



RÉPUBLIQUE POPULAIRE DÉMOCRATIQUE D'ALGÉRIE

Ministère de l'enseignement supérieur
et la recherche scientifique

Université Kasdi Merbah-Ouargla



FACULTÉ DES SCIENCES APPLIQUÉES
DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat LMD

*Biosynthèse de nanoparticule et nanocomposites de
différentes sources et évaluation de leur activités
biologiques, antioxydant et traitement des eaux*

En Génie des Procédés Spécialité : Génie chimique

Présenté par
AOUADI Abdelatif

Présenté par Devant le jury composé de :

Ladjel segni	Professeur	Université d'Ouargla	Président
Djamila Hamada	Professeur	Université d'Ouargla	Encadreur
Abdelkrim Rebiai	Professeur	Université d'El oued	Co-encadreur
Salah Eddine Laouini	Professeur	Université d'El oued	Examineur
Mohamed Bilal Goudjil	Professeur	Université d'Ouargla	Examineur
Soumia Hadjadj	MCA	Université d'Ouargla	Examinatrice
Baka Ouidad	MCA	Université d'Ouargla	Examinatrice

2025-2026

Résumé

La synthèse verte de nanoparticules (NPs) à partir d'extraits végétaux constitue une alternative durable aux méthodes conventionnelles, privilégiant la sécurité environnementale et sanitaire. Cette étude présente une analyse comparative de trois types de nanoparticules : l'oxyde de zinc biosynthétisé (NPs ZnO), le nanocomposite chitosane-ZnO (Cs-ZnO) et l'hybride chitosane-ZnO/polyvinylpyrrolidone (Cs-ZnO/PVP). L'extrait de *Solanum nigrum* L. a été utilisé comme agent réducteur et stabilisant pour la synthèse des NPs ZnO, sélectionné pour sa richesse en métabolites secondaires. Le chitosane, extrait de carapaces de crevettes, a servi de matrice naturelle pour encapsuler les NPs ZnO, tandis que l'incorporation du PVP a permis d'améliorer les propriétés structurelles et fonctionnelles du composite final.

La caractérisation par FTIR, UV-Vis, MEB (SEM) et DRX (XRD) a confirmé la formation des nanoparticules. Les diamètres moyens enregistrés étaient de 15,3, 27,8 et 30,1 nm, avec des taux de cristallinité respectifs de 85,70 %, 78,40 % et 80,20 %. L'analyse optique a révélé une diminution progressive de l'énergie de la bande interdite (bandgap) de 3,48 eV (ZnO) à 3,20 eV (Cs-ZnO/PVP).

Les évaluations biologiques ont démontré une performance antioxydante supérieure pour le composite Cs-ZnO/PVP, avec les valeurs d' IC₅₀ les plus basses pour les tests DPPH (0,061 ±0,01 mg/mL) et ABTS (0,059 ±0,11 mg/mL). Les résultats de la capacité antioxydante totale (TAC) et du test FRAP ont confirmé cette tendance avec Cs-ZnO/PVP présentant les activités les plus élevées (367.43 ±1.82 et 217.24 ±3.33 mg/mL, respectivement).

De plus, les nanoparticules ont montré des propriétés anti-inflammatoires et un facteur de protection solaire (FPS) significatif, atteignant une valeur de 57 pour le composite enrichi en PVP. Les tests antimicrobiens ont révélé une activité puissante, particulièrement contre les bactéries Gram-positives.

Dans le domaine environnemental, le composite Cs-ZnO/PVP a permis une décoloration photocatalytique de 100 % des colorants bleu de méthylène (MB) et bleu de toluidine (TB), optimisée à pH acide. Enfin, l'évaluation de la toxicité *in silico* via ProTox-II a confirmé l'innocuité des nanomatériaux synthétisés, suggérant leur fort potentiel pour des applications biomédicales et industrielles.

Mots clés : *Solanum nigrum* L., oxyde de zinc, chitosane-ZnO, polyvinylpyrrolidone, photocatalyse, ProTox-II.

Abstract

Green synthesis of nanoparticles (NPs) from plant extracts represents a sustainable alternative to conventional methods, prioritizing environmental and health safety. This study presents a comparative analysis of three types of nanoparticles : biosynthesized zinc oxide (ZnO NPs), the chitosan-ZnO nanocomposite (Cs-ZnO), and the chitosan-ZnO/polyvinylpyrrolidone hybrid (Cs-ZnO/PVP). The extract of *Solanum nigrum* L. was used as a reducing and stabilizing agent for the synthesis of ZnO NPs, selected for its richness in secondary metabolites. Chitosan, extracted from shrimp shells, served as a natural matrix to encapsulate ZnO NPs, while the incorporation of PVP improved the structural and functional properties of the final composite.

Characterization by FTIR, UV-Vis, SEM, and XRD confirmed the formation of nanoparticles. The recorded average diameters were 15.3, 27.8, and 30.1 nm, with respective crystallinity rates of 85.70%, 78.40%, and 80.20%. Optical analysis revealed a progressive decrease in bandgap energy from 3.48 eV (ZnO) to 3.20 eV (Cs-ZnO/PVP).

Biological evaluations demonstrated superior antioxidant performance for the Cs-ZnO/PVP composite, with the lowest IC₅₀ values for DPPH (0.061 ±0.01 mg/mL) and ABTS (0.059 ±0.11 mg/mL) assays. The results of total antioxidant capacity (TAC) and the FRAP test confirmed this trend with Cs-ZnO/PVP yielding the highest activities (367.43 ±1.82 and 217.24 ±3.33 mg/mL, respectively). Furthermore, the nanoparticles exhibited anti-inflammatory properties and a significant sun protection factor (FPS), reaching a value of 57 for the PVP-enriched composite. Antimicrobial tests revealed strong activity, particularly against Gram-positive bacteria.

In the environmental field, the Cs-ZnO/PVP composite enabled 100% photocatalytic decolorization of methylene blue (MB) and toluidine blue (TB) dyes, optimized under acidic pH. Finally, *in silico* toxicity evaluation via ProTox-II confirmed the safety of the synthesized nanomaterials, suggesting their strong potential for biomedical and industrial applications.

Keywords : *Solanum nigrum* L., zinc oxide, chitosan-ZnO, polyvinylpyrrolidone, photocatalysis, ProTox-II.

المخلص

يُعدّ التخليق الأخضر للجسيمات النانوية (NPs) باستخدام مستخلصات نباتية بديلاً مستداماً للطرق التقليدية، مع إعطاء الأولوية للسلامة البيئية والصحية. تقدم هذه الدراسة تحليلاً مقارناً لثلاثة أنواع من الجسيمات النانوية: أكسيد الزنك المحضر حيويًا (ZnO NPs)، والمركب النانوي كيتوزان-أكسيد الزنك (Cs-ZnO)، والهجين كيتوزان-أكسيد الزنك/بولي فينيل بيروليدون (Cs-ZnO/PVP). تم استخدام مستخلص *Solanum nigrum* L. كعامل مختزل ومثبت لتخليق ZnO NPs، نظرًا لغناه بالمستقلبات الثانوية. وقد استخدم الكيتوزان، المستخلص من قشور الروبيان، كصفوفة طبيعية لتغليف ZnO NPs، بينما أدى إدخال PVP إلى تحسين الخصائص البنيوية والوظيفية للمركب النهائي.

أكدت تقنيات FTIR و UV-Vis و SEM و XRD تكوين الجسيمات النانوية. وبلغت الأقطار المتوسطة المسجلة 15.3 و 27.8 و 30.1 نانومتر، مع نسب تبلور بلغت 85.70%، و 78.40%، و 80.20% على التوالي. وأظهر التحليل البصري انخفاضاً تدريجياً في طاقة فجوة الحزمة (bandgap) من 3.48 eV (ZnO) إلى 3.48 eV (Cs-ZnO/PVP).

أظهرت التقييمات البيولوجية أداءً مضاداً للأكسدة متفوقاً للمركب Cs-ZnO/PVP، حيث سُجلت أدنى قيم IC_{50} في اختباري DPPH (0.061 ± 0.01) و ABTS (0.059 ± 0.11 mg/mL). كما أكدت نتائج السعة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) واختبار FRAP هذا الاتجاه حيث أظهر Cs-ZnO/PVP أعلى الأنشطة (367.43 ± 1.82 و 217.24 ± 3.33 mg/mL على التوالي). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الجسيمات النانوية خصائص مضادة للالتهاب وعامل حماية شمسي (FPS) ملحوظ، حيث بلغ 57 للمركب المعزز بـ PVP. وكشفت الاختبارات المضادة للميكروبات عن نشاط قوي، خاصة ضد البكتيريا موجبة الغرام.

في المجال البيئي، أتاح المركب Cs-ZnO/PVP إزالة لون صبغتي أزرق الميثيلين (MB) وأزرق التولويدين (TB) بنسبة 100% عبر التحفيز الضوئي، مع تحسين العملية في وسط حمضي. وأخيراً، أكدت دراسة السمية بالحاسوب (*in silico*) باستخدام ProTox-II سلامة المواد النانوية المحضرة، مما يشير إلى إمكاناتها الكبيرة في التطبيقات الطبية الحيوية والصناعية.

الكلمات المفتاحية: *Solanum nigrum* L.، أكسيد الزنك، كيتوزان-أكسيد الزنك، بولي فينيل بيروليدون، التحفيز الضوئي، ProTox-II.

REMERCIEMENTS

Gloire à Dieu pour m'avoir octroyé la force et la persévérance indispensables afin de mener à bien cette dissertation. Grâce à Sa bienveillance, j'ai pu surmonter les défis et avancer avec détermination. Que ce travail soit utile à la science et à la société.

Je souhaite à exprimer ma sincère gratitude envers ma directrice de thèse, le Professeur Hamada Djamila, dont le rôle a dépassé celui d'une simple superviseure académique. Son soutien constant, ses conseils avisés et sa compassion ont été extrêmement bénéfiques tout aux continuités de mon parcours.

Mes sincères remerciements vont également à mon co-encadrant, Pr. Rebai Abdelkrim, pour son accompagnement et ses orientations précieuses, qui ont enrichi considérablement ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers les membres du jury, qui ont pris le temps d'évaluer cette recherche et dont les remarques pertinentes ont contribué à son amélioration.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers l'équipe de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université d'El Oued, qui m'a donné l'opportunité de réaliser une partie de mes travaux dans leurs laboratoires. De même, mes remerciements vont à l'équipe de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université d'El Oued, pour m'avoir donné la possibilité de continuer à enrichir mes expériences dans un cadre propice à la recherche.

Un grand merci à Pr. Segni Ladjel, directeur du Laboratoire de Génie des Procédés de l'Université de Ouargla, pour son assistance et la mise à disposition des ressources appropriées à la mise en place de cette recherche.

REMERCEMENTS

Je souhaite aussi remercier Naoual Zemmouli et Ayachi Omar Fatima Zahra pour leur aide précieuse.

Ma gratitude s'adresse également aux ingénieures du laboratoire de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université d'El Oued, en particulier Dr. Hafidha Teraa, Kenza Ghanem, Karima et Mouna, pour leur assistance technique et leur disponibilité.

Enfin, je tiens à adresser une pensée toute particulière à mon père, Aouadi Djouneidi, dont l'aide précieuse dans la rédaction de cette thèse m'a été d'un grand soutien.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers l'ensemble de mes collègues et amis qui ont apporté leur contribution, de diverses manières, à la réalisation de ce projet. Que chacun trouve ici l'expression de ma gratitude.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à rendre grâce à Dieu, qui m'a accompagné durant cette aventure. Grâce à Sa miséricorde et à Sa lumière, j'ai pu surmonter les défis et les obstacles, et mener à bien ce travail. Que ce projet soit une source de bénédiction et d'utilité.

À ma mère bien-aimée, l'être le plus précieux de ma vie, je n'ai pas de mots assez forts pour transmettre ma gratitude. Elle a toujours été mon soutien infaillible, mon refuge et la source constante de mon énergie. Maman, tes sacrifices et ton amour sont les piliers sur lesquels repose ma réussite. Je prie pour que Dieu te garde en bonne santé et te bénisse toujours.

À mon père, qui m'a appris l'importance du travail acharné et de la persévérance. Merci pour ta sagesse, ton soutien silencieux mais constant, et pour m'avoir constamment encouragé à donner le meilleur de moi-même. Je te suis profondément reconnaissant, et je prie pour que Dieu te protège et te comble de bénédictions.

À mes chers frères et sœurs : À Salima, ma sœur adorée, qui nous a quittés trop tôt. Ta mémoire restera gravée dans mon cœur à jamais. Que Dieu t'accorde un repos éternel dans Son paradis, tu es et resteras un modèle de bienveillance et de générosité. Tu me manques, mais tes prières continuent de m'accompagner.

À Abdelkrim, mon frère bien-aimé, merci pour ton soutien constant, pour ta patience et ton amour. Tu as été mon pilier tout au long de ce parcours. Je suis fier de toi et je te souhaite une vie remplie de bonheur et de succès.

À Sabrina, ma sœur chérie, qui a toujours été là pour moi, avec son amour et son soutien. Merci pour toutes les fois où tu m'as tendu la main dans les moments difficiles. Je te souhaite une vie épanouie et pleine de joie.

À Aissa, le mari de ma sœur, qui a toujours été une présence rassurante et un soutien précieux. Merci pour ton aide discrète et ton soutien constant.

À Elaid, mon frère, tu as toujours été une source de joie et de force. Merci d'être là à chaque étape de ma vie. Je te souhaite de tout cœur la réussite dans tous tes projets.

DEDICACE

À Abrar, la femme de mon frère Abdelkrim, merci pour ta bienveillance et ton soutien. Ta présence a été un atout précieux dans cette aventure.

À Nidhal, le fils de ma sœur, tu es un rayon de soleil pour nous tous. Je te souhaite un avenir radieux et rempli de succès

À toute ma famille élargie, mes oncles Belkacem, Faysal, ma tante Zahra, mon oncle Lakhdar, et ma tante Menoubia, vous avez tous été là pour moi à chaque instant. Vos prières et votre soutien m'ont été essentiels. Merci à chacun de vous pour votre présence et votre amour inébranlable.

À mes chers amis, Aymen, Abdeldjabar, Ali et Sadok, vous êtes ma famille choisie. Vous avez été à mes côtés dans les moments de doute comme dans les moments de joie. Merci de m'avoir aidé à avancer et d'avoir illuminé mon chemin.

À ceux qui nous ont quittés, mais qui restent dans nos cœurs, ma sœur Salima, ma tante Zidane Souad, et mon ami Trouni Ahmed. Votre absence est un vide que rien ne peut combler, mais vos souvenirs et vos prières me donnent la force de continuer.

Enfin, à tous mes amis et collègues, qui m'ont accompagné tout au long de ce parcours, merci pour votre soutien. Chaque rencontre et chaque échange ont contribué

Sommaire

Résumé.....	I
Abstract	II
الملخص	III
Remerciments.....	IV
Dédicace.....	VI
Liste des figures	XIV
Liste des tableaux	XVIII
Introduction Générale	1
Chapitre I: Synthèse bibliographique.....	5
I.1 <i>Solanum nigrum</i> L.	6
I.1.1 Description Botanique.....	6
I.1.1.1 Famille des Solanacées.....	6
I.1.1.2 Espèce <i>Solanum nigrum</i> L. (Nomcommun: morellenoire).....	6
I.1.2 Position systématique.....	7
I.1.3 Habitat et Distribution géographique	7
I.1.4 Composition chimique	8
I.1.5 Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Solanum nigrum</i> L.....	9
I.2 Aperçu du chitosane et des nanomatériaux	10
I.2.1 Généralités sur la Chitine et le Chitosane.....	10
I.2.1.1 La chitine.....	10
I.2.1.2 Le chitosane.....	11
I.2.1.3 Source de chitosane	12

I.2.1.4 Structure du chitosane	12
I.2.2 Nanoparticules métalliques et chitosane	13
I.2.3 Matériaux nanométriques et nanoparticules.....	14
I.2.3.1. Définition	14
I.2.3.2 L'oxyde de zinc	15
I.2.3.2.1 Définition.....	15
I.2.3.2.2. Synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc	18
I.3 Applications biologiques	20
I.3.1 Activité anti-inflammatoire.....	20
I.3.1.1 Définition d'inflammation.....	20
I.3.1.2 Activité anti-inflammatoire du chitosane	20
I.3.1.3 Activité anti-inflammatoire de l'oxyde de zinc	21
I.3.2 Activité antioxydante	22
I.3.2.1 Stress oxydant	22
I.3.2.2 Radicaux libres	23
I.3.2.3 Activité antioxydante du chitosane	24
I.3.2.4 Activité inatioxydante de l'oxyde de zinc	25
I.3.3. Activité antibactérienne.....	27
I.3.3.1. Définition des bactéries	27
I.3.3.2. Types de bactéries étudiées	27
□ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
□ <i>Staphylococcus aureus</i>	28
□ <i>Salmonella typhimurium</i>	28
□ <i>Bacillus subtilis</i>	28
I.3.3.3. Activité antibactérienne du chitosane	29
I.3.3.4. Utilisations antibactériennes des nanoparticules de ZnO d'origine végétale	30
I.4 Traitement des eaux par la méthode d'adsorption	32
I.4.1 Pollution de l'eau par les métaux lourds et les colorants	32
□ Bleu de méthylène (BM).....	33

□ Bleue de toluidine.....	34
I.4.2 Principes fondamentaux et mécanisme de la photocatalyse.....	36
Chapitre II: Matériaux et méthodes.....	39
II.1 Introduction.....	40
II.2 Matériels et méthodes	40
II.2.1 Produits chimiques et réactifs	41
II.2.2 Souches bactériennes.....	41
II.2.3 Souches fongiques.....	41
II.2.4 Antibiotiques.....	42
II.2.5 Détermination de l'extrait optimal pour la synthèse des ZnONPs basée sur les métabolites secondaires et l'activité biologique	42
II.2.5.1 Matière végétale.....	42
II.2.5.2 Extraction des composés bioactifs.....	44
II.2.5.3 Profil phytochimique.....	46
II.2.5.3.1 Détermination de la teneur en phénols totaux	46
II.2.5.3.2 Détermination de la teneur totale en flavonoïdes	47
II.2.5.3.3 Détermination de la teneur en alcaloïdes.....	48
II.2.5.3.4 Détermination de la teneur en proanthocyanidines	48
II.2.5.3.5 Détermination des teneurs en tannins.....	49
II.2.5.3.6 Détermination de la teneur en vitamine C.....	49
II.2.6 Extraction de chitosane.....	50
II.2.7. Biosynthèse des nanoparticules de ZnO	51
II.2.8 Préparation de nanoparticules de chitosane-ZnO.....	52
II.2.9. Préparation du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP	53
II.2.10. Caractérisation	54

II.2.10.1. Spectrophotomètre UV-visible	54
II.2.10.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	54
II.2.10.3. Diffraction des rayons X (XRD)	55
II.2.10.4. Microscopie électronique à balayage (SEM)	55
II.2.11. Activité antioxydante	55
II.2.11.1. Test de DPPH	56
II.2.11.2 Test de 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)	57
II.2.11.3. Test du pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)	58
II.2.11.4. Test de phosphomolybdate (Capacité antioxydante totale)	58
II.2.12. Test d'inhibition de l'hémolyse oxydative	59
II.2.13. Détermination du facteur de protection solaire (FPS) des crèmes solaires par spectrophotométrie ultraviolette	61
II.2.14. Activité anti-inflammatoire	63
II.2.15. Activité antibactérienne	65
II.2.15.1. Préparation de la suspension de culture bactérienne	65
II.2.15.2. Préparation des composés synthétiques pour les essais microbiologiques	66
II.2.15.3. Méthode de diffusion en puits sur gélose	66
II.2.15.4. Ensemencement	66
II.2.15.5. Lecture	67
II.2.16 Dégradation photocatalytique	68
II.2.16.1 Les conditions optimales pour la dégradation des colorants utilisant	68
II.2.16.2. Effet du pH sur la dégradation photocatalytique	68
II.2.16.3. Efficacité de la photodégradation des colorants	69
II.2.17 Études de toxicité in silico	70

Chapitre III: Résultats et discussion72

III.1 Détermination de l'extrait optimal pour la synthèse des ZnONPs basée sur les métabolites secondaires et l'activité biologique73

III.1.1. Estimation quantitative de la teneur totale en composés phénoliques..... 73

III.1.2 Estimation quantitative de la teneur totale en flavonoïdes 74

III.1.3. Estimation quantitative de la teneur en proanthocyanidines 75

III.1.4. Estimation quantitative de la teneur en tanins 76

III.1.5. Estimation quantitative de la teneur en alcaloïdes 76

III.1.6. Estimation quantitative de la teneur en vitamine C 77

III.1.7 Analyse en composantes principales (ACP) 78

III.1.8. Activité antioxydante 81

III.1.8.1 Détermination de l'activité antioxydante par le test DPPH 81

III.1.8.2. Détermination de l'activité antioxydante par le pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)..... 85

III.1.9. Analyse en Composantes Principales (ACP) 86

III.1.10. Essai d'Inhibition de l'Hémolyse Oxydative..... 90

III.1.11. Analyse en Composantes Principales (ACP) 91

III.2. Synthèse et caractérisation des nanoparticules et leurs applications.....94

III.2.1. Caractérisation 94

III.2.1.1. Spectrophotomètre UV-visible..... 94

III.2.1.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)..... 99

III.2.1.3 Diffraction des rayons X (XRD.2.13)..... 103

Microscopie électronique à balayage (SEM.2.1.4):..... 107

III.2.1.4 L'analyse de la stabilité thermique: 110

III.2.2. Activité antioxydante.....	112
III.2.2.1. Activité de piégeage des radicaux libres.....	112
III.2.2.2. Activité antioxydante	117
III.2.3. Essai d'inhibition de l'hémolyse oxydative	119
III.2.4 Évaluation du facteur de protection solaire (FPS)	121
III.2.5. Activité anti-inflammatoire.....	123
III.2.6 Activité antibactérienne	126
III.2.7 Activités antifongiques	134
III.2.8. Dégradation photocatalytique des colorants MB et TB	136
III.2.8.1. Discussion des résultats	136
III.2.8.2. Mécanisme de dégradation photocatalytique	140
III.2.8.3. Performance de Recyclage	141
III.2.8.4. Effet du pH.....	142
III.2.9. Prédiction de toxicité spécifique à un organe à l'aide de ProTox II	150
Conclusion:	158
Références:.....	161

Liste des figures

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Figure I.1: Structure chimique de la chitine.....	11
Figure I. 2 Structure chimique du chitosane	11
Figure I.3 Schéma de stabilisation de la production de nanoparticules métalliques à l'aide de chitosane	13
Figure I.4 Échelle de longueur logarithmique montrant la taille des nanomatériaux par rapport aux composants biologiques et définition des tailles « nano » et « micro »	15
Figure I.5 les différentes structures cristallines des nanoparticules de ZnO	16
Figure I.6 les plans cristallographiques du ZnO	18
Figure I.7: Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	24
Figure I.8: Représentation schématique comparative des bactéries Gram-positives et Gram-négatives	29
Figure I. 9 Structure chimique du bleu de méthylène.....	34
Figure I.10 : Structure chimique du Toloudne bleu.....	35

CHAPITRE II :MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Figure II.11 Étude phytochimique et biologique de <i>Solanum nigrum</i> L. collecté de différentes régions algériennes (Tébessa, Biskra et El-Oued).	44
Figure II.12: Procédure d'extraction des différentes parties de <i>Solanum nigrum</i> L. (fruits, feuilles et tiges).....	46
Figure II. 13: Illustration de l'extraction de chitosane à crevettes	51
Figure II.14: Diagramme schématique pour la synthèse des NP de ZnO	52
Figure II. 15: Préparation du composite ZnO–chitosane.	54
Figure II.16: Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène (ROS).	55
Figure II. 17: Dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	56
Figure II.18: Procédure expérimentale du test d'hémolyse sur les érythrocytes humains.....	60
Figure II.19: Mécanisme de l'hémolyse oxydative des globules rouges.	60

Figure II.20: Détermination du facteur de protection solaire (FPS) des échantillons par spectrophotométrie UV.....	62
Figure II.21: Protocole de détermination de l'activité anti-inflammatoire par inhibition de la dénaturation de l'albumine.	65
Figure II.22: Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé.	67
Figure II.23: Protocole d'évaluation de la capacité d'adsorption des colorants par mesure d'absorbance.	69

CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION

Figure III.24: (A) Teneur totale en composés phénoliques ; (B) Teneur totale en flavonoïdes des extraits de <i>S. nigrum</i>	75
Figure III.25: (A) Teneur en proanthocyanidines ; (B) Teneur en tannins dans les extraits de <i>S. nigrum</i>	76
Figure III.26 : Teneur en alcaloïdes de l'extrait de <i>S. nigrum</i>	77
Figure III.27: Teneur en vitamine C des extraits de <i>S. nigrum</i>	78
Figure III.28: Analyse des composantes principales en double-plot de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y, respectivement	80
Figure III.29: Activité d'extinction du DPPH de neuf extraits de <i>S. nigrum</i> L. sauvage collectés dans trois régions différentes d'Algérie	83
Figure III.30:Activité antioxydante des extraits de <i>S. nigrum</i> L. par pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	86
Figure III.31: Analyse des composantes principales de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes et l'activité antioxydante. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent respectivement la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y	89
Figure III.32: Activité antihémolytique des extraits de <i>S. nigrum</i> L	91
Figure III.33: Analyse en composantes principales biplot de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes et le test d'hémolyse. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent respectivement la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y	94

