

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de nature et de la vie
Département des sciences biologiques



Mémoire
MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences Biologiques

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : *AFADJENE mohamed el amine*

GOUAMID hadjer

Thème

**La biosynthèse extracellulaire des nanoparticules d'oxyde de zinc
par bactérie et leurs applications.**

Soutenu publiquement

Le : 20/06/2023

Devant le jury :

Mme. Khallef Sakina

MCA (UKM Ouargla).

Présidente

Mr. Bouricha M'hamed

MCB (UKM Ouargla).

Examineur

Mr. Henni Abdellah

MCA (UKM Ouargla).

Encadrant

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Dieu tout puissant, qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions vivement Monsieur HENNI Abdellah pour avoir accepté de diriger et encadrer ce travail et pour l'encouragement et les nombreux conseils dont nous ont été bénéfiques.

Nous tenons à remercier Monsieur BOURICHA M'hamed d'avoir accepté d'examiner notre mémoire, et pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, ainsi que pour ses encouragements lors de la réalisation de ce travail.

Nous remercions également madame KHALLEF Sakina d'avoir Accepté la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.

Nos remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe de laboratoire CRAPC de l'Université Kasdi Merbah Ouargla. En particulier à son chef Monsieur BELKHALFA Hakim de nous avoir accueillis au sein du laboratoire

Dedécas

J'adresse mes remerciements par un grand respect et gratitude à mes très chers parents qui sont la lumière de ma vie, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

Et je le dédie à :

*Mes frère **mohamed, karim, masaoudi abdeldjabar, hassen***

Pour leurs conseils et leur encouragement

*A Mon binôme **wail** et les camarades de labo*

*A Mes amis et plus spécialement **Oumaima. Hind. Safa** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

A mes chers élèves et collègues pour l'ambiance familiale et chaleureuse.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Hadjer

DEDÉCAS

C'est grâce à Dieu «الله» le tout puissant qui m'adonné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail

A mon Père et ma très chère Mère pour leur encouragement continu, et leurs prières tout au long de ma vie scolaire et universitaire que Dieu vous donne la santé et la vie.

Et je le dédie à

*Mes frère **Abdelraouf, Zinou** et ma sœur **Doua el Batoul***

A tout ma famille

*À mon binôme **Hadjer**, À tous mes amis et plus spécialement **Aicha, Amine, anwar, Badis, Nour el islam, wail, Bachir, Dhia, Salim, Laid, Mohamed ali** et les camarades de labo **Maria, Amina, Rayan, Roua, Naima, Dounia, Nour** en particulier **Karima**.*

Vous avez tous contribué à m'aider et à m'encourager

*A mes camarades de promotion "**Microbiologie Appliquée**"2021/2023 pour tout ce que nous avons partagé, échangé ensemble durant ces années.*

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite

Mohamed el amine

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique	Min	minute
Ag	argent	ml	Millilitre
Ag⁺	ion d'argent	Nm	nanomètre
Au	À l'Or	NP	Nanoparticule
BN	Bouillon nutritive	NTC	nano tube carbone
C°	Degré Celsius	θ	thêta
Cd	cadmium	O₂⁻	anion super oxyde
FDA	Food and Drug administration	OH⁻	radicaux hydroxyles
GN	Gélose nutritif	ROS	espèce réactive d'oxygène
GO	Graphened'oxyde	SPR	Résonance plasmonique de surface
GRAS	generally Recognized as safe	Th2	lymphocyte T helper
H	Heure	TiO₂	Dioxyde de titan
H₂O₂	peroxyde d'hydrogène	Tr	Tour
HAuCl₄	acide chlorarique	UV	Ultra-violet
IFN	Interféron	Vis	visible
IL	interleukine	Vit C	vitamine c
Kg	kilogramme	ZI	Zone d'inhibition
M	molaire	Zn	Zinc
M.O	Micro-Organisme	Zn²⁺	ion de zinc
MEB	Microscope électronique à balayage	ZnO	Oxyde de zinc
Mg	Milligramme	ZnSO₄	sulfate de zinc
MH	Mueller Hinton	µl	Microlitre

Liste des figures

Figure 1: Diverses applications de la nanotechnologie (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).	6
Figure 2: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Belfinache, D. E. 2012).	6
Figure 3 : Nanoparticules organique : a) Dendrimères b) liposomes c) Micelles (Ealia, S. A. M., et al. 2017).	7
Figure 4 : l'activité antimicrobienne de nanotube de Carbone (Dizaj, S. M., et al. 2015).	8
Figure 5 : Les nanoparticules a basé carboniques : a) Fullerènes b) Graphene c) nanotubes d) Nanofibres e) carbone noir (Ealia, S. A. M., et al. 2017).	8
Figure 6 : Mouvement d'un mélange de billes et de poudres dans une technique de broyage mécanique (Faraji, G., et al. 2018).	9
Figure 7 : Nanolithographie à la plume (Pimpin, A., et al. 2012).	9
Figure 8 : Schématisation de la fabrication de nanoparticules par laser (Zhou, R., et al. 2016).	10
Figure 9 : principe de la fabrication de nanoparticules par la technique Sol-gel (Parashar, M., et al. 2020).	11
Figure 10 : principe de réacteur à disque rotatif pour la fabrication de nanoparticules (Pask, S. D., et al. 2012).	11
Figure 11 : principe de la technique de décomposition thermique pour la fabrication des nanoparticules (Nunes, D., et al. 2019).	12
Figure 12: principe de la biosynthèse des nanoparticules (Hasan, S. 2015).	12
Figure 13: Nanoparticules d'oxyde de zinc de différentes morphologies : a) fleur b) bâtonnets c) nanotubules d) nanosphère) (Ali, U. 2020).	16
Figure 14 : Représentation schématique des trois formes de l'oxyde de zinc (a) cubique rocksalt B1 (b) cubique a faces centrée B3 (c) cubique avec des sphères noir et gris qui présent le zinc et l'oxygène B4 (Morkoç, H., et al.2008).	17
Figure 15: Structure de bandes du ZnO (Vogel, D., et al.1995).	18
Figure 16 : Différentes formes de nanostructure de zinc (Benzitouni, S., et al.2018).	19
Figure 17 : Synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc en utilisant différentes sources (Król, A., et al. 2017).	20

Figure 18 : Étapes de la synthèse biogénique des ZnO nanoparticules à partir de l'extrait d'Ochradenus arabicus (Alenezi, N. A., et al.2022).	22
Figure 19 : Mécanismes d'action suggérés des NP de ZnO contre les bactéries (He, L., et al. 2011).	24
Figure 20 : Etapes de la synthèse de ZnO Nanoparticule.....	33
Figure 21 : Réaction de transformation du radical DPPH en DPPH-H (Talbi, H., et al. 2015).	35
Figure 22 : Étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticule de ZnO	39
Figure 23 : Les étapes de formation d'une précipite blanc des nanoparticules de ZnO.	41
Figure 24 : Représentation schématique de mécanisme de synthèse extracellulaire des NPs de ZnO (MohdYusof, H., et al. 2019).	42
Figure 25 : Poudre de nanoparticule de zinc.....	43
Figure 26 : Spectres d'absorption UV-Vis de nanoparticule de l'oxyde de zinc.....	43
Figure 27 : a) MEB de ZnONPs b) EDX de nanoparticule synthétisée.....	45
Figure 28 : DRX de nanoparticule de l'oxyde de zinc	46
Figure 29 : l'activité antioxydants des ZnONPs de différentes concentrations de ZnONps par l'essai de l'inhibition de DPPH.....	48
Figure 30 : l'activité antioxydant de l'acide ascorbique (vitamine C).....	48
Figure 31 : mécanisme d'interaction entre le radicale libre DPPH et les ZnONPs (Siripireddy, B., et al. 2017).	49
Figure 32 : ZnONPs contre A) Pseudomonas aeruginosa B) Staphylococcus aureus.	50
Figure 33 : illustration d'activités antimicrobienne des ZnONPs contre la paroi cellulaire bactérienne. (MohdYusof, H., et al. 2019).....	51
Figure 34 : la membrane structurale de bactérie Gram-positive et gram-négatives (Russell, A. D. 2003).	52

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide des Microorganismes.....	15
Tableau 2 : Quelques recherches sur la biosynthèse des ZnONPs à l'aide des plants	22
Tableau 3 : Caractéristiques des souches bactériennes testées.....	37

Table of Contents

Remerciements

Dedécas

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale	1
Chapitre I : Généralités et Recherche Bibliographique.....	4
I. Généralités	5
I.1.Nanoscience	5
I.2.Nanotechnologie	5
I.3. Nanoparticules	6
I.4. Synthèse des Nanoparticules(NPs)	8
I.4.1. Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules	8
I.4.1.a. Les approches top-down	9
I.4.1.b. Les approches bottom-up.....	10
I.4.2. Méthodes biologiques	12
I.4.2.1. Synthèse par les bactéries	13
I.4.2.2. Synthèse par les actinomycètes.....	13
I.4.2.3. Synthèse par les levures	14
I.4.2.4. Synthèse par les champignons	14
I.5. Généralités sur l'oxyde de zinc.....	16
I.5.1. Propriétés de nanoparticules de zinc.....	17
I.5.1.1. Propriétés structurales.....	17
I.5.1.2. Propriétés électroniques	17
I.5.1.3. Propriétés optiques.....	18
I.5.1.4. Propriétés morphologiques	18

I.5.2. Synthèse vert de ZnONPs	19
I.5.2.1. Synthèse par le micro algues et macro algues	20
I.5.2.2. Synthèse par les champignons	20
I.5.2.3. Synthèse par les bactéries	21
I.5.2.4. Synthèse par les plantes	21
I.5.3. Applications des nanoparticules de ZnO	23
I.5.3.1. Industrie cosmétique	23
I.5.3.2. Application Biologiques	23
I.5.3.2.1. Activité antibactérienne	23
I.5.3.2.2. Activités Antiinflammatoire	25
I.5.3.2.3. Activités antidiabétique	25
I.5.3.2.4. Activités antioxydante	26
I.5.3.3. L'industrie du textile.....	27
I.5.3.4. Photocatalyse	27
I.5.3.5. Agriculteur	28
I.5.3.6. Énergie	29
Chapitre II : Matériels et Méthodes	30
II- Matériels et méthodes	31
II.1. Lieu et durée de l'étude	31
II.2. Matériel biologique	31
II.2.1. Origine de souches utilisées	31
II.2.2. Caractéristique de souche utilisée	31
II.3. Méthodes	32
II.3.1. Revivification et purification des souches.....	32
II.3.2. Synthèse des nanoparticules de ZnO	32
II.3.2.1. Purification des nanoparticules de ZnO	33
II.3.3. Caractérisation de ZnONPs biosynthétisées.....	34

II.3.3.1. Spectrophotométrie UV-vis.....	34
II.3.3.2. Diffraction des rayons X (DRX)	34
II.3.3.3. Microscope Électronique à Balayage (MEB).....	35
II.3.4. Évaluation de l'activité antioxydante	35
II.3.4.1. Test d'activité anti-radicalaire (DPPH).....	35
II.3.5. Evaluation de l'activité antibactérienne	36
II.3.5.1. Caractéristiques des souches bactériennes testées.....	37
II.3.5.2. Milieux de cultures utilisés.....	38
II.3.5.3. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion ...	38
II.3.5.3.A. Préparation des souches bactériennes (repiquage)	38
II.3.5.3.B. Préparation des solutions de ZnONPs	38
Chapitre III : Résultats et Discussions	40
III- Résultats et discussion	41
III.1. Synthèse de nanoparticules de ZnO	41
III.2. Caractérisations de ZnONPs bio-synthétisées	43
III.2.1. Propriétés optiques	43
III.2.2. Propriétés Morphologiques	44
III.2.3. Propriétés structurales	46
III.3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	47
III.4. Évaluation de l'activité antibactérienne	49
Conclusion générale	53
Références bibliographique.....	55
Annexes.....	71

Introduction générale

La nanotechnologie est un domaine multidisciplinaire qui s'intéresse à la fabrication, à la conception et à l'application de matériaux à l'échelle nanométrique (1-100 nm). En raison de leurs propriétés particulières, les nanomatériaux ont été utilisés dans divers domaines tels que la science des matériaux, la chimie, l'agriculture, la médecine, l'industrie textile et les produits pharmaceutiques (Zhang, D., et *al.* 2020). Parmi diverses nanoparticules, les nanoparticules de zinc (ZnONPs) ont été l'un des objets d'étude les plus populaires au cours des dernières décennies en raison de leur potentiel. Il s'agit d'un type d'oxyde métallique doté de nouvelles propriétés catalytiques et oxydantes qui leur permettent de s'intégrer dans diverses applications biotechnologies et biomédicales.

La possibilité d'élaborer des nanoparticules, avec différentes morphologies et tailles, a permis le développement de nouvelles propriétés, ainsi que l'amélioration de celles les plus conventionnelles, qu'elles soient physiques, chimique ou biologique (Sharma, S., et *al.* 2020). Différents procédés physiques et chimiques sont largement utilisés pour synthétiser des nanoparticules tel que (méthode sol-gel, l'ablation laser, la synthèse assistée par micro-ondes et la réduction des métaux par divers agents réducteurs). Cependant, ces méthodes utilisent des conditions difficiles ainsi que des produits chimiques toxiques dans les processus de réduction et de stabilisation qui ne sont pas toujours faciles à mettre en œuvre, ce qui limite leur applicabilité. Par conséquent, les méthodes biologiques sont très appréciées car elles sont économiques, propres et respectueuses de l'environnement et qui utilise diverses espèces bactériennes, champignons, actinomycètes et extraits végétaux en tant qu'entités biologique fabriquer diverses Nanoparticules (Abdo, A. M., et *al.* 2021).

Les nanoparticules peuvent avoir une activité antioxydante en raison de leur capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les NPs ont une capacité antimicrobienne qui leur permet de contourner les mécanismes de résistance habituels, tels que l'inactivation enzymatique, la réduction de la perméabilité cellulaire et la modification des sites/enzymes cibles (Lee, N. Y., et *al.* 2019).

L'objet de ce travail consiste à synthétiser et caractériser des nanoparticules d'oxyde de Zinc par le procédé biologique en utilisons la souche *salmonella enterica* suivi par des caractérisations (diffraction des rayons X, un microscope électronique à balayage MEB, UV-visible), et étudier leur activité antioxydante et antibactérienne.

Cette étude se décompose en trois chapitres organisés comme suite :

- Le premier chapitre présente généralités sur les nanoparticules et plus particulièrement les nanoparticules de ZnO et leurs applications.

- Le deuxième chapitre expose en détail la méthodologie suivie pour la biosynthèse des nanoparticules de ZnO, la caractérisation de ZnONPs et l'activité antibactérienne et antioxydant
- Le dernier chapitre présente l'ensemble des résultats expérimentaux de cette étude et leurs discussions

Chapitre I : Généralités et Recherche Bibliographique

I. Généralités

Dans ce chapitre se trouve la présentation des généralités sur les nanoparticules, les différentes méthodes de synthèse utilisées, suivie par des informations sur la nanoparticule de l'oxyde de zinc et en mettent l'accent sur leurs applications dans différents domaines.

I.1.Nanoscience

La nanoscience est l'étude de phénomène à l'échelle nanométrique. Nanomètre est un point magique sur l'échelle de longueur, car c'est le point où les plus petits dispositifs artificiels se rencontrent. Les atomes et les molécules du monde naturel, Les objets nanométriques sont trop petits pour être vus à l'œil nu, si on voulait voir un marbre de taille 10 nm, l'œil devrait être 50 mille fois plus petit qu'un humain cheveu. Quoi qu'il en soit la définition approximative de nanoscience pourrait être tout ce qui a au moins une dimension inférieure à 100nm (Yousaf, A. S., et *al.* 2008).

I.2.Nanotechnologie

La nanotechnologie est la nouvelle frontière dans la transformation dans différents secteurs. Des termes tels que nanoalimentaires, nanocapteurs, nanoemballages, nanofertilisants et nanopesticides sont les domaines récents en nanoscience et technologie (Sahoo, et *al.* 2021).

La nanotechnologie est un domaine largement exploité C'est essentiellement la création de matériaux, dispositifs et systèmes utiles/fonctionnels, grâce au contrôle de la matière sur l'échelle nanométrique et exploitation de nouveaux phénomènes et propriétés physiques, chimiques, biologiques (Yousaf, A. S., et *al.* 2008).

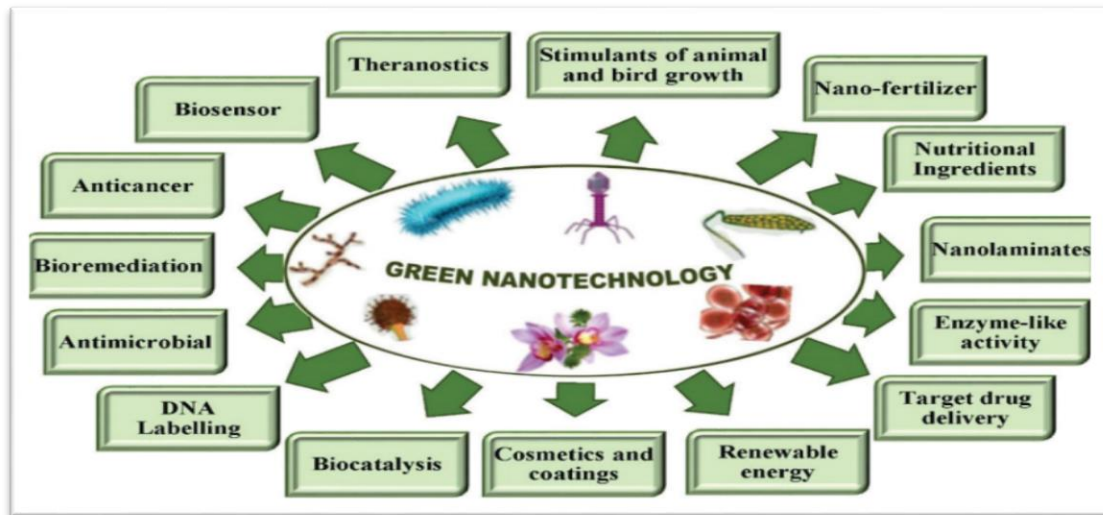


Figure 1: Diverses applications de la nanotechnologie (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).

I.3. Nanoparticules

Ils peuvent être définis comme des objets de taille allant de 1 à 100 nm, qui situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines (Figure I-2). Ils sont devenus d'intérêt récemment, principalement en raison de leur utilisation possible dans diverses technologies.

En raison de leur taille, les nanoparticules peuvent différer des propriétés du matériau en vrac. Il y a une augmentation d'intérêt dans l'utilisation de nanoparticules à des fins diverses, à partir de traitements médicaux, l'utilisation dans divers secteurs de la production industrielle tels que le solaire et les piles à combustible pour le stockage d'énergie, cosmétiques ou des vêtements (Dubchak, S., et al. 2010).

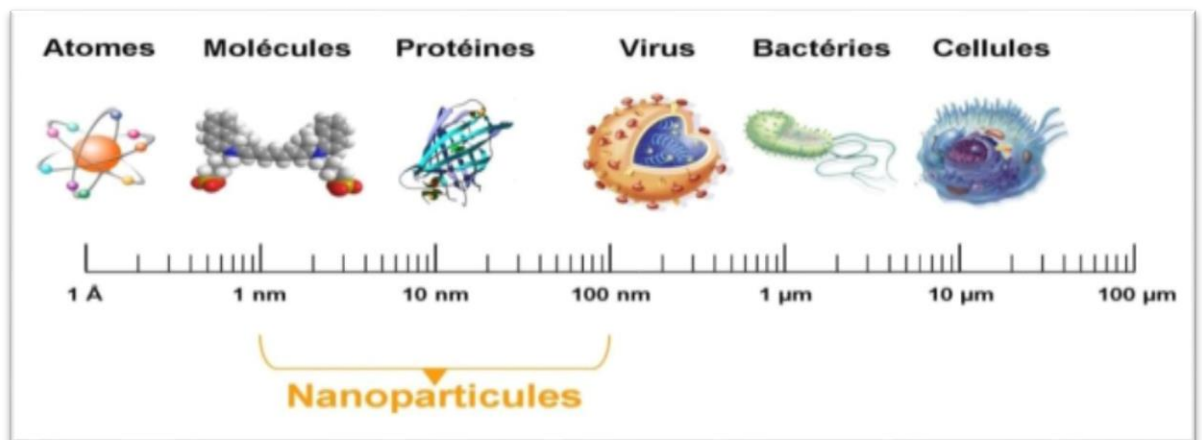


Figure 2: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Belfinache, D. E. 2012).

Le terme de NPs fait référence à différentes classes de particules :

- Nanoparticules organique tell que Dendrimères, micelles, liposomes et ferritine, ces derniers sont considérés comme biodégradable et non toxique (Tiwari, D. K., et al. 2008).

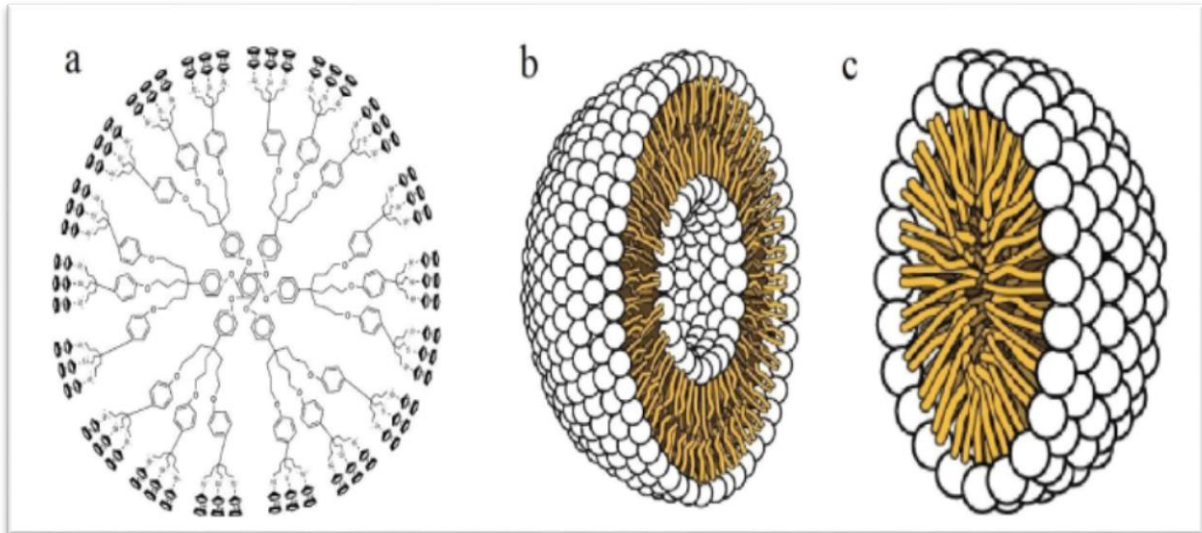


Figure 3 : Nanoparticules organique : a) Dendrimères b) liposomes c) Micelles (Ealia, S. A. M., et al. 2017).

- Nanoparticules inorganiques : les nanoparticules métaux et oxydes métalliques sont classé comme inorganique et cela veut dire qu'ils ne sont pas constitués de Carbone (Ealia, S. A. M., et al. 2017).
- Nanoparticules à base carboniques :

Les Fullerènes Sont des Molécules constituées de plusieurs atomes de carbone de forme sphérique. Ainsi que les *NTC* qu'ils sont des nanofeuilles de Graphene avec des atomes de carbone enroulé en cylindre pour former des nanotubes de taille différente selon le nombre de couche, Ensuite on a un réseau hexagonal des atomes de carbone appelé *nanoparticules d'oxyde de Graphene GO* avec épaisseur de feuille de 1nm. D'autre part *les nanofibres* sont former avec les mêmes nanofeuilles utiliser dans *NTC*. *Le carbone noire* est un amorphe des nanoparticules qui caractérise par activités antimicrobienne puissantes Figure I-4 (Dizaj, S. M., et al. 2015).

