de liaison chimique O-Zn	66Kcal/mol
Pression de vapeur à 1300°C	200 N/m <sup>2</sup>
Température de vaporisation	1370 °C à 1400 °C
Température d'ébullition	2360 °C

## **II.5. Propriétés des NPs de ZnO**

### II.5.1. Propriétés structurales

Les propriétés physiques d'un matériau changent lorsque leur taille atteint des dimensions nanométriques, sous l'effet du confinement quantique induit par la diminution de taille. [42]

Le ZnO constitue probablement la famille des nanostructures la plus riche de tous les matériaux ; les différentes structures de nanoparticules qui ont été réalisées à partir de la poudre de ZnO sont les nanocoms, les nanorings, les nanosprings, les nanobows, les nanobelts, les nanowires et les nanocages. [47]



**Figure II.2 :** Différentes familles de nanostructures

### II.5.2. Propriétés optiques

Les propriétés d'émissions des nanoparticules de ZnO dépendent fortement de la méthode de synthèse employée. Car, ces propriétés sont associées à des défauts de surface. [42], [47]

### II.5.3. Propriété électrique et électronique

Les nanoparticules de ZnO présentent un intérêt dans des nombreux domaines comme l'élaboration des capteurs photosensibles dans l'ultraviolet des capteurs chimiques ou de laser émettant dans l'ultraviolet.

Les propriétés électriques de ZnO deviennent intéressantes lorsqu'on passe du massif à l'échelle nanométrique. [42] En générale, les propriétés électroniques des nanoparticules sont profondément modifiées et dépendent de la taille, de la forme et de l'état de surface des nanomatériaux. Les caractéristiques électroniques des nano cristaux semi-conducteurs sont dues à leur très faible taille qui induit un effet de confinement des excitations optiques.

Les nanomatériaux possèdent une grande densité de défauts de structure (défauts ponctuels, joints de grains, dislocations...), ce qui modifie leur structure atomique,

électronique et influence les propriétés de transport de ces matériaux : conductivité électrique et diffusion atomique. [42], [47]

## **II.6. Utilisation des nanoparticules de ZnO**

Le zinc est un oligo-élément essentiel qui joue un rôle très important dans la fonction biologique de l'organisme. De plus, le zinc sous forme de NPs augmentera son absorption et sa biodisponibilité dans l'organisme. [48]

Le ZnO à l'échelle nanométrique a montré des propriétés antimicrobiennes et des applications potentielles dans la conservation des aliments. [49]

Il a été démontré que les NPs de ZnO possèdent une vitesse de dissolution plus élevée, elles sont légèrement plus solubles que sa forme normale. [50]

Aujourd'hui, les NPs de ZnO sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques et antibactériennes dans la fabrication des préparations médicamenteuses et cosmétiques. [51]

L'oxyde de zinc est un ingrédient très répandu dans l'univers de la beauté car il possède de nombreuses fonctions. Il est utilisé comme antibactérien pour lutter contre la prolifération des bactéries que ce soit sur la peau ou dans les formulations. Il est aussi intégré dans les soins pour peaux grasses ou à imperfections car il aide à réguler la production de sébum, il absorbe aussi l'humidité. [51]

## **II.7. Activités liées aux nanoparticules d'oxyde de zinc**

### II.7.1. Activité antibactérienne et antifongique

Les nanomatériaux en tant qu'antibactériens sont très prometteurs et suscitent un grand intérêt car ils pourraient combler les lacunes là où les désinfectants par exemple ont une activité limitée.

Les nanomatériaux antimicrobiens actuellement utilisés (c'est-à-dire les métaux, les oxydes métalliques) présentent une diversité de propriétés de composition chimique intrinsèques et modifiées. [28]

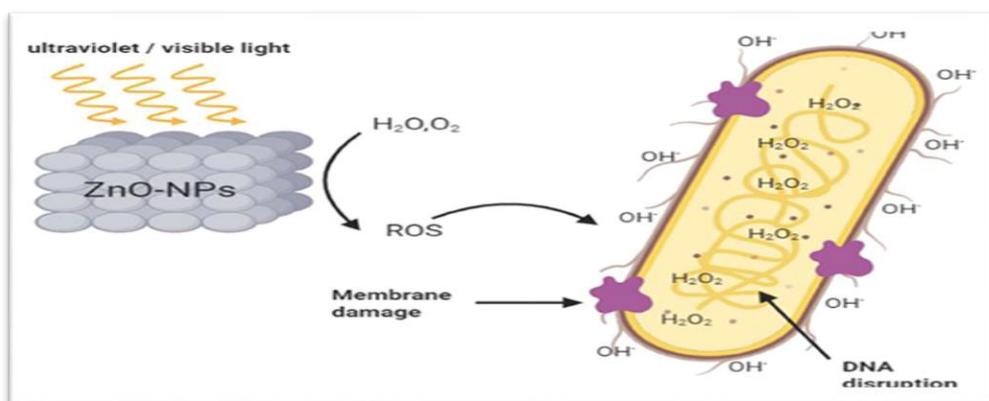
Les nanoparticules de ZnO sont actuellement considérées comme les plus promoteurs agents antibiotiques (activité antifongique) nanométriques en raison de leurs propriétés uniques. [52]

Il a été démontré que les nanoparticules de ZnO avaient une large gamme d'activités antimicrobiennes et antifongiques contre divers micro-organismes. De plus, il a été démontré que les nanoparticules de ZnO inhibent la croissance des souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline (MSSA), de *S. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) et de *S. epidermidis* résistant à la méthicilline (MRSE) et se sont révélées être des agents bactéricides efficaces. [28]

- Mécanisme d'action antibactérienne et antifongique des NPs de ZnO

Divers mécanismes probables concernant l'action antibactérienne et antifongique des NPs de ZnO ont été déjà proposés dans la littérature. Cependant, il a été rapporté que les NPs de ZnO endommagent d'abord la membrane cellulaire, puis y pénètrent. [42]

La fixation des NPs sur la membrane cellulaire est une première étape vitale pour les mécanismes antibactériens et antifongiques du ZnO. Actuellement, le consensus d'interaction résulte des forces électrostatiques entre les NPs de ZnO et la membrane bactérienne. Une fois que les NPs de ZnO se fixent à la membrane cellulaire, des "piqûres" se produisent dans la membrane en raison de la formation de ROS, qui endommagent fatalement la structure pariétale. La ROS a été corrélée à la taille des particules, à la surface et à la cristallinité. Les propriétés antimicrobiennes du ZnO augmentent au fur et à mesure que la surface augmente et que la taille des particules et la cristallinité diminuent. [28]



**Figure II.3: Mécanisme de ROS**

Les conclusions majeures concernant les effets des NPs de ZnO en poudre sur les bactéries et les levures peuvent être résumées :

- Les NPs de ZnO sont efficaces contre les deux types de bactéries, à Gram positif et à Gram négatif ; également, les NPs de ZnO détruisent les spores bactériennes, même ceux résistants à haute pression et à haute température ainsi les levures.
- Les nanoparticules de ZnO de plus petite taille ont une activité antibactérienne et antifongique plus forte.
- Le mécanisme d'action peut y aller à la formation des radicaux libres à la liaison des NPs de ZnO aux membranes et parois bactériennes par les forces électrostatiques. [53]

### II.7.2. Activité antioxydante

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. [54]

La surproduction de radicaux libres entraîne dans les dommages oxydatifs conduisant à une gamme de maladies chroniques telles que, cancer, diabète et inflammation, donc l'apport antioxydant offre une protection contre les dommages causés par les radicaux libres. [55]

Les antioxydants luttent contre le stress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire. [54]

### II.7.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation joue un rôle très important dans la pathogenèse de diverses maladies comme l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme et le cancer. Le Manque d'anti-inflammatoire provoque le besoin de développer de nouvelles molécules pour la gestion des maladies inflammatoires troubles.

La nanotechnologie a émergé comme un domaine de recherche merveilleux au cours de la dernière décennie en raison de ses propriétés améliorées que ses homologues en vrac.

Les NPs de ZnO permettent au Zn d'être facilement absorbé à travers les membranes biologiques en raison de sa taille à l'échelle nanométrique. Le mécanisme anti-inflammatoire dépend de la taille et la forme des NPs de ZnO. [56]

### **II.8. Quelques travaux scientifiques sur les NPs de ZnO**

Plusieurs travaux ont été réalisés sur la synthèse et l'évaluation des effets antibactériens et antifongiques des NPs de ZnO, on citera à titre d'exemple :

- Roberta C. de Souza et al., « Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by solochemical process »

L'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité antibactérienne des ZnO-NPs contre pathogènes humains d'origine alimentaire : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*. La synthèse a été réalisée par un procédé solo chimique qui se base sur une réaction entre une solution de précurseur contenant de zinc et une solution alcaline. Les ZnO-NPs ont été caractérisées par TEM et DRX et ont été identifiés comme des nanotiges d'une longueur comprise entre 90,1 et 100 nm et d'une structure cristalline de type Würtzite. Les ZnO-NP produites avaient une activité antibactérienne importante sur les différentes souches. Pour cela, l'auteur a proposé qu'ils soient incorporés dans des matériaux d'emballage pour augmenter la sécurité microbienne et la durée de conservation des aliments en inhibant la croissance bactérienne. [57]

- R. MERAAT et al., « Synthesis and Characterization of the Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against *Salmonella typhi* »