Figure III.34: Spectres UV-Vis et bande interdite d'énergie optique de a) Chitosane, b) ZnONPs, c) Chitosane-ZnONPs et d) Chitosane-ZnO/PVP	98
Figure III.35: Spectres FTIR de : a) extrait de <i>S. nigrum</i> , b) chitosane, c) ZnONPs, d) chitosane-ZnO et e) PVP f) chitosane-ZnO/PVP NPs	102
Figure III.36: Diagramme de diffraction des rayons X (DRX) de : a) chitosane, b) ZnONPs, c) PVP, d) chitosane-ZnONPs et e) chitosane-ZnO/PVP NPs.....	106
Figure III.37: Images MEB de (a) Chitosan (b,c) ZnONPs et (d,e) Chitosan-ZnONPs et (f) Chitosan-ZnOPVP NPs.....	109
Figure III.38: Les courbes TGA obtenues pour chitosan, ZnONPs, chitosan-ZnONPs, et chitosan-ZnO/PVP NPs	112
Figure III.39: Activité de piégeage des radicaux ABTS de l'acide ascorbique, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs	116
Figure III.40: Activité de piégeage des radicaux DPPH de l'acide ascorbique, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs	116
Figure III.41: Mécanisme de protection cellulaire par les nanoparticules contre le stress oxydatif.	118
Figure III.42: Effet protecteur des nanoparticules sur les érythrocytes.	121
Figure III.43: Mécanisme de protection cutanée par les nanoparticules contre les rayons ultraviolets.....	123
Figure III.44: Mécanisme d'action intracellulaire des nanoparticules et modulation de la voie NF- κ B.	125
Figure III.45: L'effet de l'activité antibactérienne des échantillons préparés	131
Figure III.46: Le mécanisme probable de l'activité antibactérienne	131
Figure III.47: Le diagramme illustrant le mécanisme par lequel ZnONPs sont utilisées pour photodégrader les colorants MB et TB	137
Figure III.48: Schéma du mécanisme photocatalytique de dégradation des colorants sous irradiation lumineuse.	139
Figure III.49: L'efficacité de photodégradation, temps de réaction, Ph, cycles, DRX après 10 cycles et pourcentage de dégradation de colorant bleu de toluidine (TB)(a-e) ZnONPs;(f-j) chitosane-ZnONPs; et (k-o) chitosane- ZnO/PVP NPs	146
Figure III.50: L'efficacité de la photodégradation, le temps de réaction, le pH, les cycles, le DRX après 10 cycles et le pourcentage de dégradation du colorant bleu de méthylène (MB)e) ZnONPs ; (f-j) chitosane-ZnONPs ; et (k-o) chitosane-ZnO/PVP NPs.....	149

Figure III.51: Analyse de la toxicité spécifique à l'organe (a) du chitosane ; (b) des ZnONPs ; et (c) des chitosane-ZnONPs	156
---	-----

Liste des tableaux

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau I.1 Classification scientifique de <i>Solanum nigrum</i> L.....	7
Erreur ! Signet non défini.	
Tableau I.2 Composants chimiques de <i>S.nigrum</i> L.....	8
Tableau I.3: propriétés chimiques du colorant bleu de méthylène.....	34
Tableau I.4: propriétés chimiques du colorant toluidine blue.....	35

CHAPITRE II: MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Tableau II.5: Sites de collecte de plantes.....	43
Tableau II.6: Répartition spectrale relative de l'énergie absorbée à différentes longueurs d'onde.....	63
Tableau II.7: Catégorie de facteur de protection solaire (FPS) des produits de protection solaire.....	63

CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau III.8: Profil phénolique total, flavonoïdes et phytochimique de <i>Solanum nigrum</i> L. sauvage collecté à trois endroits différents dans le désert algérien	74
Tableau III. 9: Matrice de corrélation entre le contenu chimique des extraits de plantes	79
Tableau III. 10: Corrélation entre les variables (teneur chimique) et les facteurs pour les extraits de plantes	80
Tableau III. 11: Activité antioxydante de différents extraits de <i>S. nigrum</i> L	82
Tableau III. 12: Calcul de la constante de liaison pour différents extraits de <i>S. nigrum</i> L.....	85
Tableau III.13: Matrice de corrélation entre le contenu chimique et l'activité antioxydante des extraits de plantes.....	88
Tableau III. 14: Corrélation entre les variables (teneur chimique et activité antioxydante) et les facteurs pour les extraits de plantes	89
Tableau III. 15: Matrice de corrélation entre le contenu chimique et le test d'hémolyse des extraits de plantes.....	93

Tableau III. 16: Corrélation entre les variables (teneur chimique et test d'hémolyse) et les facteurs pour les extraits de plantes	93
Tableau III. 17: Résumé des différentes caractéristiques de ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs.....	106
Tableau III. 18: Résultats Activité de piégeage des radicaux libres	117
Tableau III. 19: Résultats de l'activité antioxydante.....	119
Tableau III. 20: Résultats de l'activité anti-hémolyse.....	121
Tableau III. 21: Résultats de l'évaluation du facteur de protection solaire (FPS.....	123
Tableau III. 22: Résultats de l'activité anti-inflammatoire.....	126
Tableau III. 23: Zone d'inhibition du chitosane, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et du chitosane-ZnO/PVP NPs à différentes doses contre les souches bactériennes étudiées	129
Tableau III. 24: Comparaison de l'activité antibactérienne du chitosane, des nanoparticules de ZnO et des nanoparticules de chitosane-ZnO par rapport aux données de la littérature	133
Tableau III. 25: Résultats de l'activité antifongique	136
Tableau III. 26: Comparaison des résultats d'efficacité d'élimination des colorants MB et TB en utilisant du chitosane, des nanoparticules de ZnO, des nanoparticules de chitosane-ZnO et du chitosane-ZnO/PVP	140
Tableau III. 27: Prédiction de toxicité spécifique à un organe à l'aide de ProTox II.....	152
Tableau III. 28: Comparaison des résultats d'études de toxicité in vivo et prédiction informatique des profils de toxicité des produits chimiques à l'aide de la méthode ProTox-II	157
Tableau III. 29: Résultats des études de toxicité in vivo dans les études précédentes.....	158

- **ZnO** : Oxyde de zinc
- **NPs** : Nanoparticules
- **ZnO NPs** : Nanoparticules d'oxyde de zinc
- **PVP** : Polyvinylpyrrolidone
- **FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- **UV-Vis** : Spectroscopie ultraviolet-visible
- **SEM** : Microscopie électronique à balayage
- **XRD** : Diffraction des rayons X
- **TGA** : Analyse thermogravimétrique
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)
- **ABTS** : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- **TAC** : Capacité antioxydante totale
- **FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice à 50 %
- **SPF / FPS** : Facteur de protection solaire
- **MB** : Bleu de méthylène
- **TB** : Bleu de toluidine
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène
- **ACP** : Analyse en composantes principales
- **DDA** : Degré de désacétylation
- **DA** : Degré d'acétylation
- **MM** : Masse molaire
- **GPx** : Glutathion peroxydase
- **GSH** : Glutathion réduit

Introduction Générale

Introduction

La technologie des nanomatériaux est un domaine scientifique spécialisé dans la conception et la surveillance des matériaux à l'échelle des nanoparticules, incluant les dimensions s'étendent entre 1 et 100 nanomètres [1]. Cette petite taille permet de modifier de manière radicale les propriétés des matériaux, ce qui les rend appropriés pour une large gamme d'applications. Récemment, la recherche dans ce domaine a considérablement augmenté, avec une curiosité croissante de la part des scientifiques de divers domaines pour les applications de la technologie des nanomatériaux [2]. Le terme "nano" provient du mot grec signifiant "nain", et il est utilisé pour désigner une fraction d'un milliardième de mètre. Les matériaux nanométriques présentent des propriétés exceptionnelles, qu'elles soient mécaniques, thermiques ou chimiques, qui découlent de leur grande surface spécifique et des effets quantiques sur ces particules [3].

Pour la production de nanoparticules, plusieurs méthodes sont utilisées, telles que les méthodes chimiques et physiques. Cependant, avec l'augmentation des défis environnementaux et de leur impact sur la santé humaine, il est devenu crucial de rechercher des procédures plus durables et moins [4]. Par conséquent, les scientifiques se tournent de plus en plus vers des techniques alternatives utilisant des ressources naturelles, comme les extraits végétaux et des micro-organismes ainsi que les bactéries et les champignons, ainsi que des polymères pour synthétiser des nanoparticules métalliques comme le zinc, le magnésium et l'argent. Ces méthodes sont non seulement écologiques, mais elles sont aussi moins coûteuses par rapport aux méthodes traditionnelles [5].

Parmi ces méthodes alternatives, l'utilisation d'extraits végétaux pour la synthèse des nanoparticules a suscité un intérêt croissant. Cette méthode repose sur l'utilisation des composés

naturels présents dans les plantes, tels que les phénols, les acides organiques et les alcools, pour fabriquer des nanoparticules [6]. Elle représente une alternative sûre et efficace par rapport aux méthodes chimiques classiques, car elle ne nécessite pas de substances toxiques ni de processus complexes. De plus, les extraits végétaux sont riches en antioxydants et en composés bioactifs qui contribuent à améliorer les propriétés des nanoparticules, ce qui les rend adaptées à des applications médicales, environnementales et industrielles [7].

Un des matériaux de plus en plus utilisés pour l'encapsulation des nanoparticules est la chitosane, grâce à ses propriétés uniques, telles que sa biodégradabilité, sa biocompatibilité et sa pouvoir à former des films minces [8]. Le chitosane aide à améliorer la stabilité des nanoparticules et renforce leurs propriétés physiques et chimiques, contribuant ainsi à améliorer leur efficacité dans des applications telles que la thérapie ciblée, la délivrance de médicaments et la gestion des eaux [9]. Le chitosane est également une matière sûre et écologique, cela en fait une option privilégiée pour les applications dans les domaines médical et environnemental. De plus, l'encapsulation des nanoparticules avec ce polymère permet de contrôler la libération des substances actives, réduisant ainsi les effets secondaires et améliorant l'efficacité des produits [10].

Quant au polymère PVP (polymère de polyvinylpyrrolidone), il est largement utilisé comme stabilisant pour les nanoparticules, car il empêche leur agglomération, contribuant ainsi à maintenir leur stabilité [11]. Le PVP se distingue par sa capacité à absorber l'eau et à créer une couche protectrice autour des nanoparticules, ce qui améliore leur distribution et augmente leur efficacité dans des applications telles que les médicaments et les technologies environnementales [12]. Le PVP est également un matériau sûr et facile à utiliser, cela en fait un choix convenable pour divers secteurs industriels [13].

Dans cette thèse, nous explorons la biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc

(ZnONPs) en utilisant *Solanum nigrum* Linn. L'extrait optimal a été sélectionné après une étude approfondie prenant en compte plusieurs facteurs, notamment la quantité de métabolites secondaires et l'activité biologique de chaque extrait. Une fois les ZnONPs biosynthétisées, celles-ci ont été enrobées de chitosane, extrait préalablement des carapaces de crevettes. Pour améliorer la dispersion des nanoparticules et prévenir leur agglomération, un polymère de polyvinylpyrrolidone (PVP) a également été ajouté.

Les composés obtenus ont été caractérisés et leurs propriétés analysées à l'aide de techniques avancées, telles que la spectroscopie UV-visible, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la diffraction des rayons X (XRD), la microscopie électronique à balayage (SEM) et l'analyse thermogravimétrique (TGA). Par la suite, une étude comparative a été réalisée entre les trois nanocomposites – ZnONPs, chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP – en évaluant leurs activités biologiques. Ces activités incluent : l'activité antioxydante, l'inhibition de l'hémolyse oxydative, la détermination du facteur de protection solaire (FPS), les propriétés anti-inflammatoires, l'activité antibactérienne et antifongique, la dégradation photocatalytique, ainsi que des études de toxicité in silico.

Cette étude est divisée en trois chapitres :

Chapitre I : Ce chapitre présente une étude bibliographique structurée en plusieurs parties, la première partie est consacrée à l'étude de la plante *Solanum nigrum*, inclut sa description, l'analyse de sa composition chimique, ainsi qu'un examen de ses principales applications biologiques. La deuxième partie porte sur une étude approfondie du chitosane, couvrant son historique, ses principales sources, ses méthodes d'extraction, ainsi que ses propriétés physicochimiques. Par ailleurs, un aperçu général des nanoparticules est présenté, incluant leurs différents types et leurs propriétés essentielles, avec un intérêt particulier porté aux nanoparticules

d'oxyde de zinc (ZnO). Les méthodes de synthèse de ces dernières, ainsi que leurs propriétés physicochimiques et leurs principales applications, sont également détaillées. Les activités biologiques étudiées comprennent l'activité anti-inflammatoire, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne, ainsi que l'inhibition de l'hémolyse oxydative, la détermination du facteur de protection solaire (FPS). Enfin, la dernière partie traite de la problématique de la contamination de l'eau par les pigments organiques.

Chapitre II : Ce chapitre détaille les matériaux utilisés et les protocoles mis en œuvre tout au long de l'étude, en particulier ceux liés à l'extraction, à la synthèse des nanoparticules et aux tests des activités biologiques.

Chapitre III : Les résultats obtenus ont été analysés et discutés en détail. Cela inclut la sélection de l'extrait optimal pour la synthèse des nanoparticules de ZnO, les caractérisations des trois composés synthétisés, ainsi que les résultats des activités biologiques, du traitement de l'eau et de l'étude de toxicité.

Enfin, une conclusion globale récapitule les résultats majeurs de cette étude et suggère des recommandations pour des investigations ultérieures.

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1 *Solanum nigrum* L.

I.1.1 Description Botanique

I.1.1.1 Famille des Solanacées

Les solanacées constituent l'une des familles de plantes les plus significatives, offrant de diverses ressources essentielles. Elles sont largement répandues à travers le monde, en spécialement dans les zones humides [14]. La plus considérable concentration de diversité se situe en Amérique du Sud, et il est supposé que la famille soit originaire de cette région [15]. La famille des Solanacées est une vaste famille diversifiée regroupant un grand nombre d'arbres, d'arbustes et d'herbes, comprenant environ 106 genres et 2300 espèces actuellement identifiés [16]. Le genre le plus significatif est *Solanum*, regroupant à lui seul 1500 espèces [17].

I.1.1.2 Espèce *Solanum nigrum* L. (Nomcommun: morellenoire)

Solanum nigrum L., une plante herbacée annuelle, atteint une hauteur de 25 à 100 cm et présente une tige dressée pubescente couverte de poils simples. Les tiges présentent fréquemment des angles et sont peu pubescentes. Les fruits sont de couleur noire terne, de forme globuleuse, et ont un diamètre compris entre 8 et 10 mm. Les feuilles présentent une forme ovale avec des bases cunéiformes, mesurant entre 4 et 10 cm de large et entre 3 et 7 cm de long. Elles sont pubescentes, grossièrement dentelées, avec un sommet émoussé. Les inflorescences se présentent sous forme d'ombelles extra-axillaires, avec un calice en forme de coupe et une corolle blanche. Les lobes, de forme ovale-oblongue, sont ciliés sur la face abaxiale, assurant ainsi la dispersion des graines. Les filaments mesurent entre 1 et 1,5 mm de longueur, tandis que les anthères ont une longueur de 2,5 à 3,5 mm [18].

I.1.2 Position systématique

La classification des plantes de la famille des Solanaceae est la suivante (*Tableau I.1*).

Tableau I.1: Classification scientifique de Solanum nigrum L.

Règne	Végétal
Embranchement	Embryophyta
Sous-Embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotyledoneae
Ordre	Tubeiflorae
Sous-Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Solanum
Espèce	<i>Solanum nigrum</i> L.

I.1.3 Habitat et Distribution géographique

Solanum nigrum L. est une plante herbacée extrêmement répandue à l'échelle mondiale, des régions tropicales aux régions tempérées, notamment en Europe, en Asie et en Amérique du Nord. Il a été introduit en Amérique du Sud, en Australie et en Afrique [19].

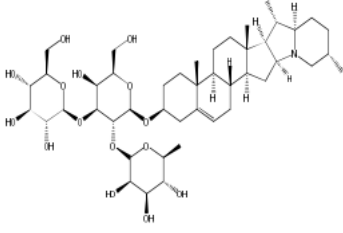
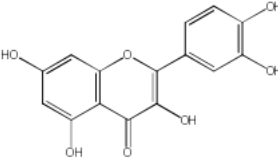
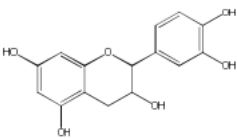
Cette espèce est largement exploitée dans certains pays d'Afrique et d'Indonésie en tant que légume et source de fruits, en récoltant des plantes qui poussent spontanément, considérées comme des mauvaises herbes dans les champs cultivés ou au sein des communautés de plantes adventices, sous les arbres, le long des clôtures et des routes, dans des zones proches des bâtiments et sur des terrains vagues. Ils ont ainsi formé une culture

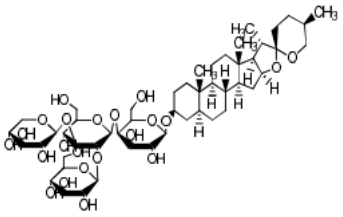
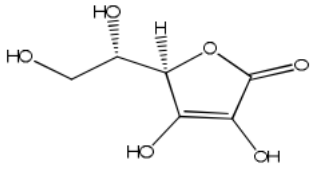
délibérée. Certaines communautés pratiquent la culture semi-intensive de légumes dans les potagers domestiques ou sur des parcelles de terre fertiles situées à proximité des exploitations agricoles [20].

I.1.4 Composition chimique

S. nigrum contient une variété de composants qui sont à l'origine de ses propriétés pharmacologiques. Les composants actifs de cette plante englobent des glycoalcaloïdes, des glycoprotéines et des polysaccharides, ainsi que des composés polyphénoliques tels que l'acide gallique, la catéchine, l'acide protocatéchique (PCA), l'acide caféique, l'épicatéchine, la rutine et la naringénine [18].

Tableau I.2: Composants chimiques de *S.nigrum* L.

Nom du constituant	Structure
Solanine	
Quercetin	
Catechin	

Dégalactotigonine	
Vitamin C	

I.1.5 Activités biologiques et thérapeutiques de *Solanum nigrum* L.

Solanum représente l'un des genres les plus importants et les plus diversifiés au sein de la famille des solanacées. Sa grande diversité le rend non seulement intéressant d'un aspect de vue taxonomique, mais aussi en termes d'utilité pour l'humanité [16].

Les racines, les feuilles, les fruits et les fleurs de *S. nigrum* présentent une valeur vitale significative, tant dans les temps anciens que modernes [21]..

L'usage de *S. nigrum* est référencé dans tous les traités d'herboristerie anciens, Dioscoride étant parmi les premiers à consigner ses vertus médicinales. *S. nigrum* s'avère bénéfique pour soulager les symptômes de panique, de palpitations et de chaleur gastrique. Il est largement utilisé par les Arabes pour le traitement des brûlures et des ulcères [21].

Diverses études scientifiques ont également démontré l'efficacité de *S. nigrum* en tant qu'agent antiseptique, anti-inflammatoire, antidysentérique, antiviral, antioxydant, antimicrobien, anticancéreux, et immunostimulant [22]

I.2 Aperçu du chitosane et des nanomatériaux

I.2.1 Généralités sur la Chitine et le Chitosane

En 1811, le Professeur Henri Braconnot, directeur du jardin biologique à Nancy en France, fut le premier à isoler une substance fibreuse insoluble dans les solutions aqueuses d'acides à partir de certains champignons. En 1823, cette substance fut nommée "chitine", d'après le mot grec "kitos" signifiant enveloppe, et découverte également dans certains insectes coléoptères. En 1859, le Professeur C. Rouget remarqua que la solubilité de la chitine changeait après un traitement basique. Enfin, en 1894, HoppeSeyler isola et confirma la forme désacétylée de la chitine, qu'il nomma chitosane [23]. Aujourd'hui, la chitine et le chitosane sont des biomatériaux renouvelables présents en abondance dans la nature. La chitine est une fibre naturelle cristalline appartenant à la famille des polysaccharides azotés. Sa formule chimique est très similaire à celle de la cellulose, la seule différence étant que l'acétamide sur le C2 de la chitine est remplacé par un groupe hydroxyle dans la cellulose.

I.2.1.1 La chitine

La chitine se trouve principalement dans le règne animal, en particulier chez les invertébrés tels que les insectes, les crustacés et les céphalopodes. Elle est également présente, bien que de manière moins significative, dans le règne végétal (dans les parois cellulaires de certaines algues) et dans certains champignons, comme les levures, le penicillium et les champignons de Paris [24]. La chitine est définie comme un polymère constitué d'unités de N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) liées entre elles par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4) [25]. Actuellement, la principale source industrielle de chitine et de chitosane provient des carapaces de crustacés, notamment les crevettes, et de l'endosquelette des calmars. La structure de la chitine est très similaire à celle de la cellulose, comme illustré en *Figure I.1*.

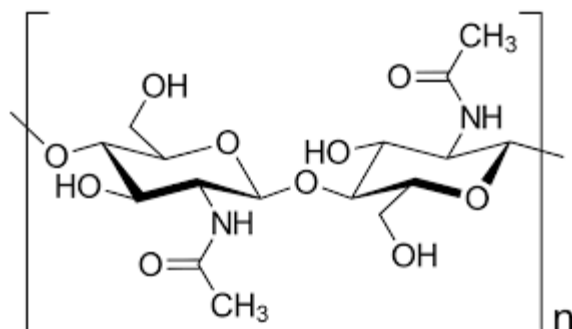


Figure I.1: Structure chimique de la chitine [49]

I.2.1.2 Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide cationique et semi-cristallin, qui est relativement rare dans les sources marines [26]. Le chitosane, dérivé essentiellement de la désacétylation de la chitine, est constitué d'une chaîne linéaire d'unités répétitives de 2-amino-2-désoxy-D-glucopyranose et de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose, reliées par des liaisons osidiques de type β (1 $\rightarrow$ 4) (Figure I.2), avec un degré de désacétylation supérieur à 50 %. C'est un matériau naturel, solide, floconneux, blanc, inodore, de haut poids moléculaire, non toxique, renouvelable, biodégradable et biocompatible. Le chitosane possède également une réactivité chimique et biologique significative. Il présente diverses propriétés telles que la chélation, la formation de films et la capacité d'adsorption.

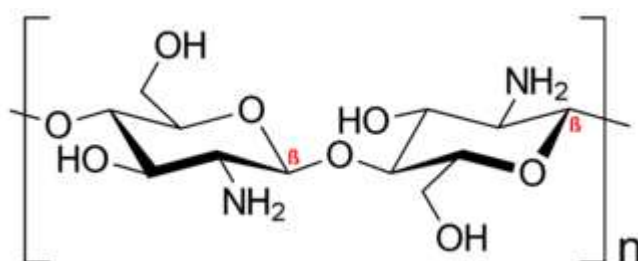


Figure I. 2 Structure chimique du chitosane [27]

I.2.1.3 Source de chitosane

Le chitosane est rarement trouvé dans la nature. Il est présent principalement dans la paroi des champignons Zygomycètes et, chez quelques insectes, comme dans la paroi abdominale des reines termites. En conséquence, il n'existe pas de sources primaires exploitables de chitosane, la principale source étant la désacétylation de la chitine extraite des carapaces de crustacés (Figure I.2). D'autres sources de chitine, et donc de chitosane, ont été identifiées dans divers règnes biologiques, notamment dans les parois cellulaires des champignons et de certaines algues chlorophycées, dans l'endosquelette des céphalopodes, ainsi que dans la paroi de certaines levures et bactéries. Actuellement, le meilleur rendement d'extraction de la chitine provient des crustacés, qui constituent la principale source industrielle [27].

I.2.1.4 Structure du chitosane

La plus grande prévalence de la chitine par rapport au chitosane dans la nature a conduit à beaucoup moins de recherches sur la structure du chitosane. Cependant, l'utilisation croissante du chitosane en tant que polymère de spécialité a suscité un intérêt accru pour son étude [28]. Quatre conformations principales du chitosane ont été identifiées, parmi lesquelles le polymorphe le plus courant est celui d'un cristal hydraté [27]. Dans ce polymorphe, le chitosane adopte une conformation antiparallèle où les chaînes forment des liaisons hydrogène intermoléculaires entre les groupes hydroxyle en C6 et les groupes carbonyle des chaînes adjacentes, créant ainsi des feuilles. Comme dans la chitine, il existe également des liaisons intramoléculaires entre C₃ et C₅. Cette structure est stabilisée par la présence de molécules d'eau entre les feuilles empilées, formant des liaisons hydrogène avec les chaînes de chitosane. En réalité, la chitine et le chitosane existent sous forme d'hétéropolymères composés d'unités monomères acétylées et désacétylées. Le schéma de

désacétylation n'est généralement pas uniforme [28]. Le degré de désacétylation (DD) d'un matériau de chitosane est crucial car il gouverne sa structure et ses propriétés physico-chimiques.

I.2.2 Nanoparticules métalliques et chitosane

Les nanoparticules métalliques sont généralement définies comme des particules d'atomes métalliques ayant des tailles comprises entre 1 nm et quelques centaines de nanomètres [29]. Ces particules présentent des propriétés optiques, chimiques et électroniques qui diffèrent des atomes individuels ou des matériaux en vrac. Leurs propriétés uniques sont très appréciées pour diverses applications telles que la catalyse, la photonique ou la biomédecine [30]. Les nanoparticules métalliques peuvent être préparées à l'aide de diverses méthodes physiques ou chimiques. Les ions métalliques peuvent être réduits en utilisant des agents chimiques tels que le NaBH_4 , la vitamine C et d'autres [31], extraits de plantes (en raison de leurs composés phénoliques) [32], utilisant de polymères tels que le sulfate de chondroïtine ou l'héparine [33], ou en utilisant des micro-organismes contenant des enzymes spécifiques comme la nitrate réductase [34]. D'autres auteurs ont proposé l'utilisation de la réduction sonochimique [35], radiation [36], electrochemicalreduction [37], ou évaporation de la chaleur [38], une fois que les nanoparticules métalliques formées s'agrègent, l'ajout de stabilisants est nécessaire [39]. (Figure I.3)

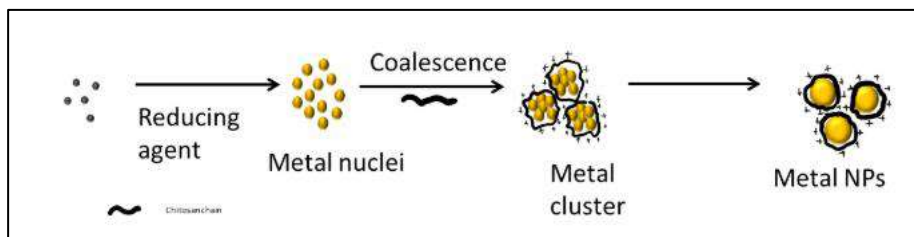


Figure I.3 Schéma de stabilisation de la production de nanoparticules métalliques à l'aide de chitosane

La synthèse de nanoparticules métalliques en utilisant le chitosane comme agent réducteur et/ou stabilisant est bien documentée. Certains auteurs suggèrent également que le chitosane joue un rôle dans la régulation de la nucléation des nanoparticules, influençant ainsi la taille des nanoparticules dans une certaine mesure, étant donné que la concentration en métal affecte également cette taille [40].