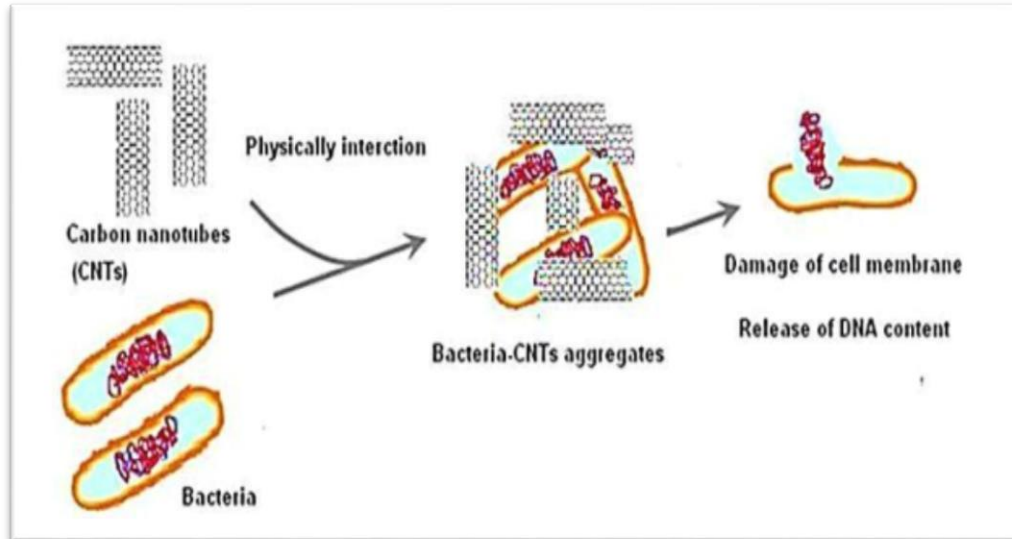


Figure 4 : l'activité antimicrobienne de nanotube de Carbone (Dizaj, S. M., et al. 2015).

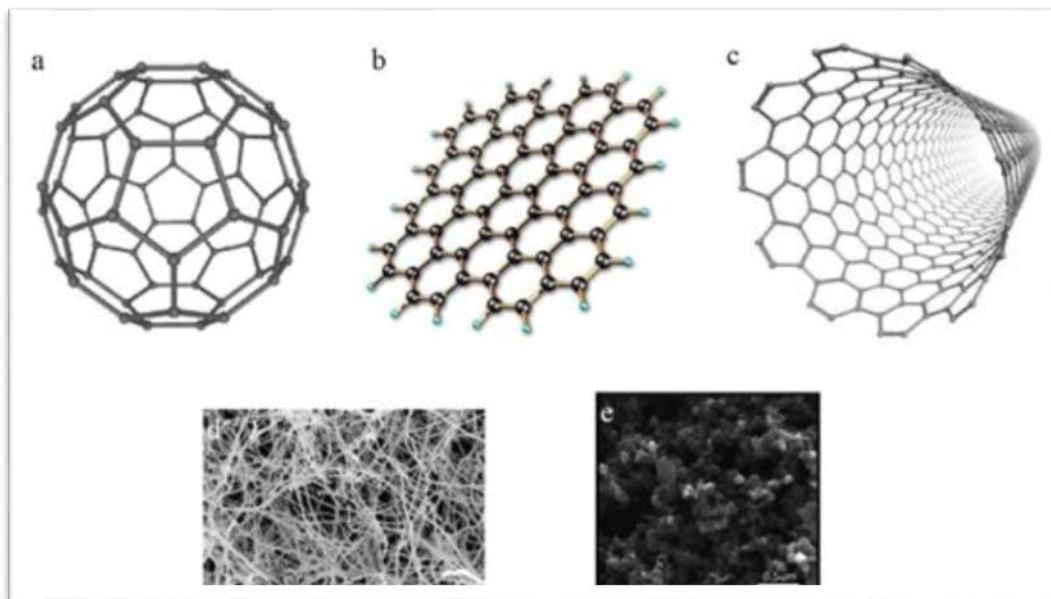


Figure 5 : Les nanoparticules a basé carboniques : a) Fullerènes b) Graphene c) nanotubes d) Nanofibres e) carbone noir (Ealia, S. A. M., et al. 2017).

I.4. Synthèse des Nanoparticules(NPs)

I.4.1. Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules

Il existe de nombreuses méthodes utilisées dans la synthèse de nanomatériaux. Chaque méthode présente des degrés variables de qualité, de rapidité et de coût. Ces méthodes peuvent être incluses dans deux approches :

I.4.1.a. Les approches top-down

A partir du même matériau, il est divisé en particules nanométriques lors de l'application d'une source d'énergie. Cette énergie appliquée peut-être mécanique, chimique ou thermique. Ainsi, elle peut également être une autre forme d'énergie telle que le rayonnement laser (Habiba, K., et al. 2014).

- Le broyage mécanique : est la technique la plus utilisée pour la production de diverses nanoparticules. Le fraissage est utilisé usinage de broyage de nanoparticules et au-delà lors de la synthèse où les différents éléments sont broyés dans une atmosphère inerte pour réduire la taille des particules (Yadav, T. P., et al. 2012).

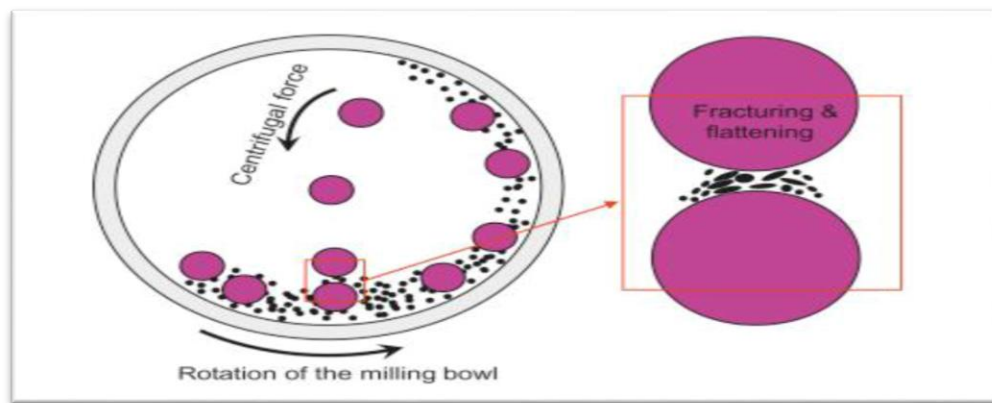


Figure 6 : Mouvement d'un mélange de billes et de poudres dans une technique de broyage mécanique (Faraji, G., et al. 2018).

- Nano-lithographie : est un technique de fabrication des structures nanométriques avec au moins une dimension dans la gamme de taille de 1 à 100 nm est caractérisée par sa capacité de produire d'une seule nanoparticule à un groupe des nanoparticules avec la forme et la taille souhaitées.

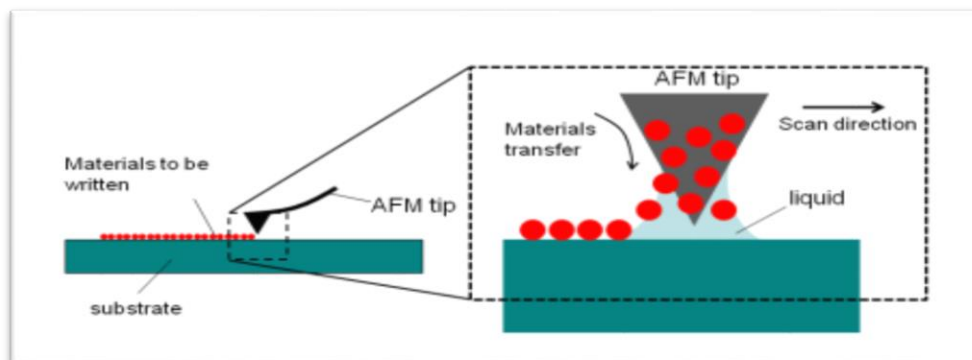


Figure 7 : Nanolithographie à la plume (Pimpin, A., et al. 2012).

- Les méthodes de laser : utilisent un laser pulsé avec un niveau d'énergie très élevé sur le métal souhaité. La température peut atteindre jusqu'à 10000K (le point de focus) qui vaporise toute substance. Des atomes métalliques sont obtenus et peuvent réagir avec l'oxygène pour former d'oxyde métallique de très bonne qualité (Zhao, X. Q., et al. 1994).

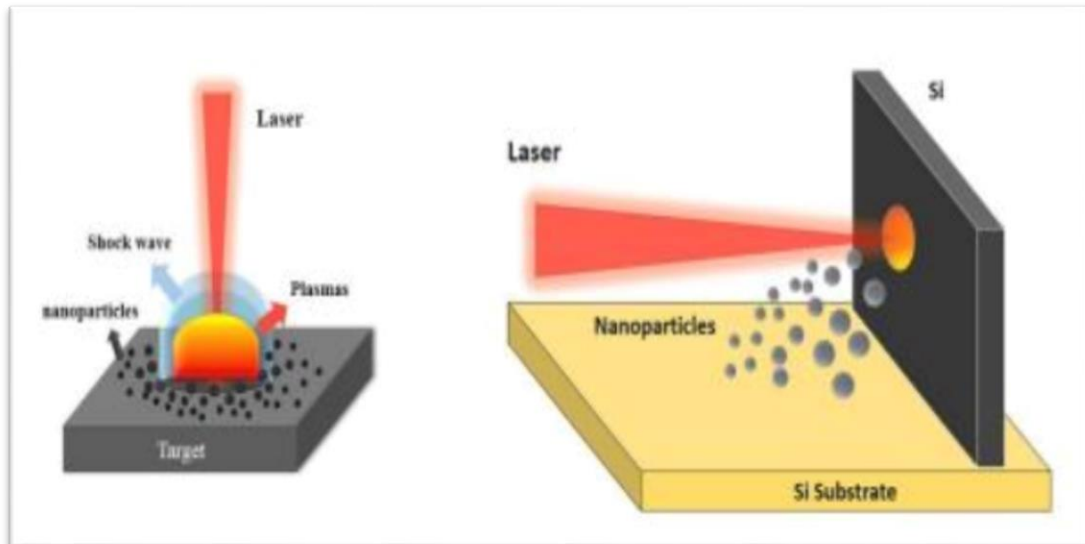


Figure 8 : Schématisation de la fabrication de nanoparticules par laser (Zhou, R., et al. 2016).

I.4.1.b. Les approches bottom-up

C'est une technique dans laquelle des composants plus petits de dimensions atomiques ou moléculaires sont réunis, selon un principe physique naturelle ou appliquée de l'extérieur, pour créer des systèmes plus grands et plus ordonnés et pour former des nanomatériaux (Arole, V. M., et al. 2014). Parmi les méthodes les plus utilisées on a :

- Sol-gel : « solution gélification » où une solution colloïdale, est en suspension dans une phase liquide. C'est la méthode la plus préférée parmi les techniques en raison de sa simplicité et que la plupart des nanoparticules peuvent être synthétisées par cette méthode. Il consiste à préparer une solution homogène de précurseurs métalliques-solvant qu'il traduit par la formation de gel. Ce gel est ensuite traité pour obtenir des poudres nanostructurées (Ramesh, S. 2013).

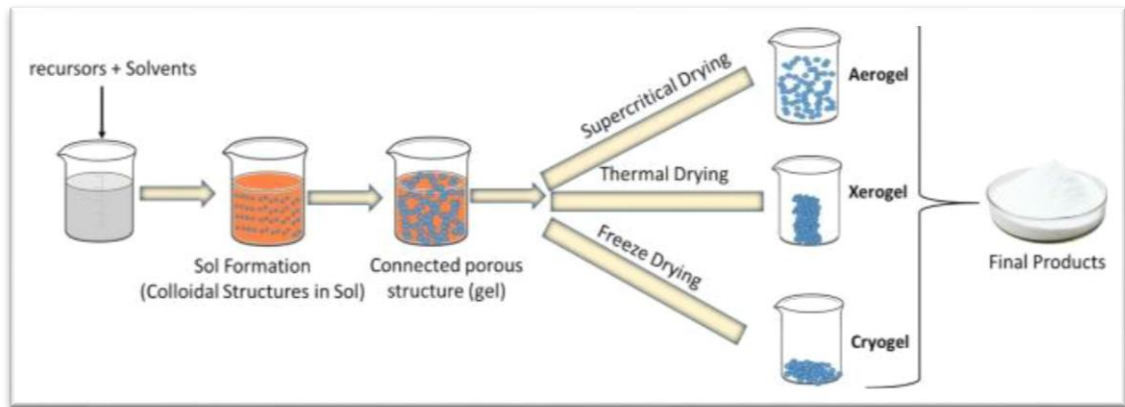


Figure 9 : principe de la fabrication de nanoparticules par la technique Sol-gel (Parashar, M., et al. 2020).

- Réacteur à disque rotatif : les nanoparticules sont synthétisées avec un réacteur à disque rotatif. Qui est généralement rempli d'azote ou d'autres gaz inertes pour éliminer l'oxygène à l'intérieur et éviter les réactions chimiques indésirables. Ou il est possible de contrôler les paramètres physiques tel que la température, vitesse de rotation, l'injection de gaz dans la chambre. (Tai, C Y., et al. 2007).

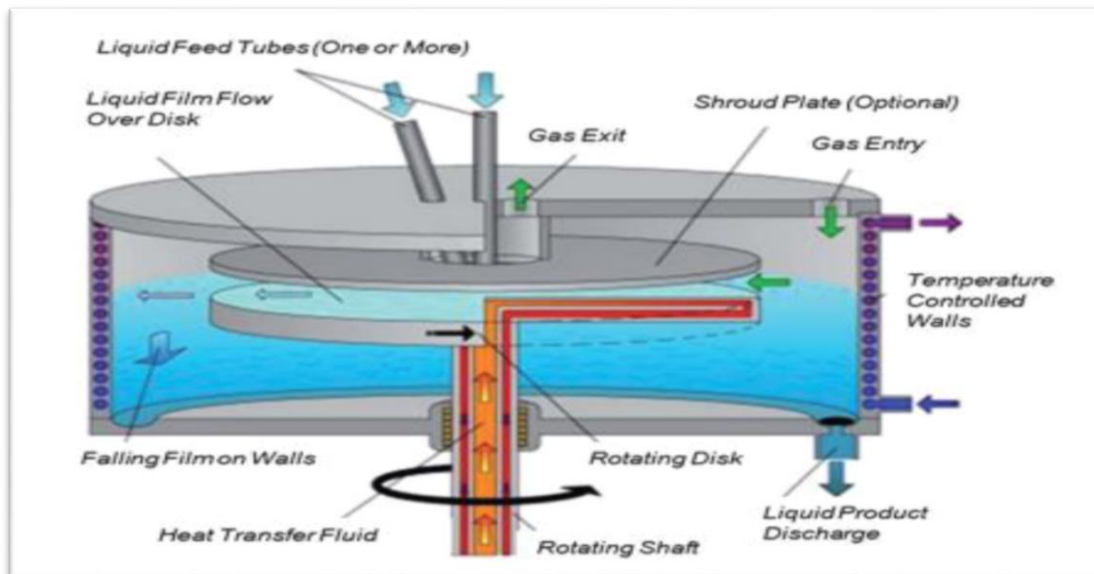


Figure 10 : principe de réacteur à disque rotatif pour la fabrication de nanoparticules (Pask, S. D., et al. 2012).

- Décomposition thermique : Il s'agit d'une décomposition chimique endothermique résultant de la rupture de liaisons chimiques de la solution par la chaleur conduit a la formation des gouttelettes qu'ils seront vaporiser et former agglomération des particules sur un film auto-assemblé. (Salavati-Niasari, M., et al. 2008).

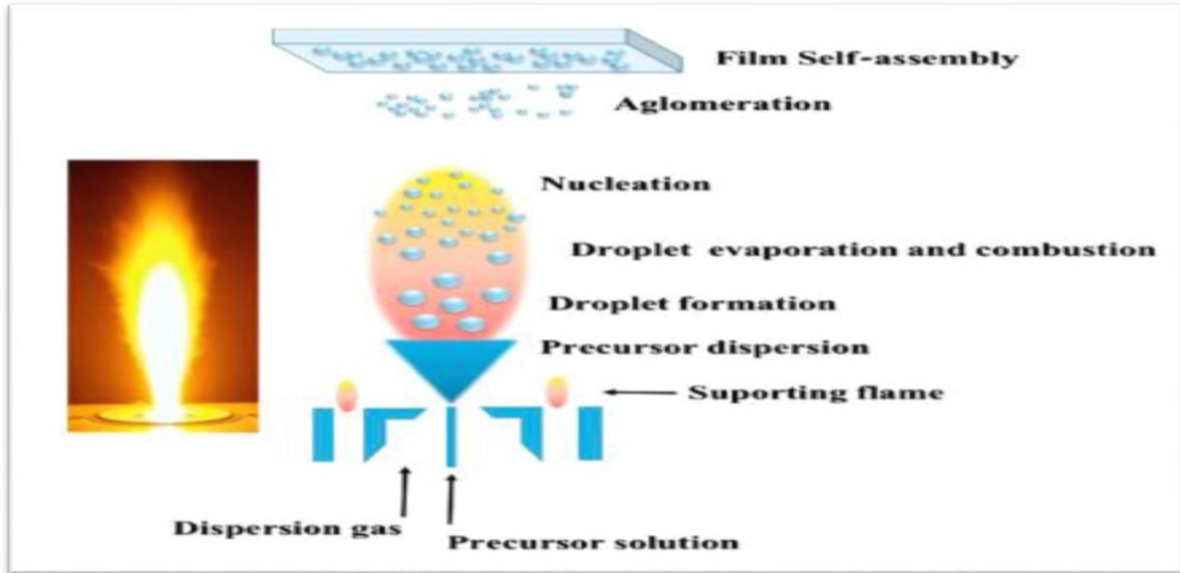


Figure 11 : principe de la technique de décomposition thermique pour la fabrication des nanoparticules (Nunes, D., et al. 2019).

I.4.2. Méthodes biologiques

Une approche de synthèse respectueuse de l'environnement qui utilise des bactéries, des extraits de plantes, champignons, etc. avec des réactifs primaires pour produire des nanoparticules non toxiques.

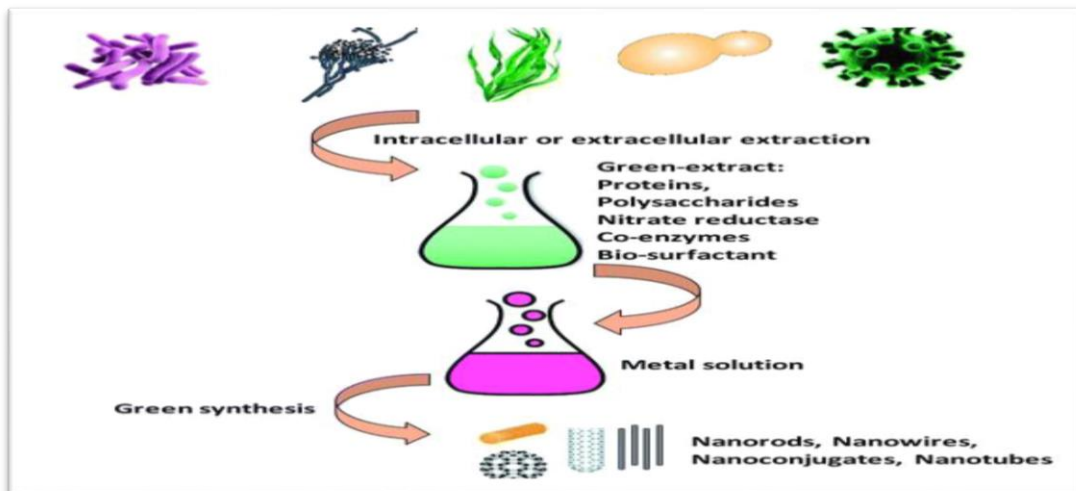


Figure 12: principe de la biosynthèse des nanoparticules (Hasan, S. 2015).

I.4.2.1. Synthèse par les bactéries

La formation de matériaux nanométriques par des cellules microbiennes s'est avérée être une approche prometteuse pour la synthèse de nanoparticules métalliques. Les cellules microbiennes ont un potentiel pour la synthèse de nanoparticules d'or, d'argent et de sulfure de cadmium (Husseiny, M. I., 2007).

Les bactéries sont connues pour synthétiser des matériaux inorganiques de manière intracellulaire ou extracellulaire. Par exemple, les nanoparticules d'argent sont synthétisées à l'aide de micro-organismes par un processus de bio-réduction. Les enzymes extracellulaires produites par les micro-organismes réduisent les ions d'argent à un niveau nanométrique. Le dosage des protéines des micro-organismes révèle que l'enzyme réductase dépendante du NADH est impliquée dans le processus de bio-réduction des ions argent en nanoparticules d'argent. L'enzyme réductase reçoit ses électrons du NADH, qui est ensuite transformé en nanoparticules d'argent, qui est ensuite oxydé en NAD^+ . L'enzyme est également oxydée en même temps par la réduction des ions argent en nanoparticules d'argent. Dans certains cas, il a été observé que la réductase dépendante des nitrates peut provoquer la bio-réduction. Dans la synthèse extracellulaire, la réduction a lieu en quelques minutes. La bactérie *Pseudomonas stutzeri* a produit des nano-cristaux d'argent de 200 nm (Husseiny, M. I., 2007).

I.4.2.2. Synthèse par les actinomycètes

Les actinomycètes présentent des caractéristiques importantes des champignons et des procaryotes tels que les bactéries. Il est prouvé que les nanoparticules d'or et d'argent sont stabilisées par la protéine. Les groupes d'amines libres ou les résidus de cystéine des protéines se lient à l'or. Des résidus de cystéine dans les protéines se lient aux nanoparticules d'or. Il est donc établi que le coiffage et la stabilisation des nanoparticules d'or sont assurés par les enzymes. La nature des différentes protéines et leur force d'interaction peuvent varier en fonction des différentes faces cristallographiques des nano-cristaux d'or. Il n'a été observé que les actinomycètes jouent un rôle important dans la synthèse de nanoparticules métalliques (Ahmad, A., et al. 2003).

Rhodococcus sp., un actinomycète alcalo-tolérant, a été utilisé pour la synthèse de l'ordre taille comprise entre 5 et 15 nm. Les nanoparticules d'Eau sont montrées une bonne dispersité. Des études ont montré que la concentration de nanoparticules était plus importante sur la paroi et sur la membrane cellulaire. La réduction des nanoparticules d'or est due aux enzymes présentes dans la paroi et la membrane cellulaires. Les cellules ont continué à croître même après la formation des nanoparticules. Ce qui montre que les ions métalliques formés ne sont pas toxiques pour les cellules. La réaction chimique de la biomasse avec des ions chlorurates a produit des nanoparticules d'or extracellulaires (Ahmad, A., et al. 2003).

I.4.2.3. Synthèse par les levures

Les nombreuses publications ont révélé que tous les genres de levures peuvent accumuler différents métaux lourds. Les variations considérables de taille, de localisation des particules de mono-dispersité et les propriétés sont dues aux différents mécanismes employés par les souches de levure de différents genres pour la synthèse des nanoparticules. Les levures sont principalement connues pour leur capacité à synthétiser des nanoparticules semi-conductrices, en particulier le sulfure de cadmium (CdS) (Dameron, C. T., et al. 1989).

Des études récentes ont montré la capacité de former d'autres nanoparticules. Les nanoparticules d'or, d'une taille allant de quelques nanomètres à environ 100 nm ont été synthétisées à l'aide de l'espèce de levure *Pichiajadinii* (anciennement *Candida utilis*). Le mécanisme de synthèse des nanoparticules dans *P. jadinii* implique la réduction des ions d'or par des enzymes et des protéines. (Dameron, C. T., et al. 1989).

I.4.2.4. Synthèse par les champignons

La biosynthèse de nanoparticules à l'aide de champignons est largement utilisée en raison de nanoparticules mono-dispersé aux dimensions bien définies, différentes compositions chimiques et tailles peuvent être obtenues. Les champignons sont considérés comme d'excellents candidats pour la synthèse de nanoparticules de métaux et de sulfures métalliques. de nanoparticules de métal et de sulfure de métal en raison de la présence d'une variété d'enzymes dans leurs cellules et de la simplicité de manipulation Les nanoparticules d'or ont été synthétisées intra cellulièrement dans la biomasse de *Verticillium sp.* Après exposition à une solution de HAuCl_4 . Dans ce processus, la biomasse fongique dans une solution aqueuse d'ions Ag^+ a provoqué la réduction intracellulaire des ions et la formation de nanoparticules d'argent.

Les champignons, comparés aux bactéries, synthétisent une grande quantité de nanoparticule. Étant donné que les champignons sécrètent une plus grande quantité de protéines ce qui entraîne une plus grande productivité des nanoparticules. Les autres raisons pourraient être :

1. Elles possèdent une très grande capacité d'absorption intracellulaire des métaux
2. Des enzymes spécifiques telles que la réductase sécrétée par les champignons Facilite.
3. La formulation d'une stratégie rationnelle pour la biosynthèse de nanoparticules Métalliques de différentes compositions chimiques.
4. Les champignons se développent à la surface d'un substrat inorganique, ce qui a Pour effet de répartir le métal ce qui permet au métal d'être distribué comme un Catalyseur.
5. Les champignons peuvent être cultivés facilement à grande échelle par fermentation Sur substrat solide, ce qui permet de produire une grande quantité de biomasse
6. Une grande quantité d'enzymes est produite par unité de biomasse (Hulkoti, N. I., et al. 2014).