Dans cette étude, des NPs de ZnO ont été synthétisées à l'aide d'une méthode sol-gel à basse température. La caractérisation a été réalisée DRX, MET et FTIR. Les résultats par DRX montrent la structure Würtzite hexagonale des nanoparticules avec une taille de grain comprise entre 38 et 43 nm. Les images par MET présentent une forme polyédrique des nanoparticules synthétisées. L'activité antimicrobienne des NPs de ZnO contre *Salmonella typhi* PTCC 1609 montre que ces derniers ont une activité antimicrobienne très efficace contre *Salmonella typhi*. Cette activité augmente en réduisant la taille des nanoparticules et en augmentant leur contenu dans le milieu de croissance bactérien. [58]

- HAMID REZA GHORBANI et al., « Synthesis of ZnO Nanoparticles by Precipitation Method »

Dans cette étude, la synthèse des NPs de ZnO a été réalisée par une méthode simple « par précipitation », en utilisant le nitrate de zinc et la solution d'hydroxyde de potassium. La caractérisation a été faite par UV-Vis, MET et DLS. Les nanoparticules de ZnO présentaient un pic caractéristique de résonance plasmodique de surface à environ 372 nm. La distribution granulométrique par la technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS) a montré que les particules sont dans la plage de  $30 \pm 15$  nm. [59]

- S.R. SENTHILKUMAR, T. SIVAKUMAR, « Green tea (*Camellia sinensis*) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities »

Dans cette étude, la synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) a été réalisée en utilisant l'extrait aqueux de feuilles de thé vert (*Camellia sinensis*). La caractérisation a été réalisée par différentes techniques, La DRX a révélé des pics bien définis correspondant à la structure Würtzite hexagonale des nanoparticules de ZnO. La taille moyenne des nanoparticules calculée à l'aide des données du DRX était de 16 nm. La méthode de diffusion en puits d'agar a été utilisée pour étudier les activités antibactériennes et antifongiques sur des espèces pathogènes sélectionnées. Le ZnO NPs synthétisé a montré des activités antimicrobiennes meilleures que celle obtenues avec un médicament commercialisé. [60]

- Takuya Tsuzuki and Paul G. McCormick, « ZnO nanoparticles synthesised by mechanochemical processing »

Le traitement mécano-chimique implique l'activation mécanique de réactions de déplacement à l'état solide à basse température dans un broyeur à boulets. Le broyage de poudres conduit à la formation d'une structure composite à l'échelle nanométrique des matériaux de départ qui réagissent pendant le broyage ou le traitement thermique ultérieur pour former des nanocristaux séparés de la phase souhaitée au sein d'une matrice solide. De telles particules nanocomposites formées mécano-chimiquement peuvent être davantage transformées en nanopoudres dispersées simplement par élimination sélective de la phase matricielle.

Dans étude l'auteur a synthétisé des NPs de ZnO via la réaction mécano-chimique suivante :



Le traitement thermique des poudres broyées à 400°C a conduit à la décomposition thermique du ZnCO<sub>3</sub>, résultant en des nanoparticules de ZnO intégrées dans la matrice de NaCl.

La caractérisation des NPs de ZnO a été réalisée par DRX, TEM, BET, ATG et ATD. La taille des particules de ZnO synthétisé était de 10 à 40nm. [61]

- Haritha Meruvu et al., « Synthesis and characterization of zinc oxide Nanoparticles and its antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* »

L'objectif de ce travail est de synthétiser des NPs de ZnO avec une méthode chimique par précipitation ; en utilisant l'acétate de zinc, carbonate d'ammonium et polyéthylène.

La caractérisation a été réalisée par MEB et DRX, les NPs de ZnO synthétisées était de forme sphérique avec une taille compris entre 30 à 63 nm.

L'activité antibactérienne des NPs de ZnO a été réalisée sur les souches bactérienne *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*, en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Ces deux souches bactériennes ont été sélectionnées car elles sont très contagieuses. La synergie des NPs de ZnO avec les antibiotiques a montré une amélioration de l'activité antibactérienne sur ces souches bactériennes connues comme souches très contagieuses. [62]



## CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

### III.1. Introduction

L'oxyde de zinc est connu par sa large utilisation dans plusieurs domaines. Le but de notre travail est la valorisation des NPs de ZnO dans le domaine pharmaceutique. Pour se faire, on a suivi la démarche suivante :

- Synthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc par la méthode sol-gel.
- Caractérisation des NPs de ZnO par différentes techniques, à savoir : IR, DRX sur poudre et MEB-EDX.
- Contrôle physico-chimique des NPs de ZnO synthétisées.
- Etude de l'effet antibactérien et antifongique des NPs de ZnO et un antibiotique.
- Evaluation de la synergie de l'activité antifongique des NPs de ZnO avec un antibiotique.
- Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des NPs de ZnO.

Les matériels et les méthodes utilisés seront présentés ci-dessous.

### III.2. Réactifs et matériels

Les réactifs utilisés n'ont subi aucune purification préalable. Ce sont les réactifs disponibles au niveau du Centre de recherche et Développement du GROUPE SAIDAL ; lieu de réalisation de notre stage pratique.

#### III.2.1. Réactifs

- Acétate de zinc dihydraté

L'acétate de zinc se présente sous forme de cristaux blancs ou sensiblement blancs et brillants, légèrement efflorescents ou sous forme d'une poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche avec une légère odeur acétique et goût astringent.

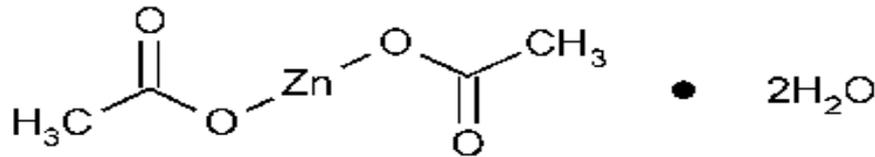
**CAS N°** [5970-45-6]

**Formule brute** :  $C_4H_6O_4Zn.2H_2O$

**Masse molaire** : 219.5 g/mol

**Autres dénominations :** Acide acétique sel de zinc, dicarbométhoxy zinc, acétate de zinc (II), diacétate de zinc, éthanoate de zinc.

**Solubilité :** Facilement soluble dans l'eau et soluble dans l'éthanol à 96%. [45] [64]



**Figure III.1 :** Structure chimique de l'acétate de zinc dihydraté

En générale, l'acétate de zinc est utilisé dans le milieu industriel comme un agent émoullient, un stabilisateur d'émulsion et un agent gélifiant.

Dans le domaine pharmaceutique, l'acétate de zinc a été utilisé comme excipient dans une variété de formulations pharmaceutiques, y compris les gels topiques, les lotions et solutions et injections sous-cutanées. Sur le plan thérapeutique, l'acétate de zinc a été utilisé dans des capsules orales pour le traitement de la maladie de Wilson. [65]

- Acide oxalique dihydraté

L'acide oxalique dihydraté, se présente sous forme de cristaux blancs ou sensiblement blancs ou sous forme de poudre cristalline blanche ou cristaux incolores.

**CAS N°** [6153-56-6]

**Formule brute :**  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

**Masse molaire :** 126.07

**Autres dénominations :** Acide éthanedioïque dihydraté.

**Solubilité :** Facilement soluble dans l'éthanol à 96 %, partiellement soluble dans l'eau (12,5% en poids à 25°C). [45] [65] [66]



**Figure III.2 :** Structure chimique d'acide oxalique dihydraté

Chauffé, l'acide oxalique se décompose, à partir de 160°C, en acide formique, en monoxyde et dioxyde de carbone et en eau.

Les solutions aqueuses d'acide oxalique sont sensibles à l'action de l'air et de la lumière, avec formation de dioxyde de carbone. L'acide oxalique peut réagir de façon dangereuse avec les oxydants puissants. [65]

- Xylénolorange

Le Xylénolorange se présente sous forme de poudre cristalline rouge-brun.

**CAS N°** [3618-43-7]

**Formule brute** :  $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$

**Masse molaire** : 761,0 g/mol

**Autres dénominations** : 3,3'-(3 H-2,1-Benzoxathiol-3-ylidene) bis[(6-hydroxy-5-méthyl-3,1-phenylene) méthylèneiminobisacétate] de tétrasodium S, S-dioxyde.

**Solubilité** : soluble dans l'eau. [45]

- Hexaméthylènetétramine

L'Hexaméthylènetétramine se présente sous forme d'une poudre cristalline incolore.

**CAS N°** [100-97-0]

**Formule brute** :  $C_6H_{12}N_4$

**Masse molaire** : 140,2

**Autres dénominations** : Hexamine. 1,3,5,7-Tetraazatricyclo [3.3.1.1<sup>3,7</sup>] -decane

**Solubilité** : Très soluble dans l'eau. [45]

- EDTA 0,1 M

EDTA sel disodique dihydraté est un chélateur de cations divalents. Il inhibe les enzymes, telles que les métalloprotéases, qui nécessitent des cations divalents pour l'activité. Il est également utilisé dans de nombreux tampons enzymatiques et comme inactivateur enzymatique à des concentrations élevées.