Les capacités réductrices et stabilisantes du chitosane semblent être associées à la présence de groupes CH_2OH , CHO et NH_2 dans sa chaîne polymérique. Les variations du poids moléculaire ou du degré de désacétylation influencent non seulement le nombre de ces groupes réactifs, mais aussi les interactions telles que les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques et stériques présentes dans le système [41].

I.2.3 Matériaux nanométriques et nanoparticules

I.2.3.1. Définition

La nanotechnologie peut être définie comme la conception, la synthèse et l'application de matériaux et dispositifs dont la taille et la forme ont été conçues à l'échelle nanométrique afin de créer des matériaux nouveaux et uniques [42] pour diverses applications industrielles et biomédicales [43].

Les nanoparticules, organiques ou inorganiques [44], peuvent être produites par la destruction d'un matériau macroscopique ou par l'assemblage d'un groupe d'atomes ou de molécules. Elles peuvent prendre différentes formes, telles que des nanosphères, des nanotubes, des nanofils, des cellules et des monocristaux [43].

Les nanoparticules peuvent être amorphes ou cristallines. Dans une certaine mesure, la matière nanoparticulaire devrait être considérée comme un état distinct de la matière, en plus des états solide, liquide, gazeux et plasma. Les nanoparticules possèdent des propriétés spéciales et distinctes par rapport à d'autres particules, notamment un rapport surface/volume plus élevé et une température de fusion supérieure, ce qui offre une force motrice considérable pour la diffusion [45].

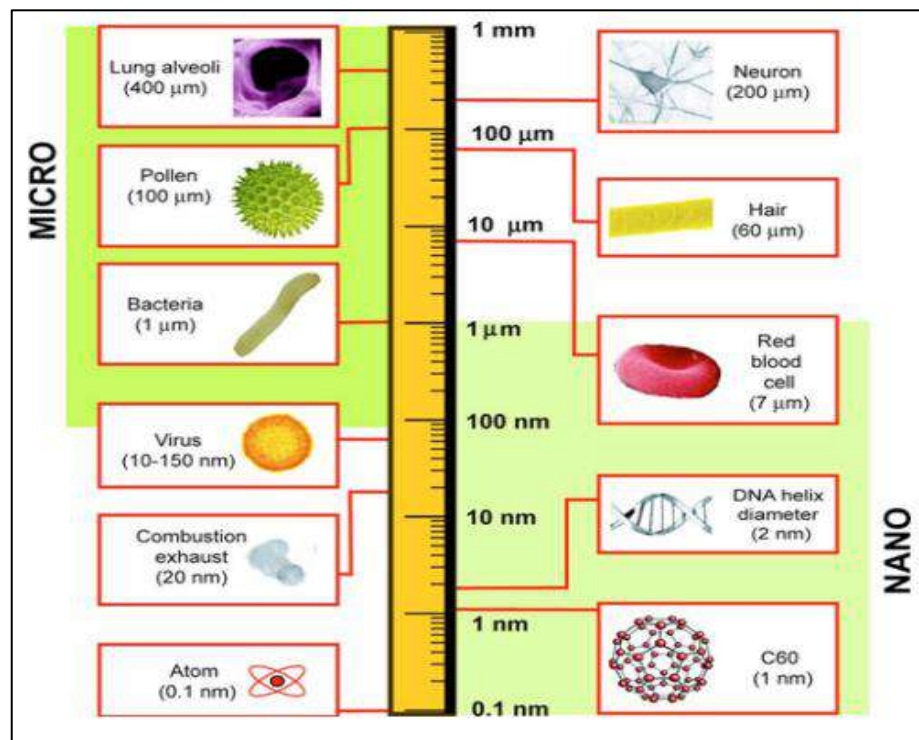


Figure I.4 Échelle de longueur logarithmique montrant la taille des nanomatériaux par rapport aux composants biologiques et définition des tailles « nano » et « micro » [46]

I.2.3.2 L'oxyde de zinc

I.2.3.2.1 Définition

L'oxyde de zinc (ZnO) a suscité une vive attention au sein de la société scientifique en tant que "matériau d'avenir". À partir de 1935 [47], l'intérêt pour l'oxyde de zinc (ZnO) n'a cessé de croître suite à la mise en évidence de ses propriétés remarquables en termes d'émissivité dans l'ultraviolet et le bleu, combinées à une stabilité chimique supérieure à celle du GaN [48], une large

bande interdite (~ 3.4 eV), une forte énergie de liaison excitonique (~ 60 meV) à température ambiante, ainsi que sa capacité à être élaboré sur des substrats monocristallins [49]. D'autres avantages de l'oxyde de zinc peuvent être mentionnés, tels que le faible seuil de puissance requis pour le pompage optique et sa biocompatibilité. Il est devenu très attrayant pour diverses applications en microélectronique, électronique de spin et dans le domaine médical. De nombreux défis ont été relevés lors de la fabrication du ZnO, en particulier du type p, ce qui a permis le développement de divers dispositifs [47].

Caractéristiques structurales et cristallographiques

L'oxyde de zinc, également appelé zincite dans sa forme naturelle, présente trois phases cristallographiques distinctes : la phase Rocksalt, la phase Blende et la phase Wurtzite, telles qu'illustrées dans *la figure I.5* [50].

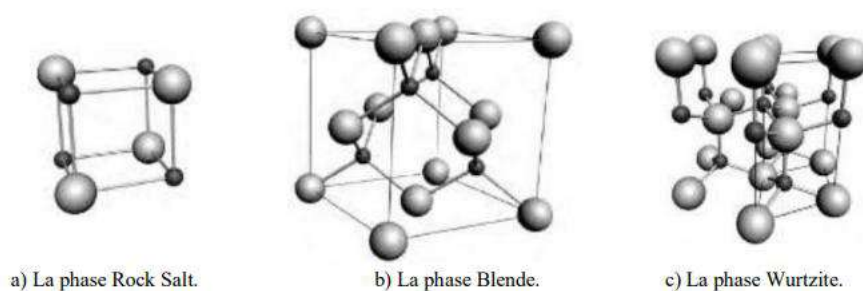


Figure I.5 les différentes structures cristallines des nanoparticules de ZnO

La structure hexagonale de type Wurtzite est considérée comme étant la configuration thermodynamiquement la plus stable à température ambiante. Lorsque le ZnO est déposé sur des substrats présentant une symétrie cubique, on observe la formation de la structure Blende (cubique), tandis que l'application d'une pression hydrostatique (~ 10 - 15 GPa) sur la structure conduit à l'obtention de la structure Rocksalt [51]. Les paramètres de maille a (représentant la longueur du côté d'un losange formant la base) et c (correspondant à la longueur du côté parallèle à l'axe oz)

sont mesurés à 0,325 nm et 0,521 nm respectivement. Les atomes de zinc adoptent une coordination tétraédrale et la structure de l'oxyde de zinc peut être décrite par deux réseaux hexagonaux compacts, l'un étant composé d'ions Zn^{2+} et l'autre d'ions O^{2-} . Ces réseaux sont dérivés les uns des autres par une translation parallèle à l'axe c de la maille, comme illustré dans la figure I.6. Le paramètre u, qui est adimensionnel, définit la longueur du lien parallèle à l'axe (oz). Ce paramètre est corrélé aux paramètres de maille selon la relation suivante [52].

$$U = \left(\frac{1}{3}\right)\left(\frac{a^2}{c^2}\right) + \frac{1}{4}$$

D'après cette relation, on remarque que si le rapport (c/a) augmente le paramètre u augmente. La distance séparant les plans réticulaires d'indices (h, k, l) est donnée par la relation :

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{4}{3a^2}(h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{c^2}$$

La condition de stabilité de cette structure est :

$$0.225 \leq \frac{R_a}{R_c} \leq 0.414$$

Où R_a et R_c désignent respectivement le rayon de l'anion et celui du cation. L'origine de cette condition provient des considérations suivantes :

- Pour une structure hexagonale compacte (H.C), on a :

$$R_a + R_c = \frac{3}{8}c$$

Avec:

$$\frac{c}{a} = \sqrt{\frac{8}{3}} \text{ et } 2R_a < a$$

Dans les coordonnées partielles d'une structure de wurtzite ideale : $u=3/8$

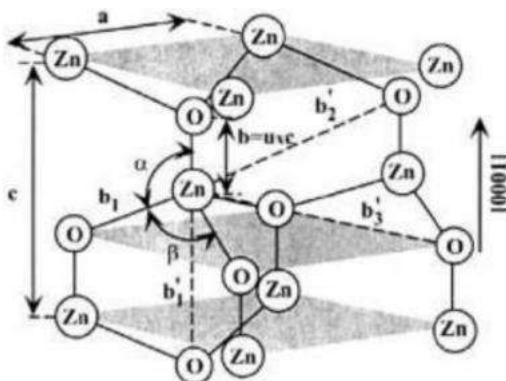


Figure I.6 les plans cristallographiques du ZnO [50]

I.2.3.2.2. Synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc

Au cours des deux dernières décennies, un intérêt croissant s'est manifesté pour la production de nanoparticules de ZnO (ZnONPs) par des méthodes biologiques. Le fait que cette technique novatrice évite l'utilisation de produits chimiques dangereux ou la consommation excessive d'énergie grâce à la synthèse biologique la rend plus pratique, respectueuse de l'environnement et économiquement viable [53]. Les différents rapports dans la littérature suggèrent que la synthèse verte des métaux et de leurs oxydes est plus respectueuse de l'environnement que les approches conventionnelles actuellement utilisées [54].

Les ZnONPs sont produits en ajoutant un sel de zinc, tel que le nitrate de zinc ou l'acétate de zinc, à l'extrait biologique. Dans de nombreux cas, la formation des ZnONPs est également

augmentée par l'ajout de NaOH ou d'un nouvel agent stabilisant comme le curcuma, le lignosulfonate de sodium, le polyol, etc. La solution mélangeant le sel métallique et l'extrait biologique donne une pâte qui est chauffée pour obtenir la poudre de ZnO [55].

L'utilisation de différents substrats biologiques aux compositions variées, ainsi que les niveaux de sels de zinc, la durée de la réaction, le pH et la température, influencent grandement la taille et la morphologie des particules. Velsankar et al [56] ont étudié l'impact de nombreux facteurs de synthèse, notamment la température, l'échantillon biologique, la teneur en zinc et le temps de réaction, sur la gamme de tailles et le rendement des ZnONPs créées. Les conditions rapportées pour un rendement maximal étaient : 65 g L^{-1} de précurseur de zinc, une température de 200°C et un temps de réaction de 2 heures. Parmi toutes les caractéristiques étudiées, la concentration en nitrate de zinc était celle qui influençait le plus la taille des particules.

Singh et al.,2018 [57], ont rapporté les effets de la quantité d'extrait de plante et de précurseur de zinc, du temps de réaction et de la température d'incubation sur la synthèse des ZnONPs en utilisant les feuilles d'*Eclipta alba*. Les auteurs ont découvert qu'une augmentation de la quantité d'acétate de zinc ($1,0\text{--}5,0 \text{ mM}$) améliorait l'uniformité de la taille des particules. De plus, une forte corrélation entre la concentration de l'extrait d'*Eclipta alba* et l'intensité du pic d'absorbance UV a conduit à une meilleure création de ZnONPs, ce qui pourrait être dû à une disponibilité accrue d'antioxydants pendant la synthèse en raison de l'augmentation de la teneur en extrait de plante. Ces phytochimiques sont considérés comme cruciaux dans la création de métaux et d'oxydes métalliques générés par synthèse verte [58].

Singh et al.2018 [57].ont également étudié l'influence de la température, allant de 20 à 100°C , sur la génération et la taille des ZnONPs. Selon leurs résultats, des températures plus élevées

amélioreraient la production de ZnONPs, mais un temps de réaction court réduisait le taux de croissance des particules, produisant des particules de petite taille.

Plusieurs études scientifiques montrent que les substrats biologiques sont des ressources exclusives pour la biosynthèse des NPs [59]. Cependant, la complexité des substrats biologiques rend difficile l'évaluation et la caractérisation des processus chimiques se produisant pendant la synthèse verte.

L'efficacité de la synthèse verte des NPs métalliques n'a été établie qu'en laboratoire [60]. Par conséquent, déterminer le mécanisme de la synthèse verte est essentiel pour le développement de processus à grande échelle.

I.3 Applications biologiques

I.3.1 Activité anti-inflammatoire

I.3.1.1 Définition d'inflammation

L'inflammation, une réaction immunitaire omniprésente, peut être bénéfique ou dommageable selon son contrôle. Elle peut causer des dommages tissulaires graves et augmenter la morbidité, voire la mortalité, dans des conditions telles que la goutte ou le diabète de type 2. Elle est associée à la réponse immunitaire innée et adaptative, qui travaillent ensemble pour détecter et réagir aux intrus pathogènes. L'inflammation se déroule en quatre étapes, mais en l'absence de résolution, elle peut devenir chronique [61].

I.3.1.2 Activité anti-inflammatoire du chitosane

L'inflammation est une réponse physiologique automatique du corps en réaction à des dommages tissulaires. Son objectif principal est d'acheminer les leucocytes circulants et les protéines plasmatiques vers le site de l'infection ou des lésions tissulaires pour éliminer l'agent causal, si possible, et commencer le

processus de guérison. Bien que vitale, l'inflammation peut causer des dommages lorsqu'elle est très intense, incapable d'éliminer l'agent causal, ou dirigée contre l'hôte. Ce processus est étroitement lié à la production de radicaux libres, et il a été observé que l'activité est plus marquée lorsque le poids moléculaire du chitosane est réduit, les chitooligosaccharides montrant une activité plus élevée. Après la dépolymérisation du chitosane (300 kDa) avec de la cellulose, les polymères dégradés de poids moléculaire moyen, faible et les chitooligosaccharides (156, 72, 7 et 3,3 kDa) ont été testés pour la sécrétion de NO, la production de cytokines et les voies de signalisation des kinases activées par les mitogènes dans un modèle de macrophages murins RAW 264.7 induits par le LPS. Les échantillons de chitosane (parent, moyen et faible) ont significativement réduit la production de NO, contrairement aux chitooligosaccharides qui ont montré l'effet opposé. Les mécanismes d'inhibition de l'activation de NF- κ B et de l'expression de l'iNOS par le chitosane de poids moléculaire moyen et faible différaient : pour le chitosane moyen (156 kDa), le processus passait par la liaison au CR3, tandis que pour le chitosane de faible poids moléculaire, il impliquait la liaison aux récepteurs CR3 et TLR4. [62].

I.3.1.3 Activité anti-inflammatoire de l'oxyde de zinc

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs) sont prometteuses en tant qu'agents anti-inflammatoires, en raison de leurs propriétés uniques dues à leur taille nanométrique, qui leur confère une grande surface spécifique et une réactivité accrue par rapport aux formes plus larges de ZnO. Ces nanoparticules améliorent la réponse anti-inflammatoire par plusieurs voies complexes, ce qui les rend utiles dans le traitement de diverses maladies inflammatoires chroniques. Une des principales voies par lesquelles agissent les ZnONPs est l'inhibition de la production de l'oxyde nitrique (NO) via la réduction de l'expression de l'enzyme *iNOS* (inducible Nitric Oxide Synthase). L'oxyde nitrique joue un rôle clé dans les processus inflammatoires en tant que molécule signalétique impliquée dans le recrutement des cellules immunitaires et les réactions

inflammatoires. Les ZnONPs réduisent les niveaux de NO, limitant ainsi ses effets néfastes qui aggravent l'inflammation et entraînent des dommages tissulaires [63].

De plus, les études montrent que les ZnONPs sont capables d'inhiber l'enzyme *myéloperoxydase* (MPO), qui contient du fer et est libérée par les neutrophiles pour servir de marqueur inflammatoire. La MPO favorise la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui aggravent l'inflammation. Par l'inhibition de la MPO, les ZnONPs réduisent la production de ces espèces réactives et atténuent les dommages oxydatifs, protégeant ainsi les cellules et les tissus adjacents [64].

I.3.2 Activité antioxydante

I.3.2.1 Stress oxydant

L'oxygène, essentiel à notre survie, notre vie, notre développement et notre capacité d'adaptation, est également responsable de toxicité, d'acidité, d'altération et de dégénérescence. En réalité, une perturbation du métabolisme de l'oxygène peut conduire à ce que l'on désigne « le stress oxydant » [65].

Il a la capacité de générer des espèces partiellement réduites extrêmement toxiques, connues sous le nom de radicaux libres, ainsi que des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Qu'elles soient radicalaires ou non radicalaires, ces espèces sont continuellement produites par divers types cellulaires au sein des organismes aérobies [66].

Le stress oxydatif se caractérise par l'altération de la capacité de l'organisme à contrer l'attaque des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO), suite à une inégalité entre la production de ces composés et la capacité antioxydante de l'organisme [65].

I.3.2.2 Radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique constituée d'un atome ou d'une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés [67], pouvant être soit chargée, soit neutre [68].

Les radicaux libres peuvent être produits à partir de diverses sources, cependant, dans les milieux biologiques, ceux impliquant l'oxygène et l'azote sont prépondérants [68]. Ces radicaux peuvent être générés soit par une scission homolytique d'une liaison covalente, où chaque atome conserve son électron, soit par une scission hétérolytique, où un atome reçoit deux électrons lors de la rupture des liaisons covalentes. De plus, lors d'une réaction d'oxydoréduction impliquant la perte ou le gain d'un électron à partir d'un composé non radical [69].

Ce déséquilibre est temporaire et peut être compensé soit par l'acceptation d'un électron supplémentaire, soit par le transfert de cet électron libre vers une autre molécule. Les radicaux libres dérivés de l'oxygène, ou plus communément appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO),

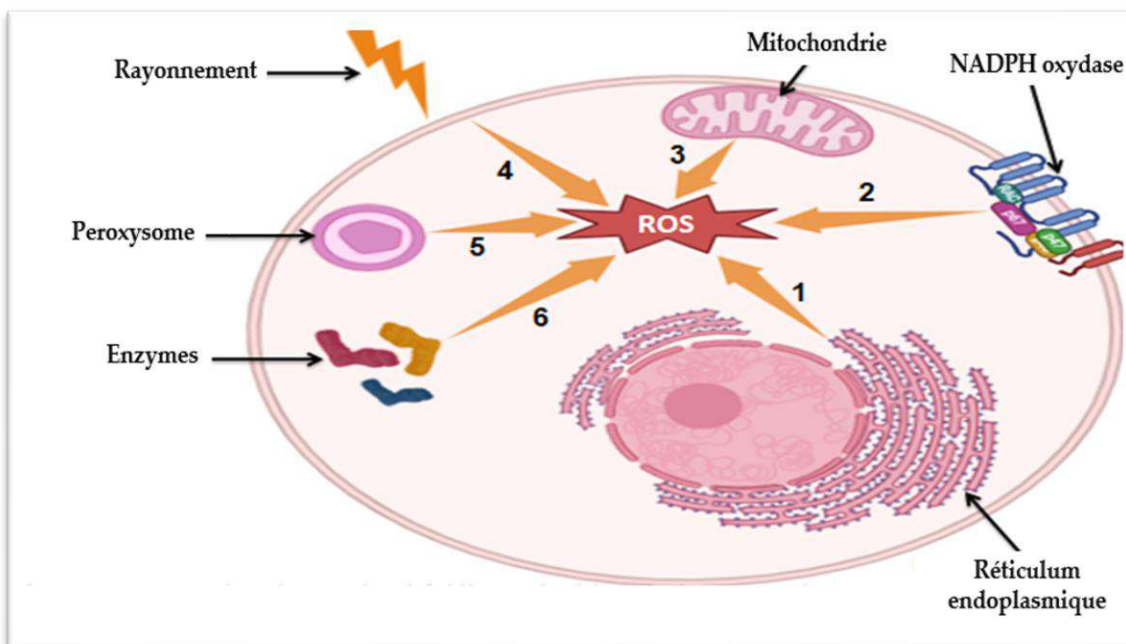


Figure I.7: Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

ainsi que les espèces réactives de l'azote (ERN), sont des sous-produits du métabolisme cellulaire régulier [70].

I.3.2.3 Activité antioxydante du chitosane

Antioxydants suscitent un intérêt croissant en raison du lien entre le stress oxydatif et plusieurs maladies telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique et le cancer. De plus, il est associé à des complications dans d'autres maladies comme le diabète [71]. Le chitosane contient un groupe amino et plusieurs groupes hydroxyle, qui peuvent réagir avec les radicaux libres en montrant une capacité de capture. Certains dérivés de chitosane tels que les sulfates de chitosane ou le chitosane

N-2 carboxyéthylé montrent une activité antioxydante améliorée [72]. Les chitooligosaccharides ont également été modifiés chimiquement pour améliorer leur activité antioxydante, par exemple par modification des polymères avec de l'acide gallique [73], ou des composés phénoliques [74]. Diverses méthodes ont été employées pour évaluer les propriétés antioxydantes du chitosane et de ses dérivés, telles que les essais DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle-hydrate), ABTS (2,2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) et FRAP (pouvoir antioxydant ferrique), ainsi que les tests de piégeage des radicaux peroxydes et hydroxyles, ou encore l'utilisation de modèles de macrophages. Les essais DPPH et ABTS reposent sur le transfert d'électrons et d'atomes d'hydrogène, tandis que le test FRAP repose sur une réaction de transfert d'électrons. L'essai ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygénés) est également couramment utilisé pour évaluer les activités antioxydantes. Les différences entre les polymères testés et les méthodes employées pour mesurer l'activité entraînent des variations importantes des concentrations de polymères, allant de 50 µg/mL à 400 mg/mL [72]. Les échantillons de faible poids moléculaire présentent une activité antioxydante plus prononcée que ceux de poids moléculaire élevé. Cela s'explique par le fait que les chaînes plus courtes forment moins de liaisons hydrogène intramoléculaires, ce qui rend les groupes réactifs plus accessibles et, par conséquent, augmente leur capacité à piéger les radicaux. L'activité antioxydante tend à diminuer à mesure que le degré d'acétylation augmente [75].

I.3.2.4 Activité inatloxydante de l'oxyde de zinc

Le zinc est un minéral essentiel qui aide à la protection antioxydante, à la croissance et au bon fonctionnement du système immunitaire [76]. Les ZnONPs ont démontré de puissants effets antioxydants à la fois à l'intérieur des cellules et dans des environnements sans cellules. Das et al. [77], ont utilisé l'élimination des radicaux libres DPPH pour évaluer la capacité de piégeage antioxydant dépendant du temps et de la concentration des ZnONPs (40–50 nm et de forme

sphérique). Cette étude a révélé une activité antioxydante substantielle des ZnONPs en raison du transfert de densité d'électrons de l'oxygène à l'azote pour stabiliser les électrons célibataires dans la molécule de DPPH.

Ebrahimiasl et al., 2015 [78], ont étudié un bio-nanocomposite à base de polypyrrole/oxyde de zinc/chitosane d'une taille comprise entre 100 et 1000 nm et de forme sphérique. Ce matériau a montré une activité de piégeage DPPH élevée avec l'augmentation de la concentration du composite de ZnO [79].

Rehana et al., 2017 [80], ont examiné les propriétés antioxydantes des ZnONPs biosynthétisés (27–54 nm, sphériques) à l'aide d'extraits de *Azadirachta indica*, *Moringa oleifera*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Ceropegiaacandelabrum*, et *Tamarindusindica*. Ces ZnONPs biosynthétisés ont démontré diverses activités de piégeage antioxydant (contre le DPPH, les radicaux hydroxyles, l'ABTS⁺, les superoxydes et le peroxyde d'hydrogène).

En outre, Hafez et al., 2020 [81], ont évalué l'activité antioxydante in vivo des ZnONPs chez les poulets de chair. Ils ont préparé des ZnONPs sphériques de 39,2 nm utilisés comme supplément alimentaire à des concentrations de 40 et 80 ppm. Ces particules ont considérablement amélioré l'activité des enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase, tout en réduisant le niveau de malondialdéhyde (MDA).

L'extrait de feuilles d'*Azadirachta indica* a été utilisé par Sohail et al., 2020 [82], pour biosynthétiser des ZnONPs de forme non sphérique et d'une taille d'environ 20 nm. Les ZnONPs produits ont démontré une activité efficace de piégeage des radicaux DPPH et de réduction ferrique (FRAP).

Bien que certaines études aient révélé que les ZnONPs présentent une activité antioxydante intracellulaire en activant des enzymes antioxydantes, leur capacité directe à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en conditions intracellulaires reste à être validée [83].

I.3.3. Activité antibactérienne

I.3.3.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des organismes microscopiques simples et procaryotes, constitués d'une seule cellule. Elles sont considérées comme l'un des plus petits organismes vivants, avec un diamètre variant de 0,3 à 2 microns. Les bactéries se reproduisent rapidement et efficacement par simple division cellulaire. Elles se trouvent dans une grande variété d'environnements, qu'ils soient terrestres, aquatiques ou aériens, et jouent des rôles essentiels dans divers processus, y compris les cycles biogéochimiques, l'agriculture, la médecine et l'industrie [84].

I.3.3.2. Types de bactéries étudiées

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Cette bactérie appartient à la famille des Pseudomonadaceae. Elle a été observée pour la première fois par le médecin français Charles Sedillot en 1850, qui remarqua des sécrétions vert bleuâtre sur des plaies infectées. *P. aeruginosa* est une bactérie en forme de bâtonnet mesurant de 5 à 15 micromètres de longueur et 0,5 à 1,5 micromètre de diamètre. Elle est classée comme une bactérie Gram négatif, présente dans divers environnements tels que le sol, l'eau, les plantes, les animaux et même le corps humain. *P. aeruginosa* est capable de survivre dans une large plage de températures, allant de 5 à 42 °C, alors que d'autres espèces du genre *Pseudomonas* ne peuvent pas survivre au-delà de 25 °C [85].