Tableau 1 : Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide des Microorganismes

Microorganismes	Nps	Taille (nm)	Référence
Bactéries			
<i>Bacillus subtilis</i>	Ag	5–25	(Beveridge, T. J., et al. 1980).
<i>Lactobacillus</i>	Ag	20–50	(Nair, B., et al. 2002).
<i>staphylococcus aureus</i>	ZnO	10–50	(Rauf, M. A., et al. 2017).
Levure			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TiO ₂	12	(Jha, A. K., et al. 2009).
<i>P. jadinii</i>	Ag	<100 nm	(Haverkamp, R. G., et al. 2007).
Champignons			
<i>Aspergillus terreus</i>	ZnO	54,8–82,6	(Baskar, G., et al. 2013).
<i>Fusariumoxysporum</i>	CdS	5–20	(Ahmad, A., et al. 2003).
Actinomycètes			
<i>Thermomonosporasp.</i>	Ag	8	(Ahmad, A., et al. 2003).

I.5. Généralités sur l'oxyde de zinc

Le zinc est un microélément essentiel pour l'homme, qui semble exister dans les enzymes et les protéines, Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs) sont largement employées comme des particules d'oxyde métallique. Ses cristaux contiennent généralement une structure hexagonale qui présente des propriétés uniques (Miri, A., et *al.*2019).

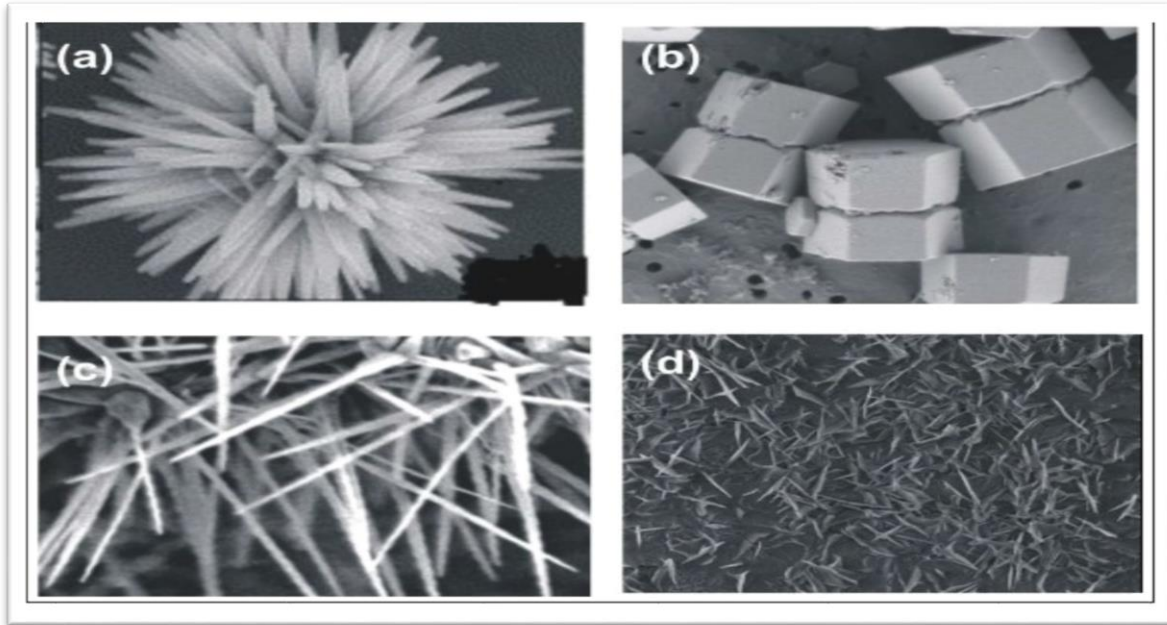


Figure 13: Nanoparticules d'oxyde de zinc de différentes morphologies : a) fleur b) bâtonnets c) nanotubules d) nanosphère (Ali, U. 2020).

FDA « Food and Drug Administration » a classé le ZnO comme GRAS « generally Recognized as safe » Plusieurs études ont été publiées sur l'efficacité des ZnONPs pour prévenir la croissance d'un large éventail d'agents pathogènes et suggèrent qu'elles pourraient éventuellement remplacer les antibiotiques (El-Ghwas, D. E. 2022).

Le ZnONPs est devenu le point de mire de la science en raison de ses propriétés semi-conductrices, antibactériennes, antifongiques, cicatrisantes, filtrantes UV, hautement catalytiques et photochimiques (Selvarajan, E., et *al.*2013).

I.5.1. Propriétés de nanoparticules de zinc

I.5.1.1. Propriétés structurales

L'oxyde de zinc est un semi-conducteur qui cristallise dans trois phases cristallographiques différentes : la phase hexagonale compacte B4 (Wurtzite), la phase B3 (Blende) lorsqu'il est déposé sur certains substrats de symétrie cubique et la phase B1 (rocksalt) lorsque on applique une grande pression hydrostatique. La structure Wurtzite (hexagonale) est la structure thermodynamiquement la plus stable à température ambiante. Cette dernière est une phase métastable qui peut persister à pression atmosphérique. Avec des paramètres de la maille primitive du ZnO dans les conditions normales de température et de pression sont donnés par $a = 0,32498$ nm et $c = 0,52066$ nm.

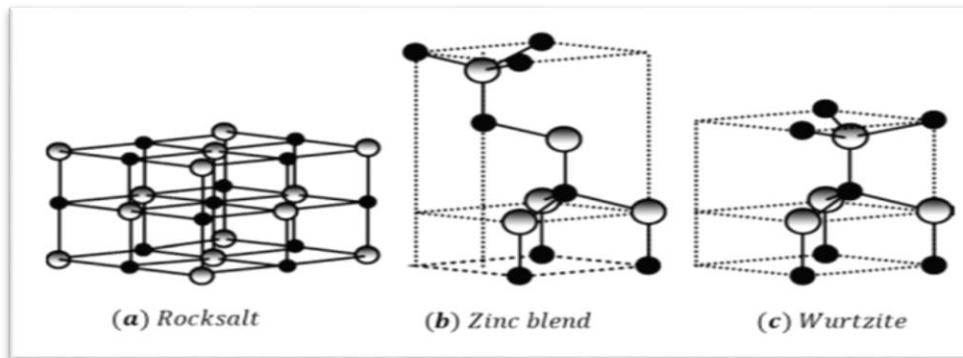


Figure 14 : Représentation schématique des trois formes de l'oxyde de zinc (a) cubique rocksalt B1 (b) cubique à faces centrées B3 (c) cubique avec des sphères noir et gris qui présentent le zinc et l'oxygène B4 (Morkoç, H., et al.2008).

I.5.1.2. Propriétés électroniques

La structure électronique de ZnO est représentée sur la **figure I-15**. On observe sur cette figure la présence d'une bande vide entre 0 et 3,4 eV. Cette bande est la bande interdite ou "Bandgap" du matériau. Il existe deux types de bandes, la bande de conduction (BC) et la bande de valence (BV), ce qui fait que le ZnO est un semi-conducteur à gap direct. L'énergie nécessaire pour faire passer un électron de la bande de valence (BV) vers la bande de conduction (BC) correspond à ce gap. Ce passage d'électron entre BV vers BC crée une paire électron-trou. Ainsi, il se comporte comme une seule particule appelée exciton avec une énergie de liaison de 60 meV.

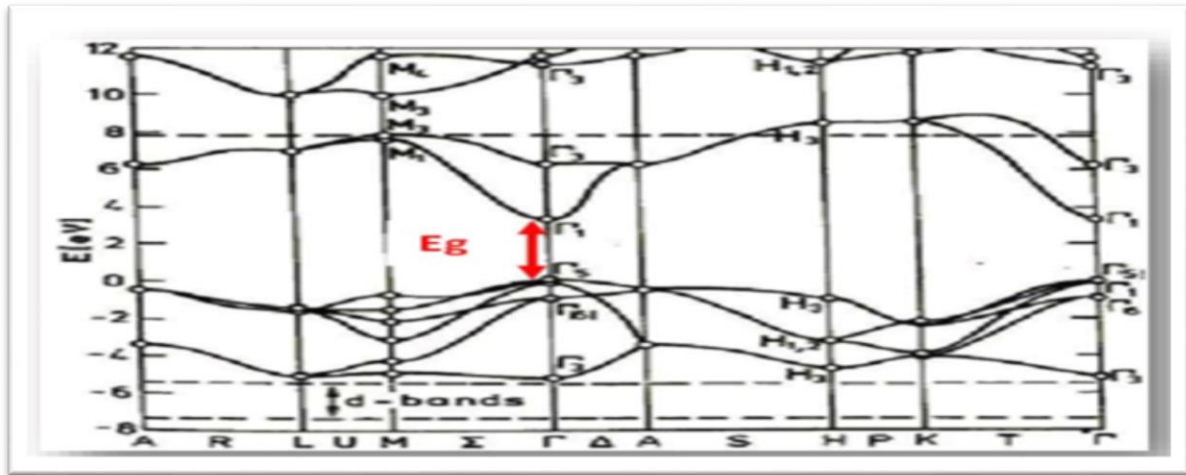


Figure 15: Structure de bandes du ZnO (Vogel, D., et al.1995).

I.5.1.3. Propriétés optiques

L'oxyde de zinc est aujourd'hui utilisé comme un oxyde transparent qui lui rend un avantage pour être appliqué dans nombreuse industrie en top l'industrie cosmétique dans les lotions et les crèmes grâce à sa capacité de ne laisser pas les traces blanches dans la peau et l'absorption d'UV. Lorsqu'il est de forme cristalline, il laisse passer jusqu'à 80% de la lumière visible ainsi qu'il présente un seuil d'absorption aux environs de 360 nm.

L'oxyde de zinc présente aussi la propriété de luminescence. Sous l'effet d'un faisceau lumineux d'énergie supérieure au gap du ZnO (3,37eV), ce dernier émet des photons. C'est ce qu'on appelle la photoluminescence (Han, N., et al.2010).

I.5.1.4. Propriétés morphologiques

L'oxyde de zinc peut avoir différentes nanostructures : nanoparticules, nanotubes, nano-fils...etc. Ils ont des facettes différentes, et dans des conditions d'équilibre thermodynamique, les facettes à faible énergie de surface sont plus importantes que celles à haute énergie de surface.

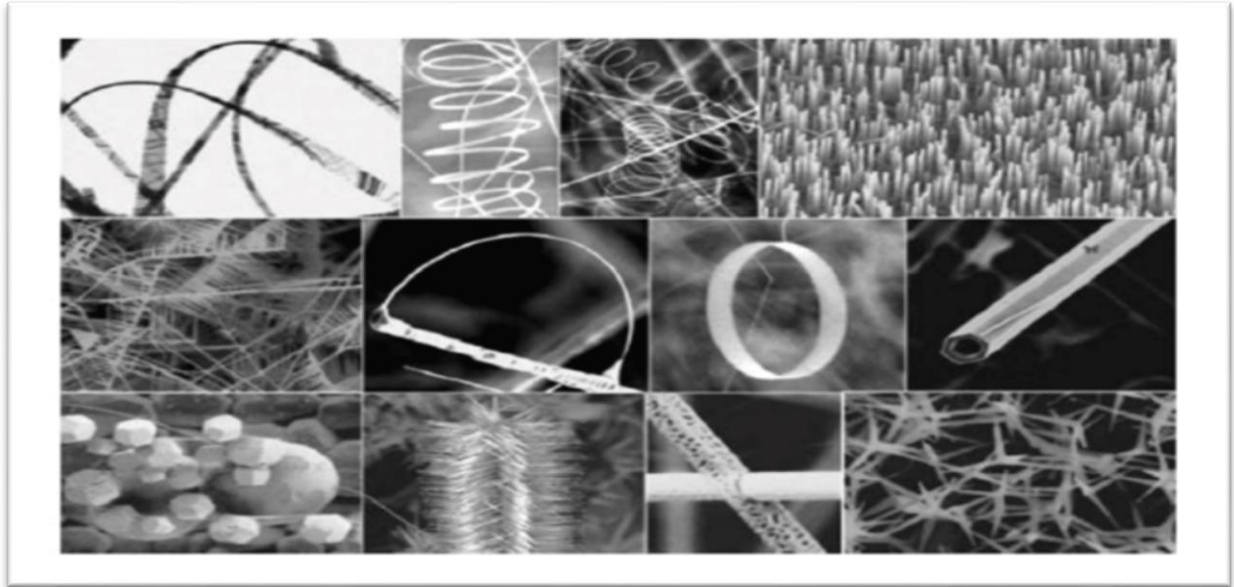


Figure 16 : Différentes formes de nanostructure de zinc (Benzitouni, S., et al.2018).

I.5.2. Synthèse vert de ZnONPs

Étant donné que des composés potentiellement dangereux sont nécessaires pour produire et stabiliser les NPs de ZnO résultantes à l'aide de méthodes chimiques, ils présentent un risque élevé pour les personnes et les animaux. En revanche, les composants d'origine biologique, respectueux de l'environnement et chimiquement sûrs, peuvent être utilisés pour la synthèse des nanoparticules de ZnO. Ainsi, les NPs de ZnO peuvent être synthétisées à l'aide d'une méthode en une seule étape et sans pollution qui nécessite moins d'énergie pour démarrer la réaction et se déroule dans un temps de préparation plus court que les autres méthodes. L'avantage le plus important de la synthèse verte est son rapport coût-efficacité. En effet, les agents réducteurs utilisés dans ce processus sont des espèces biologiques ou des plantes facilement disponibles en grandes quantités, il n'est pas non plus nécessaire d'éliminer les déchets nocifs et souvent toxiques qui accompagnent ce processus (Kumar, P. P., et *al.* 2021).

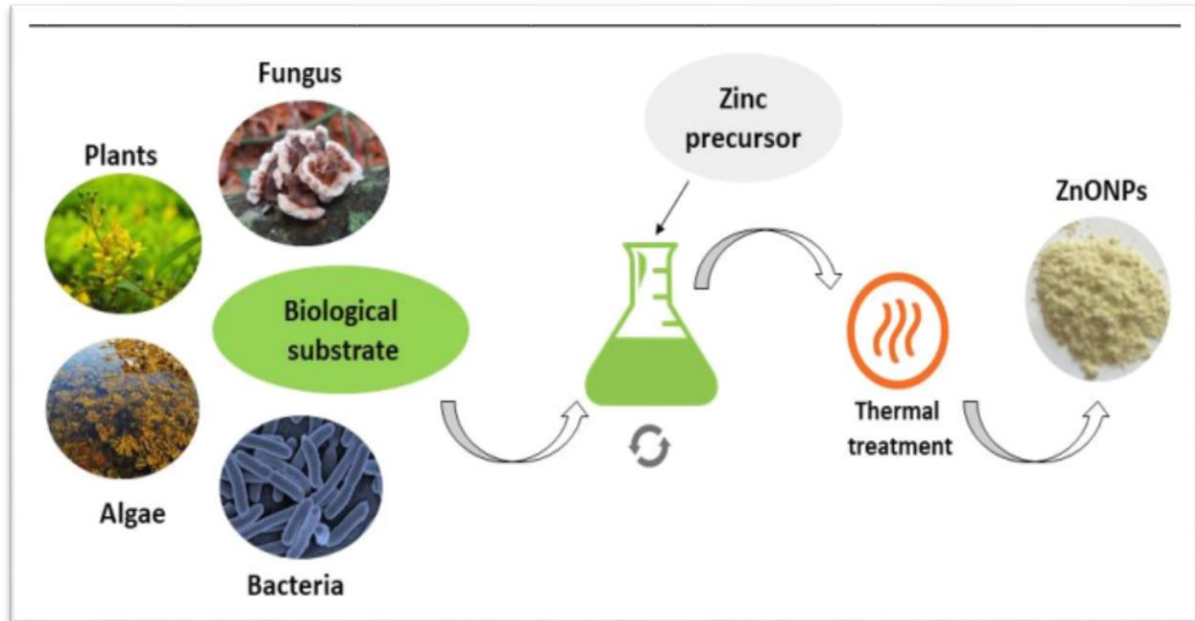


Figure 17 : Synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc en utilisant différentes sources (Król, A., et al. 2017).

I.5.2.1. Synthèse par le micro algues et macro algues

Les algues sont des organismes photosynthétiques qui vont des formes unicellulaires (ex. *Chlorella*) aux formes multicellulaires (ex. Algues brunes). Les algues ont été largement utilisées pour la synthèse de nanoparticules d'Or et d'Argent, mais leur application pour la synthèse de nanoparticules de ZnO est limitée et rapportée dans très peu d'articles (Thema, F. T., et al. 2015).

Sargassum muticum et *S. myriocystum*, appartenant à la famille des *Sargassaceae*, ont été utilisées pour la synthèse de NPs de ZnO (Rajiv, P., et al. 2013).

I.5.2.2. Synthèse par les champignons

La synthèse extracellulaire de NPs à partir de champignons est très utile en raison de la production à grande échelle. Des NPs de ZnO ont été synthétisées à partir du mycélium d'*Aspergillus fumigatus*. Les espèces d'*Aspergillus* ont été largement employées pour la synthèse de NPs de ZnO. Les NPs synthétisées à partir de la souche fongique étaient de forme sphérique dans la plupart des cas. Les souches fongiques sont préférées aux bactéries en raison de leur meilleure tolérance et de leur propriété de bioaccumulation des métaux.

Dans la synthèse extracellulaire des ZnONPs, les nanoparticules synthétisées ont été stabilisées par la protéine libérée par le champignon. Le processus est simple, bon marché et sûr, il produit de grandes quantités de nanoparticules stables et ne présente pas de contaminants ni de risques pour la santé ni pollution. Cette méthode s'est avérée utile pour la synthèse extracellulaire de l'oxyde de zinc. Mais elle est lente et nécessite les conditions spécifiques pour que la synthèse des nanoparticules soit réussie. (Mashrai, A., et *al.* 2017).

I.5.2.3. Synthèse par les bactéries

L'utilisation de bactéries pour la biosynthèse de ZnONPs présente des avantages importants en raison de la fabrication de biomolécules fonctionnelles du surnageant, qui peuvent réduire les ions métalliques en nanoparticules métalliques. En outre, la biomasse cellulaire des bactéries peut agir comme une nano-usine dans les ZnONPs en raison de l'existence d'un groupe cellulaire bactérien fonctionnel, qui réduit les ions métalliques en nanoparticules métalliques (Selvarajan, E., et *al.* 2013).

Les bactéries lactiques probiotiques ont un grand intérêt parmi les bactéries utilisées pour la synthèse de ZnONPs en raison de leurs propriétés non pathogènes et bénéficielles. Sont des bactéries gram-positives qui se compose de plusieurs bio-structures et groupes fonctionnels, avec une paroi cellulaire épaisse. Les ligands des ions métalliques agissent comme des groupes fonctionnels et favorisent la formation de ZnONPs. Sécrète également de multiples enzymes agissant comme réducteurs et stabilisateurs de ZnONPs. Plusieurs études ont donc été réalisées pour évaluer l'efficacité des bactéries probiotiques dans la médiation de la biosynthèse de ZnONPs par la biomasse cellulaire ou le surnageant acellulaire (Khan, A. U., et *al.* 2022).

I.5.2.4. Synthèse par les plantes

Les plantes sont les substrats biologiques les plus courants pour la synthèse de ZnONPs en raison de leur faible coût de production, leur facilité de fabrication et du fait qu'elles sont moins susceptibles d'être endommagées par des produits chimiques. Ainsi, elles sont moins susceptibles d'être endommagées par les micro-organismes. En outre, l'eau distillée et l'éthanol sont les solvants les plus utilisés pour préparer des extraits de plantes. Les NPs de ZnO sont produites à l'aide d'extraits de plantes à partir de diverses parties de plantes, notamment l'écorce, les racines, les pulpes de fruits, feuilles, les pelures, les fleurs, etc. On pense que les extraits de plantes contiennent de grandes quantités de substances chimiques actives telles que les méthyl xanthines, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les saponines. Ces substances sont toutes ensemble désignées sous le nom d'antioxydants. Les radicaux libres, les espèces

réactives de l'oxygène et les structures métalliques chélatées sont tous neutralisés. Les structures métalliques chélatées sont toutes rendues inoffensives par ces antioxydants. Pour cette raison, il n'est pas surprenant que les extraits de plantes peuvent fonctionner à la fois comme bio-réducteurs et stabilisateurs (Zeghoud, S., et al.2022).

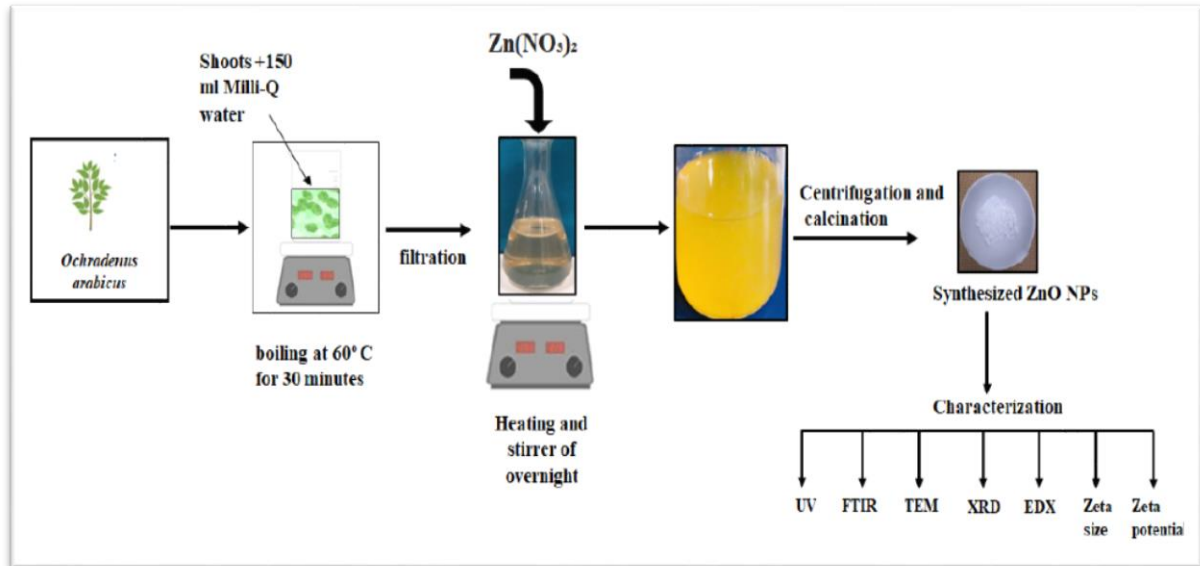


Figure 18 : Étapes de la synthèse biogénique des ZnO nanoparticules à partir de l'extrait d'Ochradenus arabicus (Alenezi, N. A., et al.2022).

Tableau 2 : Quelques recherches sur la biosynthèse des ZnONPs à l'aide des plants

Plant	Famille	Partie prélevée pour l'extraction	Taille (nm)	Référence
<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	Feuilles fraîches	18 (XRD)	Velmurugan, K. E. S. 2015).
<i>Aloe Vera</i>	Liliaceae	Extrait de feuille	20–80 (TEM)	(Ali, K., et al. 2016).
<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	Extrait de feuille	21.2 (XRD)	(Krukiewicz, K., et al.2016).
<i>Trifolium Pratense</i>	Legumes Eau de coco	Fleurs	60–70 (XRD)	(Dobrucka, R., et al.2015).

I.5.3. Applications des nanoparticules de ZnO

L'oxyde de zinc est un oxyde métallique qui a été l'objet de recherches intensives en raison de ses propriétés uniques et utiles dans divers domaines d'application. Depuis les années 2000, la production mondiale d'oxyde de zinc en poudre nanométrique est principalement utilisée dans l'industrie du caoutchouc et du pneumatique comme catalyseur dans le procédé de vulcanisation, ainsi que dans les produits chimiques, les peintures, l'agriculture, la céramique et les cellules solaires photovoltaïques. Les propriétés catalytiques du ZnO ont également suscité un grand intérêt dans le domaine de la dépollution de l'eau. En raison des progrès techniques réalisés en matière de synthèse et de ses propriétés intrinsèques, le ZnO est considéré comme l'un des matériaux fonctionnels les plus prometteurs (El Mir, L., et *al.* 2007).