**CAS N°** [6381-92-6]

**Formule brute** :  $C_{10}H_{18}N_2Na_2O_{10}$

**Masse molaire** : 372,24

**Autres dénominations :** Sodium di ethylenediamine tetraacetate dihydrate, ethylenediamine tetraacetic acid, disodium salt dihydrate, ethylenediamine tetraacetic acid, disodium salt, standard solution, sodium di ethylenediamine tetraacetate standard solution, ethylenedinitrilo tetraacetic acid disodium, dihydrate. [67]

### III.2.2. Matériels

**Tableau III.1 :** Matériels utilisés pour la synthèse, la caractérisation et le contrôle des NPs de ZnO

Désignation	Marque
Balance analytique	METTLER TOLEDO
Agitateur magnétique	VELP
Étuve de séchage	MEMMERT
Four à moufle	Nabertherm
Dessiccateur	/
Spectromètre d'adsorption dans l'infrarouge	PERKIN ELMER
Diffractomètre des rayons X sur poudre (DRX)	BRUKER AXS D8 ADVANCE
Microscope électronique à balayage (MEB-EDX)	QUANTA 650 FEI
Hotte à extraction (Sorbonne)	Exosafe

### **III.3. Synthèse des nanoparticules d'oxyde de Zinc**

Plusieurs procédés de synthèse des nanoparticules sont décrits dans la littérature. La méthode « sol-gel » a été choisie pour la fabrication des NPs de ZnO, étant donné qu'elle est faisable à l'échelle laboratoire et ne demande pas des équipements et moyens particuliers.

La synthèse des NPs de ZnO est réalisée comme suit :

**Solution 01 :** Dans une fiole de 100 ml, on dissout X g d'acétate de zinc dihydraté dans de l'eau distillée. La solution est mise sous agitation jusqu'à dissolution de toutes les particules puis on complète au trait de jauge avec l'eau distillée.

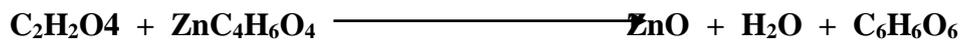
**Solution 02 :** On introduit dans une autre fiole de 100 ml, Y g d'acide oxalique qu'on dissout avec de l'eau distillée sous une agitation magnétique, on complète ensuite au volume avec l'eau distillée.

**Figure III.3 :** Solution d'acétate de  
Zinc dihydraté

**Figure III.4 :** Solution d'acide oxalique  
dihydraté

Dans un bécher, on verse la solution 01 (d'acétate de zinc), et on ajoute goutte à goutte la solution 02 (d'acide oxalique) sous une agitation magnétique.

La réaction chimique est la suivante :



**Figure III.5 :** Préparation sol-gel de ZnO

Une solution dense blanche se produit. On maintient l'agitation magnétique pendant 30min.

A la fin on couvre la solution et on la laisse au repos pendant une nuit.

**Figure III.6 :** Formation de la solution dense d'acétate de zinc et d'acide oxalique

Le lendemain la solution obtenue est filtrée sur un papier filtre, avec réalisation du rinçage l'eau distillée.

**Figure III.7 :** Récupération du précipité ZnO

Après filtration, on passe à l'étape de séchage du précipité obtenu dans une étuve à 100°C, jusqu'à masse constante.

Ensuite, on place la poudre dans un creuset et on la met dans un four à moufle à une température connue pendant un temps bien précis.

On sort notre creuset et on laisse refroidir dans un dessiccateur, par la suite on broie la poudre à l'aide d'un mortier. La poudre obtenue est conservée dans un flacon étanche.

### **III.4. Caractérisation des nanoparticules de ZnO**

#### III.4.1. Par Infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique largement utilisée pour la caractérisation et l'identification de la plupart des molécules existantes, ainsi un outil polyvalent permettant l'analyse qualitative et quantitative de nombreuses espèces moléculaires. [68]

#### Principe

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR : Fourier Transformed Infrared spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle repose sur le principe que chaque molécule vibre en permanence à une fréquence qui dépend du type de liaison et des atomes qui la composent. Suivant les types de liaisons et de fonctions chimiques présentes dans le milieu, un spectre infrarouge caractéristique de l'échantillon ou de sa surface analysée est obtenu. [69] [70]

#### Mode opératoire

L'appareil utilisé est de marque PERKIM ELMER, Spectrum two.

L'échantillon a été déposé dans le porte-échantillon de l'équipement et analysé sans traitement particulier en utilisant le mode ATR de l'équipement IR utilisé.

#### III.4.2. Par Diffraction des rayons-X sur poudre (DRX)

La diffractométrie des rayons X sur poudre (DRX) est une technique basée sur la diffraction des rayons X par la matière. [40]

Elle est réalisée sur des échantillons solides cristallisés possédant un arrangement périodique ordonné. Elle permet :

- D'identifier facilement les phases cristallisées présentes par comparaison avec des bases de données.
- De déterminer plusieurs paramètres structuraux tels que les paramètres de maille, les positions cristallographiques des atomes, la taille et l'orientation des cristallites constituant le matériau. [47]

#### Principe

Cette méthode utilise un faisceau de rayons X incident, de longueur d'onde connue, qui rencontre le cristal provoquant la dispersion du faisceau lumineux dans des directions spécifiques. Par la mesure des angles et de l'intensité des rayons réfractés, il est possible d'obtenir une image tridimensionnelle de la densité électronique dans le cristal.

A partir de cette densité, on obtient 2 types d'informations :

- Informations Structurales : Paramètres de maille, distribution des atomes.
- Informations microstructurales : Taille des grains. [29]

#### Mode opératoire

L'appareil utilisé est de marque BRUKER AXS D8 ADVANCE.

L'échantillon est déposé dans le porte-échantillon de l'équipement et analysé sans traitement particulier.

#### III.4.3. Par Microscopie électronique à balayage (MEB-EDX)

La microscopie électronique à balayage MEB (ou « Scanning Electron Microscopy » SEM) est une technique puissante d'observation et de caractérisation des surfaces. Elle permet d'obtenir des images avec un pouvoir séparateur souvent inférieur à 5 nm et une grande profondeur de champ. [71]

#### Principe

Son principe de travail est basé sur l'interaction électron-matière lorsqu'en envoi le faisceau d'électron sur l'échantillon, les particules et les rayonnements qui reviennent de l'échantillon sont collecté par les détecteurs pour constituer l'image de la morphologie de l'échantillon. [47]

L'instrument permet de former un pinceau quasi parallèle, très fin (jusqu'à quelques nanomètres), d'électrons fortement accélérés par des tensions réglables de 0,1 à 30 kV. Des détecteurs appropriés, détecteurs d'électrons spécifiques, complétés par des détecteurs de photons, permettent de recueillir des signaux significatifs lors du balayage de la surface et d'en former diverses images significatives. [71]

#### Mode opératoire

L'échantillon a été déposé dans le porte-échantillon de l'équipement et analysé sans traitement particulier.

L'appareil utilisé est de type QUANTA 650 FEI, Allemagne.

### **III.5. Contrôle physico-chimique des NPs de ZnO**

#### III.5.1. Aspect des nanoparticules d'oxyde de zinc

##### Mode opératoire

La poudre des NPS de ZnO obtenue a été observée visuellement (à l'œil nu).

**Spécification** : Poudre lisse, cristalline et légère, de couleur blanche à blanc jaunâtre.

#### III.5.2. Teneur des nanoparticules d'oxyde de zinc

Le contrôle de la teneur en ZnO a été effectué conformément au protocole décrit dans la Pharmacopée Européenne 10<sup>ème</sup> édition, 2020.

Mode opératoire

On dissout 0,150 g d'oxyde de zinc dans 10 ml d'acide acétique dilué.

Dans un erlenmeyer de 500 ml, on introduit la solution préparée et on complète à 200 ml avec l'eau distillée. On ajoute environ 50 mg de mélange composé au xylénolorange et de l'hexaméthylènetétramine et 2 g d'hexaméthylènetétramine en excès.

On effectue le titrage du zinc par la méthode de complexométrie. On titre la solution par l'EDTA 0,1M jusqu'à virage du rose-violet au jaune.

1 ml d'édétate de sodium 0,1 M correspond à 8.14 mg de ZnO.

Préparation des solutions

- Acide acétique dilué : On dilue 12 g d'acide acétique glacial dans 100 ml d'eau distillée.
- Mélange composé au xylénolorange : On mélange 20 mg de xylénolorange avec 1,98 g de nitrate de potassium.

**Figure III.8** : Titrage du zinc par complexométrie

**Spécification** : La teneur est de 99,0 % à 100,5 % (substance calcinée).

### **III.6. Etude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc et un antibiotique « Evaluation de la synergie NPs ZnO/Antibiotique »**

Le but de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des NPs de ZnO synthétisées ainsi que l'effet de synergie de ces derniers.

L'objectif est de déterminer la sensibilité des microorganismes (bactéries et levures) dans les différents échantillons testés.

La méthode utilisée est la méthode de diffusion sur milieu gélosé, appelée également la méthode de l'antibiogramme standard. Cette technique consiste à imprégner les échantillons à tester sur des disques en papier buvard stérile de 9 mm.

L'évaluation de l'activité antibactérienne est basée sur la détermination de la zone d'inhibition en mesurant les diamètres.

Les tests ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie du CRD SAIDAL (Alger).

#### III.6.1. Choix des souches microbiennes

- **Bactéries**

Le choix des bactéries s'est porté sur des souches de bactéries fréquentes en pathologie humaine, appartenant à deux catégories, à savoir : Gram positive et Gram négative.

**Tableau III.2 :** Généralités sur les différentes souches bactériennes utilisées [72]

Les souches bactériennes de référence testées sont des lots d'ATCC, elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance.

- **Levures**

Le choix des levures s'est porté sur des espèces connues pour leur pathogénicité.