➤ *Staphylococcus aureus*

Appartenant à la famille des Staphylococcaceae, cette bactérie a été découverte pour la première fois par le chirurgien britannique Alexander Ogston en 1880. Le terme "Staphylococcus" dérive du grec et signifie "grappes de raisin". *S. aureus* est une bactérie à Gram positif de forme sphérique, mesurant entre 0,5 et 1,5 micromètre de diamètre. Elle se reproduit en formant des colonies groupées. Cette espèce est particulièrement connue pour sa résistance à des niveaux élevés de salinité et peut croître dans une gamme de températures atteignant 44 °C [86].

➤ *Salmonella typhimurium*

Cette bactérie, en forme de bacille, est un anaérobie facultatif à Gram négatif, mesurant entre 1 et 7 micromètres de longueur. Elle est responsable d'infections sévères qui se manifestent par une inflammation du côlon et des intestins. Suite à une infection, *S. typhimurium* peut se propager dans le sang, provoquant une inflammation systémique qui peut évoluer vers une septicémie, pouvant être fatale [87].

➤ *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie Gram positive en forme de bâtonnet, capable de former des spores résistantes à la chaleur. Elle est principalement trouvée dans le sol et est considérée comme non pathogène. Cette espèce a été observée pour la première fois par Ferdinand Cohn en 1872. Sa longueur varie de 2 à 4 micromètres et sa largeur de 0,5 à 2 micromètres. Elle possède une membrane cytoplasmique et une paroi cellulaire épaisse, mais ne présente pas de membrane externe, ce qui la distingue des espèces à Gram négatif [88].

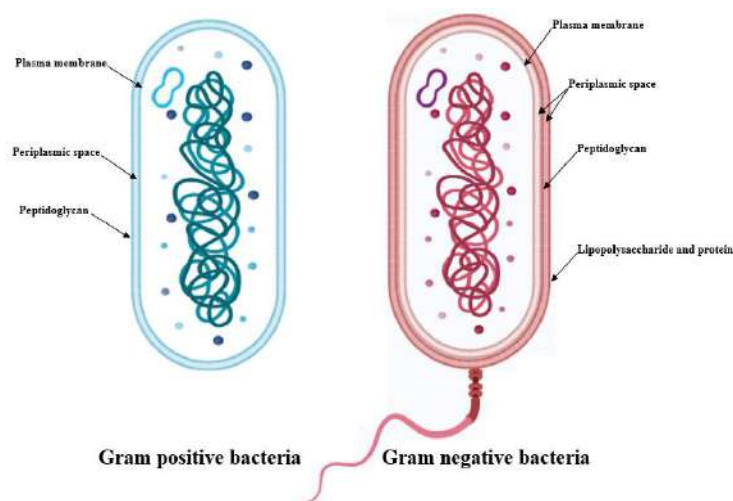


Figure I.8: Représentation schématique comparative des bactéries Gram-positives et Gram-négatives

I.3.3.3. Activité antibactérienne du chitosane

La résistance bactérienne aux antibiotiques est une préoccupation majeure de santé publique, ce qui rend urgent la recherche d'alternatives aux antibiotiques. Le chitosane, ses dérivés et les chitooligosaccharides présentent une activité antimicrobienne contre différents micro-organismes, y compris les bactéries, les champignons filamenteux et les levures [89]. Voici quelques exemples de micro-organismes sensibles au chitosane, comme indiqué dans le Tableau 3. Le chitosane présente une activité inhibitrice de la croissance, car les bactéries peuvent se développer une fois que le polymère est retiré du milieu. Cela est important car des populations résistantes pourraient potentiellement émerger si les cellules s'adaptent au chitosane [90].

En raison de la faible solubilité du chitosane au-dessus d'un pH de 6,5, l'utilisation des chitooligosaccharides est envisagée comme biocides polycaténoïques, car ils sont solubles dans l'eau. Les dérivés solubles du chitosane tels que le chitosane sulfaté, le chitosane N-triméthylé, le chitosane N-diéthylméthylé ou le chitosane 2,6-diamino évitent également l'utilisation

d'environnements acides et exercent une activité antimicrobienne [91]. Cette activité antimicrobienne trouve des applications dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire, textile ou cosmétique, entre autres. Ainsi, en raison de la capacité du chitosane à former des bases de Schiff, de nouveaux dérivés de chitosane basés sur des motifs hétérocycliques ont été développés, comprenant des cycles de pyrazole ainsi que des motifs furanyle, pyridyle ou thiophényle. Bien que ces dérivés ne montrent pas une meilleure solubilité dans les milieux aqueux, leur efficacité contre les micro-organismes Gram-positifs a été améliorée par rapport au chitosane parent, [92]. Comprendre comment ces polymères (chitosane, chitooligosaccharides et dérivés) exercent leur activité antimicrobienne reste un sujet de recherche et de discussion continues. Plusieurs facteurs contribuent à la complexité de cette question, notamment la variabilité dans la caractérisation des polymères, les préoccupations concernant la pureté, les différences dans les souches de micro-organismes utilisées dans les études et les incohérences méthodologiques entre les recherches.

Certaines études suggèrent que l'activité antimicrobienne implique des mécanismes tels que la réduction de la perméabilité de la membrane cellulaire. Cela se produit lorsque le polymère recouvre la surface des cellules microbiennes, bloquant ainsi leur accès aux nutriments essentiels. Ce processus serait facilité par les interactions entre les groupes amines ($-NH_2$) présents dans les chaînes de chitosane et les groupes carboxyles ($-COO^-$) sur les membranes externes des micro-organismes. Il est important de noter que l'efficacité de cette action antimicrobienne est influencée par le degré d'acétylation du polymère [93].

I.3.3.4. Utilisations antibactériennes des nanoparticules de ZnO d'origine végétale

Un large éventail de maladies causées par des infections bactériennes, ainsi que l'émergence de résistances aux antibiotiques, ont nécessité le développement de nouveaux vecteurs pour une

délivrance efficace de médicaments. La nanotechnologie est apparue comme une stratégie révolutionnaire pour lutter contre les maladies bactériennes. Plusieurs types de nanoparticules métalliques agissent comme agents antibactériens [tels que le ZnO, l'oxyde de titane (TiO₂), l'oxyde de cuivre (CuO) et l'oxyde de fer (FeO)] pour une action efficace sur les bactéries pathogènes [94]. Les propriétés antibactériennes des NPs sont liées à des caractéristiques inhérentes telles que leur forte réactivité et un rapport important entre la surface et le volume, ce qui leur permet d'interagir avec un plus grand nombre de ligands à la surface [95]. Lorsqu'elles sont associées à des méthodologies de synthèse verte, les NPs de ZnO ont l'impact le plus impressionnant parmi toutes les NPs. Les NPs de ZnO sont fabriquées à partir de divers matériaux naturels, y compris des bactéries et des plantes, et ont un impact antibactérien puissant. La production médiée par les plantes ou la production de NPs à partir de phytochemicals est fortement présente dans les rapports publiés, en raison de la grande variété de matières premières disponibles et du potentiel de création de nanostructures synergiques combinant les capacités antibactériennes des extraits de plantes et des NPs [96]. Suresh et al., 2015 [97], ont proposé une approche intéressante pour la synthèse de NPs de ZnO à partir de l'extrait de *Cassia fistula*, une source de composants réducteurs tels que les flavonoïdes (12,5 %) et les polyphénols (11 %). Ces métabolites agissent comme agents de stabilisation permettant la formation de petites NPs de ZnO de taille comprise entre 5 et 15 nm, de forme hexagonale wurtzite. L'activité de piégeage des radicaux DPPH des NPs de ZnO a été testée et une activité antibactérienne exceptionnelle a également été évaluée contre *E. coli*, *S. aureus* et *Plasmodium desmolyticum*. De la même manière, la synthèse biologique de NPs de ZnO de 60 à 70 nm à partir d'acétate de zinc a été démontrée en utilisant l'extrait de fleurs de *Trifolium pratense* comme source de nouveaux agents réducteurs et de stabilisation [98]. L'efficacité antimicrobienne de ce nanomatériau a été montrée contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* (souches cliniques et

standards), en plus de la souche standard d'*E. coli*. Cette étude a également révélé une activité antibactérienne plus forte des NPs de ZnO par rapport à la gentamicine contre *Pseudomonas aeruginosa*. L'extrait de feuilles de *Boerhavia diffusa* dans l'eau a été utilisé pour créer des NPs de ZnO de 140 nm avec une stabilité efficace. Selon les capacités antibactériennes et anti-biofilm examinées, l'impact antibactérien a été montré comme substantiel contre les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA) [99]. Dans une étude séparée, l'extrait de fruits d'*Artocarpus gomezianus* a été utilisé pour produire des NPs de ZnO sphériques et a également impliqué une approche de combustion verte acceptable sur le plan environnemental [100].

I.4 Traitement des eaux par la méthode d'adsorption

I.4.1 Pollution de l'eau par les métaux lourds et les colorants

La croissance rapide des activités industrielles et agricoles a entraîné un rejet considérable de polluants dans l'environnement, en particulier des colorants et des métaux lourds, ce qui suscite une grande inquiétude dans le monde entier [101]. L'eau souterraine est la principale source d'eau potable. Cette eau souterraine est polluée par les eaux usées contenant un grand nombre de contaminants tels que des acides, des bases, des organiques toxiques, des inorganiques, des métaux lourds [102].

Contamination de l'eau par les colorants Les colorants sont essentiellement des composés chimiques colorés, solubles dans l'eau, qui peuvent se fixer sur des surfaces ou des tissus pour leur impartir de la couleur [103]. Ces colorants ont des impacts mutagènes et cancérogènes [104], ce qui affecte l'environnement en raison de la présence de polluants toxiques résistants à la biodégradation microbienne. La majorité des colorants sont des molécules organiques complexes et se composent

de deux composants : les chromophores (la partie d'une molécule responsable de sa couleur, par exemple : $-N=O$, $-C=C-$, $-C=O$) et les auxochromes (un groupe fonctionnel qui modifie l'absorption de la lumière, par exemple : $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$) [105]. Les molécules de colorants persistent dans les environnements aquatiques en raison de leur faible biodégradabilité, de leur stabilité à la photolyse et aux agents oxydants [106].

➤ Bleu de méthylène (BM)

Parmi ces types de colorants, le colorant bleu de méthylène (BM) (ou chlorure de méthylthioninium) est mis en évidence dans cette recherche en tant que modèle représentatif de polluants organiques de taille moyenne. Le MB est un colorant cationique (de base) et l'un des colorants synthétiques les plus utilisés dans divers domaines. Il est utilisé comme colorant dans l'industrie textile en raison de ses propriétés telles que la solubilité dans l'eau [107], sa simplicité d'utilisation et sa résistance à la dégradation, car il a été largement appliqué sur des substrats en coton, offrant une large gamme de tons vifs et colorés [108]. Il sert d'indicateur redox de couleur (sa forme oxydée est bleue, tandis que sa forme réduite est incolore), en tant qu'antiseptique dans les aquariums, et comme moyen de lutter contre la méthémoglobinémie. Il est nocif en cas d'ingestion et irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Le *Tableau I.3* et la *Figure I.9* présentent certaines propriétés chimiques et la structure chimique du colorant BM [109].

Tableau I. 3 propriétés chimiques du colorant bleu de méthylène

Nom	Bleu de methylene
Famille	Colorants basiques
Formule brute	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ SCl
Appellation chimique	3,7-bis-(diméthylamino)phenazathionium
Masse molaire (g/mol)	320
A _{mas} (nm)	663

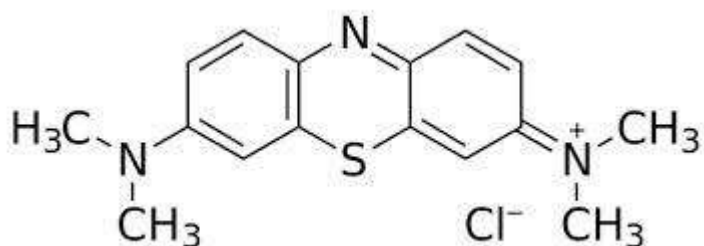


Figure I. 9: Structure chimique du bleu de méthylène

➤ Le bleu de toluidine

Le bleu de toluidine est un colorant de la famille des bases de diazoïque, souvent utilisé dans divers domaines, notamment en chimie analytique et dans les tests de coloration en laboratoire. Ce composé est principalement connu pour sa capacité à interagir avec des substances spécifiques, produisant une coloration bleue caractéristique. Il est utilisé dans les analyses de protéines et dans certains tests biologiques, en particulier pour déterminer la présence d'enzymes ou d'autres biomolécules dans des échantillons. Le bleu de toluidine est également utilisé dans

certaines méthodes de détection et dans des recherches liées à la biochimie, la microbiologie, et les études de toxicité.

Le principe de son utilisation repose souvent sur sa réactivité avec des groupes fonctionnels spécifiques dans les échantillons à analyser, ce qui permet la visualisation ou la quantification de certaines substances. Toutefois, l'usage de la toluidine bleue doit être réalisé avec précaution, car elle peut être toxique dans certaines conditions. Le *Tableau I.4* et la *Figure I.10* présentent certaines propriétés chimiques et la structure chimique du colorant [110].

Tableau I.4 propriétés chimiques du colorant bleu de toluidine

Nom	Bleu de toluidine
Famille	Colorants basiques
Formule brute	$C_{15}H_{16} N_3SCl$
Appellation chimique	chlorhydrate de triméthylthionine
Masse molaire (g/mol)	270
A_{max} (nm)	635

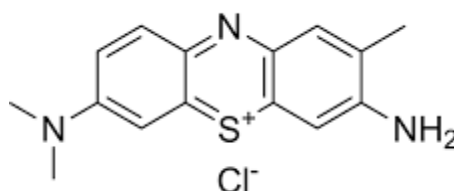


Figure I.10 : Structure chimique du bleu de toluidine

I.4.2 Principes fondamentaux et mécanisme de la photocatalyse

I.4.2.1. Chitosane avec photocatalyseurs semi-conducteurs à base de métal

Chitosan a été largement étudié en combinaison avec des photocatalyseurs à base de métaux semi-conducteurs en raison de sa capacité à surmonter certaines limites inhérentes de ces matériaux. Parmi ces photocatalyseurs, le dioxyde de titane (TiO_2) est l'un des plus utilisés en raison de son faible coût, de sa disponibilité et de sa non-toxicité. Malgré ces avantages, TiO_2 possède un large gap de bande (3,2 eV), ce qui limite son absorption de lumière dans la gamme UV, et souffre d'une recombinaison élevée des charges et d'une faible adsorption des polluants à sa surface, affectant ainsi son efficacité photocatalytique [111]. D'autres semi-conducteurs à base de métaux, y compris les oxydes métalliques, les sulfures, les oxy(nitrures) et oxy(sulfures), présentent également des limitations telles qu'une faible efficacité, une recombinaison élevée des charges et une adsorption inadéquate des polluants à leur surface [112].

Le chitosane permet de résoudre ces problèmes en agissant comme un matériau de support pour ces photocatalyseurs à base de métaux, améliorant leur capacité d'adsorption et leur stabilité. Bien que le chitosane soit lui-même inactif photocatalytiquement, ses groupes amines ($-\text{NH}_2$) améliorent l'adsorption et la dégradation des polluants. Par exemple, le chitosane combiné avec du CuO démontre une activité photocatalytique améliorée, en particulier pour l'inactivation bactérienne. La haute activité est attribuée à l'interaction forte entre le chitosane et la surface des cellules microbiennes, où le nanocomposite perturbe la perméabilité de la membrane cellulaire et génère des espèces oxydantes qui conduisent à l'inactivation cellulaire. De même, les composites chitosane/ CdS ont montré une dégradation efficace des colorants sous lumière visible, avec un taux de dégradation de 93,6% pour le colorant rouge de Congo en 180 minutes et une bonne réutilisabilité sur cinq cycles [113].

Le chitosane joue également un rôle crucial dans l'amélioration de l'efficacité des photocatalyseurs magnétiques à base d'ions métalliques, comme le fer, en formant des chélates grâce à ses groupes amines ($-NH_2$) et hydroxyles ($-OH$). Cette interaction facilite la dégradation des polluants et la formation de paires électron-trou, générant des espèces hautement oxydantes qui améliorent l'activité photocatalytique. Par exemple, les composites Fe-chitosane ont démontré une efficacité de dégradation de 94,5% pour le bleu de bromophénol sous lumière UV en 10 heures, la structure du chitosane contribuant de manière significative à la réutilisabilité et à l'efficacité du photocatalyseur [114].

En résumé, les composites chitosane-semiconducteurs métalliques ont montré des améliorations significatives de la performance photocatalytique grâce à des propriétés d'adsorption améliorées, une séparation efficace des charges et une réutilisabilité. Les facteurs clés influençant leur efficacité incluent la taille des particules, la force de liaison interfaciale (par exemple, les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène) et la dispersion uniforme des semi-conducteurs métalliques à la surface du chitosane. Ces composites sont prometteurs pour de futures applications et optimisations en photocatalyse environnementale et antibactérienne [115].

1.4.2.2. Principes fondamentaux et mécanisme de la photocatalyse de l'oxyde de zinc

Zinc oxide (ZnO) est un semi-conducteur connu pour son large gap de bande direct (3,37 eV), sa haute énergie de liaison des excitons (60 meV), et ses fortes capacités d'absorption ultraviolette (UV) et violette à température ambiante. Cet oxyde semi-conducteur présente d'excellentes propriétés électriques, mécaniques et optiques, similaires à celles du dioxyde de titane (TiO_2), tout en offrant des activités antibactériennes, antifouling, et une photocatalyse significative. Un avantage notable de ZnO est son coût de production inférieur, jusqu'à 75 % de moins que celui

des nanoparticules de TiO_2 et Al_2O_3 , comme rapporté par Liang et al., ce qui en fait une option viable pour diverses applications en photocatalyse hétérogène [116].

Chapitre II:
Matériaux et méthodes

II.1 Introduction

Ce chapitre a pour objectif de choisir l'extrait optimal de la plante *Solanum nigrum* L. en fonction de la quantité de métabolites secondaires et de l'activité biologique, afin de synthétiser des ZnONPs. L'extrait optimal a été sélectionné en fonction de plusieurs critères et utilisé comme agent réducteur. Ensuite, le chitosane a été extrait des coquilles de crevettes, et la synthèse biologique des nanoparticules de ZnO a été réalisée en utilisant l'extrait optimal comme agent réducteur. Les nanoparticules de ZnO obtenues ont été ensuite combinées avec le chitosane extrait pour obtenir chitosane-ZnONPs. Afin d'améliorer les propriétés de dispersion et de stabilité des chitosane-ZnONPs, elles ont été intégrées dans le polymère PVP pour obtenir des nanoparticules de chitosane-ZnONPs/PVP. Ces composés ont été caractérisés et leurs propriétés étudiées et analysées à l'aide de techniques telles que la spectroscopie UV-visible, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la diffraction des rayons X (XRD), la microscopie électronique à balayage (SEM) et l'analyse thermogravimétrique (TGA). Ensuite, l'activité biologique de ces composés a été étudiée à travers des tests d'activité antioxydante, d'inhibition de l'hémolyse oxydative, de détermination du facteur de protection solaire (FPS), d'activité anti-inflammatoire, de test antibactérien, d'activités antifongiques, de dégradation photocatalytique et d'études de toxicité in silico.

II.2 Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Génie des Procédés, Faculté des Sciences Appliquées, Université de Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie et aux Laboratoires Pédagogiques du Département de Chimie, Faculté des Sciences Exactes, Université Chahid Hamma Lakhdar El Oued, Algérie et Laboratoire de Chimie Appliquée et Environnement, Faculté des Sciences Exactes, Université de Hamma Lakhdar El Oued, Algérie

II.2.1 Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude comprennent : le chlorure d'aluminium (AlCl_3), le chlorure ferrique (FeCl_3), le carbonate de sodium (Na_2CO_3), l'acide trichloracétique, l'hydroxyde de sodium (NaOH , 97 %), l'acide chlorhydrique (HCl , 35 %) et l'acide acétique (CH_3COOH , 98 %), le chlorure de zinhexahydraté ($\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99 %), le méthanol (CH_3OH , 99,8 %), le bleu de méthylène ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$, 98 %), le bleu de toluidine ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{SCl}$, 98 %), et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) obtenu auprès de BiochemChemopharma. Par ailleurs, de la gélose Hinton-Mueller (Industrie Bioscan) et du diméthylsulfoxyde (DMSO , $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$, 98 %, Sigma) ont également été utilisés. Le réactif de Folin-Ciocalteu a été inclus parmi les réactifs, et d'autres produits chimiques organiques ainsi que des solvants ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (USA).

II.2.2 Souches bactériennes

Les échantillons ont été testés pour leur efficacité antibactérienne contre quatre souches bactériennes obtenues du laboratoire de l'Institut Pasteur en Algérie, comprenant deux bactéries à Gram positif (BS : *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ; et SA : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et deux bactéries à Gram négatif (PA : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) et *Salmonella typhimurium*

II.2.3 Souches fongiques

Les échantillons ont été testés pour leur efficacité antifongique contre la souche fongique *Candida albicans* (ATCC 14,053) et *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 14,053) obtenue du laboratoire de l'Institut Pasteur en Algérie.

II.2.4 Antibiotiques

L'antibiotique Ciprofloxacine (CIP-5) a été utilisé car il est efficace contre une large gamme de bactéries à Gram négatif, ainsi que certaines bactéries à Gram positif. Il est souvent utilisé pour traiter des infections urinaires, respiratoires et gastro-intestinales.

II.2.5 Détermination de l'extrait optimal pour la synthèse des ZnONPs basée sur les métabolites secondaires et l'activité biologique

II.2.5.1 Matière végétale

Solanum nigrum L. a été récolté au cours de l'été 2022 dans la région orientale de l'Algérie, spécifiquement dans trois sites géographiques distincts qui présentent des caractéristiques écologiques variées, comme indiqué dans le tableau II.5. Ces sites ont été soigneusement sélectionnés en fonction de la diversité des conditions climatiques et des types de sols afin de mieux comprendre les variations possibles dans les propriétés de la plante. Après la récolte des fruits, un processus minutieux de séparation a été effectué pour garantir que seuls les échantillons les plus représentatifs soient conservés pour l'analyse.

Une fois les échantillons de *S. nigrum* L. collectés, ils ont été soumis à un processus rigoureux de séchage afin d'éliminer l'humidité et de préserver leurs qualités phytochimiques. Le séchage s'est fait à température ambiante, loin de toute source d'humidité et à l'abri de la lumière directe, ce qui a permis d'éviter la dégradation de leurs composés bioactifs sensibles à la chaleur et à la lumière. Cette étape a été cruciale pour maintenir l'intégrité chimique de la plante tout au long du processus de préparation des échantillons.

Le séchage a été réalisé de manière naturelle dans un environnement bien ventilé, ce qui a contribué à éviter toute moisissure et à assurer une déshydratation uniforme des échantillons. L'absence de lumière directe et de sources de chaleur artificielle a permis de maintenir les

propriétés phytochimiques du *S. nigrum* L., telles que les alcaloïdes et les flavonoïdes, tout en évitant leur oxydation. Une fois que les échantillons ont atteint un état de sécheresse complet, ils ont été broyés avec soin en fragments. Ce broyage a été effectué de manière contrôlée pour obtenir une poudre fine et uniforme, afin de garantir que chaque échantillon soit chimiquement homogène pour les analyses suivantes.

Après le broyage, les échantillons ont été stockés dans des récipients hermétiques et placés dans un endroit sec et sombre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Ces conditions de stockage rigoureuses ont permis de préserver la stabilité chimique et biologique des échantillons de *S. nigrum* L., garantissant ainsi que leurs propriétés restent intactes jusqu'à ce qu'ils soient utilisés dans les analyses ultérieures pour les études phytochimiques et biologiques.

Tableau II.5 Sites de collecte de plantes

Zone de collecte	Organe de la plante	Abréviation	Gps coordinates
Tbessa	Fruits	TF	Latitude 35° 24' 3.89"N Longitude 8° 7' 2.27"E
	Feuilles	TL	
	Tige	TS	
Biskra	Fruits	BF	Latitude 34° 51' 13.19"N Longitude 5° 43' 39.81"E
	Feuilles	BL	
	Tige	BS	
	Fruits	EF	Latitude 33°

El-Oued	Feuilles	EL	22' 5.91"N
	Tige	ES	Longitude 6° 52' 2.53"E

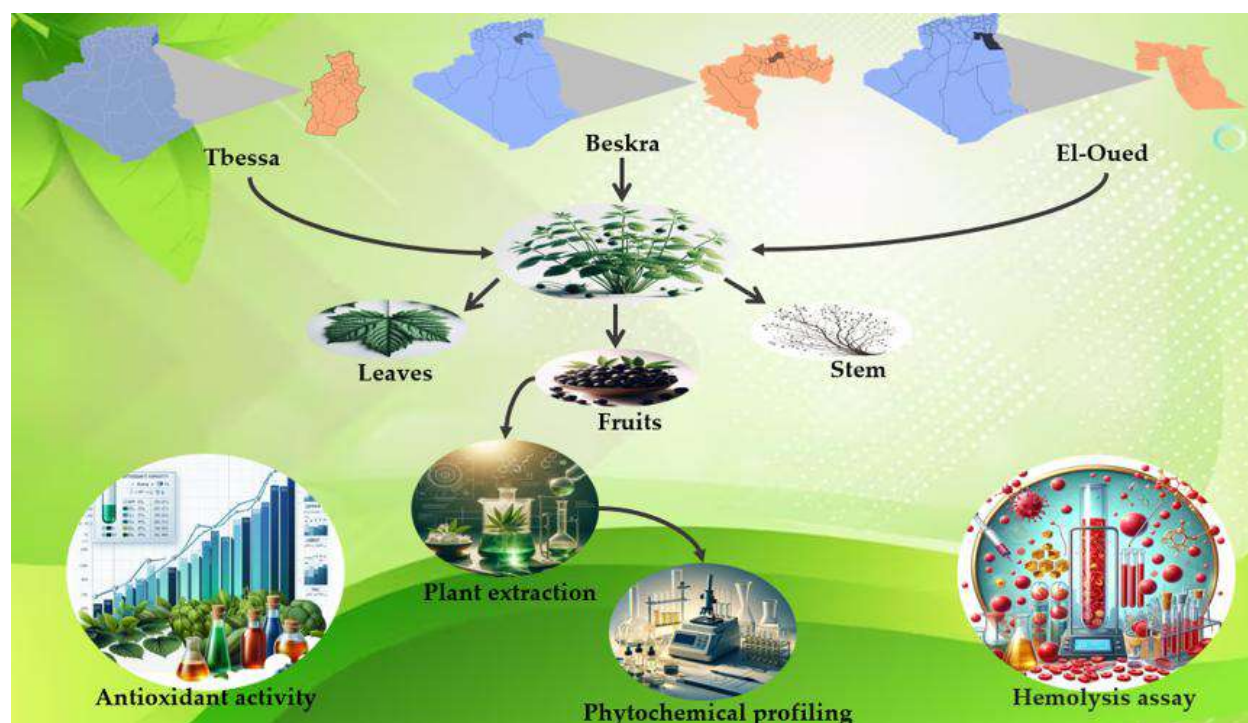


Figure II.11 : Étude phytochimique et biologique de *Solanum nigrum* L. collecté de différentes régions algériennes (Tébessa, Biskra et El-Oued).