I.5.3.1. Industrie cosmétique

Le ZnO est largement utilisé dans les pommades, les crèmes et les lotions en tant qu'agent antimicrobien potentiel pour traiter diverses infections cutanées. Ainsi que pour protéger la peau contre les coups de soleil et les dommages cellulaires causés par les rayons UV. En tant qu'ingrédient d'un écran solaire, le ZnO bloque à la fois les UVA (320-400 nm) et UVB (280-320 nm) de la lumière UV. Le ZnO est considéré comme non allergène, non irritant et non comédogène. De nombreuses crèmes solaires utilisent des nanoparticules de ZnO, qui semblent transparentes, car elles ne reflètent pas la lumière, ce qui les rend attrayantes d'un point de vue cosmétique. Contrairement à l'incorporation de plus grosses particules de ZnO dans les écrans solaires traditionnels, qui donnent un aspect blanc crayeux lorsqu'ils sont appliqués sur la peau. Ces nanoparticules ne pénètrent pas au-delà de la couche cornée de la peau. Et sont donc bien tolérées par la peau, ce qui permet d'éviter les problèmes de toxicité (Sonia, S., et *al.*2017).

I.5.3.2. Application Biologiques

I.5.3.2.1. Activité antibactérienne

Les suspensions aqueuses de ZnO permettent des interactions chimiques entre le peroxyde d'hydrogène et les protéines de la membrane cellulaire. Ainsi, les différentes espèces chimiques formées expliquent les différentes activités Antimicrobiennes. Les mécanismes proposés **Figure I-19** sont la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) la perte d'intégrité cellulaire suite au contact entre les ZnONPs et la paroi cellulaire, la libération d'ions Zn^{2+} et l'internalisation des ZnONPs. La production de ROS par les NP d'oxyde métallique est l'un des mécanismes responsables de l'activité antimicrobienne la plus couramment rapportée

dans la littérature. Les ROS comprennent les anions superoxydes (O_2^-), les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui peuvent entraîner la destruction de composants cellulaires tels que l'ADN, les protéines et les lipides. La paroi cellulaire bactérienne possède des charges négatives, comme les radicaux hydroxyles et les super oxydes, de sorte qu'ils ne peuvent pas pénétrer la membrane, mais le contact direct peut causer des dommages. Par conséquent, ces espèces ne peuvent être trouvées qu'à l'extérieur de la bactérie. À l'inverse, le peroxyde d'hydrogène est capable de traverser la paroi cellulaire et peut être internalisé dans la cellule bactérienne, déclenchant la mort cellulaire. Le peroxyde d'hydrogène pourrait être le mécanisme responsable de l'activité antibactérienne des NP de ZnO (Lallo da Silva, B., et al.2019).

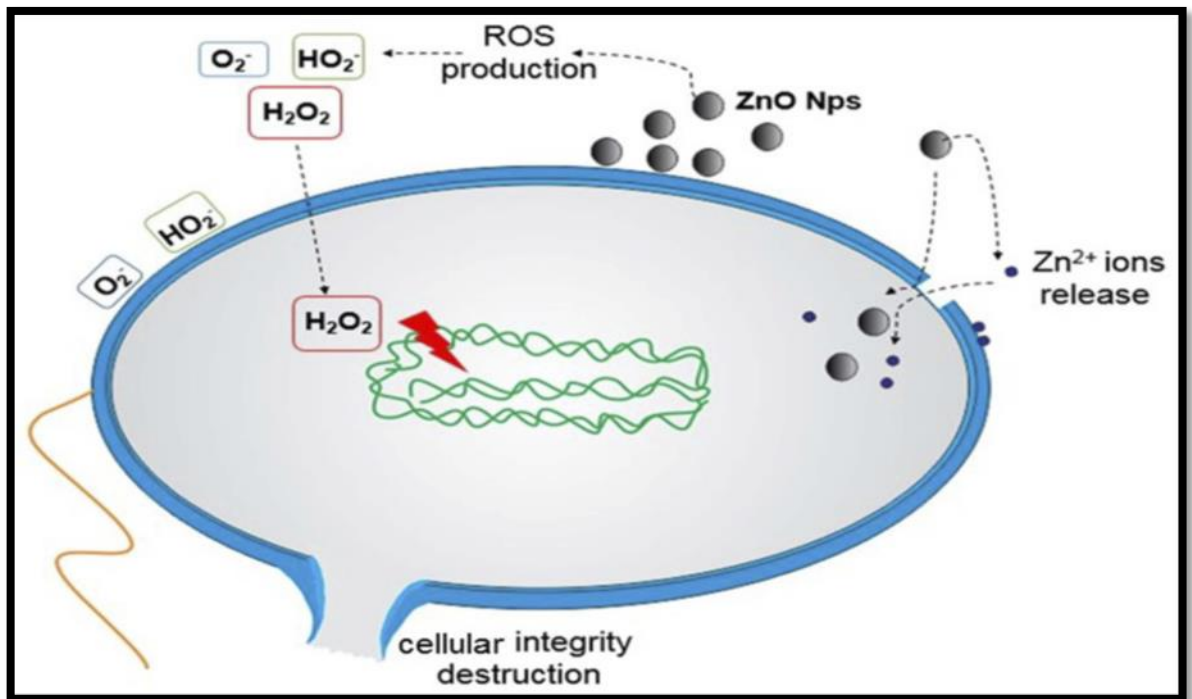


Figure 19: Mécanismes d'action suggérés des NP de ZnO contre les bactéries (He, L., et al. 2011).

I.5.3.2.2. Activités Antiinflammatoire

L'inflammation fait partie de la réponse biologique complexe des tissus de l'organisme aux stimuli nocifs, comme les pathogènes, les cellules endommagées ou les irritants (Ferrero-Miliani, L., et *al.* 2007). Les effets anti-inflammatoires des NPs de ZnO ont également attiré beaucoup d'attention. La dermatite atopique (DA) est une inflammation chronique de la peau, maladie caractérisée par l'altération de la barrière cutanée (Boguniewicz, M., et *al.* 2011). Ainsi que les textiles ont le contact le plus long et le plus intense avec la peau humaine. Wiegand dans une étude a exploré le rôle des textiles fonctionnalisées par ZnO, L'étude a révélé une amélioration évidente du prurit et qualité du sommeil lorsque les patients AD portaient les textiles fabriqués par ZnO. (Wiegand, C., et *al.* 2013).

Selon Ilves, M., et *al.* 2014. Dans le modèle d'AD chez la souris ont examiné si des NPs de ZnO de différentes tailles pouvaient pénétrer la peau blessée et la peau allergique. Leur recherche a fourni la preuve que seul l'oxyde de zinc nanométrique (n-ZnO) pouvait pénétrer les couches plus profondes de la peau allergique, tandis que l'oxyde de zinc en vrac (v-ZnO) reste dans les couches externes de la peau, à la fois blessée et allergique. Par comparaison entre les (n-ZnO) et les (v-ZnO), les (n-ZnO) a exercé des propriétés anti-inflammatoires plus élevées en diminuant considérablement les cytokines pro inflammatoires (IL-10, IL-13, IFN- γ et Th2 cytokines). Les résultats ont démontré que les NPs de ZnO de petite taille ont eu de grands effets sur la réduction de l'inflammation de la peau dans l'AD modèles. L'activité anti-inflammatoire des ZnONPs n'est pas confiné au traitement de dermatite atopique mais a également montré être très efficace pour d'autres maladies inflammatoires (Thatoi, P., et *al.* 2016).

I.5.3.2.3. Activités antidiabétique

Le diabète sucré est un grave problème de santé publique, et l'OMS a estimé qu'en 2022, il y avait plus de 400 millions d'adultes diabètes dans le monde entier (Seclen, S. N., et *al.* 2017). Le diabète est une maladie métabolique causée par l'incapacité du corps à produire de l'insuline ou utiliser l'insuline produit (Nazarizadeh, A., et *al.* 2016 ; Umrani, R. D., et *al.* 2014).

Le zinc est un oligo-élément et minéraux trouvés dans tous les tissus humains. Il est bien connu pour garder l'intégrité structurelle de l'insuline et a un rôle actif dans la sécrétion d'insuline du pancréas, Il participe également à la synthèse, stockage et la sécrétion, Par conséquent, les NPs de ZnO en tant qu'agent nouveau dans commande de livraison de zinc ont été développés et évalués pour leur potentiel antidiabétique (Malizia, R., et *al.* 1998). A Partir une étude réalisée en 2015 par Nazarizadeh et Asri-Rezaie pour comparer l'activité antidiabétique chez les rats diabétiques.il est trouvée que les NPs de ZnO à des doses (3 et 10 mg/kg) avaient un effet antidiabétique beaucoup plus important que le ZnSO₄ (30 mg/kg), cette expérience a été mise en évidence par une réduction remarquable de la glycémie et l'augmentation des niveaux d'Insuline. Cette étude prouvée que les NPs de ZnO ont été créés comme nouvelle méthode d'administration du zinc et leur potentiel antidiabétique a été évalué (Nazarizadeh, A., et *al.* 2016).

I.5.3.2.4. Activités antioxydante

La production intracellulaire de ROS n'implique pas nécessairement une toxicité cellulaire, mais un stress oxydatif se produit lorsque la formation de ROS dépasse la capacité de défense antioxydant. Le stress oxydatif a été associé à plusieurs processus de toxicité cellulaire, y compris les dommages aux protéines, la peroxydation des lipides membranaires, l'altération de l'ADN et l'inactivation enzymatique. Dans le métabolisme normal des radicaux libres et des antioxydantes sont équilibrés. Cependant, la surproduction de radicaux libres résultats dans les dommages oxydatifs, conduisant à une large gamme de maladies chroniques tell que le cancer, le diabète, l'inflammation, les maladies cardiaques, les blessures de répercussion, l'arthrite rhumatoïde et vieillissement (Cutler, R. G. 1991).

L'administration d'antioxydante offre une protection contre les dommages causés par les radicaux libres. Toutefois, l'utilisation d'antioxydantes synthétiques a été limitée en raison de leur toxicité. Par conséquent, la recherche est maintenant axée sur les antioxydantes d'origine naturelle. Das et *al.* ont étudié l'antioxydante potentiel de ZnONPs et a révélé que l'activité antioxydante de ZnONPs est due au transfert d'électrons de l'oxygène à l'électron impair situé à l'atome d'azote dans le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), entraînant une réduction de l'intensité de la transition à la longueur d'onde de 517 nm. DPPH fournit une méthode facile et rapide d'estimer l'activité antioxydante. Après la réduction, la couleur passe du violet au jaune, qui peut être quantifié par son absorbance réduite à 517 nm. (Loganathan, S., et *al.*2021).

I.5.3.3. L'industrie du textile

Le potentiel de commercialisation des produits nanotechnologiques dans le secteur textile est énorme. Particulièrement pour les applications militaires où il y a un manque de temps pour le blanchiment, les textiles hydrofuges et autonettoyants sont très prometteurs, très bénéfiques dans le milieu des affaires pour éviter les taches indésirables sur les revêtements. Un autre domaine crucial est de protéger le corps des rayons UV nocifs du soleil. De nombreux chercheurs travaillent sur des textiles qui peuvent se nettoyer, résister à l'eau et bloquer les rayons UV. (Vigneshwaran, N., et *al.* 2006).

Comparativement à leurs homologues de grande taille, les nanoparticules d'oxyde de zinc sont plus perméables à l'air et plus efficaces contre les UV (Yadav, A., et *al.* 2006). Les nanostructures ZnO ont donc gagné beaucoup d'attrait en tant que revêtements textiles de protection UV (Mao, Z., et *al.* 2009). De nombreuses techniques ont été publiées pour utiliser les nanostructures ZnO pour créer des tissus de protection UV. L'activité absorbant des UV a considérablement augmenté après la création de nanoparticules ZnO par une réaction de phase homogène à haute température. Ces particules ont ensuite été déposées sur les fibres de coton et de laine (Becheri, A., et *al.* 2008).

Ates, E. S., et *al.* 2012. Ont mis au point une étude pour donner aux Les nano fils ZnO des qualités d'auto-nettoyage, de super hydrophobie et de blocage UV. La recherche a montré que les propriétés extrêmement hydrophobes sont stables pour jusqu'à quatre lavages. Lors de l'évaluation de la protection UV du tissu de coton, on a découvert que la transmission des rayons UV avait considérablement diminué. Sous irradiation UV, l'activité d'auto-nettoyage a montré une dégradation significative du bleu de méthylène. Ces résultats impliquent que les nano fils de ZnO pourraient faire d'excellents revêtements textiles multifonctionnels.

I.5.3.4. Photocatalyse

Parmi les NPs d'oxyde métallique, le ZnO a été largement utilisé comme photo catalyseur semi-conducteur en raison de sa vitesse de réaction élevée, du grand nombre de sites réactifs disponibles, de sa grande efficacité à générer du peroxyde d'hydrogène, de son faible coût et de sa nature respectueuse de l'environnement. Il a été établi que le ZnO, présente une grande efficacité dans la photo dégradation des polluants et peut être dans le traitement des eaux usées à grande échelle. En raison de l'abondance des rejets dans les effluents industriels et de leurs graves impacts sur l'environnement, les polluants Sont les plus étudiés dans le cadre de la photodégradation. Les NPs de ZnO obtenues par des voies chimiques normales et des

stratégies vertes sont établies comme catalyseurs pour la photodégradation de différents polluants de l'eau.

La photo dégradation à l'aide de ZnO a été réalisée sous irradiation UV et Visible/lumière du soleil en fonction de la bande interdite optique de l'échantillon obtenu. Le mécanisme de photo dégradation via le catalyseur ZnO suit la théorie de la photo-catalyse des semi-conducteurs. Lorsque le catalyseur est exposé à une lumière dont l'énergie est égale ou supérieure à son énergie photo-seuil, les électrons sont excités de la bande de valence à la bande de conduction, ce qui entraîne la génération d'électrons de la bande de valence à la bande de conduction, ce qui entraîne la génération de paires électron-trou ainsi formées se diffusent à la surface du semi-conducteur et se combinent à l'eau et à l'oxygène moléculaire. Cela entraîne la production d'espèces radicales responsables de la dégradation des polluants organiques (Wang, A. J., et *al.* 2012).

I.5.3.5. Agriculteur

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs) possèdent également des propriétés optiques, physiques et antibactériennes et ont donc un grand potentiel pour améliorer l'agriculture. La synthèse biogénique des NPs de ZnO à l'aide de divers extraits de plantes, de bactéries, etc. est très sûre et respectueuse de l'environnement par rapport à la synthèse chimique (Sabir, S., et *al.* 2014).

Une solution colloïdale de nanoparticules d'oxyde de zinc est utilisée comme engrais ; qu'il joue un rôle important dans l'agriculture. C'est un nutriment végétal qui non seulement nourrit les plantes, mais restaure également le sol à un état organique. L'un des avantages des nano-engrais exempts de produits chimiques nocifs est qu'ils peuvent être utilisés en très petites quantités. Un arbre adulte n'a besoin que de 40 à 50 kg de nano-engrais, mais un engrais normal nécessite une quantité de 150 kg. La nano-poudre peut également être utilisée avec succès comme engrais et pesticide (Raikova, O. P., et *al.* 2006).

Le rendement des plants de blé cultivés à partir de semences traitées par Les nanoparticules ont augmenté en moyenne de 20 à 25 % (Batsmanova, L. M., et *al.* 2013). L'investigation trouve que Les effets toxicologiques des NPs continuent d'augmenter avec le temps, qui est plupart des NPs de ZnO sont restées liée à la surface des racines et des NP individuels observés dans l'apoplaste et le protoplasme de l'endoderme radriculaire. (Lin, D., et *al.* 2008).

I.5.3.6. Énergie

Le ciment est produit dans des usines à grande échelle utilisant des sources minérales carbonatées. En effet, ces ressources sont les principales matières premières du processus de fabrication du ciment. Il s'agit essentiellement d'un processus énergivore et pas respectueux de l'environnement. Par conséquent, des nanoparticules d'oxyde de zinc ont été incorporées dans des mélanges de ciment brut pour réduire la consommation d'énergie et les émissions de CO₂ lors du traitement (Osman, D. A. M., et *al.* 2020). Les nanoparticules d'oxyde de zinc sont largement utilisées car elles offrent les avantages d'une forme, d'une taille, d'une cristallinité et d'une fonctionnalité contrôlées en plus d'être respectueuses de l'environnement, résistantes à la corrosion, facilement extensibles et relativement peu coûteuses (Jana, A., et *al.* 2017). Due à leurs excellentes propriétés physiques et chimiques, ils sont introduits dans le processus de fabrication du ciment pour réduire la température de formation de la phase liquide d'environ 50-100°C (1300 °C au lieu des 1450-1500 °C normalement requis), réduisant la consommation d'énergie et les émissions de gaz (CO₂) (Barros, A. M., et *al.* 2004). D'après Shivaram 1 Tonne de clinker produit à générer environ 850 kg de CO₂ (Shivaram, M. S. 2014).

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

II- Matériels et méthodes

Au cours de ce chapitre, nous allons présenter la méthode employée pour la synthèse des nanoparticules de ZnO et présenter les résultats de leur caractérisation à travers des techniques telles que la MEB et la spectrophotométrie UV-vis et DRX, Nous allons également mettre en avant l'efficacité antioxydante et antibactérienne de cette nanoparticule.

II.1. Lieu et durée de l'étude

Le présent travail a été mené au sein du Plateau Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC Ouargla) à l'université de Kasdi Merbah Ouargla (nouveau pôle 3 universitaire). Cette institution spécialisée dans la recherche de nouvelles méthodes d'analyses physiques et chimiques ainsi que dans l'élaboration de nouveaux protocoles chimiques de synthèse et d'application. Elle est équipée des dernières technologies pour réaliser des analyses complexes. L'étude s'est déroulée du 20 mars 2023 au 22 mai 2023 et avait pour objectif la biosynthèse extracellulaire des nanoparticules de ZnO par une bactérie et leurs applications.

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Origine de souches utilisées

Souche de référence ATCC (American Type Culture Collection) a été utilisée pour la synthèse des NPs : *Salmonella enterica* ATCC6017.

II.2.2. Caractéristique de souche utilisée

- Une bactérie de forme bâtonnet.
- Gram-négative, anaérobie facultative
- Appartient de la famille des *Enterobacteriaceae* et elles réduisent les nitrates en nitrites
- Responsable des infections gastro-intestinales (Knodler, L. A., et al. 2019)
- Mobile grâce aux flagelles (Jajere, S. M. 2019).
- Mésophile 30 à 43°C, pH optimale entre 6,5 et 7,5, activité hydrique inférieure de 0,2 comme dans les aliments séchés, et nécessitent une activité hydrique élevée comprise entre 0,99 et 0,94 pour leur survie, complètement inhibé à pH <3,8, activité de l'eau <0,94 et températures <7°C (Pui, C. F., et al.2011).

II.3. Méthodes

II.3.1. Revivification et purification des souches

La souche de *Salmonella enterica* conservée a été revivifiée en la transférant dans un tube contenant 5 ml de bouillon nutritif (BN) et en l'incubant à 37°C pendant 24 heures. La réussite de cette revivification a été confirmée par l'apparition d'une trouble dans le milieu.

La souche revivifiée a été purifiée en la cultivant sur un milieu gélosé nutritif (GN) à 37°C pendant 24 heures, puis en prélevant une colonie pour l'ensemencer dans le bouillon nutritif (BN). Cette opération a été répétée trois fois jusqu'à ce que les souches bactériennes soient pures. (Abed, L., et al. 2017).

II.3.2. Synthèse des nanoparticules de ZnO

La synthèse a été faite par le protocole décrite par Prasad et al. Avec quelque modification (Prasad, K., et al. 2009).

La souche étudiée *Salmonella enterica* ont été cultivé dans un milieu de bouillon nutritif stérile pendant 24 heures à 37°C et à 150 tr/min. Après la culture, la centrifugation a été utilisée pour séparer le surnageant et le culot, avec une vitesse de 4000 tr/min à une température de 4°C pendant 20 minutes. Le surnageant a ensuite été utilisé pour la synthèse des nanoparticules de ZnO en le mélangeant avec une solution de 1.83g d'acétate de zinc $Zn(CH_3CO_2)_2$ de 0.1M à une température de 80°C.

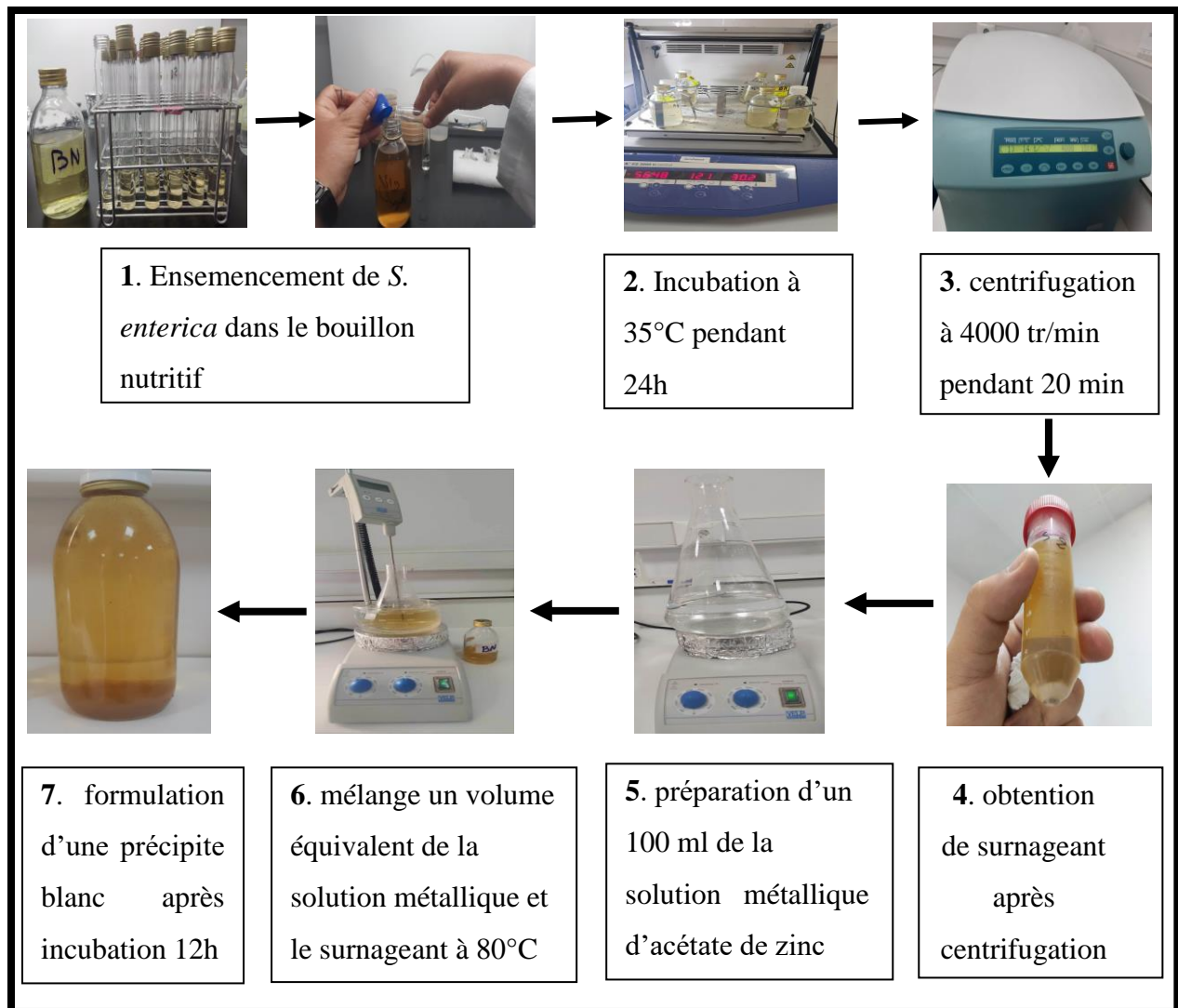


Figure 20 : Etapes de la synthèse de ZnO Nanoparticule.

II.3.2.1. Purification des nanoparticules de ZnO

La méthode utilisée pour obtenir des nanoparticules de ZnO de haute qualité consiste à centrifuger la solution obtenue après 24 heures à 4000 tr/min pendant 20 minutes. Le culot est ensuite nettoyé avec de l'eau distillée et la solution est centrifugée trois fois à 4000 tr/min pendant 10 minutes. Après cette purification, une petite quantité d'éthanol est ajoutée aux pastilles contenant les NPs, puis le tout est séché à l'étuve à 100°C pendant 24 heures pour obtenir une poudre prête à utiliser.