**Tableau III.3 :** Différentes levures utilisées dans l'étude de l'activité antifongique

Souche	Famille	ATCC
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	10231
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		9763

- **Milieux de culture**

- Mueller-Hinton gélosé (MH)
- Milieu TSA (Trypticase soja agar)
- Milieu sabouraud

### III.6.2. Mode opératoire

Tout le matériel utilisé a été stérilisé dans l'étuve à 180 °C pendant 1 h 30.

- Revivification des souches

A partir du milieu de conservation, chaque souche microbienne est revivifiée dans 5 ml de bouillon nutritif puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures.

A partir de chaque bouillon, on ensemence une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre contenant de la gélosé Trypticase Soja Agar pour les bactéries que l'on incube à 37°C pendant 18 à 24 heures et le Sabouraud pour les levures que l'on incube à 25°C pendant 48 heures.

- Préparation de la première couche du milieu (Gélose Mueller Hinton)

On commence par liquéfier les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud dans un bain marie à une température de 95°C. Puis on verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de Pétri identifiées (volume de 15 ml à 20 ml par boîte).

On laisse le milieu se refroidir et se solidifier sur la paillasse.

- Préparation de l'inoculum

On réalise des suspensions, à partir d'une culture jeune de 18 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures, en prélevant plusieurs colonies bien isolées qu'on dépose dans 5ml d'eau physiologique stérile puis on agite.

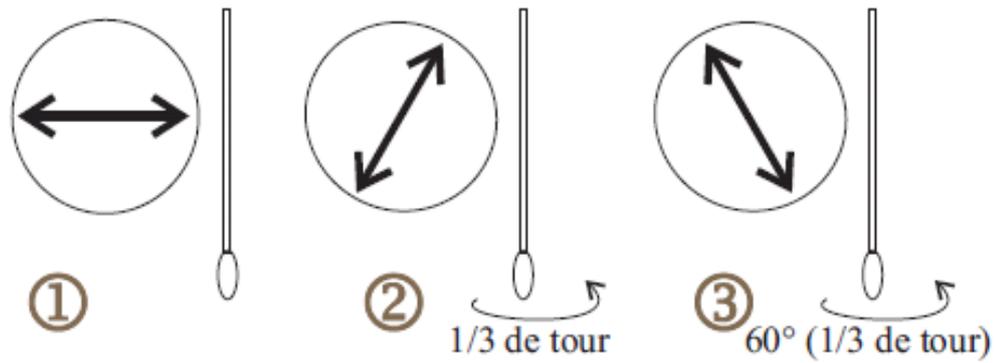
Une première lecture de la densité de la suspension est effectuée à l'aide d'un Spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 620 nm.

L'absorbance qui doit être comprise entre 0.2 à 0.3 pour les bactéries, et entre 2 à 3 pour les levures, ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes/ml.

Si le résultat obtenu est supérieur à la concentration préconisée, on procède à la dilution de la suspension avec de l'eau physiologique. Sinon on ajoute de colonies à la suspension, dans le cas où le résultat obtenu est inférieur à la concentration préconisée.

- Préparation de la deuxième couche

- Imbiber l'écouvillon dans la suspension microbienne puis l'essorer dans la paroi du tube.
- Ensemencer toute la surface du milieu, 3 passages à orientation décalée de 60° pour la boîte de Pétri et l'écouvillon, en réalisant des stries serrées.
- Passer l'écouvillon sur le bord de la gélose afin que toute la surface soitensemencée.



**Figure III.9 :** Ensemencement en stries en 3 quadrants

- Préparation des échantillons

#### Suspensions des NPs de ZnO

On prépare des suspensions des NPs de ZnO avec l'eau distillée, ayant les concentrations suivantes : 2 mg/ml, 4 mg/ml et 6 mg/ml.

#### Suspension d'antibiotique

On prépare une suspension d'un antibiotique avec l'eau distillée, ayant une concentration de 50 mg/ml. Ce qui correspond à une quantité de 2500 µg.

**Figure III.10 :** Suspension d'antibiotique

Suspension de « ZnO NPs / ATB »

On prépare une suspension du mélange « ZnO/Antibiotique » avec l'eau distillée, l'agitation est maintenue pendant 1 heure. La solution obtenue est laissée au repos pendant toute la nuit.

Le lendemain, on procède à la centrifugation de la solution. Le précipité obtenu est dilué avec l'eau distillée. La quantité déposée correspond à 500µg en NPs de ZnO et 2500 µg en ATB.

- Dépôt des disques et incubation

On prélève aseptiquement le disque absorbant stérile de 9 mm à l'aide d'une pince stérile.

On imbibe le disque absorbant stérile avec 50 µl de la suspension à tester.

On dépose les disques sur la gélose préalablement ensemencée par les souches de référence, en les disposants d'une manière à avoir les différentes concentrations du même échantillon dans la même boîte de Pétri.

On laisse les boîtes de Pétri sur la paillasse pendant 30 min, pour diffusion sur le milieu gélosé.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures.

NB : Vu la consistance de la suspension de « ZnO NPs / Antibiotique », la technique des puits a été adoptée.

- Lecture des résultats

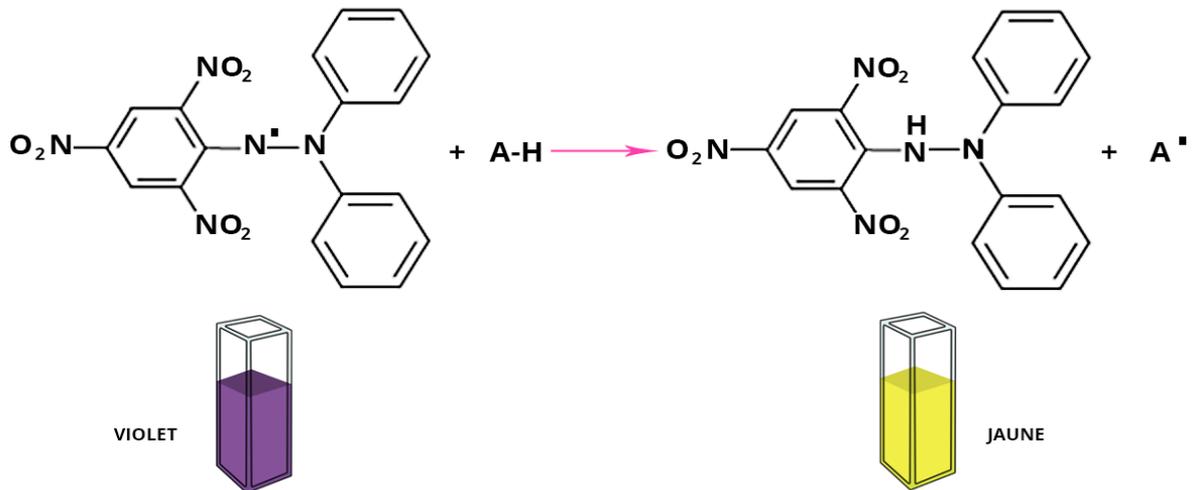
L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition de zone claire autour du disque. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition observé et ce, à l'aide d'un pied à coulisse.

### **III.7. Activité antioxydante des nanoparticules d'oxyde de zinc**

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir anti-radicalaire des molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle. Il mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotomètre UV-Vis à 517 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  DPPH°).

La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant. [73]



**Figure III.11 :** Mécanisme de réduction de radical DPPH (Décoloration de la solution du DPPH du violet au jaune)

### Mode opératoire

L'étude de l'activité antioxydante in vitro est réalisée par la méthode de piégeage de DPPH, en utilisant la spectrophotométrie UV-Vis.

### Solution des NPs de ZnO :

On prépare une solution mère des NPs de ZnO diluée dans le méthanol.

A partir de la solution mère, on prépare 07 concentrations différentes en NPs ZnO diluées dans le méthanol.

### Solution de DPPH

On introduit une quantité de Z g du DPPH dans le méthanol.

#### Préparation de la gamme

Dans des tubes à essai, on introduit un volume de chaque concentration des NPs de ZnO avec un volume de la solution DPPH.

Les mélanges sont incubés, à température ambiante, pendant 30min à l'abri de la lumière.

A l'aide du spectrophotomètre UV-Vis, on procède à la lecture des différentes solutions de DPPH et des NPs de ZnO. La lecture est effectuée à la longueur d'onde 517 nm.

L'estimation de l'activité anti radicalaire est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (%I) calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% IC = 100 \times \frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0}$$

Avec

$Abs_0$  : Absorbance de la solution DPPH.

$Abs_1$  : Absorbance de la solution des NPs de ZnO

La courbe donnant la variation du taux d'inhibition (%I) en fonction des différentes concentrations des NPs de ZnO, permet de déterminer la Concentration Inhibitrice à 50% « IC 50 ».

#### **III.8. Activité anti-inflammatoire des nanoparticules d'oxyde de zinc**

L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle, ou une réaction de défense immunitaire de l'organisme qui se développe suite à une lésion tissulaire provoquée par des facteurs physicochimiques (irradiations, brulure, traumatismes mécaniques...) ou des infections microbiennes (bactériennes, virales ou parasitaire). [74], [75]

#### Principe

Les structures spatiales des protéines (conformation) sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme. La protéine spécifique de la dénaturation de l'activité anti inflammatoire est l'albumine sérique bovine (BSA) qui est une protéine de réserve, globulaire, soluble dans l'eau. [76] Les BSA représentent environ 60% des toutes les protéines du sérum animal. [77] Il subit

une dénaturation en 2 étapes la première est lors de l'étape du chauffage, tel qu'il se déplie et prend sa forme spécifique, on dit qu'elle est déployée. La deuxième étape de la dénaturation consiste au passage de l'état déployé à un état dénaturé par établissement de liaisons secondaires non spécifiques. [78]

#### Mode opératoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire est réalisée in vitro par UV-Vis, en utilisant le Sérum de l'Albumine Bovine » (BSA).