II.2.5.2 Extraction des composés bioactifs

Les échantillons de plantes ont été extraits en utilisant une version modifiée de la méthode d'Aouadi et al.(a), 2024 [117], avec quelques ajustements pour maximiser l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs. Pour chaque échantillon, environ 0,5 g de poudre sèche a été dissous dans 50 mL de méthanol absolu (99,8 %) dans un flacon hermétique. Cette quantité de solvant a été choisie de manière à garantir une extraction optimale tout en limitant le gaspillage

de solvant. Le flacon contenant le mélange a été placé dans un agitateur orbital, où il a été agité pendant 24 heures à une vitesse constante de 180 tr/min à température ambiante.

Après la période d'agitation, les échantillons ont été centrifugés à une vitesse de 10 000 tr/min pendant 10 minutes. Cette étape a permis de séparer les solides non dissous, tels que les fibres végétales ou autres particules résiduelles, du surnageant qui contient les métabolites extraits. Le surnageant, riche en composés bioactifs, a été soigneusement récupéré à l'aide d'une pipette pour éviter toute contamination avec les résidus solides.

L'extrait récupéré a ensuite été filtré à l'aide de papiers de filtration afin d'éliminer toute particule fine ou impureté restante.

L'extrait obtenu a ensuite été évaporé pour concentrer les composés actifs, puis stocké dans des récipients hermétiques et conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité, afin de préserver l'intégrité des composés phytochimiques.

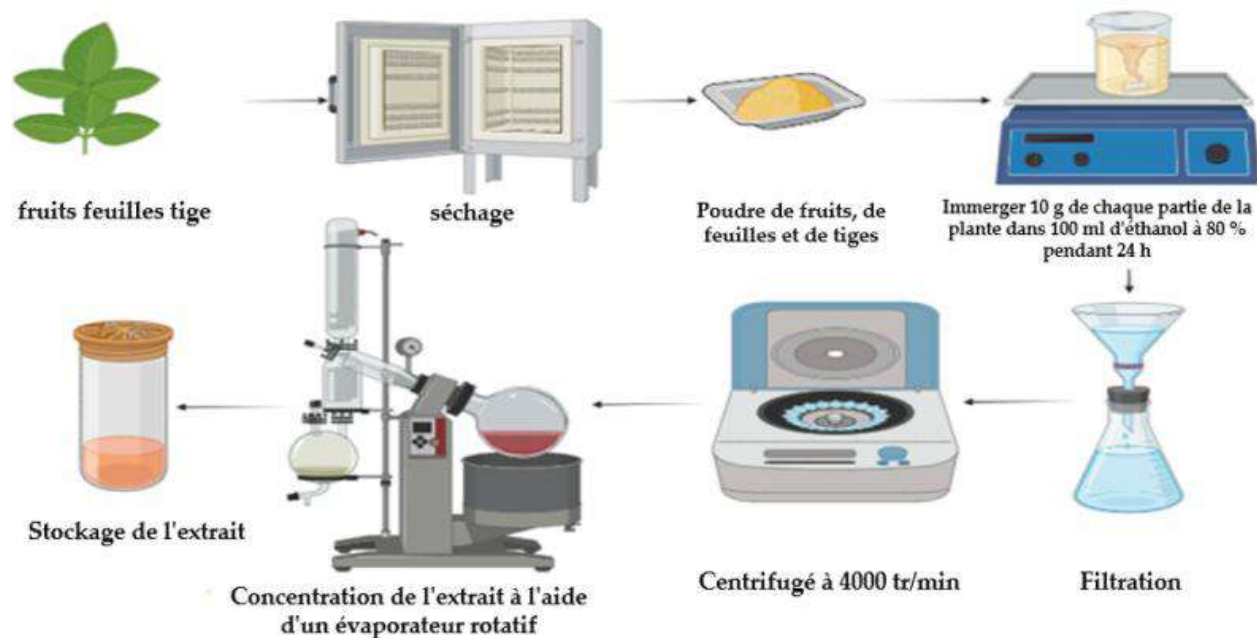


Figure II. 72: Procédure d'extraction des différentes parties de *Solanum nigrum* L. (fruits, feuilles et tiges).

II.2.5.3 Profil phytochimique

II.2.5.3.1 Détermination de la teneur en phénols totaux

En utilisant une version modifiée de la méthode d'Aouadi et al, la teneur totale en phénols dans l'extrait méthanolique a été évaluée par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [118]. Cinq millilitres de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1:9 avec de l'eau) ont été ajoutés aux extraits. Quatre millilitres de carbonate de sodium (75 g/L) ont été ajoutés au mélange, lequel a été agité pendant dix secondes, puis laissé au repos pendant trente minutes à 40 °C pour développer la couleur. L'absorbance a été mesurée à 765 nm avec le spectrophotomètre UV-Vis. La teneur totale en phénols des extraits a été calculée en équivalents d'acide tannique (EAT) par gramme de poids sec de l'échantillon (mg/g). L'expérience a été réalisée en triplicat, et

les résultats sont exprimés sous forme de valeurs moyennes $\pm$ écart-type (SD). La teneur totale en phénols a été calculée en équivalents d'acide tannique (EAT) selon l'équation suivante :

$$T = \frac{C \times V}{M}$$

Où :

- **T** représente la teneur totale en phénols en mg/g des extraits exprimée en EAT,
- **C** est la concentration en phénols totaux dans l'extrait, déterminée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg EAT/mL,
- **V** correspond au volume de la solution d'extrait en mL,
- **M** est le poids de l'extrait en g.

II.2.5.3.2 Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

Les teneurs totales en flavonoïdes (TFC) de tous les extraits ont été quantifiées selon le protocole décrit par X. Zhao et al. ,2024 [119]. Dans un premier temps, 700 μ L de chaque extrait végétal ont été placés dans différents tubes à essai. À chaque extrait, 2 mL d'eau distillée ont été ajoutés. Ensuite, 150 μ L de NaNO_2 ont été ajoutés à chaque tube, suivi d'une incubation à température ambiante pendant 6 minutes. Après l'incubation, 150 μ L de AlCl_3 (10 %) ont été ajoutés à chaque tube, avec une nouvelle incubation pendant 6 minutes à température ambiante. Par la suite, 2 mL de NaOH à 4 % ont été ajoutés à tous les tubes, complétés à 5 mL avec de l'eau distillée. Le contenu des tubes a été bien mélangé au vortex, puis laissé au repos pendant 15 minutes à température ambiante. La présence de flavonoïdes a été lue avec un spectrophotomètre à 510 nm. Le niveau de flavonoïdes a été calculé en équivalents de catéchine par gramme (mg CE/g).

II.2.5.3.3 Détermination de la teneur en alcaloïdes

Les échantillons bruts des extraits de *S. nigrum* ont été soumis à une analyse quantitative en utilisant une version modifiée de la méthodologie de P. Zhang et al. , 2024 [120]. Cinq grammes d'échantillon de *S. nigrum* ont été ajoutés à 20 mL d'acide acétique à 10 % produit dans de l'éthanol, hermétiquement bouché, et laissé pendant 4 heures. Le mélange a été filtré, et le filtrat a ensuite été concentré dans un bain d'eau jusqu'à atteindre un quart de son volume initial. De l'hydroxyde d'ammonium concentré a été ajouté goutte à goutte à l'extrait jusqu'à ce que la précipitation soit complète. La solution entière a été laissée à reposer, puis lavée avec de l'hydroxyde d'ammonium dilué 20 % avant d'être refiltrée. Le poids du résidu sec a été déterminé, et la composition en pourcentage a été calculée en utilisant l'équation.

$$\text{Alcaloïdes(\%)} = \left(\frac{\text{Poids final du résidu}}{\text{Poids initial de l'échantillon}} \right) \times 10$$

II.2.5.3.4 Détermination de la teneur en proanthocyanidines

La teneur totale en proanthocyanidines de *S. nigrum* a été déterminée en utilisant la procédure rapportée par Z.Irina et al.,2024 [121]. Trois millilitres de solution de vanilline dans du méthanol à 4 % (p/v), 1,5 mL d'acide chlorhydrique et 0,5 mL de l'extrait à 0,1 mg/mL ont été mélangés et agités au vortex. Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 15 minutes, après quoi l'absorbance à 500 nm a été déterminée. La teneur totale en proanthocyanidines a été calculée en équivalents de catéchine (mg/g) en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage : $Y = 0,5825x$, $R^2 = 0,9277$, où x est la concentration de l'équivalent de catéchine et Y est l'absorbance.

II.2.5.3.5 Détermination des teneurs en tannins

La teneur en tannins a été déterminée dans des plantes provenant de trois zones de collecte situées dans l'est et le sud-est de l'Algérie : Tébessa, Biskra et El-Oued, représentant différents types de sols (argileux, sablonneux et limoneux), en utilisant la méthode de S. Pradhan and P. Huidrom, 2024 [122]. avec quelques modifications. Une masse de 0,20 g d'extrait méthanolique de *S. nigrum* a été ajoutée à 20 mL de méthanol à 50 %, agitée vigoureusement, puis incubée dans un bain-marie pendant 1 heure à 80 °C et filtrée. Le filtrat a été versé dans 20 mL d'eau distillée. Environ 2,5 mL de réactif de Folin-Denis a ensuite été mélangé avec 10 mL de Na₂CO₃ aqueux à 17 %, puis mélangé avec le filtrat et complété à 100 mL avec de l'eau distillée. Le mélange a été laissé réagir pendant 20 minutes. À la fin de la réaction, une couleur bleu-vert était présente, indiquant la présence de tannins. L'absorption de la solution standard de tannic et des échantillons a ensuite été mesurée à 706 nm. Les résultats ont été exprimés en mg/g d'équivalent d'acide tannique selon la courbe d'étalonnage : $Y = 0,0593x + 0,0485$, $R^2 = 0,9826$, où x est l'absorbance et Y est l'équivalent d'acide tannique.

II.2.5.3.6 Détermination de la teneur en vitamine C

La teneur en vitamine C a été déterminée selon les méthodes officielles d'analyse A. Aouadi et al. (c) ,2024 [123], méthode de titration au 2,6-dichloroindophénol 967.21. En résumé, un échantillon en poudre de 0,1 g a été extrait avec 40 mL d'acide métaphosphorique (HPO₃) à 15 g, mélangé avec 40 mL d'acide acétique (Ac) dans 500 mL d'eau déionisée. L'échantillon extrait a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman numéro un. L'échantillon filtré a été titré à l'aide d'une solution d'indophénol, préparée en dissolvant 50 mg de sel de sodium de 2,6-dichloroindophénol et 42 mg de NaHCO₃ dans 200 mL d'eau déionisée. Le

mélange a été filtré à travers du papier filtre Whatman numéro un dans une bouteille brune et conservé au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

La solution standard de vitamine C a été préparée en transférant 50 mg de vitamine C dans un flacon de 50 mL et en diluant à volume avec de l' HPO_3 fraîchement préparé (Ac). La teneur en vitamine C a été calculée selon l'équation suivante.

$$\text{Vitamin C} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{(A - B) \times C \times 40}{10 \times S}$$

Où :

- **A** = volume en mL de la solution de sel de sodium de 2,6-dichloroindophénol utilisé pour l'échantillon.
- **B** = volume en mL de la solution de sel de sodium de 2,6-dichloroindophénol utilisé pour le témoin (blanc).
- **C** = masse en mg d'acide L-ascorbique équivalente à 1,0 mL de la solution standard d'indophénol.
- **S** = poids de l'échantillon prélevé (g).
- **40** = volume de l'extrait et **10** = volume de l'extrait utilisé pour la détermination.

II.2.6 Extraction de chitosane

Les carapaces de crevettes broyées ont été conservées à -20 °C. Le processus de déminéralisation a été réalisé selon la méthode décrite par M. Kaya et al., 2014 [124], où 30 g de carapaces de crevettes ont été mises en contact avec 450 mL d'une solution d'HCl à 1 M

(un rapport solide/liquide de 1:15 a été utilisé) à 40 °C pendant une heure. La fraction solide résultante a été soigneusement rincée à l'eau distillée jusqu'à atteindre un pH de 7.

La chitine récupérée a ensuite été déprotéinée en l'exposant à une solution de NaOH à 1 M à 80 °C pendant deux heures. Elle a ensuite été nettoyée, filtrée et traitée avec une solution de H₂O₂ à 10 % à 50 °C pendant 30 minutes pour éliminer tout colorant résiduel. Après cela, elle a été lavée à l'eau distillée jusqu'à neutralisation.

Enfin, la chitine décolorée a été désacétylée par un traitement de quatre heures avec une solution de NaOH à 50 % à 100 °C. Le précipité obtenu a été rincé à l'eau distillée, et le chitosane restant a été séché pendant 24 heures à 50 °C sous vide, comme indiqué dans la figure 21.

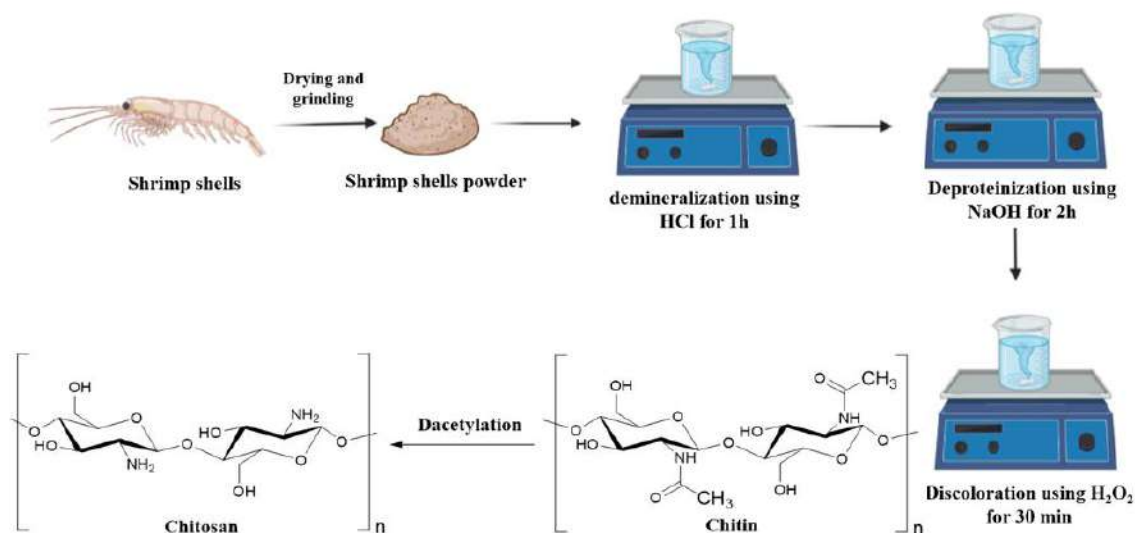


Figure II. 13: Illustration de l'extraction de chitosane à crevettes

II.2.7. Biosynthèse des nanoparticules de ZnO

Pour synthétiser des nanoparticules de ZnO à l'aide de l'extrait de *Solanum nigrum* L., environ 0,1 M de chlorure de zinc a été mélangé avec 25 mL de l'extrait sous agitation

vigoureuse pendant deux heures. Une fois la réaction terminée, le précipité de couleur sale formé a été laissé se déposer pendant 24 heures [125].

Le précipité a été séparé de la solution de réaction par centrifugation à 6 000 tr/min pendant 15 minutes, puis lavé à plusieurs reprises avec de l'eau déionisée pour éliminer les impuretés. Ensuite, il a été séché dans un four à 80 °C pendant 3 h. L'échantillon en poudre, tel que synthétisé, a ensuite été soumis à une calcination dans un four à moufle à 400 °C pendant 4 heures, comme présenté dans la figure II.14.

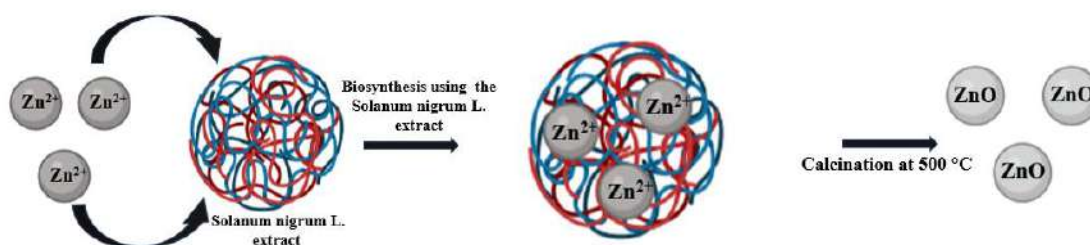


Figure II.14: Diagramme schématisé pour la synthèse des NP de ZnO

II.2.8 Préparation de nanoparticules de chitosane-ZnO

Une poudre d'oxyde de zinc (ZnO) (1 g) a été dissoute dans une solution d'acide acétique à 1 % (100 mL). Ensuite, 1 g de chitosane a été ajouté à cette solution. Le mélange obtenu a été soniqué pendant 30 minutes, puis agité magnétiquement.

Un ajout progressif d'une solution de NaOH à 1 M a été effectué jusqu'à atteindre un pH de 9. Le mélange a ensuite été chauffé au bain-marie à une température comprise entre 40 et 80 °C pendant 3 heures. Le précipité obtenu a été isolé par filtration et soigneusement rincé à l'eau distillée. Enfin, le matériau obtenu a été séché pendant une heure à 50 °C dans un four [126].

Le chitosane se dissout dans l'acide acétique grâce à la protonation de ses groupes amine, ce qui le rend soluble dans l'eau et produit une solution visqueuse idéale pour la formation de films. Les nanoparticules de ZnO sont dispersées par ultrasons, ce qui permet de briser les agglomérats et d'assurer une dispersion plus homogène au sein de la solution de chitosane. Les nanoparticules d'oxyde de zinc interagissent avec le chitosane via des interactions électrostatiques, des liaisons hydrogène et des forces de van der Waals.

Une fois le précipité séché, les molécules de chitosane se rapprochent les unes des autres, emprisonnant les nanoparticules d'oxyde de zinc dans la matrice polymère. Cette phase de séchage aboutit à la création d'une couche solide et homogène, où les nanoparticules de ZnO sont uniformément dispersées dans la matrice de chitosane.

II.2.9. Préparation du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP

La procédure de préparation du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP (NC) a été décrite précédemment par H. A. Mohammed et al., 2023 [127]. Pour résumer, les étapes suivantes ont été incluses dans cette procédure : 110 mL d'eau distillée ont été mélangés avec 0,3 g de chitosane-ZnO et 0,3 g de polyvinylpyrrolidone (PVP). Le mélange a été agité à température ambiante pendant 20 minutes pour garantir une homogénéisation complète des composants. Ensuite, la solution de chitosane-ZnO a été traitée par ultrasons pendant une heure à 45 °C pour assurer une dispersion efficace des nanoparticules.

Après cette étape, la solution de PVP a été ajoutée à la solution de chitosane-ZnO et le mélange a été agité pendant une heure. Puis, une nouvelle dispersion par ultrasons a été réalisée pendant 15 minutes à 45 °C pour améliorer encore la dispersion des particules. Plusieurs cycles de centrifugation et de lavage ont été effectués pour éliminer toute trace de PVP libre résiduelle.

Enfin, les nanocomposites chitosane-ZnO/PVP modifiés ont été séchés à 60 °C le jour suivant pour compléter le processus de séchage.



Figure II. 15: Préparation du composite ZnO–chitosane.

II.2.10. Caractérisation

Les méthodes UV-Vis, FT-IR, XRD et SEM ont été utilisées pour caractériser le chitosane, les nanoparticules de ZnO, le chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP.

II.2.10.1. Spectrophotomètre UV-visible

Un spectrophotomètre UV-Vis (Shimadzu UV-1800, spectrophotomètre UV-Vis japonais) a été utilisé pour mesurer les caractéristiques optiques du chitosan, ZnO, du chitosan-ZnO et des composites chitosan-ZnO/PVP. Les données ont été enregistrées dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 800 nm.

II.2.10.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les caractéristiques de liaison du chitosane, des nanoparticules de ZnO, du chitosan-ZnO et chitosan-ZnO/PVP ont été analysées à l'aide d'un spectromètre FTIR (Agilent Cary 630,

Agilent Technologies). L'échantillon a été placé directement sur la plateforme, une pression uniforme a été appliquée et les spectres ont été enregistrés en tant que moyenne de 8 balayages avec une résolution de 16 cm^{-1} dans la plage de 4000 à 400 cm^{-1} .

II.2.10.3. Diffraction des rayons X (XRD)

La structure cristalline du chitosane, des nanoparticules de ZnO, du chitosan-ZnO et chitosane-ZnO/PVP a été examinée par diffraction des rayons X (PROTO AXRD Benchtop) avec un rayonnement $\text{CuK}\alpha$ (30 kV et 20 mA) à une longueur d'onde de $0,154281\text{ nm}$ et une vitesse de balayage de $0,05^\circ$.

II.2.10.4. Microscopie électronique à balayage (SEM)

La microscopie électronique à balayage (SEM) a été utilisée pour observer la morphologie de surface du chitosan, des ZnO, du chitosan-ZnO et chitosane-ZnO/PVP. Cette méthode permet de visualiser les caractéristiques morphologiques avec un fort grossissement en scannant la surface à l'aide d'un faisceau d'électrons, révélant ainsi les détails structuraux des échantillons à l'échelle nanométrique.

II.2.11. Activité antioxydante

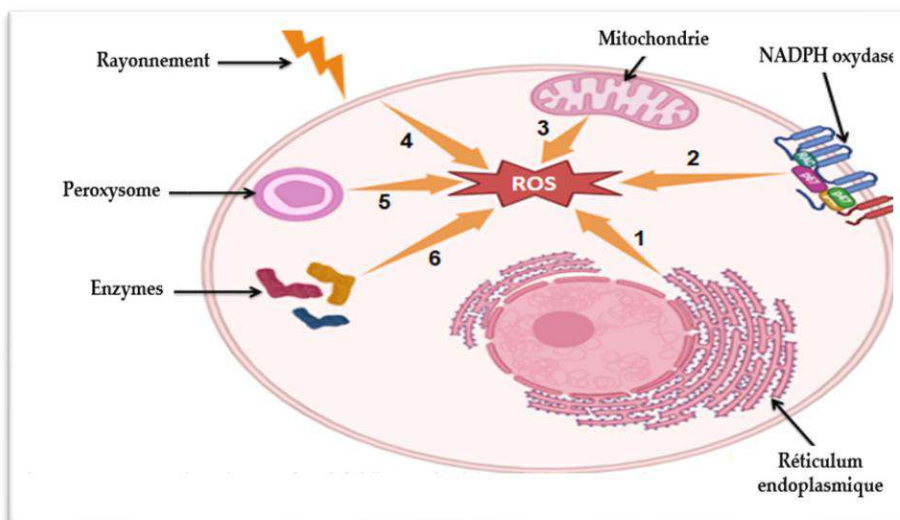


Figure II.16: Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites dans plusieurs organites cellulaires, notamment la mitochondrie, le réticulum endoplasmique, les peroxysomes, ainsi que par l'enzyme NADPH oxydase. Des facteurs externes comme le rayonnement contribuent également à leur formation. Ces molécules jouent un double rôle, à la fois dans la signalisation cellulaire et dans le stress oxydatif.

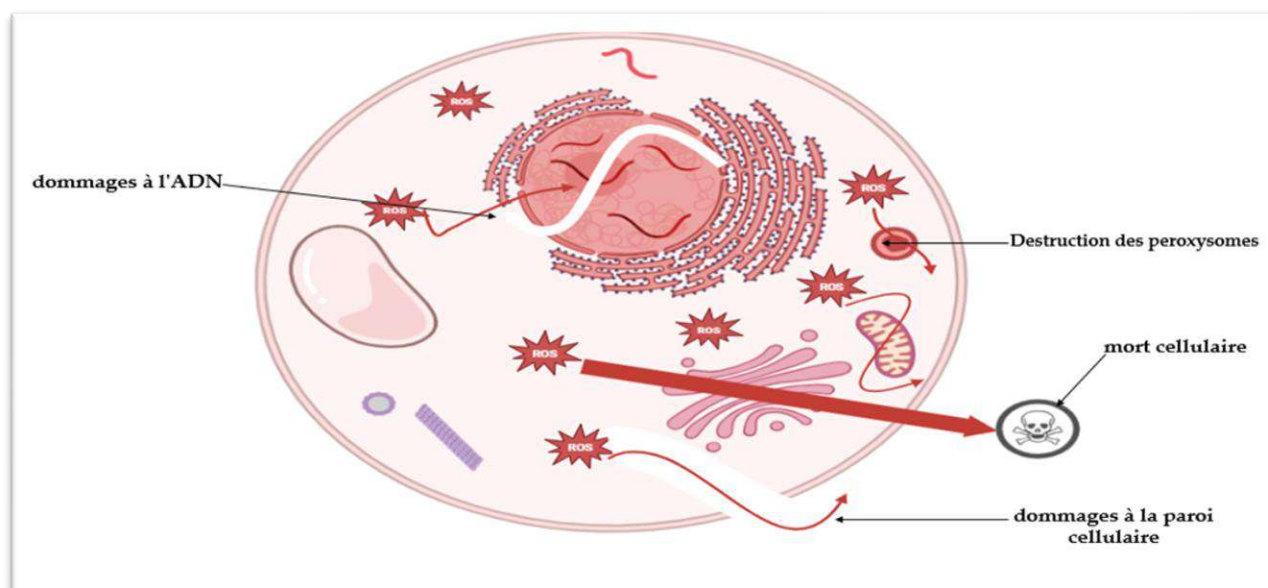


Figure II. 17: Dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Les ROS peuvent causer des dommages majeurs aux composants cellulaires. Leur accumulation conduit à des lésions de l'ADN, à la destruction des peroxysomes, à des altérations de la membrane cellulaire et, finalement, à la mort cellulaire. Ces effets oxydatifs constituent un mécanisme clé du stress oxydatif et de la cytotoxicité.