II.3.3. Caractérisation de ZnONPs biosynthétisées

Les différentes méthodes des caractérisations physico-chimiques sont utilisées pour étudier les nanoparticules synthétisées. Les propriétés morphologiques (taille de grain, forme) sont déterminées à partir de la Microscopie Électronique à Balayage (MEB) et les propriétés structurales sont étudiées à partir de la Diffraction des Rayons X (DRX). Concernant les analyses optiques et les défauts structuraux existant dans ces nanoparticules, spectrophotométrie UV-Vis est employée.

II.3.3.1. Spectrophotométrie UV-vis

La spectroscopie UV-Vis est une méthode idéale qui est généralement utilisée pour confirmer et caractériser la synthèse des NPs de ZnO basées sur la résonance plasmonique de surface. (SPR). Le spectre d'absorption optique des NPs de ZnO synthétisées a été déterminé dans la plage 200-800.

L'analyse a été effectuée avec des cuvettes de quartz comme récipient d'échantillon (mélange réactionnel après achèvement de la réaction), suivie de mesures l'absorbance et a été enregistrée avec la spectroscopie UV-visible dans la plage 200-800 nm gamme de longueurs d'onde en utilisant le spectrophotomètre Cary 100 Séries UV-Vis.

II.3.3.2. Diffraction des rayons X (DRX)

Le DRX est une technique d'analyse permettant d'étudier des échantillons solides cristallisés telles que les nanoparticules. Cette technique est un outil essentiel d'une part pour étudier la structure cristalline des nanoparticules et d'autre part pour déterminer les paramètres et la géométrie de la maille, l'orientation des monocristaux et d'identifier les phases inconnues dans le matériau. La diffraction des rayons X a comme avantage d'être non destructive et n'exige pas de préparation spécifique pour l'échantillon (Ronkart, S. N., et al. 2009).

Son principe repose sur la relation de Bragg : $2d(hkl) \sin \Theta = n \lambda$

Avec :

$d(hkl)$: distance inter-réticulaire (distance séparant les plans cristallins d'indice(hkl)).

Θ : angle d'incidence de rayons X sur la surface du matériau étudié.

n : ordre de la diffraction.

λ : longueur d'onde du faisceau de rayons X.

II.3.3.3. Microscope Électronique à Balayage (MEB)

Le MEB ou SEM en anglais est un outil puissant permettant de produire des images de haute résolution et de fournir des caractéristiques morphologiques. Si ce dernier est équipé de systèmes d'analyse d'énergie, il permet également de réaliser des analyses de composition élémentaire caractérisant les éléments chimiques constituant les nanoparticules (Ruska, E. 1987).

Pour l'analyse, une goutte de suspension de ZnONPs a été déposée sur une support pour mesurée à l'aide de Zeiss EVO15 Microscope électronique à balayage pour l'analyse morphologique et connaître la composition élémentaire de notre échantillon (Shume, W. M., et al. 2020).

II.3.4. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'une nanoparticule correspond à sa capacité à protéger un substrat de l'oxydation, notamment par le piégeage des radicaux libres. La méthode a été choisies afin d'évaluer l'activité antioxydante des différentes concentrations de ZnONPs.

II.3.4.1. Test d'activité anti-radicalaire (DPPH)

Cette méthode est basée sur la capacité de nanoparticule de ZnO à réduire le radical libre DPPH (2,2 -Diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette foncée, qui se transforme en DPPHH d'une couleur jaunâtre (Figure II-2). Cette délocalisation est mesurable par spectrophotométrie.

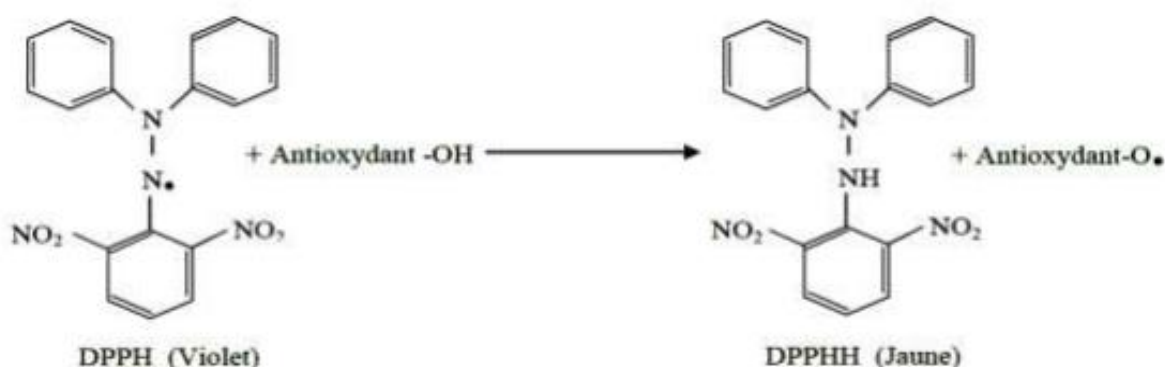


Figure 21 : Réaction de transformation du radical DPPH en DPPH-H (Talbi, H., et al. 2015).

Le teste de DPPH a été réalisé selon le protocole décrit par (Braca, A., et *al.* 2001). Avec quelques modifications, Une série de solution à différentes concentrations de ZnONPs a été effectué, 50µl de chacune sont ajoutés à 1500µl de DPPH(4mg/ml). Un blanc contient ZnONPs et l'éthanol pour chaque concentration. Ainsi, un témoin négatif est préparé en remplaçant l'échantillon par 1500 µl d'éthanol. Après de 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage I% est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A_{blanc} - A_{échantillon})/A_{blanc}] \times 100$$

A_{blanc}: absorbance du blanc

A_{échantillon}: absorbance de l'échantillon

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant de ZnO nous avons introduit le paramètre CI₅₀ Qui est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% de la fonction de différentes concentrations de ZnONPs testés. La valeur d'CI₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de ZnONPs la plus élevée. Les résultats sont exprimés en mg/ml avec 3 répétitions pour chaque concentration.

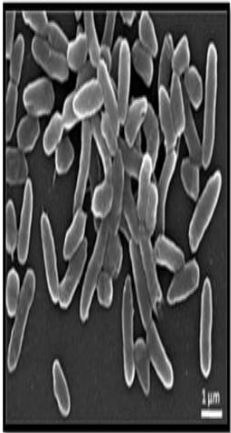
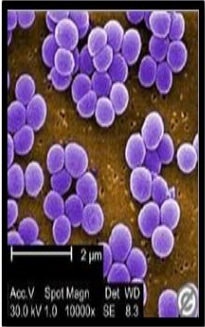
II.3.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode utiliser pour évaluer l'activité antibactérienne des différentes concentrations de ZnONPs est la méthode des disques en papier citée par (Magaldi, S., et *al.* 2004). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture autour du disque contenant la substance testée.

L'activité antibactérienne de ZnONPs synthétisée à partir de (*Salmonella enterica* ATCC6017) a été testée par la méthode de diffusion contre différents agents pathogènes humains, notamment une bactérie Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATTC43300) et une bactérie Gram-négative (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027).

II.3.5.1. Caractéristiques des souches bactériennes testées

Tableau 3: Caractéristiques des souches bactériennes testées.

Les souches	Figure de la souche	Caractères généraux	Référence
<i>P. aeruginosa</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Une bactérie à Gram négatif hétérotrophe. • Ubiquitaire, pathogène humain (mucoviscidose), bactérie opportuniste, produire de facteurs de virulence (élastase A, élastase B, protéase alcaline, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aminopeptidase) • Non-fermentative, catalase positive, oxydase positive, aéro-anaérobie • Température optimale de croissance de 42°C, mobile, en forme de bâtonnet, 1 à 5 μm 	<p>(Galdino, A. C. M., et <i>al.</i> 2017).</p> <p>(Vasil, M. L. 1986).</p> <p>(Pang, Z., et <i>al.</i> 2019).</p>
<i>S. aureus</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Appelée parfois staphylocoque doré, Forme sphérique en grappe de raisin (en forme des coques), Gram+, coagulase+ et catalase+. • Pathogène opportuniste, Température optimale de croissance à 37°, aéro-anaérobie facultatif, non sporulée, immobile. • Il mesure de 0,5 à 1 μm de diamètre. • Coloniser principalement la peau et les muqueuses. 	<p>(Leyral, G., et <i>al.</i> 2007).</p> <p>(Jenul, C., et <i>al.</i> 2019).</p> <p>(Wertheim, H. F., et <i>al.</i> 2005).</p>

II.3.5.2. Milieux de cultures utilisés

Le milieu Mueller Hinton "MH" a été le seul utilisé pour évaluer l'efficacité des ZnONPs synthétisées contre les souches décrites.

II.3.5.3. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion

II.3.5.3.A. Préparation des souches bactériennes (repiquage)

Les cultures bactériennes ont été cultivées au BN pendant 18 h sous agitation à 37°C, 1 ml de chaque culture pure ont été inoculées dans le bouillon nutritive pour diluée la charge bactérienne Bien homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, son opacité doit être équivalente à 0,2 McFarland et ont été étalés avec un coton-tige stérile sur toute la gélose, puis laisser sécher les boîtes.

II.3.5.3.B. Préparation des solutions de ZnONPs

Peser à l'aide d'une balance la poudre de NPs de ZnO et la diluer dans l'eau distillée afin d'obtenir la concentration de : 0.1 mg / μ l suivi d'une sonication dans un bac à ultrason (Elmasonic P) pendant 30 minutes.

L'étape finale de la réalisation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion, les disques stériles de papier Wathman N° 04 de 6 mm de diamètre ont été préparés. Ces disques ont été déposés sur la surface de la gélose de MH à l'aide d'une pince, puis imbibés avec (10, 15, 20) μ l d'échantillons de concentration (0.1M) de ZnONPs (0.1 mg/ μ l) à l'aide d'une micropipette. Après incubation à 37°C pendant 18 heures, les niveaux de zone d'inhibition (ZI) entourant le disque ont été mesurés pour chaque concentration.

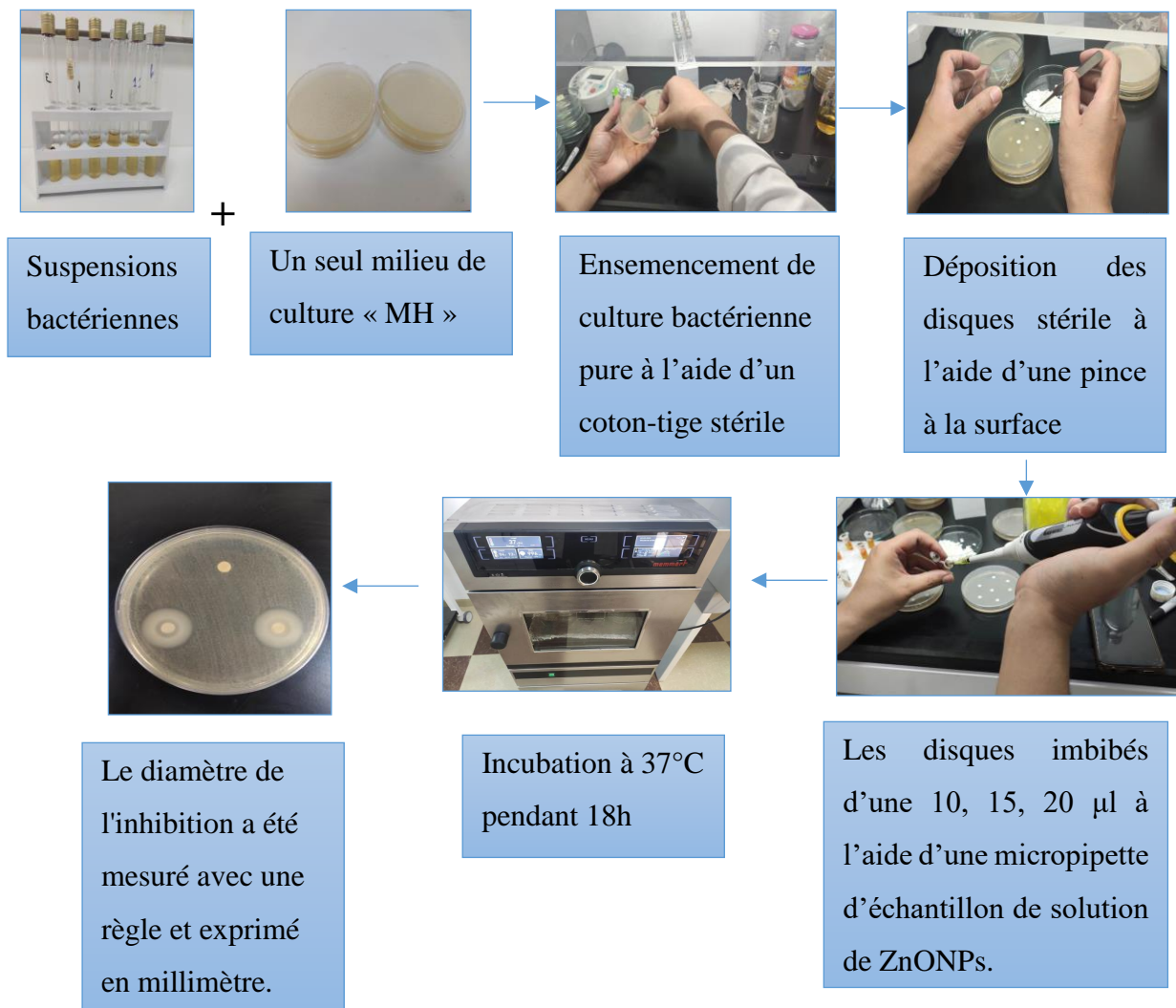


Figure 22 : Étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne de nanoparticule de ZnO

Chapitre III :

Résultats et

Discussions

III- Résultats et discussion

Ce chapitre abordera la biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) par la souche *salmonella enterica*, ainsi que les caractérisations et les activités antibactérienne et antioxydant des ZnONPs biosynthétisée. Le choix de cette bactérie pour la synthèse est basé sur son rendement et sa croissance rapide, dans le but de remplacer les méthodes chimiques et physiques qui utilisent des énergies importantes et des produits chimiques toxiques et dangereux pour la santé et l'environnement.

III.1. Synthèse de nanoparticules de ZnO

La biosynthèse extracellulaire de nanoparticules de zinc par le surnageant de culture de *salmonella enterica* a été observée par le changement de couleur et la formation d'un précipité blanc. Cela après le mélange de la solution de l'acétate de zinc $Zn(CH_3CO_2)_2$ avec le surnageant à 80°C.

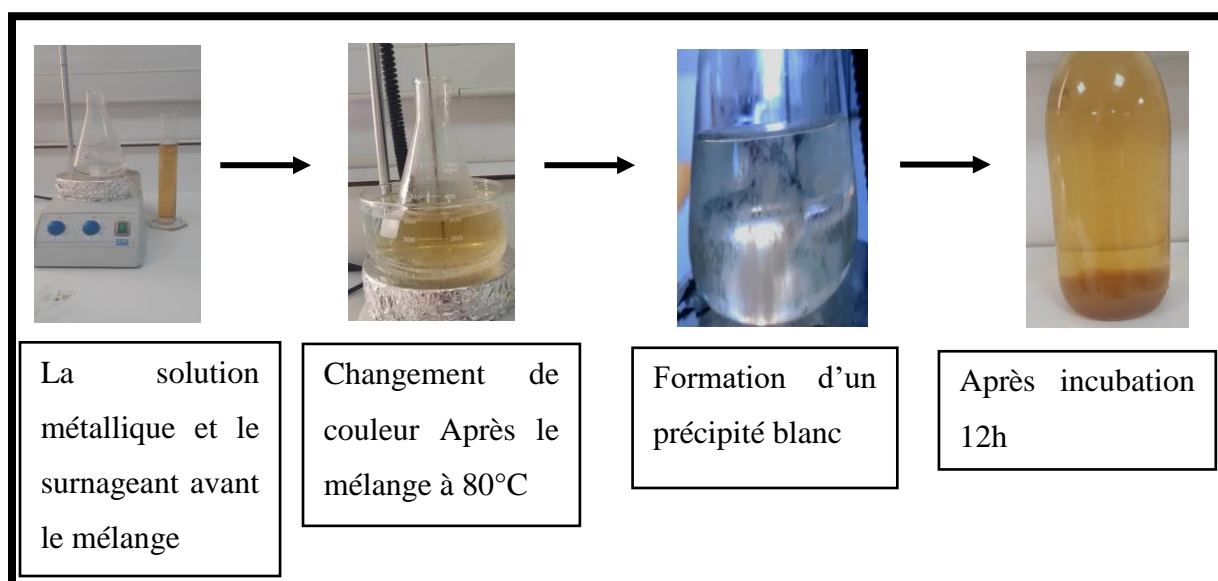


Figure 23 : Les étapes de formation d'une précipite blanc des nanoparticules de ZnO.

Le précipité blanc au fond du flacon indique que le ZnO est élaboré (Selvarajan, E., et al. 2013). Une observation similaire a été faite par Salman et al. (Salman, J. A. S., et al. 2018). Même comportement a été observé par Rajan et al. Durant la synthèse extracellulaire de ZnONPs par *Aspergillus fumigatus* (Rajan, A., et al. 2016).

Le changement de couleur est dû à l'effet des résonances plasmoniques de surface (SPR) suivi de la réduction des ions zinc Zn^{+2} par les protéines présentes dans le surnageant. Ce qui a entraîné la formation d'agrégats blancs de nanoparticules d'oxyde de zinc (Rajan, A., et al. 2016).

D'après Tripathi, R. M., et al. 2014. ont rapporté que les ZnONPs peuvent être stabilisés par des enzymes sécrétées par des cellules bactériennes (*Bacillus licheniformis*). Dans la synthèse extracellulaire, des études suggèrent que les protéines produites et libérées par les microorganismes peuvent aussi réduire les ions métalliques et stabiliser les particules (Bandeira, M., et al. 2020).

La plupart des rapports publiés ont soutenu que la synthèse extracellulaire des nanoparticules est préférable parce que la purification est plus facile que les méthodes intracellulaires. Une enzyme couramment utilisée est le nitrate réductase, qui peut être responsable de la synthèse des nanoparticules. Dans le processus de bioréduction, les différentes enzymes jouent un rôle important dans le transport des électrons des donneurs vers l'ion métallique positif. De ce fait, le nitrate réductase agit comme un agent réducteur principal dans la transformation des métaux en nanoparticules (Tsekhmistrenko, S. I., et al.2020).

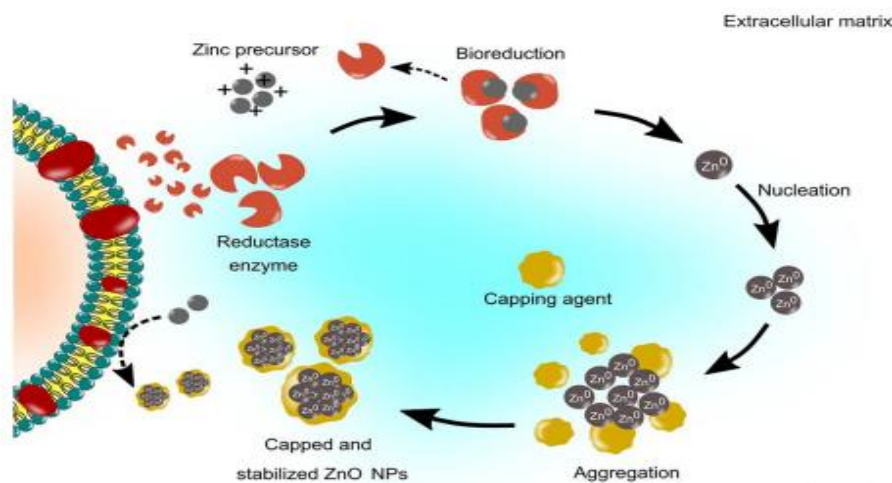


Figure 24 : Représentation schématique de mécanisme de synthèse extracellulaire des NPs de ZnO (MohdYusof, H., et al. 2019).

La figure III-3 montre les ZnONPs après le séchage dans l'étuve à 100°C.



Figure 25 : Poudre de nanoparticule de zinc.

III.2. Caractérisations de ZnONPs bio-synthétisées

III.2.1. Propriétés optiques

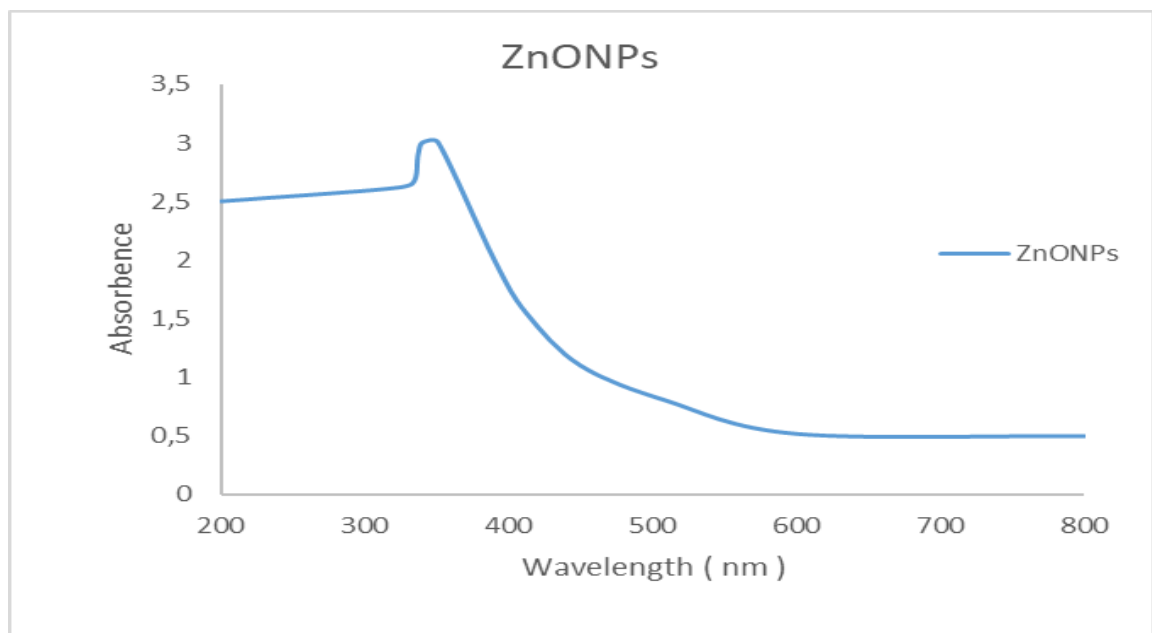


Figure 26 : Spectres d'absorption UV-Vis de nanoparticule de l'oxyde de zinc.

Représente sur la **figure 26** le spectre UV-Visible obtenu dans une gamme de longueur d'onde allant de 200 à 800 nm.