#### Solution des NPs de ZnO :

On prépare une solution mère des NPs de ZnO diluée dans un solvant approprié.

A partir de la solution mère, on prépare 05 concentrations différentes en NPs ZnO.

#### Solution de Diclofenac sodique :

On prépare une solution mère de Diclofenac sodique diluée dans un solvant approprié.

A partir de la solution mère, on prépare 05 concentrations différentes en Diclofenac sodique.

#### Solution de BSA

On introduit une quantité de Z g de l'albumine bovine dans de l'eau distillée.

#### Préparation de la gamme

Dans des tubes à essai, on introduit un volume connu de chaque concentration des NPs de ZnO avec un volume connu de la solution BSA et d'une solution tampon de phosphate saline.

Les mélanges sont incubés, à une température de 37°C pendant 15 min puis à 70°C pendant 5 min.

A l'aide du spectrophotomètre UV-Vis, on procède à la lecture des différentes solutions. La lecture est effectuée à la longueur d'onde 660 nm.

L'estimation de l'activité anti-inflammatoire est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (% I) calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% I = 100 \times \frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0}$$

Avec

$Abs_0$  : Absorbance de la solution BSA.

$Abs_1$  : Absorbance de la solution des NPs de ZnO ou de Diclofenac sodique.

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats d'analyse des NPs de ZnO, synthétisées par la méthode sol-gel, seront présentés dans ce chapitre selon l'ordre suivant :

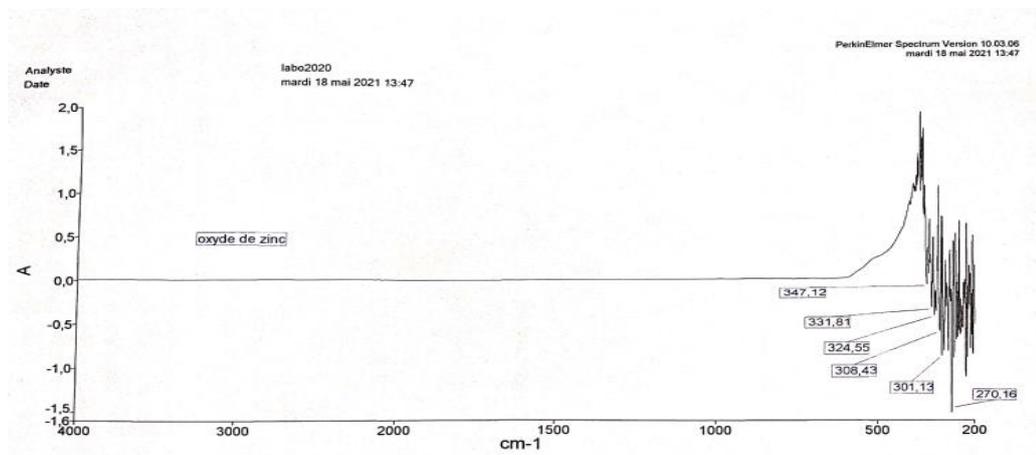
- Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de zinc synthétisées par la méthode sol-gel.
- Contrôle physico-chimie des nanoparticules d'oxyde de zinc synthétisées.
- Etude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc et d'un antibiotique.
- Evaluation de la synergie de l'activité antifongique des NPs de ZnO/Antibiotique.
- Evaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires des nanoparticules d'oxyde de zinc.

### IV.1. Caractérisation des nanoparticules d'oxyde de zinc

Les nanoparticules d'oxyde de Zinc, une fois synthétisées ont été caractérisées afin de s'assurer leur qualité. La caractérisation a été faite par différentes techniques d'analyse, à savoir :

#### IV.1.1. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

Les spectres IR des NPs de ZnO synthétisées et de ZnO commercialisé sont illustrés dans les figures ci-dessous :



**Figure IV.1** : Spectre IR des NPs de ZnO synthétisées

**Figure IV.2 : Spectre IR de ZnO commercialisé**

Discussion :

Des spectres présentés ci-dessus, on observe que le spectre IR des NPs de ZnO est comparable à celui de ZnO commercialisé. Selon la littérature la présence des bandes inférieures à  $1000\text{ cm}^{-1}$  correspond à la liaison M-O, ce qui confirme qu'il s'agit d'un « Oxyde métallique ».

L'absence d'autres bandes confirme que les NPs de ZnO synthétisées par la méthode sol-gel sont purs.

IV.1.2. Diffraction des rayons-X sur poudre (DRX)

L'analyse par diffractomètre à rayon X sur poudre a été réalisée sur la poudre des NPs de ZnO synthétisées et ce, afin de déterminer leur structure cristalline et leur taille des particules.

Le diffractogramme obtenu est présenté ci-dessous :

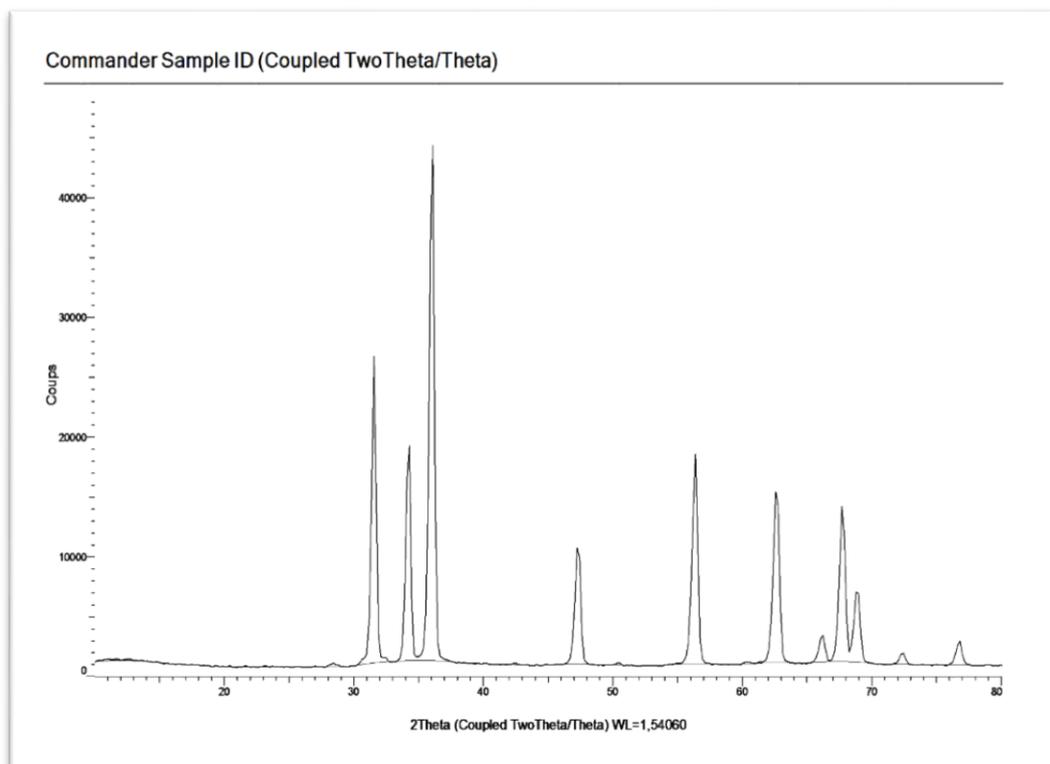


Figure IV.3 : Diffractogramme des NPs de ZnO synthétisées

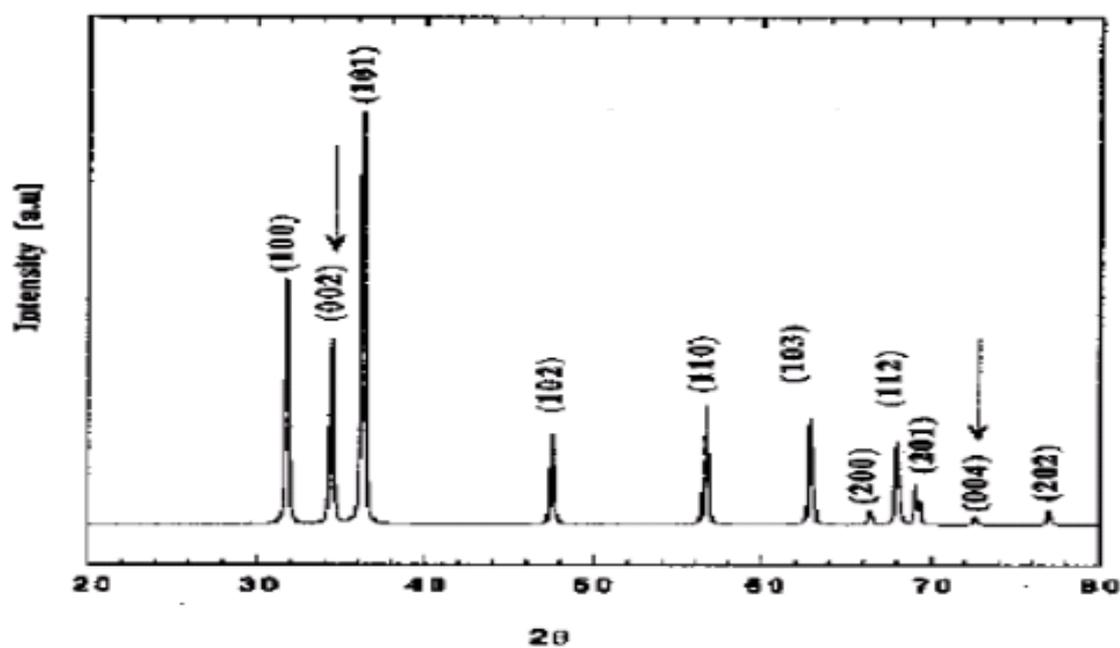


Figure IV.4 : Diffractogramme JCPDS, fiche N° 36-1451 de ZnO

La taille des particules des NPs de ZnO synthétisées a été déterminée par le logiciel du diffractomètre à rayon X, en utilisant l'équation de Scherrer « L » mentionnée ci-dessous.