II.2.11.1. Test de DPPH

La détermination des activités de piégeage des radicaux stables DPPH des extraits et des standards a été évaluée selon la méthode décrite par Aouadi et al., 2024 [118]. Des solutions de

ZnO, de chitosane-ZnO et de chitosane-ZnO/PVP (1 mL) à différentes concentrations, reconstituées dans les solvants appropriés, ont été ajoutées à une solution de DPPH (5 mL, 0,1 mM) dans du méthanol et agitées au vortex. Après 20 minutes de réaction à 25 °C, l'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport à un témoin (méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Une solution de DPPH méthanolique (5 mL) sans antioxydants a été utilisée comme contrôle. L'activité de piégeage du DPPH de l'extrait a été exprimée en IC₅₀ (concentration inhibitrice), c'est-à-dire la concentration de l'extrait à laquelle les radicaux DPPH ont été neutralisés à 50 %. L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant standard. Le pourcentage de neutralisation du DPPH a été calculé comme suit :

$$DPPH \text{ inhibiting capacity (\%)} = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \right) \times 100$$

II.2.11.2 Test de 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

L'essai ABTS a été réalisé selon une méthode similaire à celle décrite par Aouadi et al.,2023 [128], avec quelques modifications. Différentes concentrations de chitosane, d'oxyde de zinc (ZnO), de chitosane-ZnO, de chitosane-ZnO/PVP et d'acide ascorbique ont été préparées pour l'essai. Pour préparer la solution de test, 11,4 mg de persulfate d'ammonium et 64,3 mg d'ABTS ont été dissous dans 25 ml de tampon phosphate (pH = 7,4) contenant 0,15 M de NaCl, 0,1 M de NaH₂PO₄ et 0,1 M de Na₂HPO₄. Ce mélange a été incubé pendant 30 minutes à 68 °C.

L'absorbance de la solution a été mesurée à 734 nm, puis ajustée en la diluant avec le tampon phosphate jusqu'à ce que l'absorbance atteigne 0,65. Par la suite, 0,04 mL de chaque concentration préparée (chitosane, ZnO, chitosane-ZnO, chitosane-ZnO/PVP et acide ascorbique) a été mélangé avec 1,96 ml de la solution d'ABTS diluée. Les échantillons ont

ensuite été conservés à l'obscurité à 37 °C pendant 10 minutes avant de mesurer leur absorbance à 734 nm.

Cette méthode d'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de l'ABTS repose sur la capacité des composés à réduire le cation radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, qui présente une absorbance à 734 nm. Lorsque les échantillons d'intérêt, tels que le chitosane ou ses composites, sont ajoutés à la solution d'ABTS, ils agissent comme agents réducteurs, diminuant l'intensité de l'absorbance, ce qui indique une activité antioxydante.

II.2.11.3. Test du pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)

L'analyse FRAP a été réalisée selon une méthode modifiée par Hameed et al., 2023 [129]. En résumé, le réactif FRAP a été préparé en mélangeant 300 mL d'un tampon acétate (pH 3,6), 10 mMol/L de 2,4,6-tri-2-pyridyl-s-triazine (TPTZ) et 20 mMol/L de FeCl_3 dans un rapport de 10:1:1 (v/v/v). Ensuite, 150 μL des solutions de ZnO, de chitosane-ZnO et de chitosane-ZnO/PVP ont été mélangées avec 4,5 mL du réactif FRAP, et le mélange a été incubé dans un bain-marie à 37 °C pendant 10 minutes. L'absorbance du mélange réagi a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à 593 nm, et le FRAP de chaque échantillon a été calculé à l'aide d'une courbe d'étalonnage avec Fe^{2+} comme standard.

II.2.11.4. Test de phosphomolybdate (Capacité antioxydante totale)

Le dosage est basé sur la capacité de l'extrait à réduire Mo (VI) en Mo (V) et à former ainsi un complexe phosphate/Mo (V) vert à un pH acide. Un volume de 0,3 mL de l'extrait de chitosane, des nanoparticules de ZnO, du chitosane-ZnO et du chitosane-ZnO/PVP a été combiné avec 3 mL de solution réactif (acide sulfurique à 0,6 M, phosphate de sodium à 28 mM et molybdate d'ammonium à 4 mM). Le mélange réactionnel a été incubé dans des tubes pendant 90 minutes à 95°C. Après refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance

de la solution a été mesurée à 695 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en comparaison avec un blanc. 0,3 mL d'eau distillée a été utilisé comme blanc à la place de l'extrait [130].

Un graphique standard de l'acide ascorbique a été utilisé pour estimer les équivalents en acide ascorbique. L'expérience a été réalisée trois fois et les résultats sont exprimés en mg par g d'extrait équivalent à l'acide ascorbique.

II.2.12. Test d'inhibition de l'hémolyse oxydative

Ce test est utilisé pour déterminer la capacité des extraits de plantes à protéger les érythrocytes (cellules sanguines) des dommages ou de la rupture de la membrane cellulaire après les avoir exposés à un stress oxydatif et à des radicaux libres, en mesurant le pourcentage d'érythrocytes dissous [131]. Selon A. Aouadi et al. (c), 2023 [123], un volume de 40 μL d'érythrocytes humains a été mélangé avec 2 mL de différentes concentrations ZnO, du chitosane-ZnO et du chitosane-ZnO/PVP et conservé pendant 5 minutes à 37 °C. Ensuite, nous avons ajouté 40 μL de H_2O_2 (30×10^{-3} M), 40 μL de FeCl_3 (80×10^{-3} M) et 40 μL de solution d'acide ascorbique (50×10^{-3} M) respectivement. Après une incubation d'une heure à 37 °C, le mélange a été centrifugé à 700 tr/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à $\lambda = 540$ nm. Le pourcentage d'hémolyse a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse \%} = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \right) \times 100$$

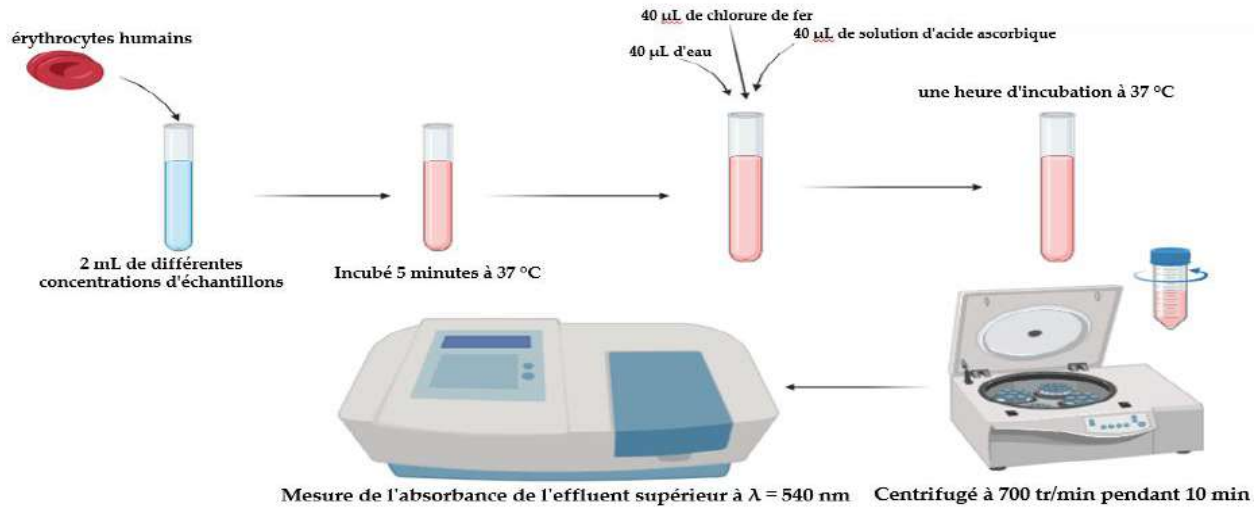


Figure II.18: Procédure expérimentale du test d'hémolyse sur les érythrocytes humains.

Cette illustration schématise l'effet du stress oxydatif sur les érythrocytes. L'attaque des espèces réactives de l'oxygène (ROS) provoque d'abord des altérations superficielles de la membrane des globules rouges, entraînant une perte de leur intégrité structurale. L'accumulation de ces lésions conduit finalement à la destruction totale des globules rouges (hémolyse complète).

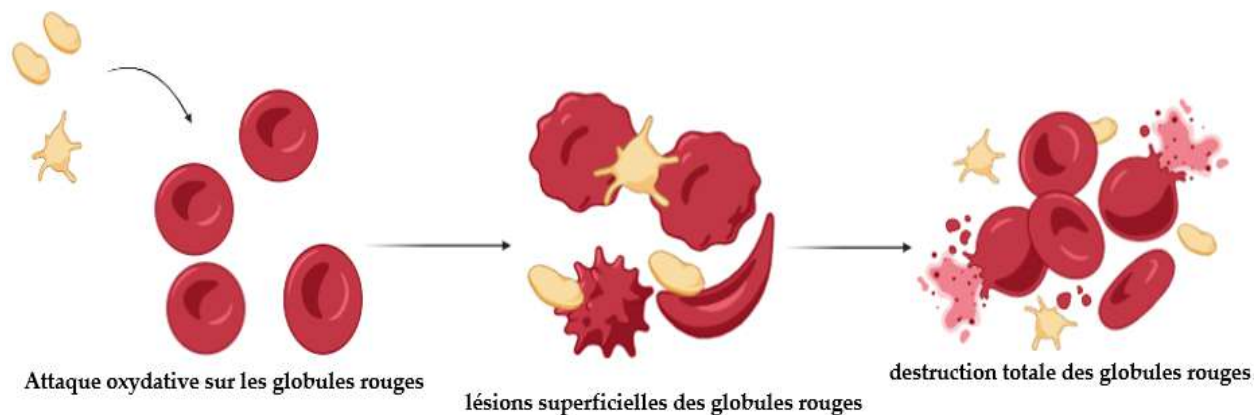


Figure II.19: Mécanisme de l'hémolyse oxydative des globules rouges.

II.2.13. Détermination du facteur de protection solaire (FPS) des crèmes solaires par spectrophotométrie ultraviolette

Le test du Facteur de Protection Solaire (FPS) est un outil essentiel pour évaluer l'efficacité des produits solaires dans la protection de la peau contre les rayons ultraviolets nocifs. Le FPS mesure le niveau de protection qu'un produit offre contre les dommages causés par l'exposition au soleil, ce qui est crucial pour prévenir les coups de soleil et les risques associés au cancer de la peau. En utilisant des techniques telles que l'analyse spectrophotométrique, l'absorption des radiations UV par le produit est mesurée pour déterminer sa capacité protectrice, aidant ainsi les consommateurs à choisir les options les plus sûres et les plus efficaces [132]

Pour évaluer les propriétés photoprotectrices du ZnO, du chitosane-ZnO et du chitosane-ZnO/PVP, le Facteur de Protection Solaire (FPS) a été déterminé à l'aide d'une méthode spectrophotométrique adaptée de Mansur et al., 1986 [133]. Les solutions de ZnO, de chitosane-ZnO et de chitosane-ZnO/PVP ont été préparées en dissolvant dans de l'éthanol à une concentration de 1 mg/mL. Des mesures d'absorbance ont été effectuées à sept longueurs d'onde différentes entre 290 nm et 320 nm, qui se situe dans le spectre UVB, la plage principalement responsable des coups de soleil et d'autres dommages cutanés.

La valeur du FPS a été calculée avec l'équation suivante :

$$FPS_{\text{Spectrophotométrique}} = CF \times \sum_{290}^{390} (EE(\lambda) \times I(\lambda) \times DO(\lambda))$$

Où :

- CF (facteur de correction) est fixé à 10,

- $EE(\lambda)$ représente l'effet érythémateux de la radiation à la longueur d'onde λ ,
- $I(\lambda)$ désigne le spectre d'intensité solaire à la longueur d'onde λ ,
- $DO(\lambda)$ est l'absorbance spectrophotométrique de l'échantillon à la longueur d'onde λ .

Les valeurs de $EE(\lambda)$ et $I(\lambda)$ sont des constantes dérivées de sources littéraires.

Pour valider la méthode, un écran solaire disponible dans le commerce (Avene®) a été utilisé comme contrôle positif, permettant une analyse comparative des valeurs de FPS pour ZnO, chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP. Selon les recommandations européennes [134], les produits solaires doivent posséder un FPS d'au moins 6, avec un maximum de 50+ (correspondant à une valeur de FPS de 60 ou plus). De plus, chaque valeur de FPS est catégorisée qualitativement en niveaux de protection : faible, moyen, élevé ou très élevé, comme indiqué dans le Tableau II.6.

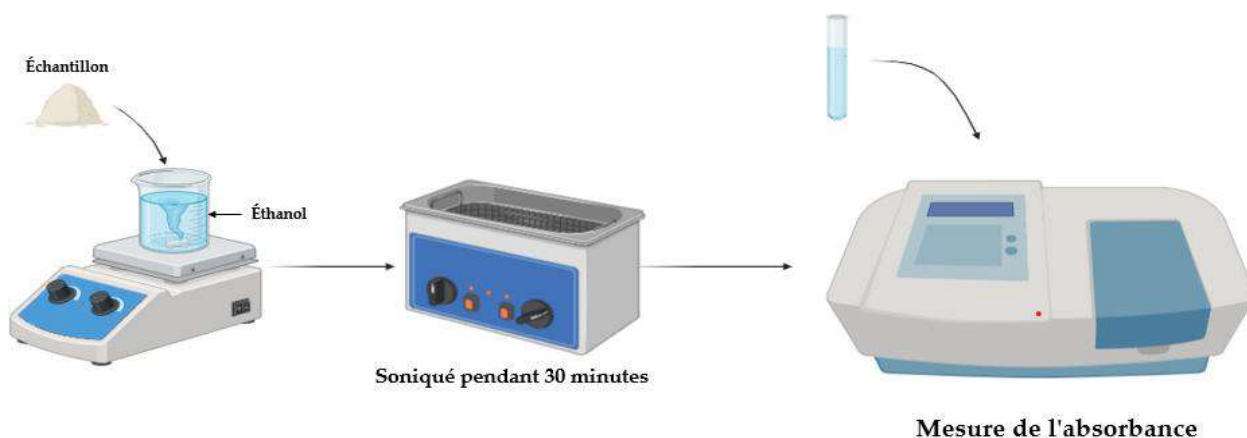


Figure II.20: Détermination du facteur de protection solaire (FPS) des échantillons par spectrophotométrie UV.

Tableau II.5: Répartition spectrale relative de l'énergie absorbée à différentes longueurs d'onde

Longueur d'onde (nm)	$EE(\lambda) \times I(\lambda)$
310	0.1864
315	0.0837
320	0.0180
Totale	1

Tableau II.6: Catégorie de facteur de protection solaire (FPS) des produits de protection solaire

Niveau de protection	Valeur SPF
Maximum	50
Élevé	30-50
Moyen	15-30
Faible	2-15

II.2.14. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* du ZnO, du chitosane-ZnO, et du chitosane-ZnO/PVP a été évaluée en utilisant la méthode décrite par Messaoudi et al., 2021 [396], qui mesure la capacité de ces composés à inhiber la dénaturation de l'albumine d'œuf. Des concentrations variées de ZnO, de chitosane-ZnO, et de chitosane-ZnO/PVP ont été préparées dans un mélange réactionnel contenant 0,2 mL d'albumine d'œuf frais, 2,8 mL de solution tampon phosphate (PBS, pH 6,8) et de 0,2 à 2 mL des concentrations correspondantes des

extraits. De l'eau doublement distillée et du diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été utilisés comme contrôles négatifs, avec des volumes équivalents à ceux des échantillons testés.

Les mélanges réactionnels ont été incubés à $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 30 minutes, puis chauffés à $75\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 10 minutes pour induire la dénaturation des protéines. Après refroidissement, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 660 nm, en utilisant le véhicule comme blanc. Le diclofénac, à une concentration finale de 10 mg/mL, a été employé comme contrôle positif et soumis aux mêmes conditions expérimentales que les échantillons de test, et son absorbance a été mesurée de la même manière.

Pour garantir la fiabilité des résultats, chaque test a été réalisé en triplicat. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé selon l'équation suivante :

$$Inhibition(I\%) = \left(\frac{Abs_C - Abs_T}{Abs_C} \right) \times 100$$

où Abs T représente l'absorbance de l'échantillon test et Abs C l'absorbance du contrôle.

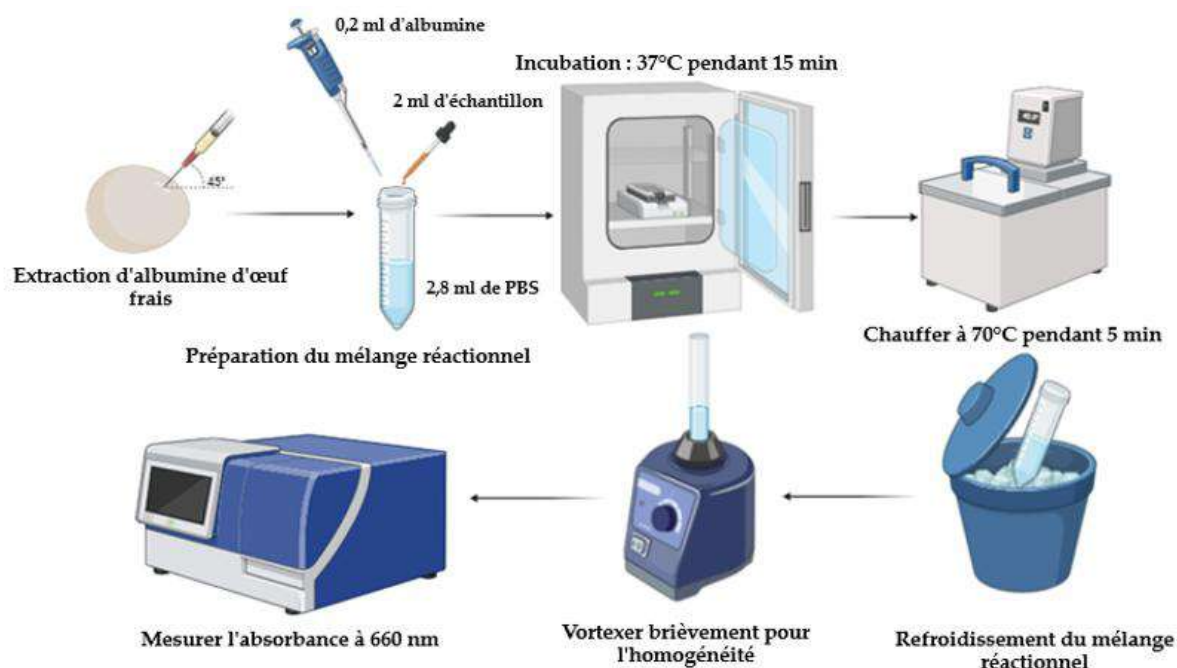


Figure II.21: Protocole de détermination de l'activité anti-inflammatoire par inhibition de la dénaturation de l'albumine.

II.2.15. Activité antibactérienne

II.2.15.1. Préparation de la suspension de culture bactérienne

Avant de réaliser les tests antibactériens et antifongiques, deux sous-cultures consécutives sont effectuées pour chaque souche. D'abord, les souches bactériennes sont réactivées dans un bouillon nutritif (BN) et incubées à 37 °C pendant 24 heures. Ensuite, une seconde sous-culture est réalisée sur un milieu solide (gélose nutritive), inoculée par stries dans une boîte contenant ce milieu (GN). Les souches bactériennes sont ensuite inoculées sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton stérile (M.H) et incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les souches fongiques sont traitées de façon similaire, en utilisant des milieux adaptés à leur croissance. Toutes les souches sont stockées à 4 °C sur gélose inclinée pour conserver les cellules en phase exponentielle de croissance [135].

II.2.15.2. Préparation des composés synthétiques pour les essais microbiologiques

Une solution stock contenant 20 mg de chaque composé synthétisé (ZnONPs, chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP) dissous dans 1 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO) comme solvant a été préparée, en tenant compte de la faible solubilité des échantillons. L'étude des activités antibactériennes et antifongiques contre les souches de référence a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gélose.

II.2.15.3. Méthode de diffusion en puits sur gélose

La méthode de diffusion en puits est utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de plantes ou de micro-organismes [136]. Cette expérience a été réalisée selon la méthode décrite par M. Kadri et al., 2022 [137], avec une légère modification.

II.2.15.4. Ensemencement

L'ensemencement est effectué selon la technique de Messaoudi et al., 2021 [134]. La gélose Mueller-Hinton (MHA) est chauffée à 55 °C, puis versée aseptiquement dans des boîtes de Pétri à raison de 15 à 20 ml par boîte. Un volume d'inoculum bactérien ou fongique est réparti uniformément avec un écouvillon stérile sur toute la surface de la gélose stérile. Ensuite, un trou de 6 mm de diamètre est créé aseptiquement avec un emporte-pièce stérile. Une solution de 50 µL de chaque échantillon (ZnONPs, chitosane-ZnO, chitosane-ZnO/PVP) à différentes concentrations est introduite dans les puits. DMSO est utilisé comme contrôle négatif pour vérifier la croissance des différentes souches, et la ciprofloxacine (CIP-5) est utilisée comme contrôle positif pour les essais antibactériens. Enfin, les boîtes de gélose sont incubées à 37 °C pendant 24 heures dans des conditions aérobies pour les bactéries et dans des conditions adaptées pour les champignons. L'expérience est répétée trois fois pour chaque échantillon et pour chaque souche bactérienne ou fongique.

II.2.15.5. Lecture

Pour évaluer l'effet des composés sur les souches bactériennes et fongiques, la lecture est effectuée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des puits (y compris le diamètre du puits) à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle (en mm). Pour les essais antibactériens, la mesure est réalisée après 24 heures d'incubation à 37 °C. En revanche, pour les essais antifongiques, la lecture est effectuée après 48 heures d'incubation, également à 37 °C, afin de permettre un temps de croissance suffisant pour les champignons. Les résultats sont exprimés en diamètre de la zone d'inhibition ou sous forme de moyenne $\pm$ écart-type moyen, et les valeurs inférieures à 6 mm sont considérées comme non actives contre les micro-organismes.

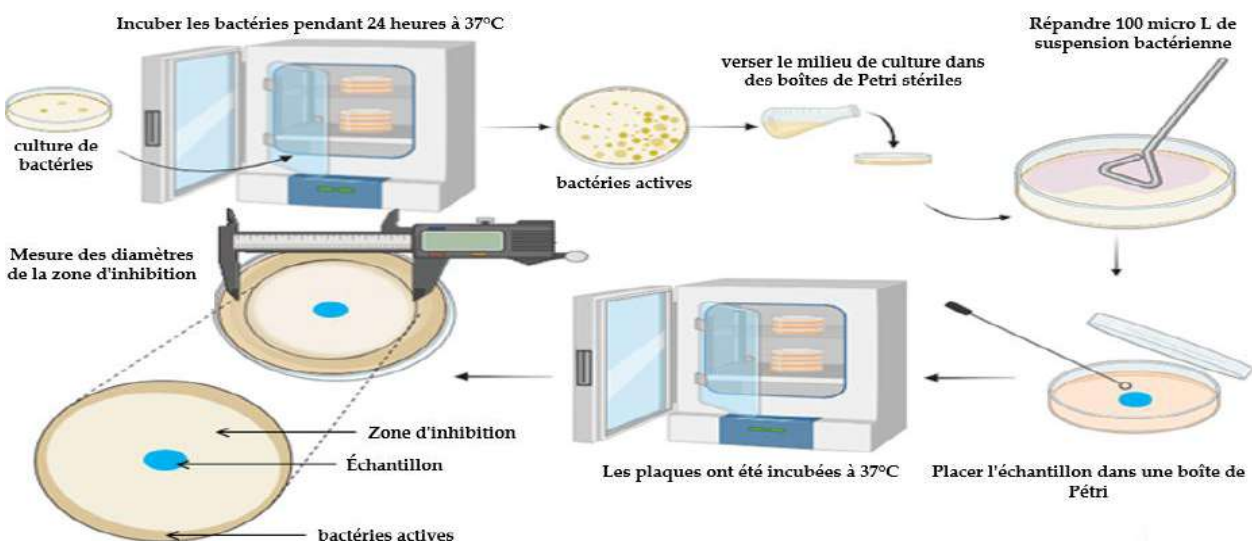


Figure II.22: Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

II.2.16 Dégradation photocatalytique

II.2.16.1 Les conditions optimales pour la dégradation des colorants utilisant

Sous une lampe de radiation ultraviolette (UV) de 1000 W, la dégradation photocatalytique du colorant bleu de toluidine (TB) dans une solution aqueuse a été étudiée en utilisant du ZnONPs, chitosane-ZnO et chitosan-ZnO/PVP comme photocatalyseurs. Après avoir préparé une solution de 50 mL de colorant TB dans de l'eau distillée avec une concentration de 4 mM, 5 mg du catalyseur approprié ont été ajoutés. La solution a été maintenue à une température constante de 28 °C et à un pH neutre. La solution a ensuite été soumise à la lumière UV par intervalles de 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 et 120 minutes. Le catalyseur est resté en suspension uniforme dans la solution après ultracentrifugation. Le processus photocatalytique a été surveillé en mesurant l'absorbance à 631 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La dégradation du colorant bleu de méthylène (MB) a été testée en utilisant la même technique expérimentale avec du ZnO NPs, chitosane-ZnO et chitosan-ZnO/PVP comme photocatalyseurs. La solution de MB utilisée avait une concentration de 0,6 µM du colorant, et les mesures d'absorbance ont été enregistrées à 663 nm [138].

II.2.16.2. Effet du pH sur la dégradation photocatalytique

De l'eau déionisée a été utilisée pour la préparation de la solution de pH, avec ajustement à l'aide de solutions de HCl et de NaOH à 0,1 M.