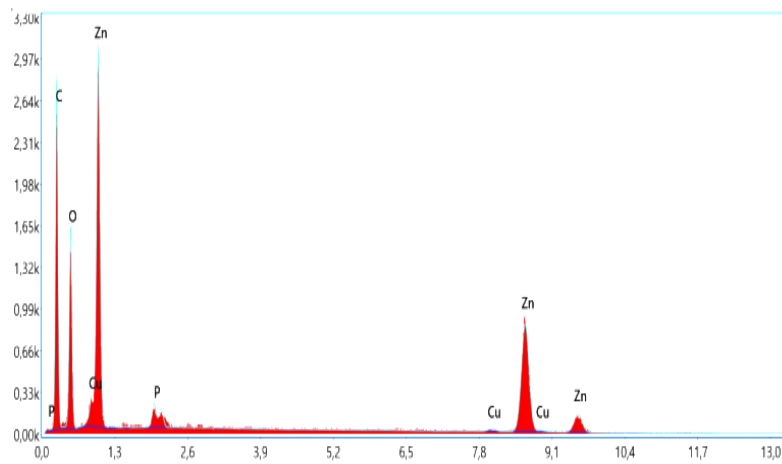
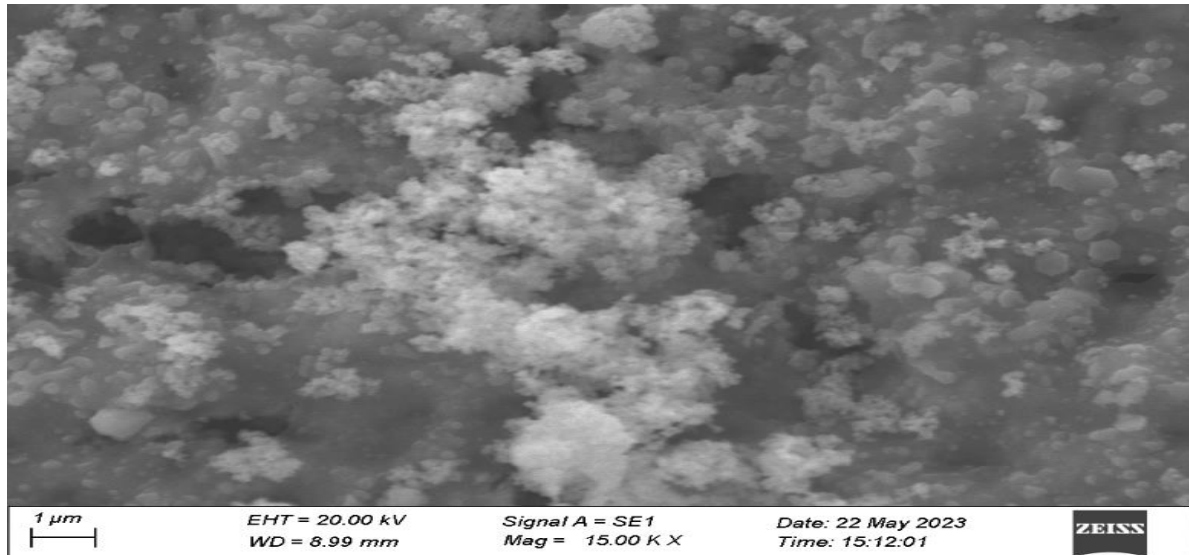
Dans le spectre UV-Vis des nanoparticules de ZnO, une absorption maximale est observée à 351 nm ce qui est attribué à la formation de NPs d'oxyde de zinc. Cette absorption due à la résonance plasmonique de surface (SPR) qui se produit en raison de la résonance des électrons de conduction collective autrement dite c'est l'excitation des électrons à cause des rayons incidents. Cette absorption est une caractéristique fondamentale de cet oxyde qui correspond à l'énergie du gap de ZnONPs dans le cas de transitions électroniques de la bande de valence BV vers la bande de conduction BC (Suresh, D., et al. 2015). Cette énergie de gap (Band gap) peut être estimée par la relation Tauc (Nagabhushana, H., et al. 2010). Selon (Soosen Samuel, M., et al. 2009) ce gap augmente avec la taille décroissante des particules.

D'autres études ont été effectuées par (Hamk, M., et al. 2023 ; Barsainya, M., et al. 2018 ; Jayaseelan, C., et al. 2012 ; Ebadi, M., et al. 2019 ; Iqtedar, M., et al. 2020 ; Busi, S., et al. 2021 ; Sabir, S., et al. 2020). Chacun de ces derniers ont synthétisé leurs nanoparticules à partir des bactéries *Bacillus subtilis* ZBP4, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonashydrophila*, *cyanobacterium Nostoc*, *Bacillus cereus MN181367sp*, *Acinetobacterschindleri SIZ7*, *bacillus subtilis* ou et par le champignon *Aspargillusniger* (Shamim, A., et al. 2019). Ils ont trouvé une absorbance presque proche l'une de l'autre allant du 310 nm à 370 nm. Ce qui prouve que l'intervalle de la gamme d'absorbance de NPs de ZnO et de 310 à 380 nm qui sont de bons accords avec nos résultats.

III.2.2. Propriétés Morphologiques

La figure 27a montre l'image de MEB de ZnONPs obtenu par la souche *salmonella enterica* ATCC6017. On observe clairement la formation des nanoparticules sous forme d'un cluster de structure sphérique irrégulière avec une distribution non uniforme. Ces nanoparticules sont de petite et grande taille qui résulte l'agrégation des petites. Cela traduit par la nature biologique de notre produite ce qui est confirmé par (Dobrucka, R., et al. 2016). L'agrégation de nanoparticules plus petites est causée par le fait que la synthèse est biologique. Selon (Al-Dhabi, N. A., et al. 2018), l'agglomération intense dans le cas des ZnONPs est due à la grande énergie de surface des NPs. Ainsi, selon (Albanese, A., et al. 2011) l'agrégation est connue pour être un phénomène omniprésent associé aux nanoparticules. La Figure III-5B illustre les compositions chimiques qui ont été révélées par le spectre EDX dans l'intervalle de 1Kev et 13Kev. Le pic fort à 1 KeV est le pic de Zn confirmant la formation des nanoparticules (35,41%) ainsi que des forts pics des atomes de Carbone (43,08%) et d'oxygène (19,98%). Et des signaux de P et Cu ont également été enregistrés. (Mahdi, Z. S., et al. 2021)

ont expliquer que la présence d'un pic fort de Zn et de l'oxygène indiquent la formation de ZnONPs. Une étude sur la synthèse de ZnONPs par *Aeromonas Hydrophila* a montré presque les mêmes pics. Ces pics intenses sont probablement résulte aux émissions de rayons X provenant des glucides/protéines/enzymes (Jayaseelan, C., et al. 2012).



Élément	% de masse	% atomique
CK	43.08	66.20
OK	19.98	23.05
PK	0.99	0.59
CuK	0.54	0.16
ZnK	35.41	10.00

Figure 27 : a) MEB de ZnONPs b) EDX de nanoparticule synthétisée.

III.2.3. Propriétés structurales

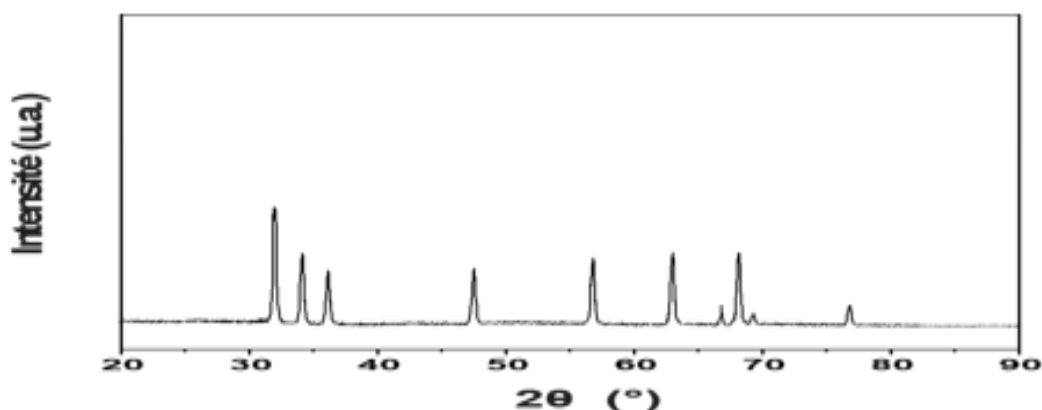


Figure 28 : DRX de nanoparticule de l'oxyde de zinc

La cristallinité, la pureté de ZnONPs ont été étudiées par spectre DRX pour confirmer la structure des nanoparticules d'oxyde de zinc. Ainsi que la formule de Debye-Scherrer a été utilisée pour déterminer la taille cristalline de ZnONPs. L'analyse de DRX a révélé plusieurs pics pointus dans la plage de 2θ entre 20° à 90° . La **Figure 28** montre le pic de réflexion de Bragg à la valeur de 2θ de $32,33^\circ$, $34,90^\circ$, $37,20^\circ$, $48,10^\circ$, $57,45^\circ$, $63,67^\circ$, $67,70^\circ$, $68,80^\circ$, $69,55^\circ$, et $77,23^\circ$ correspondant aux phases hexagonales (100) (002) (101) (102) (110) (103) (200) (112) (201) et (004), respectivement. Aucun pic d'impureté n'est observé sur le spectre DRX. Les pics sont en bon accord avec la base de données JCPDS (Carte N° : 36-1451) et qui confirmer la formation la structure poly-cristallines de ZnONPs ; qui est décrite comme une structure hexagonale de wurtzite (Salam, H. A., et *al.* 2014). La taille cristalline des nanoparticules d'oxyde de zinc a été déterminée en calculant le pic intense le plus élevé (100) à l'aide de l'équation Debye-Scherrer (Aytimur, A., et *al.* 2013). :

$$D = (0,9 \lambda) / (\beta \cos \Theta)$$

D : la taille cristalline (nm).

β : la pleine largeur à moitié maximum (FWHM) du pic en radians.

λ : la longueur d'onde des rayons X.

θ : angle de diffraction de Bragg.

Dans nos résultats la taille de la structure cristalline des nanoparticules synthétisées par la souche bactérienne *salmonella enterica* ATCC6017 est de l'ordre de 32 nm. D'après les études réalisées par (Barsainya, M., et al. 2018 ; Jayaseelan, C., et al. 2012) qu'ils sont synthétisés des nanoparticules d'oxyde de zinc à partir d'une source bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila* des tailles allant du 50-100nm, 42-64nm sont estimées, respectivement. Dans autre (Shamim, A., et al.2019) qui synthétiser son ZnONPs a partir *Aspergillus niger* de taille cristalline 40 nm.

Par contre les nanoparticules synthétiser a base des extraits de plantes ont des tailles plus petites, ce qui confirmé par les études de (Lingaraju, K., et al. 2016 ; Siripireddy, B., et al. 2017). Les extraits de plantes agissent comme agent de contrôle de la taille qui empêche la nucléation, l'agrégation et l'agglomération des NPs. Selon (Nagarajan, S., et al. 2013) Les forts pics et l'absence des pics d'impureté indiquent la structure hexagonale cristalline(Wurtzite) et la nature pure de l'échantillon cela confirme la validité de nos résultats.

III.3. Évaluation de l'activité antioxydante

Les antioxydantes sont des molécules qui peut prévenir les dommages cellulaires par retardent ou stoppent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre Redox cellulaire en éliminant des molécules nocives appelées radicaux libres dans nos cellules (Aruoma, O. I., et al. 1996).

Dans nos résultats On observe une relation proportionnelle entre le pourcentage d'inhibition et la concentration de ZnONPs obtenue par la souche *salmonella enterica* ATCC6017 comme ils sont présentés dans la **29** (0,06 mg/ml– 20,9% ; 0.125 mg/ml–21,7% ; 0.25 mg/ml–23,54% ; 0.5 mg/ml–24,27% et 1 mg/ml–31,02%). Selon (Nagajyothi, P. C., et al. 2015 ; Loganathan, S., et al. 2021) ils trouvant que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de concentration ce qui confirmé que notre résultat a de bonne corrélation avec le rapport de Nagajyothi et Loganathan.

Des études réalisées par (Meydan, I., et al. 2021 ; Nagajyothi, P. C., et al. 2015 ; Siripireddy, B., et al. 2017). Leurs pourcentage d'inhibition de ZnONPs produite par des extraits de plantes allant du 45% jusqu'à 82% est CI_{50} entre 0,04mg/ml a 10,8mg/ml pour (Albarakaty, F. M., et al. 2023 ; Siripireddy, B., et al. 2017 ; Lingaraju, K., et al. 2016 ; Suresh, D., et al. 2015 ; Sonia, S., et al. 2017). Mettre notre CI_{50} du 2,87mg/ml aux milieu de ces valeurs.

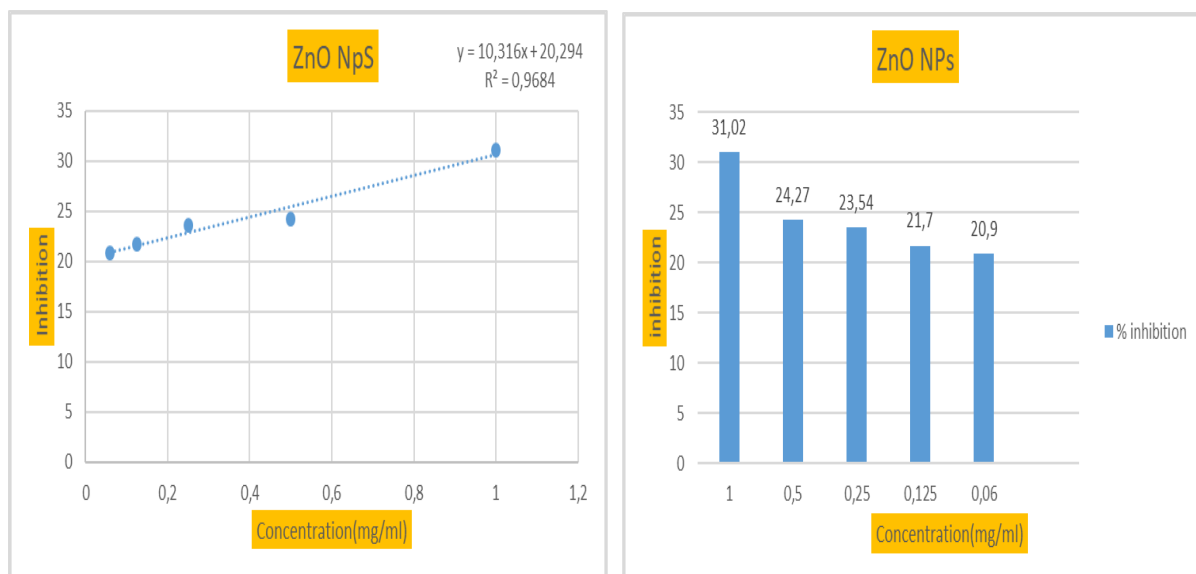


Figure 29 : l'activité antioxydants des ZnONPs de différentes concentrations de ZnONps par l'essai de l'inhibition de DPPH.

Notant que l'antioxydante qui a été utiliser comme standard dans notre travail c'est l'acide ascorbique (Vit C) qu'est considéré parmi les meilleurs antioxydants qui existe avec CI_{50} de 0,08mg/ml. Il exprime les valeurs d'inhibition : 30,63% pour 0,03mg/ml, 40,87% pour 0,06mg/ml, 64,43% pour 0,125mg/ml et 96,9% pour 0,25mg/ml (**Figure30**).

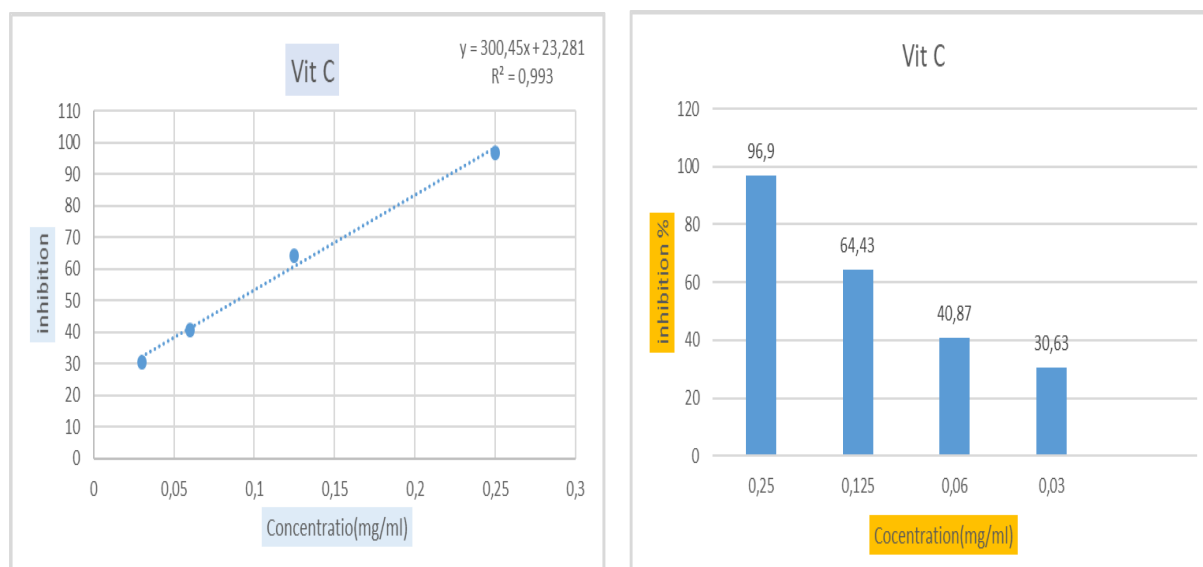


Figure 30 : l'activité antioxydant de l'acide ascorbique (vitamine C).

L'augmentation de pourcentage d'inhibition indique la réussite de l'activité antioxydante, et au mêmes temps l'efficacité de ces nanoparticules à réduire le DPPH. Cette information a été profondément expliquer par l'investigation de (Das, D., et *al.* 2013) qui révélé que L'activité antioxydante des ZnONPs est due au transfert d'électrons de l'oxygène (OH) vers un électron impair se situe au niveau de l'atome d'azote dans le DPPH instable (2,2-diphényl-picrylhydrazyl), entraînant une diminution de l'intensité de transition à 517 nm et rendre ce dernier une molécule stable dit DPPH-H. Cette explication est illustrée dans la **figureIII-9**. Ceci est validé par (Yang, H., et *al.* 2009) qui expliquent que l'activité antioxydante dépend de la capacité à donner de l'hydrogène ou les électrons.

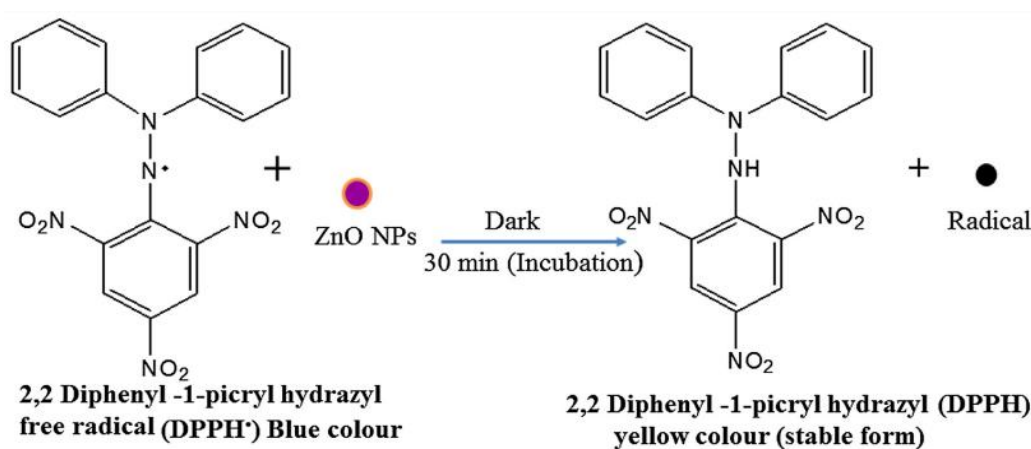


Figure 31 : mécanisme d'interaction entre le radicale libre DPPH et les ZnONPs (Siripireddy, B., et al. 2017).

Basant sur les résultats obtenus et les études précédant on peut conclure que notre nanoparticules biosynthétisé à partir la souche *salmonella enterica* ATCC6017 ont montré une activité antioxydante considérable.

III.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne du ZnONPs synthétisé a été testée contre deux types de bactéries (Figure III.10) ; Une bactérie à Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC43300) et une bactérie à Gram-négatif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027).

La sensibilité microbienne des nanoparticules dépend du type de micro-organisme et de la concentration de ZnONPs. Ce dernier Il a montré une certaine activité antibactérienne mesurée par un test de diffusion sur disque dans une boîte de Pétri. Des zones d'inhibition ont été observées. Les concentrations de ZnONPs inhibent progressivement la croissance des

bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus* ATTC43300) par rapport aux bactéries Gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027).

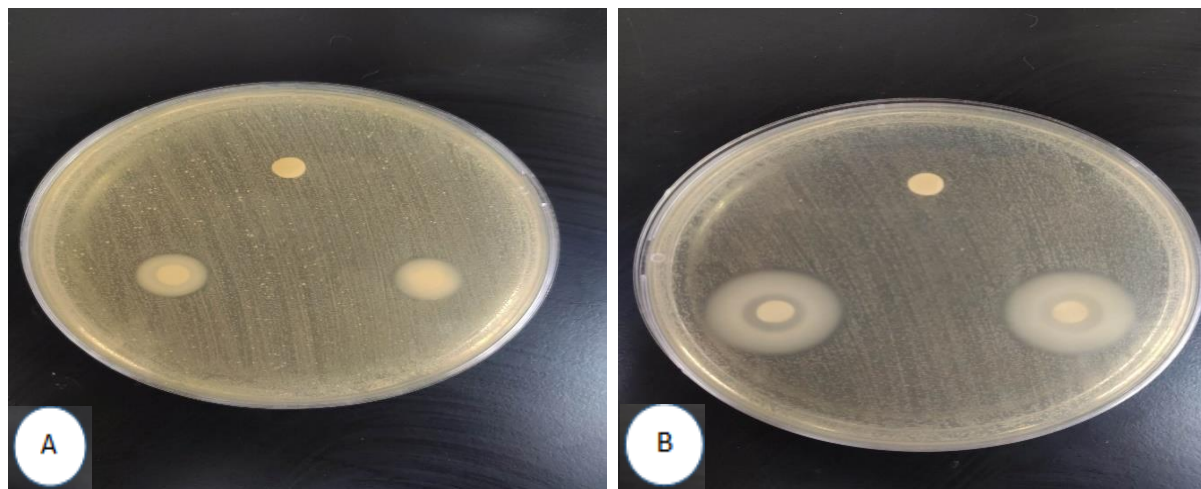


Figure 32 : ZnONPs contre A) *Pseudomonas aeruginosa* B) *Staphylococcus aureus*.

Le ZnONPs biosynthétisé de concentration (0,1M) à partir de *Salmonella enterica* a montré une bonne activité antibactérienne contre la bactérie Gram-positif *Staphylococcus aureus*, selon la quantité de nanoparticules appliquées avec des ZI varie de 0-8(**figure32 b**), à savoir 0 mm pour 10 µl, 5 mm pour 15 µl et 8 mm pour 20 µl). Alors que dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*, on observe une faible zone (1mm pour 20 µl) et aucune zone avec les autres doses (**Figure 32a**), cela veut dire que la bactérie à Gram positif est plus sensible au ZnONPs qui dépend de plusieurs raisons. (Siddiqi, K. S. 2018) ont trouvé que la taille et la morphologie des nanoparticules est une clé major pour l'efficacité de l'activité antibactérienne. Ainsi que (Padmavathy, N., et al. 2008 ; Gordon, T., et al. 2011 ; Yamamoto, O. 2001) on expliquer que la grande surface de contact des nanoparticules résulte une production élevée des radicaux libres (ROS) conduit à une activité antibactérienne forte. Parmi ces ROS négativement chargés, tels que les radicaux superoxydes et les l'hydroxyle d'hydrogène, s'accumulent à la surface de membrane bactérienne et causant des dommages par contact. (Stanković, A., et al. 2013) à démontrer que due à la charge positive du peroxyde d'hydrogène, il pénétrer facilement en provoquant un stress oxydatif dans la cellule et endommages à l'ADN entraînant des dommages cellulaires et la mort de *S. aureus*. Aussi (Divyapriya, S., et al. 2014) ont trouvé que l'interaction des nanoparticules positivement chargée avec la membrane bactérienne cellulaire négativement chargé conduit à l'extrusion du contenu intracellulaire ce qui confirmé aussi par (Wahab, R., et al. 2012) et (Xie, Y., et al. 2011 ; Liu, Y. J., et al. 2009) dans leurs études contre *C. jejuni* et *E. coli* O157 :H7, respectivement.

Dans une autre étude réalisée par (Domenech, J., et al. 1986 ; Bellanger, X., et al. 2015 ; Soren, S., et al. 2018), ils ont découvert que la libération des Zn^{2+} est responsable de l'activité antibactérienne par leur interférence avec les enzymes, les protéines et les acides aminés de la bactérie. Selon (Chang, Y. N., et al. 2012), la libération de Zn^{2+} dépend de la taille et de la morphologie. Donc la libération de Zn^{2+} dans des structures sphériques de plus petite taille des NPs est plus efficace que les grandes particules. La **figure 33** illustre le rôle principal joué par les ROS et les ions de zinc et l'interaction des NPs de ZnO dans l'activité antibactérienne.