$$L = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta}$$

Avec :

L : Taille des particules, exprimée en nanomètre ;

k : Facteur fonction de la forme des cristallitiaux ;

$\lambda$  : Longueur d'onde des rayons X utilisés, exprimée en nanomètre ;

$\beta$  : Largeur de la raie du profil vrai f, largeur à mi-hauteur ;

$\theta$  : Angle de diffraction de Bragg du pic en degré.

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous :

**Figure IV.5 :** Taille des particules des NPs de ZnO synthétisées

Discussion :

Le diffractogramme des NPs de ZnO présente onze pics qui correspondent à ceux illustrés dans le diffractogramme de référence, fiche N° 36-1451, du répertoire du « JCPDS ».

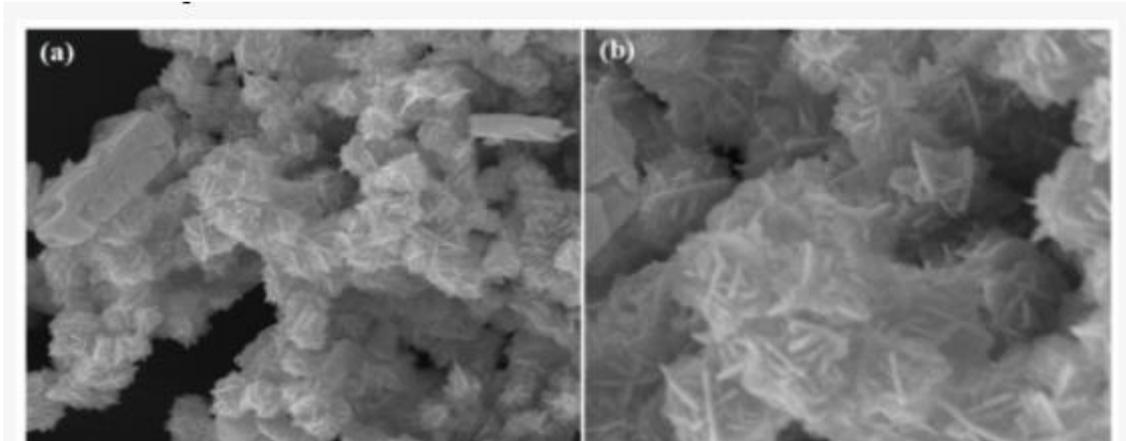
On peut conclure que les NPs de ZnO synthétisées par la méthode sol-gel ont une structure hexagonale de type wurtzite, groupe P63mc.

La taille des particules de ZnO synthétisées est présentée dans la figure IV.5. Il s'agit de ZnO nanoparticules dont la taille est de 25 nm.



Discussion :

Les images prises par Microscope électronique à balayage (MEB) correspondent à une structure de rose de sable des NPs de ZnO, ce qui est confirmé par la littérature de **Waheed Gul et al**, qui est présentée dans la figure ci dessous [79] :



**Figure IV.8 :** Agrandissement sous MEB qui représente la forme de rose de sable des NPs de ZnO présentée par Waheed Gul et al

La figure IV.7 obtenue à l'aide de l'EDX-MEB présente les éléments Zn et O, ce qui nous confirme le résultat obtenu par DRX. Il s'agit de ZnO, la présence du pic du « Carbone » est dû au revêtement de carbone sur la grille de l'appareil de DRX utilisé.

## **IV.2. Contrôle physico-chimie des nanoparticules d'oxyde de zinc**

### IV.2.1. Aspect des nanoparticules de ZnO

Les NPs de ZnO se présentent sous forme de poudre lisse, cristalline et légère, de couleur blanche à blanc jaunâtre et ce, conformément aux spécifications décrites dans la Pharmacopée Européenne 10<sup>ème</sup> édition.

**Figure IV.9 :** Aspect des NPs de ZnO

IV.2.2. Teneur des nanoparticules de ZnO

En appliquant le protocole décrit dans la Pharmacopée Européenne 10<sup>ème</sup> édition, le titrage du ZnO a été effectué par la méthode de complexométrie en présence de l'EDTA 0,1M jusqu'à virage du rose-violet au jaune. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

**Figure IV.10 :** Dosage par complexométrie des NPs de ZnO synthétisées

Formule de calcul :

$$T = \frac{V_t \times 8,14}{P_E} \times 100$$

Avec :

T : Teneur en ZnO, exprimée en pourcentage.

V<sub>t</sub> : Volume du titrant EDTA 0,1M.

$P_E$  : Prise d'essai de l'échantillon, exprimée en mg.

Résultat :

$$T_{ZnO} = \frac{18,4 \times 8,14}{150,1} \times 100$$

$$T_{ZnO} = 99,8\%$$

Discussion :

Selon la Pharmacopée Européenne 10<sup>ème</sup> édition, la teneur de ZnO pour usage pharmaceutique doit être comprise entre 99,0 % à 100,5 %. De ce fait, on peut conclure que les NPs de ZnO synthétisées par la méthode sol-gel ont une teneur qui répond aux spécifications de la Pharmacopée Européenne et sont pures.

**IV.3. Etude de l'effet antibactérien et antifongique des nanoparticules d'oxyde de zinc et un antibiotique « Evaluation de la synergie NPs ZnO/Antibiotique »**

IV.3.1. Étude de l'effet antibactérien des NPs de ZnO et d'un antibiotique

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau et la figure ci-dessous.

**Tableau IV.1 :** Activité antibactérienne des échantillons sur différentes souches

Souches		Echantillons			ZnO NPs		ATB	ZnO NPs/ATB
		100µg	200 µg	300 µg	2500µg	500µg/2500µg		
Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	14,5	15,5	15 *21	17 *22		
	<i>Escherichia coli</i>	10	11	12,5	24 *29	28		
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	11	12	13	35	37		
	<i>Bacillus subtilis</i>	12	13,5	14,5	36	41		

\*Présence d'un effet bactériostatique

**Figure IV.11** : Synergie des NPs de ZnO et de l'antibiotique sur *Bacillus subtilis*

### Discussion

A partir des résultats figurés dans le tableau ci-dessus, on remarque que :

En augmentant la concentration des NPs de ZnO, l'activité antibactérienne s'améliore sur les différentes souches.

L'activité antibactérienne des NPs de ZnO la plus importante est celle notée sur la souche gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* et la souche gram positif *Bacillus subtilis*.

L'antibiotique « ATB », choisi pour notre étude, présente une bonne activité antibactérienne sur les différentes souches, surtout sur les souches gram positif. Cette activité est améliorée légèrement en utilisant le produit composé des NPs de ZnO/ATB.

### IV.3.2. Étude de l'effet antifongique des NPs de ZnO et d'un antibiotique

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau et la figure ci-dessous.

**Tableau IV.2 :** Activité antifongique des échantillons sur deux levures

Souche \ Echantillons	ZnO NPs			ATB	ZnO NPs/ATB
	100µg	200 µg	300 µg	2500µg	500µg/2500µg
<i>Candida albicans</i>	10,5	11	12	13,5	22
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12 *18,5	13 *20	14 *22	12	24

\*Présence d'un effet fongistatique

**Figure IV.12 :** Effet de synergie des NPs de ZnO et de l'antibiotique sur *Saccharomyces cerevisiae*

### Discussion

L'activité antifongique des NPs de ZnO s'améliore en augmentant la concentration des NPs de ZnO, elle est plus importante sur la souche *Saccharomyces cerevisiae* que sur la souche *Candida albicans*.

L'antibiotique choisi pour notre étude a pratiquement la même activité antifongique sur les deux levures, à savoir : *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*.

A partir des résultats présentés dans le tableau ci-dessus, on observe que l'activité antifongique du produit composé des NPs de ZnO/ATB est nettement améliorée par

rapport à celle présentée sur chaque produit seul. Cela prouve l'effet de synergie entre les NPs de ZnO synthétisées et l'antibiotique choisi.

#### **IV.4. Évaluation de l'activité antioxydante des nanoparticules d'oxyde de zinc**

L'activité antioxydante a été réalisée in vitro par UV sur différentes concentrations des NPs de ZnO et ZnO commercialisé.

Les résultats sont présentés dans les figures ci-dessous.

**Figure IV.13 :** Profil de l'activité antioxydante des NPs de ZnO

**Figure IV.14 :** Profil de l'activité antioxydante de ZnO commercialisé

Discussion :

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en déterminant l'IC 50, qui représente la concentration nécessaire pour piéger 50 % des radicaux présents. Elle est calculée à partir de l'équation du graphe.