II.2.16.3. Efficacité de la photodégradation des colorants

Les conditions optimales pour la dégradation des colorants utilisant Chitosane-ZnO et le nanocomposite Chitosane-ZnO/PVP ont été trouvées à 120 minutes et 0,005 grammes de catalyseur, après une évaluation de l'influence du temps de contact et du pH. Par la suite, le Chitosane-ZnO/PVP et le Chitosane-ZnO réutilisé ont été testés pour leur stabilité photocatalytique et leur efficacité. Pour ce faire, des solutions de colorant MB et TB avec une concentration de $0,6 \mu\text{M}$ ont été exposées à 5 mg de catalyseur pendant 120 minutes sous irradiation solaire. Le catalyseur a été extrait de la solution, rincé et séché à 100°C après que la concentration du colorant ait été évaluée par spectroscopie UV-Vis. Le catalyseur séché a ensuite été réutilisé dans de nouveaux tests de photocatalyse en l'ajoutant à une nouvelle solution de colorant (avec une concentration de $0,6 \mu\text{M}$). Après la dernière expérience, le catalyseur séché a été soumis à une analyse de diffraction des rayons X (XRD) afin de détecter d'éventuels changements structuraux.

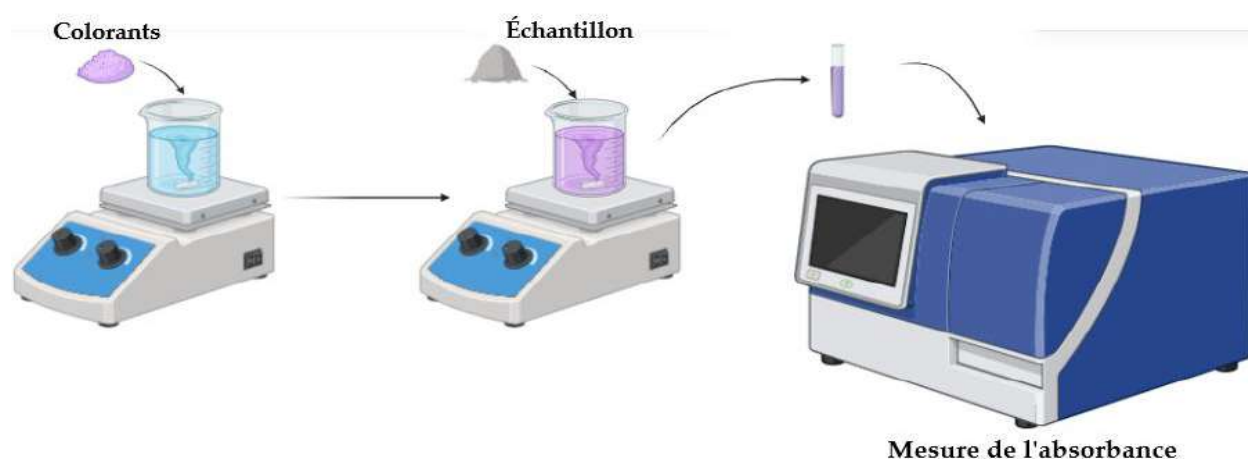


Figure II.23: Protocole d'évaluation de la capacité d'adsorption des colorants par mesure d'absorbance.

II.2.17 Études de toxicité in silico

Une base de données en ligne appelée ProTox-II permet de prédire les résultats toxicologiques des substances réelles et hypothétiques en fonction de leur structure chimique. Pour ce faire, la base de données ProTox-II utilise des modèles d'apprentissage automatique qui ont été formés à partir des données de la littérature publiée (soit in vitro, soit in vivo). La prédiction de la toxicité de la substance d'entrée a été réalisée en utilisant les modèles d'apprentissage automatique entraînés, qui reposent sur une base de données d'entités structurellement liées et de similarité avec des produits chimiques connus pour être nocifs. L'approche utilisée dans cette étude a intégré les connaissances sur la nature de l'entité chimique, les affinités précises et comparatives, ainsi que la prédiction basée sur les mécanismes en rapport avec divers processus de signalisation et de fonctionnement.

- **Variable d'entrée :** L'interface utilisateur de ProTox-II est simple et explicite. Pour évaluer une toxicité potentielle associée à une entité chimique, l'utilisateur peut dessiner la structure chimique de cette entité ou, plus simplement, saisir son nom chimique. Après avoir demandé au site web d'afficher la toxicité prédite, cet outil, disponible gratuitement en ligne, calcule par défaut la demande pour la toxicité aiguë ainsi que la cible de toxicité [139]. En conséquence, les noms de nos entités développées, à savoir le chitosane, les nanoparticules de ZnO et les nanoparticules de chitosane-ZnO, ont été saisies afin d'anticiper toute toxicité potentielle associée à une composition chimique particulière.
- **Informations de sortie :** Sur la page des résultats, la LD₅₀ moyenne prédite en mg/kg de poids corporel a été fournie, en plus de la classe de toxicité (toxicité aiguë, toxicité organique, points d'extrémité de toxicité, voies de toxicité et cibles de toxicité), de

l'exactitude de la prédiction et de la similarité moyenne pour trois composés toxiques qui sont similaires et qui ont des valeurs de toxicité orale connues chez les rongeurs.

Chapitre III: *Résultats et discussion*

III.1 Détermination de l'extrait optimal pour la synthèse des ZnONPs basée sur les métabolites secondaires et l'activité biologique

III.1.1. Estimation quantitative de la teneur totale en composés phénoliques

Les composés phénoliques sont reconnus pour être de puissants antioxydants qui agissent en tant que terminateurs de radicaux libres, contribuant ainsi directement à l'action antioxydante. Ces composés sont des constituants végétaux très importants, et leur capacité à éliminer les radicaux libres est liée à la présence de groupes hydroxyles en leur sein. En général, les extraits ayant une activité antioxydante significative présentent une teneur élevée en composés phénoliques. Les polyphénols sont les substances végétales les plus abondantes ayant une activité antioxydante, en raison de leurs propriétés de réduction-oxydation ; ils sont essentiels pour absorber et neutraliser les radicaux libres, éteindre l'oxygène singulet et triplet, et dégrader les peroxydes. Les phénols présents dans les plantes possèdent des effets antioxydants, antimutagènes et anticancéreux [140]. La teneur totale en composés phénoliques (TPC) de trois échantillons différents de fruits, feuilles et tiges de *Solanum nigrum* L. a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu [141]. La TPC des extraits variait de 11,3 à 109,2 mg d'équivalent acide gallique (GAE)/g de poids sec (Tableau III. 7). Les niveaux de TPC étaient les plus élevés dans l'extrait de fruits de Beskra (BF) de *S. nigrum*, et les plus bas dans l'extrait de feuilles d'El-Oued (EL) de *S. nigrum* (Figure III. 24A).

Tableau III.7: Profil phénolique total, flavonoïdes et phytochimique de *Solanum nigrum* L. sauvage collecté à trois endroits différents dans le désert algérien

S. <i>nigrum</i> Extract	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg CE/g)	Contenu en Tanins (mg TE/g)	Contenu en Proanthocyanidin s (mg CE/ g)	Vitamin C (mg/100g)	Alkaloids (%)
TF	79.87±0.10 ^c	58.23±0.12 ^{cd}	93.37±0.14 ^b	861.33±0.10 ^c	32.27±0.12 ^c	37.67±0.12 ^d
TL	17.6±0.09 ^h	29.07±0.12 ^f	56.30±0.05 ^e	557.77±0.17 ^f	18.37±0.12 ^{fg}	24.80±0.14 ^h
TS	53.43±0.12 ^f	19.77±0.12 ^h	40.07±0.17 ^g	220.30±0.09 ⁱ	15.33±0.12 ^h	22.23±0.11 ⁱ
BF	109.17±0.17 ^a	88.33±0.12 ^a	97.17±0.12 ^a	889.67±0.07 ^a	47.07±0.12 ^a	50.97±0.19 ^{ab}
BL	40.1±0.14 ^g	51.23±0.07 ^e	74.47±0.10 ^c	697.57±0.07 ^{de}	34.77±0.12 ^b	35.20±0.19 ^c
BS	76.30±0.09 ^d	22.47±0.12 ^g	29.73±0.07 ^h	331.67±0.07 ^h	27.40±0.14 ^d	26.70±0.09 ^g
EF	83.47±0.17 ^b	74.30±0.08 ^b	92.83±0.17 ^b	881.43±0.14 ^{ab}	34.17±0.17 ^b	46.33±0.15 ^c
EL	11.33±0.12 ⁱ	59.67±0.12 ^c	64.43±0.14 ^d	708.37±0.14 ^d	21.63±0.10 ^e	51.03±0.14 ^a
ES	63.67±0.15 ^c	19.63±0.10 ^h	42.77±0.14 ^f	490.30±0.12 ^g	19.90±0.17 ^f	33.47±0.19 ^f

III.1.2 Estimation quantitative de la teneur totale en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont probablement les phénoliques naturels les plus importants en raison de leur large éventail d'activités chimiques et biologiques, y compris leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à piéger les radicaux libres. Ils sont décrits comme des antioxydants, des capteurs de diverses espèces réactives de l'oxygène, et des régulateurs de la peroxydation lipidique, ainsi que comme des agents thérapeutiques potentiels contre de nombreux troubles [140]. La teneur totale en flavonoïdes (TFC) des neuf extraits de *S. nigrum* a été exprimée en mg équivalent catéchine (CE) par gramme de poids sec d'extrait. La TFC des extraits variait de 19,7 à 88,3 mg CE/g (Tableau III. 7). Les extraits de fruits de Beskra (BF) et de fruits d'El-Oued (EF) de *S. nigrum* contenaient la plus grande quantité de TFC, tandis que les extraits de tiges d'El-Oued (ES) et de tiges de Tébessa (TS) en contenaient le moins (Figure III. 24B).

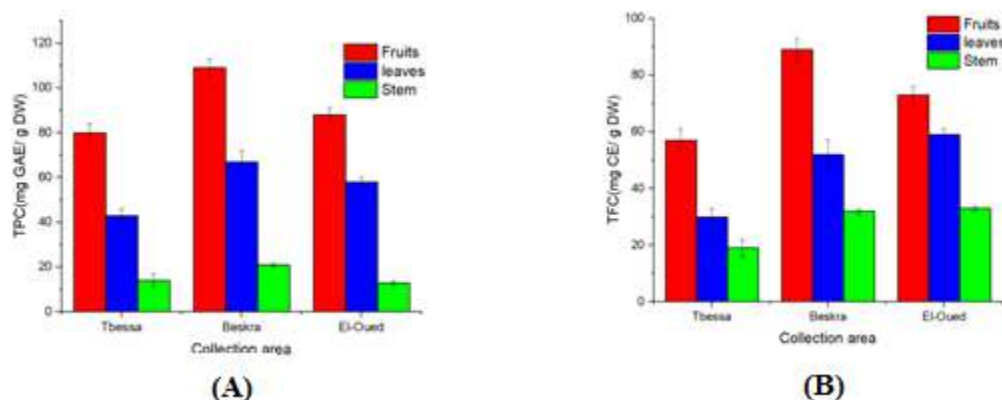


Figure III.24: (A) Teneur totale en composés phénoliques ; (B) Teneur totale en flavonoïdes des extraits de *S. nigrum*

III.1.3. Estimation quantitative de la teneur en proanthocyanidines

Les proanthocyanidines sont des tanins basés sur les flavan-3-ols, qui sont condensés ou non hydrolysables. Ces composés sont largement répandus dans la nature, notamment dans les légumes, les fruits et les plantes. Il a été démontré que les proanthocyanidines possèdent des propriétés puissantes de piégeage des radicaux libres et des propriétés antioxydantes. De nombreuses actions biologiques significatives, telles que les effets anticancéreux, antiviraux et anti-inflammatoires, ont été rapportées par K. Pareek and P. V Jagasia, 2024 [142]. La teneur totale en proanthocyanidines a été calculée en équivalents de catéchine (mg/g), comme indiqué dans le Tableau III. 7. Les résultats de l'étude pour la concentration en proanthocyanidines des extraits de *S. nigrum* L. variaient de 220,3 à 889,7 mg CE/g. Les fruits de *S. nigrum* L. présentaient la plus haute concentration en proanthocyanidines, suivis par les feuilles, tandis que les tiges avaient la concentration la plus faible, comme le montre la Figure III. 25A.

III.1.4. Estimation quantitative de la teneur en tanins

Les tanins sont classés comme polyphénols en raison de l'abondance de cycles phénoliques dans leur structure. Ces composés naturels se trouvent dans les tissus végétaux tels que l'écorce, les fruits et le bois, et peuvent être extraits de ces sources en utilisant de l'eau [143]. La teneur en tanins de *S. nigrum* L. a été exprimée en mg/g équivalent acide tannique. Selon le Tableau III. 7, la teneur en tanins était la plus élevée dans les fruits de *S. nigrum* L. par rapport aux feuilles et aux tiges. Les fruits de la région de Beskra (BF) étaient les plus riches, suivis par les fruits des régions de Tébessa (TF) et d'El-Oued (EF). En revanche, la tige de *S. nigrum* L. provenant de Tébessa (TS) contenait la concentration la plus faible en tanins (Figure III. 25B).

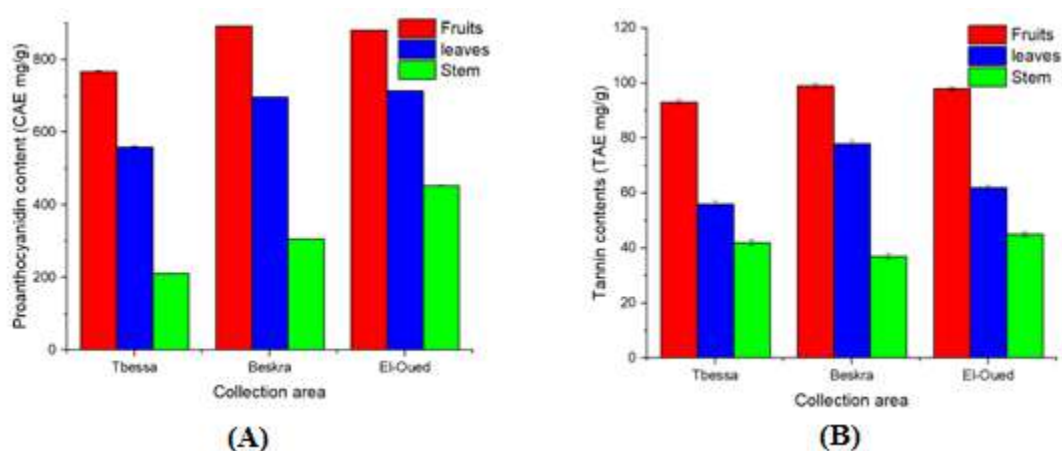


Figure III.25: (A) Teneur en proanthocyanidines ; (B) Teneur en tannins dans les extraits de *S. nigrum*

III.1.5. Estimation quantitative de la teneur en alcaloïdes

Les alcaloïdes ont toujours suscité la curiosité des scientifiques en raison de leurs effets bénéfiques ou nocifs sur les humains. De manière surprenante, de nombreux alcaloïdes peuvent agir à la fois comme antioxydants, selon les circonstances [144]. Les résultats ont montré que les feuilles de *S. nigrum* de la région d'El-Oued (EL) présentaient la concentration en alcaloïdes la plus élevée

(51,1 %), suivies par les fruits de *S. nigrum* de la région de Beskra (BF) (50,9 %) et les fruits de la région d'El-Oued (EF) (46,2 %). La tige de *S. nigrum* collectée dans la région de Tébessa (TS) avait la concentration en alcaloïdes la plus faible (22,1 %) (Figure III. 26).

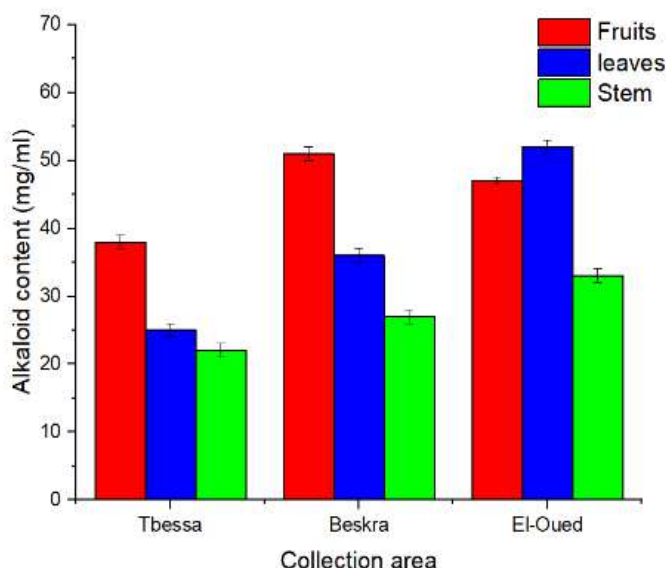


Figure III.26: Teneur en alcaloïdes de l'extrait de *S. nigrum*

III.1.6. Estimation quantitative de la teneur en vitamine C

Comme le montre le Tableau III. 7, la teneur en vitamine C de trois échantillons différents de *S. nigrum* L. collectés dans les régions de Tébessa, Beskra et El-Oued présentait des différences légères. La teneur en vitamine C des neuf extraits variait de 15,3 mg/100 g (poids sec) dans l'extrait de tige de *S. nigrum* collecté à Tébessa (TS) à 47,1 mg/100 g (poids sec) dans l'extrait de fruit de *S. nigrum* collecté dans la région de Beskra (BF). La concentration maximale en vitamine C a été observée dans les fruits de *S. nigrum* de la région de Beskra (BF), suivie par les fruits de *S. nigrum* de la région d'El-Oued (EF), tandis que la quantité la plus faible a été trouvée dans les tiges collectées dans la région de Tébessa (TS) (Figure III. 27).

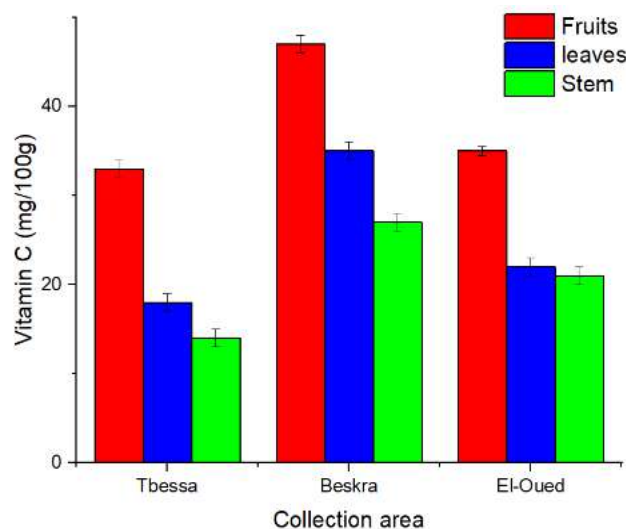


Figure III.27: Teneur en vitamine C des extraits de *S. nigrum*

III.1.7 Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis d'approfondir la compréhension des relations entre les différentes quantités des composants chimiques calculées pour chacun des neuf extraits. L'objectif de cette analyse était de mettre en lumière les relations entre les six principaux composants des neuf extraits de plante, à savoir : la teneur totale en phénols (TPC), la teneur en flavonoïdes (TFC), les tanins, les proanthocyanidines, la vitamine C et les alcaloïdes. Cette analyse est illustrée dans la Figure III. 28 ou le Tableau III. 7.

Avec une valeur de corrélation de 0,68767, il a été démontré que la teneur totale en polyphénols présentait une corrélation positive significative avec la vitamine C. En revanche, les corrélations avec les autres composés variaient de faibles à modérées. La teneur en flavonoïdes montrait une association positive et significative avec tous les composants, avec des coefficients de corrélation de 0,92158, 0,3869 et 0,90794 pour TPC, Tanins, Proanthocyanidines, Vitamine C et Alcaloïdes respectivement (comme indiqué dans le Tableau III. 8).

Tableau III.8: Matrice de corrélation entre le contenu chimique des extraits de plantes

	TPC	TFC	Tanins	Proanthocyanidins	VitamineC	Alcoloids
TPC	1	0.40335	0.3869	0.29468	0.68767	0.24912
TFC	0.40335	1	0.92158	0.90794	0.82593	0.88579
Tannin	0.3869	0.92158	1	0.95028	0.76529	0.72839
Proanthocyanidins	0.29468	0.90794	0.95028	1	0.73841	0.81997
Vitamine C	0.68767	0.82593	0.76529	0.73841	1	0.63174
Alkoloids	0.24912	0.88579	0.72839	0.81997	0.63174	1

La Figure III. 28 montre qu'une corrélation positive très significative a été observée entre les proanthocyanidines, les tanins et la teneur en flavonoïdes (TFC). Cette connexion a été documentée et confirmée par les caractéristiques structurales des composés. Les résultats de l'étude sont présentés dans le Tableau III. 9, qui montre que la composante principale 1 (PC1) avait une corrélation positive significative avec le TFC ($r = 0,45874$), tandis que la composante principale 2 (PC2) n'avait une forte corrélation positive qu'avec la teneur totale en phénols (TPC) ($r = 0,83556$) et la vitamine C ($r = 0,35783$).

Les résultats du test de Tukey (Tableau III. 9) confirment qu'il existe des variations importantes entre les zones de récolte et les parties de la plante quant à leur efficacité dans l'extraction des substances actives étudiées. Il apparaît clairement que l'échantillon BF est le meilleur. Par conséquent, la région de Tébessa est la meilleure zone de récolte, et la feuille est la meilleure partie de la plante.

Tableau III.9: Corrélation entre les variables (teneur chimique) et les facteurs pour les extraits de plantes

	Coefficients de PC1	Coefficients de PC2
TPC	0.24891	0.83556
TFC	0.45874	-0.13163
Tannin	0.44199	-0.12841
Proanthocyanidin	0.4412	-0.2493
Vitamine C	0.41827	0.33783
Alcoloids	0.4033	-0.30288

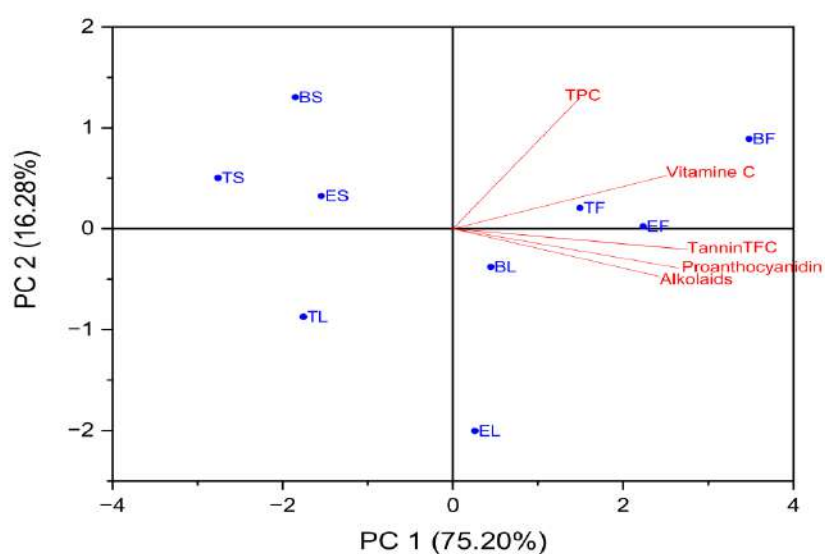


Figure III.28: Analyse des composantes principales en double-plot de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y, respectivement

III.1.8. Activité antioxydante

III.1.8.1 Détermination de l'activité antioxydante par le test DPPH

La capacité des extraits de *S. nigrum* L. à décolorer le radical stable DPPH a été utilisée pour évaluer leur activité de piégeage des radicaux libres. Tous les extraits ont neutralisé le radical DPPH à toutes les concentrations testées. La concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) est utilisée dans le test DPPH. La valeur d' IC_{50} est définie comme la concentration d'extrait brut qui inhibe l'oxydation de 50 % ou capte 50 % des espèces réactives de l'oxygène [145]. Elle est calculée à partir de la courbe d'inhibition en fonction de la concentration. L' IC_{50} est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante, une valeur d' IC_{50} plus faible indiquant une activité antioxydante plus élevée.

Les fruits de *S. nigrum* de Tébessa (TF; 0,0067), les fruits de Beskra (BF; 0,0069), les feuilles de Tébessa (TL; 0,0085) et les fruits d'El-Oued (EF; 0,0088) ont présenté les valeurs d' IC_{50} les plus faibles (g/mL), tandis que la tige de *S. nigrum* de Tébessa (TS; 0,0129) avait la valeur la plus élevée (Tableau III. 10 et Figure III. 29). Cette expérience a prouvé que *S. nigrum* L. possède des propriétés

Tableau III.10: Activité antioxydante de différents extraits de *S. nigrum* L.