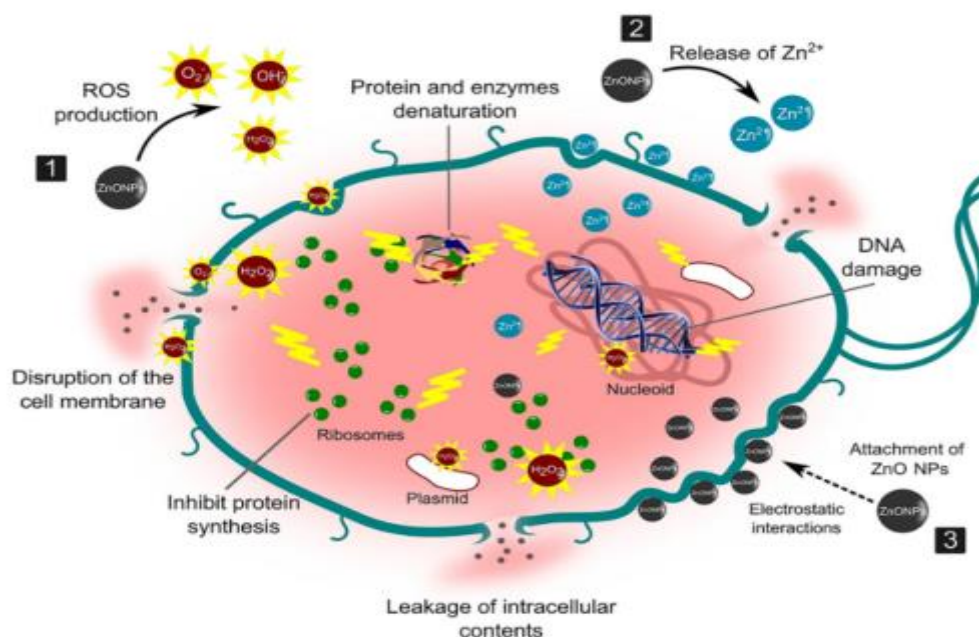


Figure 33 : illustration d'activités antimicrobienne des ZnONPs contre la paroi cellulaire bactérienne. (MohdYusof, H., et al. 2019).

Les bactéries Gram-positives ont une membrane entourant la cellule et une paroi cellulaire composée principalement d'une couche de peptidoglycane, d'acide teichoïque et d'acide lipoteichoïque charge négativement ce qui crée une attraction avec les NPs qui possède une charge positive ce qui explique leur sensibilité vers l'activité des nanoparticules. Sachant que Les parois cellulaires bactériennes à Gram négatif sont plus complexes en raison de la présence d'une membrane externe composée principalement de lipopolysaccharide (LPS) aussi une fine couche de peptidoglycane (Epand, R. M., et al. 2009 ; Jiang, W., et al. 2004). Par conséquent, la membrane externe des bactéries Gram-négatives agit comme une barrière et minimiser la pénétration des ROS dans les cellules cela vous confirme l'explication précédant de (Russell, A. D. 2003) et ainsi par (Reddy, K. M., et al. 2007) qui trouve que la bactérie à Gram positive *S. aureus* est très sensible aux ZnONPs que à Gram négative dans son étude sur

l'activité antibactérienne des ZnONPs contre la souche *E. coli* (gramme négative). Aussi, (Adams, L. K., et al. 2006) ont trouvé que l'activité antibactérienne de ZnONPs contre *Bacillus subtilis* à Gram positif peut être inhibé la croissance de 90%. Cependant, une résistance est observée par *Escherichia coli* à Gram négative. Ce qui prouve le résultat qui ont a eu d'avoir faible zone d'inhibition contre *P. aeruginosa* qui rendent nos résultats de bonne corrélation avec l'explication de (Russell, A. D. 2003 ; Reddy, K. M., et al. 2007)

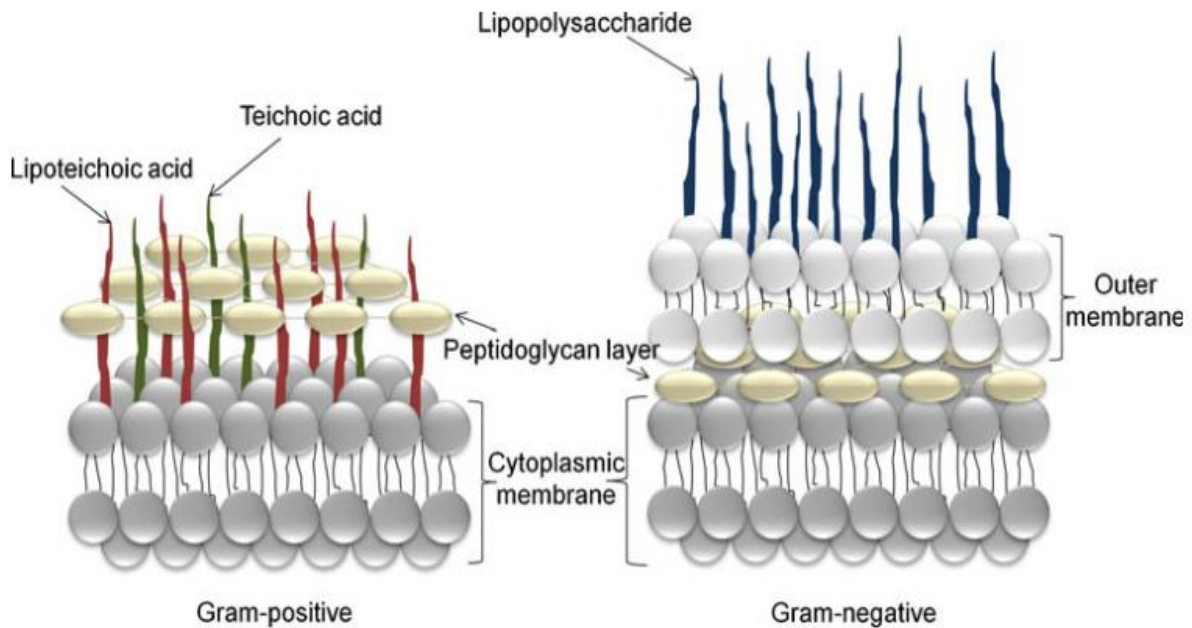


Figure 34 : la membrane structurale de bactérie Gram-positif et gram-négatives (Russell, A. D. 2003).

Conclusion générale et perspective

La biosynthèse des nanoparticules par les bactéries est considérée comme une méthode simple, préservant l'environnement et peu coûteuse.

Dans notre étude les nanoparticules de ZnO ont été préparées avec succès, à partir d'une souche bactérienne *Salmonella enterica* et caractérisés par DRX, UV-Vis, MEB. Les résultats de DRX ont montré une très bonne qualité cristalline du ZnONPs avec de pic très bien définis dans le plan (100), qui présente la plus haute intensité de pic et indexés comme une structure hexagonale (würtzite). La taille de la structure cristalline de nanoparticules de ZnO synthétisés est 32nm. Ainsi, la technique de caractérisation optique UV-Vis a confirmé la formation des NPs d'oxyde de zinc par l'apparition de bande d'absorption qui caractérisent cette dernière à 351nm.

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro des NPs d'oxydes de zinc a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Le NPs a montré une activité considérable, avec la valeur CI_{50} à 2,87 mg/ml. Cela indique que les nanoparticules d'oxyde de zinc produites par la bactérie *salmonella enterica* pourraient être considérées comme des antioxydants naturels bénéfiques pour protéger la santé contre divers stress oxydatifs.

Les ZnONPs bio-synthétisée ont montré une activité antibactérienne contre Gram positive *Staphylococcus aureus* et gram négative *Pseudomonas aeruginosa*. La zone d'inhibition plus forte a été observée chez les bactéries à Gram positives par rapport aux bactéries à Gram négatives. Cet effet antibactérien peut être exploité dans l'industrie biomédicale pour la production de médicaments antibactériens comme un nano-médicaments et l'administration ciblée de médicaments.

Perspectives

- Explorer la capacité de synthèse à partir d'autres souches bactériennes.
- Tester d'autres activités comme l'activité photocatalitique, antiinflammatoire antifongique et toxicité des NPs synthétisée.
- Faire examiner les caractérisations de ZnONPs par d'autres appareils comme, la microscopie à force atomique (AFM) et la diffusion dynamique de la lumière (DLS) et Spectroscopie réluctance totale atténuée -infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR).

Références bibliographique

1. Abed, L., & Isselnane, S. (2017). Synthèse et étude de l'activité antibactérienne des nanocomposites polymères conducteurs (Doctoral dissertation, UMMTO).
2. Adams, L. K., Lyon, D. Y., & Alvarez, P. J. (2006). Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water research*, 40(19), 3527-3532.
3. Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., Ramani, R., Srinivas, V., & Sastry, M. (2003). Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species. *Nanotechnology*, 14(7), 824.
4. Albanese, A., & Chan, W. C. (2011). Effect of gold nanoparticle aggregation on cell uptake and toxicity. *ACS nano*, 5(7), 5478-5489.
5. Albarakaty, F. M., Alzaban, M. I., Alharbi, N. K., Bagrwan, F. S., Abd El-Aziz, A. R., & Mahmoud, M. A. (2023). Zinc oxide Nanoparticles, Biosynthesis, characterization and their potent photocatalytic degradation, and antioxidant activities. *Journal of King Saud University-Science*, 35(1), 102434.
6. Al-Dhabi, N. A., & ValanArasu, M. (2018). Environmentally-friendly green approach for the production of zinc oxide nanoparticles and their anti-fungal, ovicidal, and larvicidal properties. *Nanomaterials*, 8(7), 500.
7. Alenezi, N. A., Al-Qurainy, F., Tarroum, M., Nadeem, M., Khan, S., Salih, A. M., ... & Alansi, S. (2022). Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs), Biosynthesis, Characterization and Evaluation of Their Impact to Improve Shoot Growth and to Reduce Salt Toxicity on *Salvia officinalis* In Vitro Cultivated. *Processes*, 10(7), 1273.
8. Ali, K., Dwivedi, S., Azam, A., Saquib, Q., Al-Said, M. S., Alkhedairy, A. A., & Musarrat, J. (2016). Aloe vera extract functionalized zinc oxide nanoparticles as nanoantibiotics against multi-drug resistant clinical bacterial isolates. *Journal of colloid and interface science*, 472, 145-156.
9. Ali, U. (2020). Green Synthesis, Characterization & Therapeutic Evaluation of ZnO Nanoparticles Prepared Using Extract of *Nigella sativa* Seeds (Doctoral dissertation, Doctoral dissertation, CAPITAL UNIVERSITY).
10. Arole, V. M., & Munde, S. V. (2014). Fabrication of nanomaterials by top-down and bottom-up approaches-an overview. *J. Mater. Sci*, 1, 89-93.
11. Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., ... & Halliwell, B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of

- extracts of rosemary and Provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology*, 34(5), 449-456.
12. Ates, E. S., & Unalan, H. E. (2012). Zinc oxide nanowire enhanced multifunctional coatings for cotton fabrics. *Thin Solid Films*, 520(14), 4658-4661.
 13. Aytimur, A., Uslu, İ., Çınar, E., Koçyiğit, S., Özcan, F., & Akdemir, A. (2013). Synthesis and characterization of boron doped bismuth–calcium–cobalt oxide nanoceramic powders via polymeric precursor technique. *Ceramics international*, 39(2), 911-916.
 14. Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., & da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100223.
 15. Barros, A. M., Tenório, J. A. S., & Espinosa, D. C. R. (2004). Evaluation of the incorporation ratio of ZnO, PbO and CdO into cement clinker. *Journal of hazardous materials*, 112(1-2), 71-78.
 16. Barsainya, M., & Singh, D. P. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* and their broad-spectrum antimicrobial effects. *J. Pure Appl. Microbiol*, 12(4), 2123-2134.
 17. Baskar, G., Chandhuru, J., Fahad, K. S., & Praveen, A. S. (2013). Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 3(4), 142-146.
 18. Batsmanova, L. M., Gonchar, L. M., Taran, N. Y., & Okanencko, A. A. (2013). Using a colloidal solution of metal nanoparticles as micronutrient fertiliser for cereals (Doctoral dissertation, Sumy State University).
 19. Becheri, A., Dürr, M., Lo Nostro, P., & Baglioni, P. (2008). Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers. *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 679-689.
 20. BELFENACHE, D. E. (2012). ELABORATION ET ETUDE DE NANOPARTICULES Au/TiO₂ ET Ag/TiO₂ (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1).
 21. Bellanger, X., Billard, P., Schneider, R., Balan, L., & Merlin, C. (2015). Stability and toxicity of ZnO quantum dots: Interplay between nanoparticles and bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 110-116.

22. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 15-27). Academic press.
23. Benzitouni, S., & Zaabat, M. (2018). Etude des propriétés optiques, mécaniques, antibactériennes et photocatalytiques des nanostructures à base d'oxyde métalliques "ZnO" (Doctoral dissertation, université oum el bouaghi).
24. Beveridge, T. J., & Murray, R. G. (1980). Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 141(2), 876-887.
25. Boguniewicz, M., & Leung, D. Y. (2011). Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunological reviews*, 242(1), 233-246.
26. Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2001). Antioxidant principles from *Bauhinia t arapotensis*. *Journal of natural products*, 64(7), 892-895.
27. Busi, S., Rajkumari, J., Pattnaik, S., Parasuraman, P., & Hnamte, S. (2021). Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Acinetobacter schindleri* SIZ7 and its antimicrobial property against foodborne pathogens. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 407-411.
28. Chang, Y. N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., & Xing, G. (2012). The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*, 5(12), 2850-2871.
29. Cutler, R. G. (1991). Recent progress in testing the longevity determinant and dysdifferentiation hypotheses of aging. *Archives of gerontology and geriatrics*, 12(2-3), 75-98.
30. Dameron, C. T., Reese, R. N., Mehra, R. K., Kortan, A. R., Carroll, P. J., Steigerwald, M. L., ... & Winge, D. R. (1989). Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites. *Nature*, 338(6216), 596-597.
31. Das, D., Nath, B. C., Phukon, P., & Dolui, S. K. (2013). Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 556-560.
32. Divyapriya, S., Sowmia, C., & Sasikala, S. (2014). Synthesis of zinc oxide nanoparticles and antimicrobial activity of *Murraya koeiniggi*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)*, 3(12), 1635-1645.
33. Dizaj, S. M., Mennati, A., Jafari, S., Khezri, K., & Adibkia, K. (2015). Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(1), 19.

34. Dobrucka, R., &Długaszewska, J. (2015). PII : S1319-562X (15) 00131-X.
35. Dobrucka, R., &Długaszewska, J. (2016). Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. *Saudi journal of biological sciences*, 23(4), 517-523.
36. Domenech, J., &Prieto, A. (1986). Stability of zinc oxide particles in aqueous suspensions under UV illumination. *The Journal of Physical Chemistry*, 90(6), 1123-1126.
37. Dubchak, S., Ogar, A., Mietelski, J. W., &Turnau, K. (2010). Influence of silver and titanium nanoparticles on arbuscular mycorrhiza colonization and accumulation of radiocaesium in *Helianthus annuus*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (1), 103-108.
38. Ealia, S. A. M., &Saravanakumar, M. P. (2017, November). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In *IOP conference series: materials science and engineering* (Vol. 263, No. 3, p. 032019). IOP Publishing.
39. Ebadi, M., Zolfaghari, M. R., Aghaei, S. S., Zargar, M., Shafiei, M., Zahiri, H. S., &Noghabi, K. A. (2019). A bio-inspired strategy for the synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) using the cellextract of cyanobacterium *Nostoc* sp. EA03: from biological function to toxicity evaluation. *RSC advances*, 9(41), 23508-23525.
40. El Mir, L., Ayadi, Z. B., Saadoun, M., Djessas, K., Von Bardeleben, H. J., &Alaya, S. (2007). Preparation and characterization of n-type conductive (Al, Co) co-doped ZnO thin films deposited by sputtering from aerogel nanopowders. *Applied Surface Science*, 254(2), 570-573.
41. EL-GHWAS, D. E. (2022). Characterization and biological synthesis of zinc oxide nanoparticles by new strain of *Bacillus foraminis*. *Biodiversitas Journal of BiologicalDiversity*, 23(1).
42. Epand, R. M., & Epand, R. F. (2009). Lipid domains in bacterial membranes and the action of antimicrobial agents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788(1), 289-294.
43. Faraji, G., Kim, H. S., & Kashi, H. T. (2018). *Severe plastic deformation: methods, processing and properties*. Elsevier.

44. Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical & Experimental Immunology*, 147(2), 227-235.
45. Galdino, A. C. M., Branquinha, M. H., Santos, A. L., & Viganor, L. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* and its arsenal of proteases: weapons to battle the host. *Pathophysiological aspects of proteases*, 381-397.
46. Gordon, T., Perlstein, B., Houbara, O., Felner, I., Banin, E., & Margel, S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 374(1-3), 1-8.
47. Habiba, K., Makarov, V. I., Weiner, B. R., & Morell, G. (2014). Fabrication of nanomaterials by pulsed laser synthesis. *Manufacturing nanostructures*, 10, 263-292.
48. Hamk, M., Akçay, F. A., & Avcı, A. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Bacillus subtilis* ZBP4 and their antibacterial potential against foodborne pathogens. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 1-10.
49. Han, N., Hu, P., Zuo, A., Zhang, D., Tian, Y., & Chen, Y. (2010). Photoluminescence investigation on the gas sensing property of ZnO nanorods prepared by plasma-enhanced CVD method. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(1), 114-119.
50. Hasan, S. (2015). A review on nanoparticles: their synthesis and types. *Res. J. RecentSci*, 2277, 2502.
51. Haverkamp, R. G., Marshall, A. T., & van Agterveld, D. (2007). Pick your carats: nanoparticles of gold–silver–copper alloy produced in vivo. *Journal of Nanoparticle Research*, 9, 697-700.
52. He, L., Liu, Y., Mustapha, A., & Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological research*, 166(3), 207-215.
53. Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
54. Husseiny, M. I., Abd El-Aziz, M., Badr, Y., & Mahmoud, M. A. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67(3-4), 1003-1006.

55. Ilves, M., Palomäki, J., Vippola, M., Lehto, M., Savolainen, K., Savinko, T., & Alenius, H. (2014). Topically applied ZnO nanoparticles suppress allergen induced skin inflammation but induce vigorous IgE production in the atopic dermatitis mouse model. *Particle and fibre toxicology*, 11, 1-12.
56. Iqtedar, M., Riaz, H., Kaleem, A., Abdullah, R., Aihetasham, A., Naz, S., & Sharif, S. (2020). Biosynthesis, optimization and characterization of ZnO nanoparticles using *Bacillus cereus* MN181367 and their antimicrobial activity against multidrug resistant bacteria. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 19(Sup. 1), 253-266.
57. Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World* 12: 504–521. *Salmonella enterica*.
58. Jana, A., Scheer, E., & Polarz, S. (2017). Synthesis of graphene–transition metal oxide hybrid nanoparticles and their application in various fields. *Beilstein journal of nanotechnology*, 8(1), 688-714.
59. Jayaseelan, C., Rahuman, A. A., Kirthi, A. V., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Bagavan, A., ... & Rao, K. B. (2012). Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 78-84.
60. Jenul, C., & Horswill, A. R. (2019). Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence. *Microbiology spectrum*, 7(2), 7-2.
61. Jha, A. K., Prasad, K., & Kulkarni, A. R. (2009). Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71(2), 226-229.
62. Jiang, W., Saxena, A., Song, B., Ward, B. B., Beveridge, T. J., & Myneni, S. C. (2004). Elucidation of functional groups on gram-positive and gram-negative bacterial surfaces using infrared spectroscopy. *Langmuir*, 20(26), 11433-11442.
63. JurakićTončić, R., & Marinović, B. (2016). The role of impaired epidermal barrier function in atopic dermatitis. *Acta Dermatovenerologica Croatica*, 24(2), 95-95.
64. Kammler, H. K., Mädler, L., & Pratsinis, S. E. (2001). Flame synthesis of nanoparticles. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 24(6), 583-596.

65. Khan, A. U., Ilyas, M., Zamel, D., Khan, S., Ahmad, A., Kaneez, F., ... & Khan, S. U. (2022). Bio-inspired fabrication of zinc oxide nanoparticles: Insight into biomedical applications.
66. Knodler, L. A., & Elfenbein, J. R. (2019). *Salmonella enterica*. Trends in microbiology, 27(11), 964-965.
67. Król, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., & Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. Advances in colloid and interface science, 249, 37-52.
68. Krukiewicz, K., & Zak, J. K. (2016). Biomaterial-based regional chemotherapy: Local anticancer drug delivery to enhance chemotherapy and minimize its side-effects. Materials Science and Engineering: C, 62, 927-942.
69. Kumar, P. P., Bhatlu, M. L. D., Sukanya, K., Karthikeyan, S., & Jayan, N. (2021). Synthesis of magnesium oxide nanoparticle by eco friendly method (green synthesis)—A review. Materials Today: Proceedings, 37, 3028-3030.
70. Lallo da Silva, B., Abuçafy, M. P., Berbel Manaia, E., Oshiro Junior, J. A., Chiari-Andréo, B. G., Pietro, R. C. R., & Chiavacci, L. A. (2019). Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview. International journal of nanomedicine, 9395-9410.
71. Leyral, G., & Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaire. Biosci. technol.
72. Lin, D., & Xing, B. (2008). Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. Environmental science & technology, 42(15), 5580-5585.
73. Lingaraju, K., Raja Naika, H., Manjunath, K., Basavaraj, R. B., Nagabhushana, H., Nagaraju, G., & Suresh, D. (2016). Biogenic synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ruta graveolens* (L.) and their antibacterial and antioxidant activities. Applied Nanoscience, 6, 703-710.
74. Loganathan, S., Shivakumar, M. S., Karthi, S., Nathan, S. S., & Selvam, K. (2021). Metal oxide nanoparticle synthesis (ZnO-NPs) of *Knoxiasumatrensis* (Retz.) DC. Aqueous leaf extract and It's evaluation of their antioxidant, anti-proliferative and larvicidal activities. Toxicology Reports, 8, 64-72.
75. Magaldi, S., Mata-Essayag, S., De Capriles, C. H., Pérez, C., Colella, M. T., Olaizola, C., & Ontiveros, Y. (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. International journal of infectious diseases, 8(1), 39-45.

76. Mahdi, Z. S., Talebnia Roshan, F., Nikzad, M., & Ezoji, H. (2021). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using bacteria: a study on the characterization and application for electrochemical determination of bisphenol A. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(9), 1249-1257.
77. Malizia, R., Scorsone, A., D'Angelo, P., Pitrolo, L., & Giordano, C. (1998). Zinc deficiency and cell-mediated and humoral autoimmunity of insulin-dependent diabetes in thalassemic subjects. *Journal Of Pediatric Endocrinology & Metabolism: JPEM*, 11, 981-984.
78. Mao, Z., Shi, Q., Zhang, L., & Cao, H. (2009). The formation and UV-blocking property of needle-shaped ZnO nanorod on cotton fabric. *Thin Solid Films*, 517(8), 2681-2686.
79. Mashrai, A., Khanam, H., & Aljawfi, R. N. (2017). Biological synthesis of ZnO nanoparticles using *C. albicans* and studying their catalytic performance in the synthesis of steroidal pyrazolines. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1530-S1536.
80. Meydan, I., & Seckin, H. (2021). Green synthesis, characterization, antimicrobial and antioxidant activities of zinc oxide nanoparticles using *Helichrysum arenarium* extract. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(1), 33-41.
81. Miri, A., Mahdinejad, N., Ebrahimi, O., Khatami, M., & Sarani, M. (2019). Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109981.
82. Mohd Yusof, H., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Abdul Rahman, N. A. (2019). Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 10, 1-22.
83. Morkoç, H., & Özgür, Ü. (2008). *Zinc oxide: fundamentals, materials and device technology*. John Wiley & Sons.
84. Nagabhushana, H., Nagabhushana, B. M., Kumar, M., Premkumar, H. B., Shivakumara, C., & Chakradhar, R. P. S. (2010). Synthesis, characterization and photoluminescence properties of CaSiO₃: Dy³⁺ nanophosphors. *Philosophical Magazine*, 90(26), 3567-3579.
85. Nagajyothi, P. C., Cha, S. J., Yang, I. J., Sreekanth, T. V. M., Kim, K. J., & Shin, H. M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide

- nanoparticles synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 146, 10-17.
86. Nagarajan, S., & Arumugam Kuppasamy, K. (2013). Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India. *Journal of nanobiotechnology*, 11, 1-11.
87. Nair, B., & Pradeep, T. (2002). Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains. *Crystal growth & design*, 2(4), 293-298.
88. Nazarizadeh, A., & Asri-Rezaie, S. (2016). Comparative study of antidiabetic activity and oxidative stress induced by zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate in diabetic rats. *AAPS PharmSciTech*, 17, 834-843.
89. Nunes, D., Pimentel, A., Santos, L., Barquinha, P., Pereira, L., Fortunato, E., & Martins, R. (2019). Synthesis, design, and morphology of metal oxide nanostructures. *Metal Oxide Nanostructures*, 21-57.
90. Osman, D. A. M., Nur, O., & Mustafa, M. A. (2020). Reduction of energy consumption in cement industry using zinc oxide nanoparticles. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 32(6), 04020124.
91. Padmavathy, N., & Vijayaraghavan, R. (2008). Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. *Science and technology of advanced materials*.
92. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177-192.
93. Parashar, M., Shukla, V. K., & Singh, R. (2020). Metal oxides nanoparticles via sol-gel method: a review on synthesis, characterization and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(5), 3729-3749.
94. Pask, S. D., Nuyken, O., & Cai, Z. (2012). The spinning disk reactor: an example of a process intensification technology for polymers and particles. *Polymer Chemistry*, 3(10), 2698-2707.
95. Pimpin, A., & Srituravanich, W. (2012). Review on micro- and nanolithography techniques and their applications. *Engineering Journal*, 16(1), 37-56.
96. Placet, V., Bouali, A., Garcin, C., Cote, J. M., & Perré, P. (2011, August). Suivi par DRX des réarrangements microstructuraux induits par sollicitations mécaniques dans les fibres végétales tirées du chanvre. In CFM 2011-20ème Congrès Français

- de Mécanique. AFM, Maison de la Mécanique, 39/41 rue Louis Blanc-92400 Courbevoie.
97. Prasad, K., & Jha, A. K. (2009). ZnO nanoparticles: synthesis and adsorption study. *Natural Science*, 1(02), 129.
98. Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Hidayah, N., ... & Son, R. (2011). Salmonella: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal*, 18(2).
99. Raikova, O. P., Panichkin, L. A., & Raikova, N. N. (2006, May). Studies on the effect of ultrafine metal powders produced by different methods on plant growth and development. *Nanotechnologies and information technologies in the 21st century*. In *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference* (Vol. 108, p. 111).
100. Rajan, A., Cherian, E., & Baskar, G. (2016). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Aspergillus fumigatus* JCF and its antibacterial activity. *Int. J. Mod. Sci. Technol*, 1(2), 52-57.
101. Rajiv, P., Rajeshwari, S., & Venkatesh, R. (2013). Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 112, 384-387.
102. Ramesh, S. (2013). *Sol-Gel Synthesis and Characterization of Ag*.
103. Rauf, M. A., Owais, M., Rajpoot, R., Ahmad, F., Khan, N., & Zubair, S. (2017). Biomimetically synthesized ZnO nanoparticles attain potent antibacterial activity against less susceptible *S. aureus* skin infection in experimental animals. *RSC advances*, 7(58), 36361-36373.
104. Reddy, K. M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D. G., Hanley, C., & Punnoose, A. (2007). Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied physics letters*, 90(21), 213902.
105. Ronkart, S. N., Paquot, M., Fougnes, C., Deroanne, C., & Blecker, C. S. (2009). Effect of water uptake on amorphous inulin properties. *Food hydrocolloids*, 23(3), 922-927.
106. Ruska, E. (1987). The development of the electron microscope and of electron microscopy (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 26(7), 595-605.