Les NPs de ZnO synthétisées présentent une activité antioxydante plus importante que celle obtenue avec le ZnO commercialisé. En effet, l'IC 50 de ZnO commercialisé est de 0,24µg/ml alors que celle des NPs dz ZnO synthétisées est de 0,14µg. Cela nous permet de conclure que le pouvoir antioxydant est meilleur en réduisant la taille des particules de ZnO.

**IV.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des nanoparticules d'oxyde de zinc**

L'activité anti-inflammatoire a été réalisée in vitro par UV sur différentes concentrations des NPs de ZnO et Diclofenac de sodium, dans le but d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre échantillon des NPs de ZnO.

Les résultats sont présentés dans la figure ci-dessous.

**Figure IV.15 :** Profil de l'activité anti-inflammatoire des NPs de ZnO et Diclofenac sodique

Discussion :

A partir des histogrammes présentés dans la figure ci-dessus, on observe que l'activité anti-inflammatoire obtenue avec les NPs de ZnO est meilleure que celle obtenue avec le diclofenac de sodium, substance connue depuis des années comme agent anti-inflammatoire.

Un pourcentage d'inhibition de 93% se présente avec une concentration faible des NPs de ZnO comparé à un pourcentage d'inhibition de 86% en utilisant le diclofenac de sodium.

Cela nous permet de conclure que notre échantillon des NPs de ZnO est plus actif que le diclofenac de sodium et plus efficace même à des concentrations très faibles.

Vu l'activité anti-inflammatoire intéressante de notre échantillon des NPs de ZnO comme agent pouvant empêcher la dénaturation des protéines, il est recommandé de l'utiliser pour le développement des médicaments anti-inflammatoires.

## *Conclusion*

L'échelle nanométrique est très intéressante dans le domaine pharmaceutique, du fait des propriétés remarquables (optiques, physiques, thermiques, chimiques...) permettent à ces nano-objets d'être utilisés en tant que vecteurs à des fins diagnostiques mais également comme médicaments à part entière.

Néanmoins, toutes les propriétés intéressantes des nanoparticules ne pourront jamais être exploitées sans la mise en place des méthodes de production efficaces, permettant de produire des nanoparticules de bonne qualité et en grandes quantités.

Au cours de ce travail, notre but était de synthétiser des nanoparticules d'oxyde de zinc avec une méthode chimique simple qui est la méthode « sol-gel » dont l'objectif était l'étude de la synergie des activités antibactérienne et antifongique avec la valorisation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires.

Les échantillons des NPs de ZnO synthétisées par la voie « sol-gel » ont été de poudre blanche inodore de taille nanométrique de 25 nm et une forme hexagonale Würtzite.

La caractérisation par FT-IR, EDX-MEB et DRX nous a confirmé que les NPs de ZnO synthétisées sont très pures et ne présentent aucun d'autres éléments.

Les NPs de ZnO possèdent des activités microbiologiques très intéressantes ; commençons par l'activité antibactérienne qui est présentée sur différentes souches bactériennes et qu'elle est plus importante sur les souches à gram positif.

Il existe une relation proportionnelle entre l'évaluation de l'activité antifongique et la concentration des NPs de ZnO ; il est prouvé que les NPs de ZnO présentent un effet antifongique très élevé qui s'améliore toujours par l'effet de synergie entre les NPs de ZnO et l'antibiotique choisi dans notre étude.

L'évaluation de l'activité antioxydante montre que les NPs de ZnO synthétisées présentent une activité antioxydante plus importante que celle obtenue avec le ZnO commercialisé avec

## *Conclusion*

---

une différence de 0,10 $\mu$ g/ml et cela veut dire que le pouvoir antioxydant s'améliore et devient plus important en réduisant la taille des particules de ZnO.

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire in vitro montre que notre échantillon des NPs de ZnO synthétisées est plus actif que le diclofenac de sodium et plus efficace même à des concentrations très faibles.

Ce modeste travail qui n'a pas été accompli à cause de facteur de temps, n'est qu'une initiation à la recherche et la valorisation dans le domaine des nano composites des ZnO.

Sur le plan économique, la synthèse des NPs de ZnO à été réalisée à l'aide d'un procédé de chimie douce qui ne nécessite pas d'installations complexes, cependant l'efficacité remarquable à très faible quantité d'oxyde de Zinc pourra mettre au point le développement des médicaments à base des NPs de ZnO.

## Références bibliographique

- [1] BELFENNACHE DJAMEL EDDINE « ELABORATION ET ETUDE DE NANOPARTICULES Au/TiO<sub>2</sub> ET Ag/TiO<sub>2</sub> » MÉMOIRE Présenté pour obtenir le Diplôme de Magister en Physique. (2012)
- [2] A. SINGH, et al « Study of structural, morphological, optical and electroluminescent properties of undoped ZnO nanorods grown by a simple chemical precipitation » *Materials Science-Poland*, 33(4), pp. 751-759, (2015)
- [3] Amna Sirelkhatim et al « Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism » *Nano-Micro Lett.* 7(3):219–242, (2015)
- [4] Benmya Rabab et al « État de l’art sur la synthèse verte de nanoparticules de ZnO » MÉMOIRE Présenté pour obtenir le Diplôme de Master (2020)
- [5] Bouakkaz Naima, et al « Activité antimicrobienne des nanopoudres (NPs) d’oxyde de zinc (ZnO) contre les germes des infections nosocomiales » MÉMOIRE Pour l’obtention du diplôme de Master en Biologie (2020)
- [6] Khaled Zhour « Elaboration et Caractérisation des nanopoudres de ZnO par Voie Chimique Sol-gel » Mémoire de fin d’étude en Master (2014)
- [7] Saba Hasan, « Une revue sur les nanoparticules : leur synthèse et types » (ISSN 2277-2502 *Res. J. Recent. Sci.*, (2015).
- [8] Nanomatériaux, nanoparticules. INRS. Santé de travail, P.4.7.14, (2020).
- [9] G. Chuto, et al « Revue générale Les nanoparticules », *Médecine Nucléaire* 34, 370–376 (2010).
- [10] <https://www.asef-asso.fr/production/les-nanoparticules-la-synthese-de-lasef/#:~:text=Certaines%20nanoparticules%20ont%20en%20effet,mol%C3%A9cules%20>

qui%20peuvent%20%C3%AAtre%20toxiques.&text=Chez%20l'animal%2C%20des%20ef  
fets,et%20les%20nanotubes%20de%20carbone.

[11] M. Alexandre WALLARD, « L'industrie des Nanoparticules dans le domaine de la santé » Mémoire de master, Université de Lille 2, faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS) Master Ingénierie de la Santé, (2018).

[12][https://controverses.minesparis.psl.eu/public/promo16/promo16\\_G14/www.controverses-minesparistech-3.fr/\\_groupe14/une-definition-debattue/index.html](https://controverses.minesparis.psl.eu/public/promo16/promo16_G14/www.controverses-minesparistech-3.fr/_groupe14/une-definition-debattue/index.html)

[13] Rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution (CPP), « Nanotechnologie – Nanoparticules : Quels dangers, quels risques ? », (2020).

[14] Andréa KURTZ-CHALOT « internalisation cellulaire et effets biologiques de nanoparticules fluorescentes de silice : influence de la taille et de la fonctionnalisation de surface » Pour obtenir le grade de Docteur de l'École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne (P.14 (2014)

[15] Svetlana Jordanovska, « Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique : comparaison des méthodes de fabrication », Sciences pharmaceutiques, (2015).

[16] Irfan Ijaz, et al « Revue de détail sur les produits chimiques, physiques et verts synthèse, classification, caractérisations et applications des nanoparticules », GREEN CHEMISTRY LETTERS AND REVIEWS, publier par Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group, (2020).

[17] Wolfgang Sigmund, et al., « Processing and Structure Relationships in Electrospinning of Ceramic Fiber Systems ». J. Am. Ceram. Soc, 89 (2), 395–407, (2006).

[18] Ibrahim Khan, et al « Revue : Nanoparticules : propriétés, applications et toxicités », Arabian Journal of Chemistry, 12, 908–931, (2019).

[19] Salavati-Niasari, et al « Synthesis and Characterization of Metallic Copper Nanoparticles via Thermal Decomposition » Polyhedron, V 27, I (17), 3514–3518, (2008).

[20] MEHADJEBI SARA « La synthèse des nano poudres de Cu O avec la méthode précipitation Sol-Gel en utilisant le précurseur CuSO<sub>4</sub> et l'étude de leurs propriétés structurales et optiques » MEMOIRE Présenté pour obtenir le diplôme de Magister en Physique, (2015).

[21] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé « Définition des nanomatériaux : Recommandations de la commission européenne » (2017)

[22] Marie-Thérèse Giorgio « Nanoparticule, nano-objet, nanomatériau, matériau nanostructure : définitions », La santé au travail, (atousanté.com), (2018).

[23] Sébastien Maillette « Agglomération et hétéroagglomération des nanoparticules d'argent en eaux douces » Mémoire en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.) en chimie (Université de Montréal Faculté des arts et des sciences, département de chimie (P.4 (2015)

[24] Marie-Thérèse Giorgio « Définition et propriétés des nanoparticules » La santé au travail, (atousanté.com), (2018).

[25] François Henry, et al « Ecoulements granulaires : approche rhéologique de l'agglomération des nanoparticules » HAL Id: ineris-00973650 P.2, (2014).

[26] Comité de la prévention et de la précaution « Nanotechnologies nanoparticules quels dangers, quels risques ? », Paris, Mai (2006).

[27] K.Haga et al., «High-quality ZnO films prepared on Si wafers by low-pressure MO-CVD », Thin Solid Films, 433, 131–134 (2003).

[28] Rania Dadi « Synthèse de nanoparticules d'oxydes métalliques et leur activité antibactérienne », Thèse de doctorat de l'université Paris 13 (HAL Id:tel-03119316), (2019).

[29] Charline Vaudour « les nanoparticules dans les produits cosmétiques : cas du TiO<sub>2</sub> et du ZnO », DESS DE COSMETOLOGIE, P.14.15, (2014).

[30] Mongia HOSNI, « Optimisation du Procédé Polyol pour la Synthèse de Nanoparticules d'Oxyde de Zinc : Mise à l'échelle du Procédé et Applications

Photovoltaïques », Thèse en co-tutelle Pour obtenir le grade de DOCTEUR, P.16.17.18.19 (2014).

[31] Arab Louiza, « Elaboration par différentes méthodes et étude optique de poudres nanocristallines de ZnO pur et dopé par différents oxydes », Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat en science physique, (2012).

[32] Organisation international du travail modules de formation à la sécurité chimique « 2. Qu'est-ce que la toxicologie ? » Approuvée par EC, (2004).

[33] Charline Vaudour « LES NANOPARTICULES DANS LES PRODUITS COSMETIQUES : CAS DU TIO<sub>2</sub> ET DU ZNO » MONOGRAPHIE, DESS DE COSMETOLOGIE (2014)

[34] Khwaja Salahuddin Siddiqi<sup>1</sup>, et al « Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes » Siddiqi et al. Nanoscale Research Letters P.2, (2018).

[35] Amna Sirelkhatim et al., « Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism » Nano-Micro Lett., (2015).

[36] TGA, Green Facts « Nanoparticule de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc dans les écrans solaires », Facts on Health and the Environment, (2017).

[37] Elhoucine Elouasbi « Nanomatériaux Dioxyde de Zinc. Généralités sur le ZnO L'oxyde de zinc est un composé chimique de formule « ZnO », SlidePlayer.fr Inc

[38]<https://laborantheme.easyparapharmacie.com/ingredients/oxyde-de-zinc/>, Laborantheme « L'Oxyde de zinc : l'allié des peaux à problèmes ».

[39] Noua BOUHSSIRA « Elaboration des films minces d'oxyde de zinc par évaporation et par pulvérisation magnétron et étude de leurs propriétés », Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat en sciences en physique », (2013).

- [40] M. Amara Saâd, « Caractérisation optique et structurale des couches minces d'oxydes complexes pour applications photoniques », Présentée à l'Institut d'Optique et de Mécanique de Précision Pour l'obtention du diplôme de Doctorat En Sciences, (2015).
- [41] Mansour BENDIMERAD, « Réalisation d'un capteur de gaz MOX » mémoire en ligne université sciences de la technologie d'Oran–magister de physique, (2009).
- [42] ELKAIEM Abdellah, « Contribution au Développement des Matériaux Nano-Composites à Base de ZnO et Polymère Etude Structural et Optique », Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de Magister en physique, (2015).
- [43] Jayanta Kumar Behera, « Synthesis and characterization of ZnO nano-particles », National institute of technology, rourkela-769008, ORISSA, INDIA. (P.1 (2008
- [44] Mohammad Vaseem, et al « ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Applications » (2010)
- [45] Pharmacopée Européenne 10èmé édition, (2020)
- [46] International Labour organization, Fiches internationales de sécurité chimique « Oxyde de zinc (Nanopaticules) » ICSC :1708, (2018).
- [47] Mr. HAFRI Salim, « Étude de la croissance des nanostructures de ZnO déposées par la technique spray ultrasonique », Thèse Pour l'obtention du diplôme de magister en physique, (2015)
- [48] Hidayat MohdYusof et al., « Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of Lactobacillus plantarum TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties », Scientific Reports, P.1 10:19996 (2020) |
- [49] Paula Judith Perez Espitia et al., « Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications », Food Bioprocess Technol, P.1 5:1447–1464, (2012).
- [50] SANT É ET CONSOMMATEURS, Comités scientifiques « Zinc oxide (nano form) » SCCS, (2012).

[51] Jessica Xavier, « L'Oxyde de zinc : un ingrédient multifonctions », Doctissimo, (2020).

[52] Qi Sun, Jianmei Li, et al « Zinc Oxide Nanoparticle as a Novel Class of Antifungal Agents: Current Advances and Future Perspectives » J. Agric. Food Chem., 66, 11209–11220, (2018).

[53] Jasmina VIDIC, « Nanoparticules pour des applications antibactériennes, antifongiques et antivirales », TECHNIQUES DE L'INGÉNIEUR, Réf : NM4060 v1 (2013).

[54] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-antioxydant-2995/>

[55] P.C. Nagajyothi et al., « Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using Polygala tenuifolia root extract », Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, (P.1) (2015).

[56] Happy Agarwal, et al « A review on anti-inflammatory activity of green synthesized Zinc Oxide nanoparticle: Mechanism-based approach» Bioorganic Chemistry, (P.1.2.10) (2019).

[57] Bruno AM Carciofi, « activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc synthétisés par un procédé solochimique », Braz. J. Chem. Eng. vol.36 no.2 São Paulo, (2019).

[58] Rafieh Meraat et al., « Synthesis and Characterization of the Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against Salmonella typhi », Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.), (2016).

[59] Hamid Reza Ghorbani, « Synthesis of ZnO Nanoparticles by Precipitation Method », Oriental Journal of Chemistry, 31(2):1219-1221, (2015).

[60] S.R. Senthilkumar, « Green tea (Camellia sinensis) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities », International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(6):461-465, (2014)

[61] T. Tsuzuki, et al « ZnO Nanoparticles Synthesized by Mechanochemical Processing », Scripta Materialia 44(8), (2001).

[62] Haritha Meruvu et al., « Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles and its antimicrobial activity against bacillus subtilis and Escherichia coli » Vol.4, No.1, 217-222 (2011).

[63] Arinjoy Datta et al., « Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Parthenium hysterophorus Leaf Extract and Evaluation of their Antibacterial Properties », J Biotechnol Biomater, (2017).

[64] Handbook of pharmaceutical excipients 6<sup>th</sup> Ed (P. 791; 792)

[65] INRS « Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES » Fiche toxicologique n°110. Acide oxalique – Edition septembre. (P.2) 2016

[66] ANSM « OXALIQUE (ACIDE) POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES » (P.1 (Pharmacopée française janvier 2017))

[67] <https://www.fishersci.fr/shop/products/edta-solution-0-1m-2/11953153/>

fisher scientific « EDTA solution de sel disodique 0.1 M, Chem-Lab » 11953153

[68] ÉCOLE TECHNIQUE SUPÉRIEURE DU LABORATOIRE « SPECTROSCOPIE IR en transmission et réflexion » Licence des Industries Pharmaceutiques, Cosmétologiques, et de Santé (P.5) 2020/2021

[69] Magamou GUEYE « CARACTERISATION PAR INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER DES REACTIONS CHIMIQUES ENTRE POST-DECHARGES ET PRECURSEURS ORGANOSILICIÉS : CAS DU 3-AMINOPROPYLTRIETHOXYLANE (APTES) » thèse de doctorat HAL Id: tel-01754637 (P.52 (2016))

[70] <https://www.lrccp.com/fr/qui-sommes-nous/moyens-dessais/item/spectrophotometrie-infrarouge-irtf>

[71] Jacky RUSTE « Microscopie électronique à balayage - Principe et équipement » technique de l'ingénieur ARTICLE DE RÉFÉRENCE | Réf : P865 v3 (2013)

[72] Metiaz Hadj et al « SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT À BASE D'EXTRAIT DES FEUILLES DE PLANTES ET ÉVALUATION DE LEUR ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE » mémoire de master ( P.36 (2020)).

[73]<http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe#:~:text=Il%20mesure%20la%20capacit%C3%A9%20d,DPPH%2DH%2C%20jaune%20p%C3%A2le>

[74] Taïba Iman, et al « Evaluation de l'activité anti inflammatoire, analgésique, antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale Algérienne *Salvia Officinalis*.L » Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master (P.2 (2017)

[75] Ibrahima DIALLO « Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture » THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER (P.42 (2019)

[76] AMMOURI Nassima, et al « ANALYSE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS DE FEUILLES DE *PISTACIA LENTISCUS* L » MÉMOIRE De fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques (P.36 (2016)

[77] M. Rangeela, et al « Anti-inflammatory activity of zinc oxide nanoparticles prepared using amla fruits » *Drug Invention Today* | Vol 11 • Issue 10 • 2019

[78] Saïd BERRADA, BIOCHIMIE APPLIQUÉE DANS LES FILIÈRES SBSSA « LES PROTÉINES : STRUCTURE, PROPRIÉTÉS ET APPLICATIONS TECHNOLOGIQUES » Académie de MONTPELLIER, Académie de DIJON (2009)

[79] Waheed Gul, et al « Characterization of Zinc Oxide-Urea Formaldehyde Nano Resin and Its Impact on the Physical Performance of Medium-Density Fiberboard » *Polymers*, 13(3), 371 (2021)