107. Russell, A. D. (2003). Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52(5), 750-763.
108. Sabir, S., Arshad, M., & Chaudhari, S. K. (2014). Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: synthesis and applications. *The Scientific World Journal*, 2014.
109. Sabir, S., Zahoor, M. A., Waseem, M., Siddique, M. H., Shafique, M., Imran, M., ... & Muzammil, S. (2020). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Bacillus subtilis*: characterization and nutritive significance for promoting plant growth in *Zeamays L.* Dose-Response, 18(3), 1559325820958911.
110. Sahoo, M., Vishwakarma, S., Panigrahi, C., & Kumar, J. (2021). Nanotechnology: Current applications and future scope in food. *Food Frontiers*, 2(1), 3-22.
111. Salam, H. A., Sivaraj, R., & Venckatesh, R. (2014). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Ocimum basilicum L. var. purpurascens Benth.*-Lamiaceae leaf extract. *Materials letters*, 131, 16-18.
112. Salavati-Niasari, M., Davar, F., & Mir, N. (2008). Synthesis and characterization of metallic copper nanoparticles via thermal decomposition. *Polyhedron*, 27(17), 3514-3518.
113. Salman, J. A. S., Kadhim, A. A., & Haider, A. J. (2018). Biosynthesis, characterization and antibacterial effect of ZnO nanoparticles synthesized by *Lactobacillus Spp.* *J Global Pharma Technol*, 10(03), 348-355.
114. Seclen, S. N., Rosas, M. E., Arias, A. J., & Medina, C. A. (2017). Elevated incidence rates of diabetes in Peru: report from PERUDIAB, a national urban population-based longitudinal study. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 5(1), e000401.
115. Selvarajan, E., & Mohanasrinivasan, V. J. M. L. (2013). Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum VITES07*. *Materials Letters*, 112, 180-182.
116. Shamim, A., Mahmood, T., & Abid, M. B. (2019). Biogenic synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using a fungus (*Aspergillus niger*) and Their Characterization. *International Journal of Chemistry*, 11(2), 119.

117. Shivaram, M. S. (2014). Measures to contain pollution caused due to cement productions: A review. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 4(11), 135-140.
118. Shume, W. M., Murthy, H. A., & Zereffa, E. A. (2020). A review on synthesis and characterization of Ag₂O nanoparticles for photocatalytic applications. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-15.
119. Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2018). Properties of zinc oxide nanoparticles and their activity against microbes. *Nanoscale research letters*, 13(1), 1-13.
120. Singh, V. K., & Singh, A. K. (2019). Role of microbially synthesized nanoparticles in sustainable agriculture and environmental management. In *Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology*(pp. 55-73). Woodhead Publishing.
121. Siripireddy, B., & Mandal, B. K. (2017). Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Eucalyptus globulus* and their photocatalytic and antioxidant activity. *Advanced Powder Technology*, 28(3), 785-797.
122. Smith, A. M., Smouse, S. L., Tau, N. P., Bamford, C., Moodley, V. M., Jacobs, C., ... & Keddy, K. H. (2017). Laboratory-acquired infections of *Salmonella enterica* serotype Typhi in South Africa: phenotypic and genotypic analysis of isolates. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 1-9.
123. Sonia, S., Ruckmani, K., & Sivakumar, M. (2017). Antimicrobial and antioxidant potentials of biosynthesized colloidal zinc oxide nanoparticles for a fortified cold cream formulation: a potent nanocosmeceutical application. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 581-589.
124. Soosen Samuel, M., Bose, L., & George, K. C. (2009). Optical properties of ZnO nanoparticles. *Academic Review*, 16, 57-65.
125. Soren, S., Kumar, S., Mishra, S., Jena, P. K., Verma, S. K., & Parhi, P. (2018). Evaluation of antibacterial and antioxidant potential of the zinc oxide nanoparticles synthesized by aqueous and polyol method. *Microbial pathogenesis*, 119, 145-151.
126. Stanković, A., Dimitrijević, S., & Uskoković, D. (2013). Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO powders hydrothermally synthesized using different surface stabilizing agents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 21-28.
127. Suresh, D., Nethravathi, P. C., Rajanaika, H., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using

- Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 31, 446-454.
128. Suresh, D., Shobharani, R. M., Nethravathi, P. C., Kumar, M. P., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). Artocarpus gomezianusaied green synthesis of ZnO nanoparticles: Luminescence, photocatalytic and antioxidant properties. *Spectrochimica Acta Part A:Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 141, 128-134.
129. Tai, C. Y., Tai, C. T., Chang, M. H., & Liu, H. S. (2007). Synthesis of magnesium hydroxide and oxide nanoparticles using a spinning disk reactor. *Industrial& engineering chemistryresearch*, 46(17), 5536-5541.
130. Talbi, H., & Boumaza, A. (2015). KE mostafa, J. Talbi, A. Hilali, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la Nigellasativa L. *Journal de JMESCEN*, 6, 1111-1117.
131. Thatoi, P., Kerry, R. G., Gouda, S., Das, G., Pramanik, K., Thatoi, H., & Patra, J. K. (2016). Photo-mediated green synthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using aqueous extracts of two mangrove plant species, Heritiera fomes and Sonneratia apetala and investigation of their biomedical applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163, 311-318.
132. Thema, F. T., Manikandan, E., Dhlamini, M. S., &Maaza, M. J. M. L. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles via Agathosmabetulina natural extract. *Materials Letters*, 161, 124-127.
133. Tiwari, D. K., Behari, J., & Sen, P. (2008). Application of nanoparticles in waste water treatment. *World Appl Sci J*, 3(3), 417-433.
134. Tripathi, R. M., Bhadwal, A. S., Gupta, R. K., Singh, P., Shrivastav, A., &Shrivastav, B. R. (2014). ZnO nanoflowers: novel biogenic synthesis and enhanced photocatalytic activity.*Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 141, 288-295.
135. Tsekhmistrenko, S. I., Bityutskyy, V. S., Tsekhmistrenko, O. S., Horalskyi, L. P., Tymoshok, N. O., & Spivak, M. Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), 9-17.
136. Umrani, R. D., &Paknikar, K. M. (2014). Zinc oxide nanoparticles show antidiabetic activity in streptozotocin-induced Type 1 and 2 diabetic rats. *Nanomedicine*, 9(1), 89-104.

137. Vasil, M. L. (1986). *Pseudomonas aeruginosa*: biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *The Journal of pediatrics*, 108(5), 800-805.
138. Velmurugan, K. E. S. (2015). Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.), 345, 329-336.
139. Vigneshwaran, N., Kumar, S., Kathe, A. A., Varadarajan, P. V., & Prasad, V. (2006). Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide–soluble starch nano composites. *Nanotechnology*, 17(20), 5087.
140. Vogel, D., Krüger, P., & Pollmann, J. (1995). Ab initio electronic-structure calculations for II-VI semiconductors using self-interaction-corrected pseudopotentials. *Physical Review B*, 52(20), R14316.
141. Wahab, R., Mishra, A., Yun, S. I., Hwang, I. H., Mussarat, J., Al-Khedhairi, A. A., ... & Shin, H. S. (2012). Fabrication, growth mechanism and antibacterial activity of ZnO micro-spheres prepared via solution process. *Biomass and Bioenergy*, 39, 227-236.
142. Wang, A. J., Liao, Q. C., Feng, J. J., Zhang, P. P., Li, A. Q., & Wang, J. J. (2012). Apple pectin-mediated green synthesis of hollow double-caged peanut-like ZnO hierarchical superstructures and photocatalytic applications. *CrystEngComm*, 14(1), 256-263.
143. Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet infectious diseases*, 5(12), 751-762.
144. Wiegand, C., Hipler, U. C., Boldt, S., Strehle, J., & Wollina, U. (2013). Skin-protective effects of a zinc oxide-functionalized textile and its relevance for atopic dermatitis. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 115-121.
145. Xie, Y., He, Y., Irwin, P. L., Jin, T., & Shi, X. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and environmental microbiology*, 77(7), 2325-2331.
146. Yadav, A., Prasad, V., Kathe, A. A., Raj, S., Yadav, D., Sundaramoorthy, C., & Vigneshwaran, N. (2006). Functional finishing in cotton fabric using zinc oxide nanoparticles. *Bulletin of materials Science*, 29(6).
147. Yadav, T. P., Yadav, R. M., & Singh, D. P. (2012). Mechanical milling: a top down approach for the synthesis of nanomaterials and nanocomposites. *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(3), 22-48.

148. Yamamoto, O. (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, 3(7), 643-646.
149. Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., & Xi, Z. (2009). Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *Journal of applied Toxicology*, 29(1), 69-78.
150. Yousaf, A. S., & Ali, S. (2008). Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us?. *Journal of Faculty of Engineering & Technology*, 5, 11-20.
151. Zeghoud, S., Hemmami, H., Seghir, B. B., Amor, I. B., Kouadri, I., Rebiai, A., ... & Simal-Gandara, J. (2022). A review on biogenic green synthesis of ZnO nanoparticles by plant biomass and their applications. *Materials Today Communications*, 104747.
152. Zhao, X. Q., Zheng, F., Liang, Y., Hu, Z. Q., & Xu, Y. B. (1994). Preparation and characterization of single phase γ -Fe nanopowder from cw CO₂ laser induced pyrolysis of iron pentacarbonyl. *Materials Letters*, 21(3-4), 285-288.
153. Zhou, R., Huang, T. T., & Lin, S. D. (2016, November). Synthesis of nanoparticles by pulsed laser ablation in air: A versatile means for flexible synthesis and separation. In *Advanced Laser Processing and Manufacturing* (Vol. 10018, p. 100180C). International Society for Optics and Photonics.

Annexes

Annexe 01 : Matériels

Matériel de laboratoire

- Bécher en verre
- Erlenmeyer en verre
- Éprouvette graduée
- Micropipette
- Bec benzene
- Tube à essai
- Anse de platine
- Spatule
- Boite de pétri
- Balance
- eppendorf
- pince
- portoir
- verre de montre
- barreau magnétique

Matériel biologique

Classification selon LPSN

Règne	Bacteria
Embranchement	Pseudomonadota
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Salmonella



Figure II-1 : *Salmonella enterica* (Smith, A. M., et al.2017).

Annexe 02 : Produits chimiques

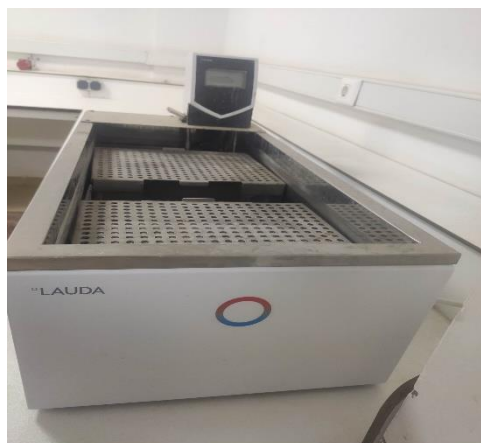
- Acétate de zinc $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$
- Eau distillée
- Ethanol
- DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Annexe 03 : Appareils

- Centrifugeuse (Rotina 380 R)



- La hotte captair bio Smart



_Bain marie chauffant LAUDA



_incubateur



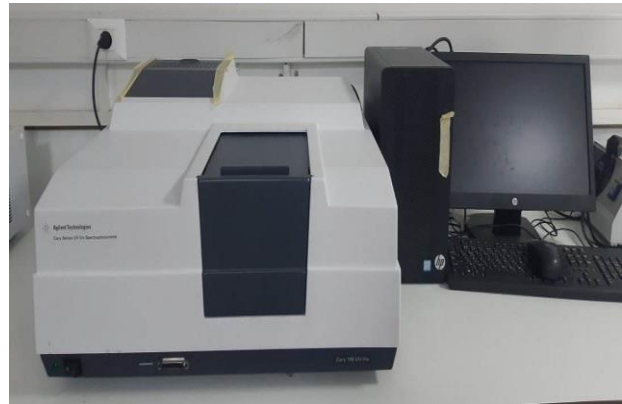
_Agitateur



_Incubateur-agitateur



_Bain ultrason Elmasonic P.



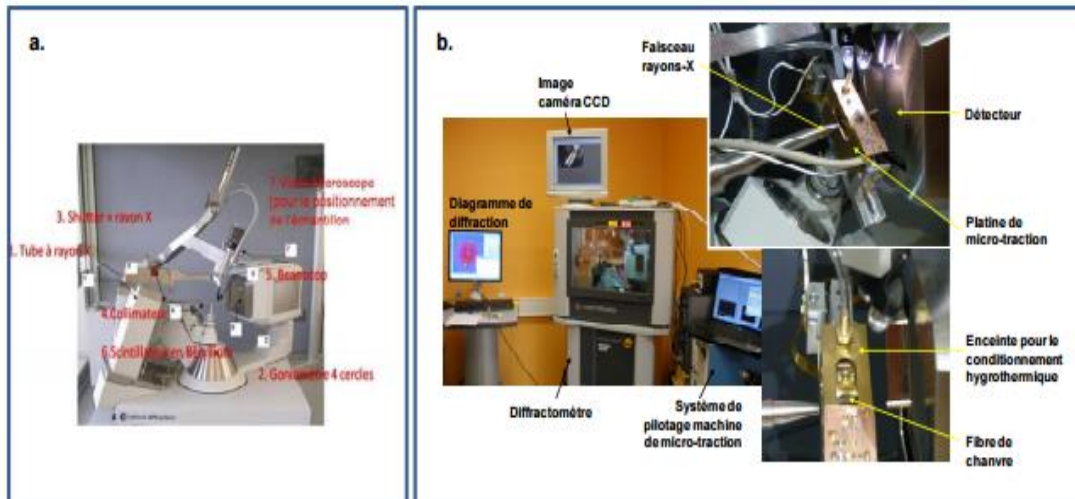
_Cary 100 Series UV-Vis spectrophotomètre



_Microscope électronique à balayage (Zeiss EVO 15)



_WIZARD IR vortex



_Diffractomètre des rayons X OXFORD.

Annexe 04 : Milieux de culture (Composition en g / l d'eau distillée)

➤ **Bouillon nutritive (BN)**

- Peptone 5g
- Extrait de levure.....3g
- Glucose.....20g

➤ **Gélose nutritive (GN)**

- Peptone.....5g
- Extrait de levure.....3g
- Glucose.....20g

- Agar.....10g

➤ **Mueller Hinton (MH)**

- Mueller Hinton.....38g

Annexe 05 : Méthodes

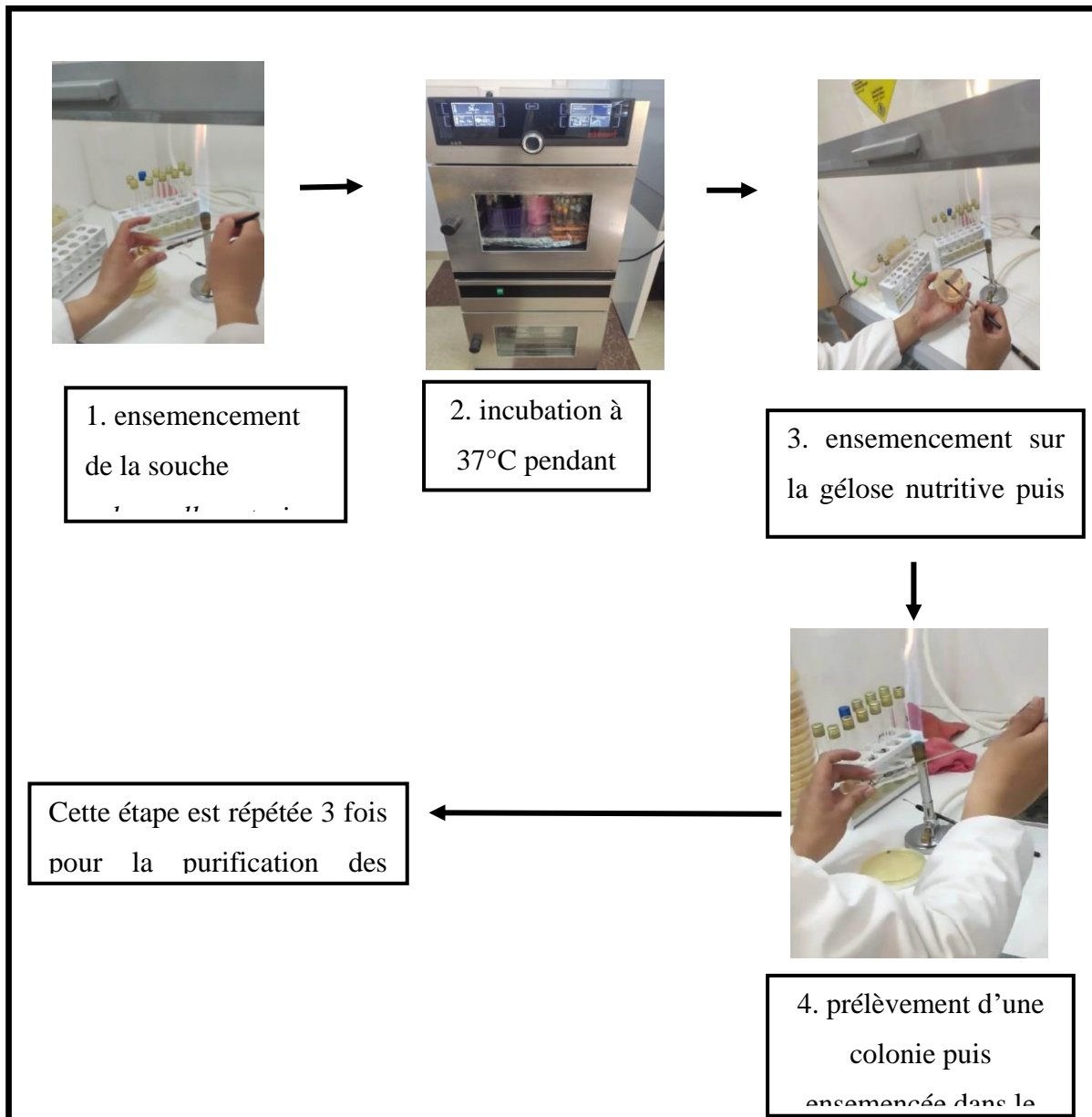


Figure 1 : Etapes de revivification et purification des souches.

Résumé : La nanotechnologie accorde une grande importance au développement de techniques fiables et respectueuses de l'environnement pour la synthèse de matériaux à l'échelle nanométrique. L'objectif de ce travail est d'étudier la synthèse extracellulaire de ZnONPs par *salmonella enterica*, et d'examiner leurs activités antibactériennes et antioxydants. La biosynthèse extracellulaire de nanoparticules de ZnO a été réalisée en utilisant le surnageant de culture de la souche. La formation de nanoparticules de ZnO a été confirmée par l'apparition d'un précipité blanc. La morphologie et l'uniformité des nanoparticules de zinc ont été étudiée par des images MEB et la spectroscopie UV-Visible. La qualité et la taille des cristaux ont été analysées par XRD. L'activité antioxydant a été déterminée par la méthode DPPH, avec une valeur CI_{50} de 2,87 mg/ml. L'activité antibactérienne de ZnONP a été confirmée par les bactéries gram-positives *S.aureus* et gram-négatives *P.aeruginosa* avec des zones d'inhibition (ZI) entre 8mm et 1mm, respectivement.

Mots clés : Biosynthèse extracellulaire, nanoparticules de zinc, activité antibactérienne, activité antioxydant, Bactérie.

Abstract : Nanotechnology places great importance on the development of reliable and environmentally friendly techniques for the synthesis of nanoscale materials. The aim of this work is to investigate the extracellular synthesis of ZnONPs by the *salmonella enterica*, and to examine their antibacterial and antioxidant activities. The extracellular biosynthesis of ZnO nanoparticles was carried out using the strain's culture supernatant. ZnO nanoparticle formation was confirmed by the appearance of a white precipitate. The morphology and uniformity of the zinc nanoparticles were studied by SEM images and UV-Visible Spectroscopy. Crystal quality and size were analyzed by XRD. Antioxidant activity was determined by the DPPH method, with a IC_{50} value of 2.87 mg/ml. The antibacterial activity of ZnONPs was confirmed by gram-positive *S.aureus* bacteria, and gram-negative *P. aeruginosa* bacteria with inhibition zones (ZI) between 8mm and 1mm, respectively.

Key words : Extracellular biosynthesis, Zinc nanoparticles, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Bacteria.

ملخص: تولي التكنولوجيا النانوية أهمية كبيرة لتطوير تقنيات موثوقة وصديقة للبيئة لتخليق المواد على المستوى النانوي المهدف من هذا العمل هو دراسة التخليق خارج الخلية لـ ZnONP بواسطة *salmonella enterica*، وفحص أنشطتها المضادة للبكتيريا والمضادة للأوكسدة. تم إجراء التخليق الحيوي خارج الخلية للجسيمات النانوية ZnO باستخدام طائي الوسط الزراعي للسلاية. تم تأكيد تكوين الجسيمات النانوية ZnO من خلال ظهور راسب أبيض. تمت دراسة مورفولوجيا وتوحيد جسيمات الزنك النانوية بواسطة صور المجهر الإلكتروني الماسح والتحليل الطيفي المرئي بالأشعة فوق البنفسجية. تم تحليل جودة الكريستال وحجمه بواسطة حيود الأشعة السينية. تم تحديد النشاط المضاد للأوكسدة من خلال طريقة DPPH، بقيمة تركيز مثبط 50 تقدر بـ 2.87 مل/مجم. تم تأكيد نشاط ZnONP المضاد للبكتيريا من خلال بكتيريا موجبة للجرام *S.aureus* و بكتيريا *P.aeruginosa* سالبة للجرام مع مناطق تثبيط (م ت) بين 8 مم و 1 مم على التوالي.

الكلمات الرئيسية: التخليق الحيوي خارج الخلية، جسيمات الزنك النانوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأوكسدة، البكتيريا.