Échantillon	DPPH	FRAP Fe ²⁺ (mM /g)	Test d'hémolyse
	IC ₅₀	AEAC	Protection (%)
TF	0.007±0.001 ^{ab}	257.43±0.11 ^{ab}	55.95±0.14 ^{de}
TL	0.009±0.000 ^c	192.73±0.19 ^g	39.24±0.21 ⁱ
TS	0.013±0.002 ^{de}	199.87±0.28 ^e	50.27±0.12 ^g
BF	0.006±0.001 ^a	211.13±0.03 ^c	67.84±0.25 ^b
BL	0.012±0.002 ^d	260.87±0.21 ^a	44.98±0.33 ^h
BS	0.014±0.002 ^e	196.83±2.06 ^{ef}	57.43±0.11 ^d
EF	0.008±0.001 ^{bc}	203.70±0.17 ^d	60.65±0.67 ^c
EL	0.013±0.002 ^{de}	152.10±0.12 ^h	28.12±0.03 ^j
ES	0.021±0.001 ^f	107.83±0.21 ⁱ	52.75±0.17 ^f
Acide ascorbique	0.013±0.002 ^{de}	-	72.07±0.33 ^a

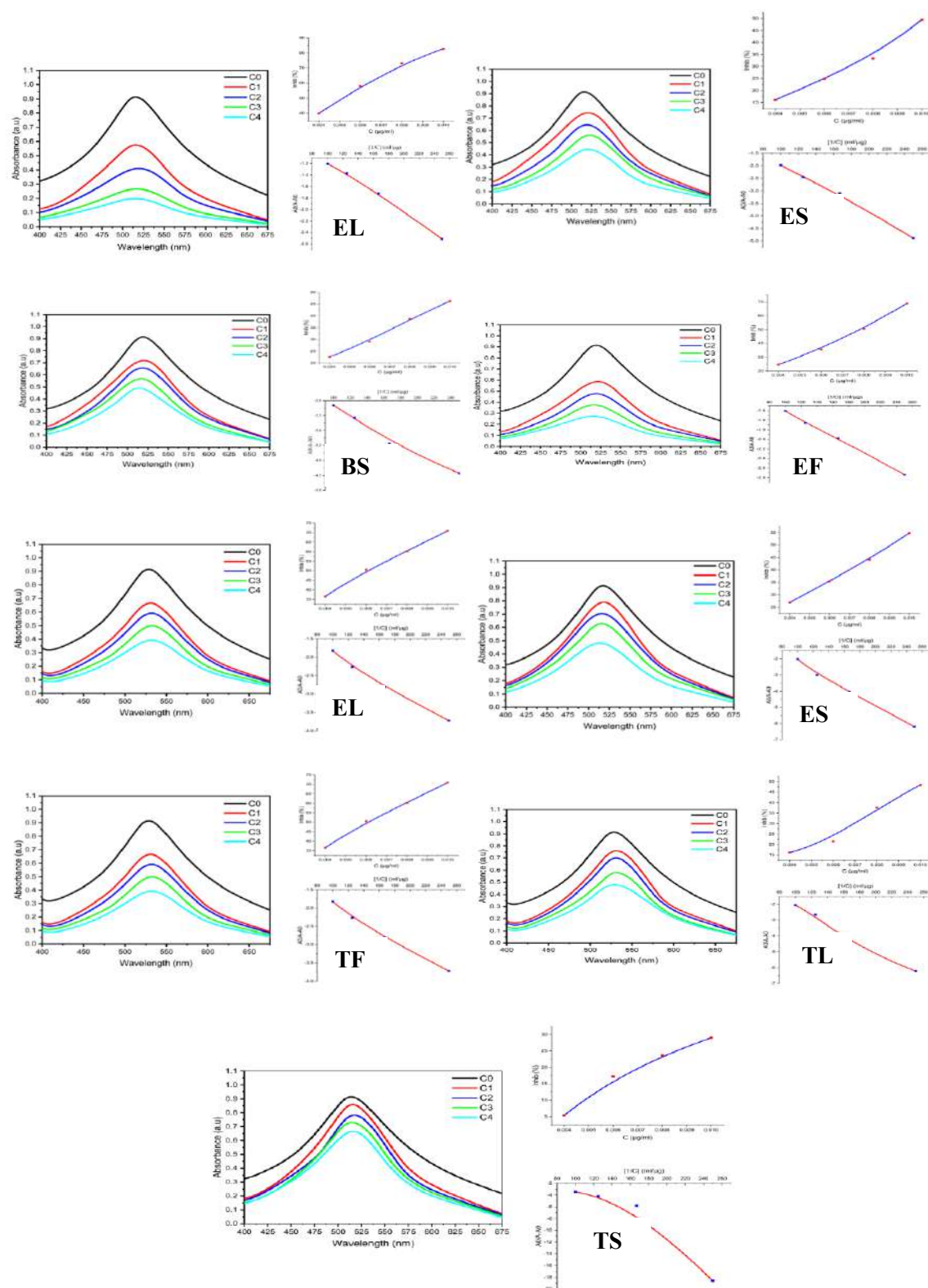


Figure III.29: Activité d'extinction du DPPH de neuf extraits de *S. nigrum* L. sauvage collectés dans trois régions différentes d'Algérie

De plus, la diminution de l'absorption du DPPH en présence de standards antioxydants peut être utilisée pour calculer la constante de liaison et l'énergie libre. Par ailleurs, le décalage des valeurs de longueur d'onde peut être utilisé pour déterminer le mode d'interaction ; ces résultats ont été inspirés par l'étude de la liaison des molécules de médicaments à l'ADN [145]. Un temps de réaction prolongé entre les échantillons et le DPPH dans le même solvant entraîne une baisse significative de l'absorbance globale. Sur la base de cette diminution d'absorbance, la constante de liaison a été calculée en utilisant l'équation de Benesi-Hildebrand, qui est utilisée pour quantifier la constante de liaison intrinsèque d'un médicament anticancéreux ou sa constante de liaison avec l'ADN [146].

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\epsilon_0}{\epsilon - \epsilon_0} + \frac{\epsilon_0}{\epsilon - \epsilon_0} \frac{1}{K[C]}$$

Où K est la constante de liaison. A_0 et A représentent l'absorbance du DPPH en l'absence et en présence des standards antioxydants, respectivement. ϵ_0 et ϵ sont leurs coefficients d'absorption, respectivement. [C] est la concentration du standard antioxydant (Tableau III. 11).

Tableau III.11: Calcul de la constante de liaison pour différents extraits de *S. nigrum* L.

<i>S. nigrum</i>	Equation	R ²	K [L.mol ⁻¹]	ΔG [KJ.mol ⁻¹]
TF	$y = -0.015x - 0.293$	0.88	19.53	-7.37
TL	$y = -0.019x - 0.422$	0.89	22.21	-7.69
TS	$y = -0.03x - 1.44$	0.91	48	-9.6
BF	$y = -0.0088x - 0.2862$	0.996	32.52	-8.63
BL	$y = -0.01944x - 0.034$	0.87	1.74	-1.37
BS	$y = -0.0151x - 0.7292$	0.982	48.29	-9.61
EF	$y = -0.0087x - 0.5426$	0.998	62.37	-10.25
EL	$y = -0.0124x - 0.674$	0.990	54.35	-9.9
ES	$y = -0.022x - 0.7$	0.898	31.81	-8.58

III.1.8.2. Détermination de l'activité antioxydante par le pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)

Comparé à d'autres tests qui évaluent l'inhibition des radicaux libres, le test FRAP est le seul qui analyse directement les antioxydants (ou réducteurs) dans un échantillon [147]. Les valeurs du test FRAP indiquées dans le Tableau III. 10, représentent la concentration d'antioxydants donneurs d'électrons associés à la réduction du fer ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺) [148]. L'extrait de feuilles de *S. nigrum* L. de Beskra a montré un FRAP plus élevé (BL; 260,9) que les fruits de Tébéssa (TF; 257,34) et les fruits de Beskra (BF; 211,18). Tous les échantillons ont présenté des FRAP significativement différents, avec des valeurs variant de 107,85 à 260,9 mM Fe²⁺/g (poids sec) (Figure III. 30).

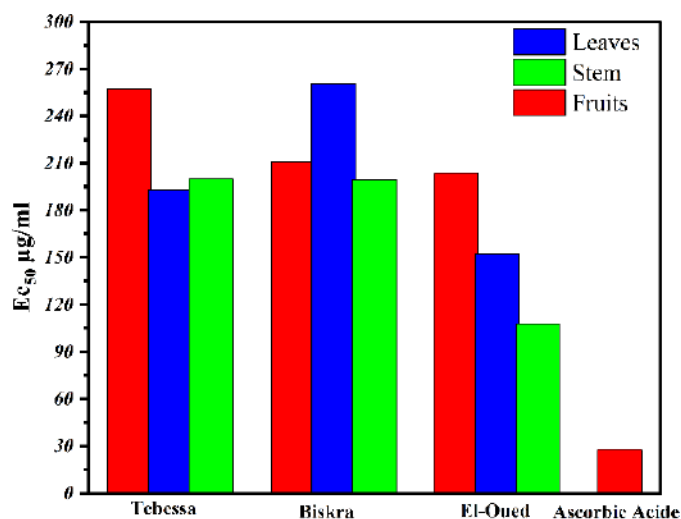


Figure III.30: Activité antioxydante des extraits de *S. nigrum* L. par pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

III.1.9. Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour obtenir une compréhension plus approfondie de la connexion entre le contenu total des différents composants chimiques calculés pour chacun des neuf extraits et l'activité antioxydante mesurée par les tests DPPH et FRAP. L'objectif de cette étude était de mettre en lumière les relations entre les six constituants principaux des neuf extraits de plantes, à savoir la teneur totale en phénols (TPC), la teneur en flavonoïdes (TFC), les tanins, les proanthocyanidines, la vitamine C et les alcaloïdes. L'activité antioxydante mesurée par les tests DPPH et FRAP peut être consultée dans la Figure III. 31 et le Tableau III. 12, respectivement.

Selon les résultats de l'analyse statistique qui figurent dans le tableau, la corrélation entre tous les composés chimiques et les résultats du test DPPH a été trouvée négative. Cela est dû au fait que

l'activité antioxydante du test DPPH s'est révélée plus efficace lorsque la concentration IC_{50} était plus faible.

Le Tableau III. 13 montre que tous les composés avaient une très forte corrélation, car l'augmentation de la concentration des composés entraînait une diminution de la concentration d' IC_{50} , avec des coefficients de corrélation pour les six composés TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes respectivement de -0,29836, -0,71371, -0,76237, -0,63373, -0,60105 et -0,35403 (comme indiqué dans le Tableau III. 12).

Le Tableau III. 13 illustre la forte connexion entre les composés chimiques et les résultats du test d'activité antioxydante à l'aide du test FRAP. La relation entre les deux groupes a été jugée satisfaisante et positive. Cela est dû au mécanisme des produits chimiques dans ce test antioxydant, qui est responsable de cette association positive. La vitamine C et les tanins ont montré la plus forte corrélation avec le test FRAP, avec des coefficients de corrélation respectifs de 0,52347 et 0,51368. Les autres composés ont montré une corrélation de modérée à forte, avec des coefficients de corrélation pour TPC, TFC et proanthocyanidines respectivement de 0,23047, 0,37253 et 0,34385. La vitamine C et les tanins ont produit la plus forte corrélation, tandis que le coefficient de corrélation pour les alcaloïdes était de -0,02724, indiquant que la corrélation inverse n'était pas très forte.

Des corrélations positives fortes avec la TFC, les tanins et les proanthocyanidines ont été trouvées, et les données structurelles présentées dans la Figure 30 fournissent des preuves supplémentaires de la robustesse de ces corrélations. Selon les données présentées dans le Tableau 8, la composante principale F1 a montré une forte corrélation positive avec la TFC ($r = 0,41825$), les tanins ($r = 0,41825$) et les proanthocyanidines ($r = 0,40089$).

Les résultats du test de Tukey (Tableau III. 13) confirment qu'il existe de grandes variations entre la zone de récolte et la partie de la plante en ce qui concerne leur efficacité dans l'activité antioxydante, car il est clair que l'échantillon BF est le meilleur. Par conséquent, la région de Tébessa est la meilleure zone de récolte, et la partie feuille est la meilleure partie de la plante.

Tableau III.12: Matrice de corrélation entre le contenu chimique et l'activité antioxydante des extraits de plantes

	TPC	TFC	Tannin	Proantho- cyanidin	Vitamine C	Alcolaid	DPPH	FRAP
TPC	1	0.40335	0.3869	0.29468	0.68767	0.24912	-0.29836	0.23047
TFC	0.40335	1	0.92158	0.90794	0.82593	0.88579	-0.71371	0.37253
Tannin	0.3869	0.92158	1	0.95028	0.76529	0.72839	-0.76237	0.51368
Proantho- cyanidin	0.29468	0.90794	0.95028	1	0.73841	0.81997	-0.63373	0.34385
VitamineC	0.68767	0.82593	0.76529	0.73841	1	0.63174	-0.60105	0.52347
Alcolaid	0.24912	0.88579	0.72839	0.81997	0.63174	1	-0.35403	-0.02724
DPPH	-0.29836	-0.71371	-0.76237	-0.63373	-0.60105	-0.35403	1	-0.70951
FRAP	0.23047	0.37253	0.51368	0.34385	0.52347	-0.02724	-0.70951	1

Tableau III.13: Corrélation entre les variables (teneur chimique et activité antioxydante) et les facteurs pour les extraits de plantes

	Coefficients de PC1	Coefficients de PC2
TPC	0.225	-0.14526
TFC	0.42079	0.17815
Tannin	0.41825	0.02589
Proanthocyanidin	0.40089	0.20898
Vitamine C	0.3898	-0.07314
Alcoloids	0.33449	0.53723
DPPH	-0.34301	0.36903
FRAP	0.23489	-0.68751

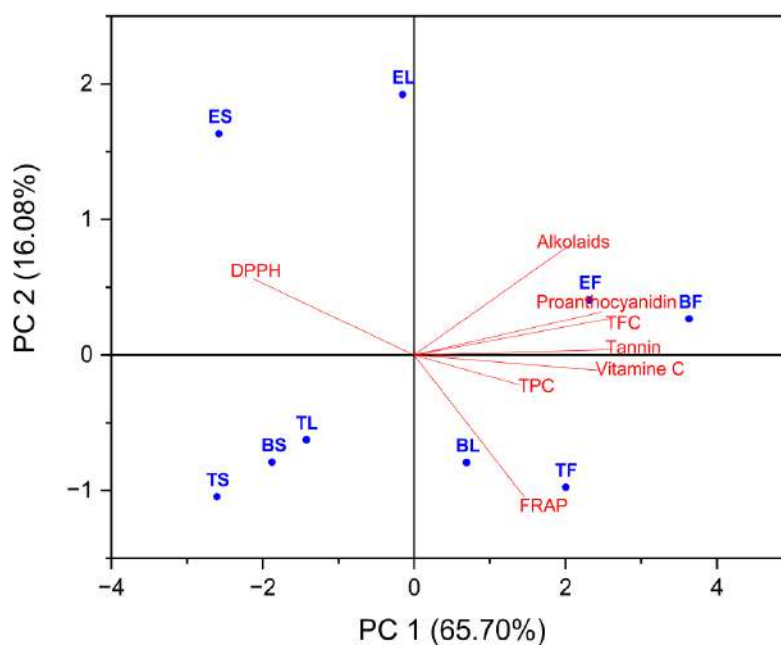


Figure III.31: Analyse des composantes principales de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes et l'activité antioxydante. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent respectivement la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y

III.1.10. Essai d'Inhibition de l'Hémolyse Oxydative

L'essai d'inhibition de l'hémolyse oxydative est basé sur la capacité des antioxydants à prévenir les dommages membranaires induits par les radicaux libres dans les érythrocytes. L'avantage de cette approche est qu'elle utilise des radicaux peroxydes comme pro-oxydants et les érythrocytes comme cibles oxydables, ce qui permet d'obtenir des résultats qui représentent une micro-localisation biologiquement significative des antioxydants et de l'activité de piégeage des radicaux [149]. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé comme indiqué dans le Tableau II. 5, et le pourcentage d'hémolyse est inversement lié à l'activité antioxydante de l'extrait. Un pourcentage élevé indique une activité antioxydante plus faible. Comme le montre le Tableau III. 10 et la Figure III. 32, l'extrait de fruits de *S. nigrum* L. provenant de la région d'El-Oued (EF) a le pourcentage le plus bas (14,6 %), juste au-dessus de celui du médicament antioxydant de référence (acide ascorbique ; 12,07 %), suivi des fruits de Tébessa (TF ; 17,9 %) et des tiges de Tébessa (TS ; 18,2 %). Le pourcentage d'hémolyse le plus élevé a été enregistré par l'extrait de tige de *S. nigrum* L. provenant de la région d'El-Oued.

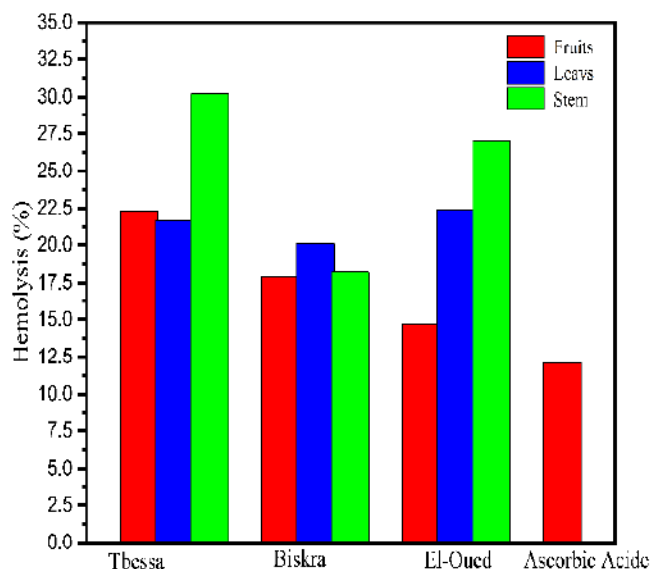


Figure III.32: Activité antihémolytique des extraits de *S. nigrum* L.

III.1.11. Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée afin d'acquérir une compréhension plus approfondie des relations entre le contenu total de divers composants chimiques calculés pour chacun des neuf extraits et le test d'hémolyse. En examinant les neuf extraits de plantes et le test d'hémolyse, cette étude visait à mettre en lumière les relations existant entre les six composants principaux, qui sont les suivants : TPC, TFC, tanin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes. Les résultats de cette enquête sont présentés dans la Figure III. 33 et le Tableau III.14.

Selon les résultats de l'analyse statistique réalisée, qui sont présentés dans le tableau, la corrélation entre tous les composés chimiques et les résultats du test d'hémolyse était une corrélation forte et positive. Cela indique que le pourcentage de protection augmente proportionnellement à la concentration des composés chimiques.

Le coefficient de corrélation pour le TPC était de 0,97698, ce qui indique que la concentration de TPC a une influence très significative sur le taux de protection. Le Tableau III. 14 démontre que la corrélation entre le TPC et le taux de protection était extrêmement élevée et très proche de 1. Le coefficient de corrélation pour la vitamine C était de 0,62896, et le coefficient de corrélation pour les autres composants chimiques était le suivant : la vitamine C a également montré un lien substantiel avec les autres composés chimiques. Le TFC, le tanin et la proanthocyanidine avaient chacun des valeurs de corrélation de 0,29827, 0,3147 et 0,20262, respectivement, se situant dans une fourchette modérée à forte. Le coefficient de corrélation pour les alcaloïdes était de 0,09513, indiquant que la connexion était très faible bien qu'elle soit positive.

Une connexion positive significative avec le TPC a été trouvée, et cette découverte est soutenue par les éléments structurels présentés dans la Figure 31. PC1 a montré une forte relation positive avec le TFC ($r = 0,28985$), tandis que PC2 a révélé une forte relation positive avec le TFC ($r = 0,57856$). Ces informations sont illustrées dans le Tableau III.15.

Les résultats du test de Tukey (Tableau III. 15 et Figure 33) confirment qu'il existe des différences significatives entre la zone de récolte et la partie de la plante en ce qui concerne leur efficacité à protéger les globules rouges. Il est également clair que l'échantillon BF est le meilleur échantillon. Par conséquent, la région de Tébessa est considérée comme la meilleure zone de récolte, et la partie feuillue est la meilleure partie de la plante.

Tableau III.14: Matrice de corrélation entre le contenu chimique et le test d'hémolyse des extraits de plantes

	TPC	TFC	Tannin	Proanthocyanidin	Vitamine C	Alcoloids	Hemolysis
TPC	1	0.40335	0.3869	0.29468	0.68767	0.24912	0.97698
TFC	0.40335	1	0.92158	0.90794	0.82593	0.88579	0.29827
Tannin	0.3869	0.92158	1	0.95028	0.76529	0.72839	0.3147
Proanthocyanidin	0.29468	0.90794	0.95028	1	0.73841	0.81997	0.20262
Vitamine C	0.68767	0.82593	0.76529	0.73841	1	0.63174	0.62896
Alcoloids	0.24912	0.88579	0.72839	0.81997	0.63174	1	0.09513
Hemolysis	0.97698	0.29827	0.3147	0.20262	0.62896	0.09513	1

Tableau III.15: Corrélation entre les variables (teneur chimique et test d'hémolyse) et les facteurs pour les extraits de plantes

	Coefficients de PC1	Coefficients de PC2
TPC	0.28985	0.57856
TFC	0.43579	-0.195
Tannin	0.42136	-0.17682
Proanthocyanidin	0.41333	-0.26925
Vitamine C	0.42136	0.14588
Alcoloids	0.37215	-0.31254
Hemolysis	0.24829	0.63602

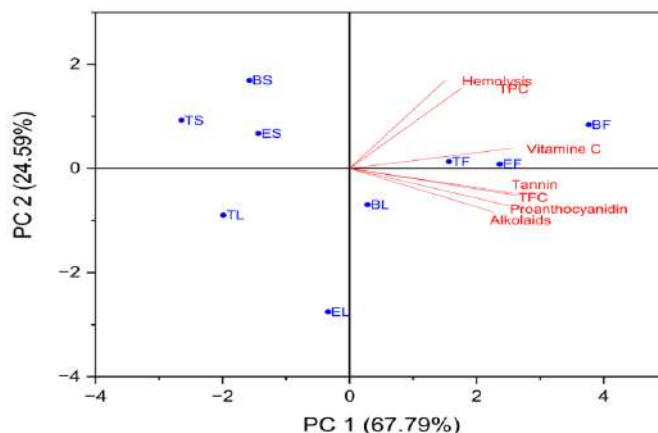


Figure III.33: Analyse en composantes principales biplot de TPC, TFC, tannin, proanthocyanidines, vitamine C et alcaloïdes pour les neuf extraits de plantes et le test d'hémolyse. Les pourcentages PC 1 et PC 2 représentent respectivement la plus grande et la deuxième plus grande variance dans les données sur l'axe des X et l'axe des Y

L'objectif de cette partie de l'étude était d'examiner la corrélation entre la composition chimique phénolique de *S. nigrum* L. et son activité antioxydante. Quinze composés polyphénoliques ont été précédemment rapportés comme les principaux composés isolés et identifiés à partir de l'extrait méthanolique de *S. nigrum* L., selon le rapport de Chen, X., et al., 2022 [150], et étaient listés dans le tableau supplémentaire. Sur la base des propriétés physico-chimiques et ADME des principaux composés phénoliques rapportés dans *S. nigrum* L., une étude de docking in silico a été réalisée sur seulement dix composés afin de déterminer le mécanisme potentiel d'action antioxydante.

III.2. Synthèse et caractérisation des nanoparticules et leurs applications

III.2.1. Caractérisation

III.2.1.1. Spectrophotomètre UV-visible

La spectroscopie UV-Vis, comme le montre la Figure III. 34, illustre les spectres d'absorption de divers matériaux, notamment le chitosane, les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs), le

complexe chitosane-ZnONPs, et le composite chitosane-ZnO/PVP. Pour le chitosane, une première bande d'absorption est observée à 270 nm, ce qui est attribué à la transition électronique $n-\pi^*$ du groupe amine présent dans le chitosane. Autrement dit, les électrons de l'amine subissent une transition électronique depuis l'orbitale non-liante (n) vers l'orbitale anti-liante (π^*) lors de l'absorption lumineuse à 270 nm [151].

Le spectre d'absorption UV-visible des ZnONPs, obtenus à partir d'un extrait de plante de *Solanum nigrum* L., présente un maximum d'absorption à 356 nm, caractéristique des nanoparticules d'oxyde de zinc. La forme du spectre UV-visible est semblable à celle signalée dans des études antérieures [152].

En ce qui concerne les nanoparticules de chitosane-ZnO (Figure III. 33c), la conjugaison des ZnONPs avec le chitosane provoque un décalage vers le bleu du maximum d'absorption de ZnO vers une longueur d'onde plus courte, passant de 356 nm à environ 310 nm. Cela est interprété comme étant lié à une interaction réduite entre le ZnO et le chitosane, dont la longueur d'onde d'absorption se situe vers 372 nm pour le ZnO macrocristallin [129]. Un décalage similaire est observé dans le complexe Chitosane-ZnO/PVP (Figure III. 33d), où le maximum d'absorption apparaît à 312 nm. Ces observations s'accordent avec la théorie de Kubo, qui suggère qu'en diminuant le diamètre des nanoparticules, la bande d'absorption subit un décalage vers le bleu [153].

Les pics observés dans les spectres d'absorption UV-Vis du chitosane, des ZnONPs et des complexes chitosane-ZnONPs sont associés à des transitions électroniques spécifiques des groupes fonctionnels ou substances présentes dans les échantillons. Ces résultats renforcent notre compréhension des transitions électroniques au sein des complexes étudiés et des interactions spécifiques entre les différents matériaux utilisés [154].

Ce décalage vers le bleu des nanoparticules de ZnO lorsqu'elles sont en interaction avec le chitosane ou le PVP indique non seulement une variation de la taille des particules mais également une possible altération de leurs propriétés optiques, offrant de nouvelles perspectives dans les applications optiques et biomédicales de ces nanocomposites.

L'énergie de la bande interdite est une propriété cruciale qui détermine les caractéristiques électroniques et optiques des matériaux, en particulier des semi-conducteurs comme l'oxyde de zinc (ZnO) et des biopolymères tels que la chitine. Dans la présente étude, les énergies de la bande interdite de la chitine, des nanoparticules (NPs) de ZnO, des NPs de chitine-ZnO et du composite chitine-ZnO/PVP ont été systématiquement analysées en traçant $(h\nu)^2$ contre l'énergie photonique (eV), comme illustré dans la Figure III. 34 a), b) et c). Les énergies de bande interdite obtenues étaient de 3,48 eV pour les NPs de ZnO, 3,33 eV pour les NPs de chitine-ZnO et 3,20 eV pour le composite chitine-ZnO/PVP.

Ces résultats mettent en évidence une réduction notable de l'énergie de la bande interdite lors de l'incorporation de chitine et de polyvinylpyrrolidone (PVP) dans la matrice de ZnO. L'énergie de la bande interdite de la chitine pure, à 3,98 eV, indique qu'elle possède des propriétés isolantes, ce qui est typique des biopolymères. Cependant, lorsque les NPs de ZnO ont été introduites, la bande interdite a diminué de manière significative à 3,48 eV. Cette réduction est attendue en raison des effets de confinement quantique et de la mobilité des électrons améliorée dans les nanoparticules de ZnO, caractéristiques des matériaux semi-conducteurs.

De plus, le composite chitine-ZnO a présenté une bande interdite de 3,33 eV, ce qui suggère que l'interaction entre la chitine et les NPs de ZnO facilite de meilleurs mécanismes de transfert de charge. Cette interaction est attribuée aux interactions électrostatiques et chimiques entre les groupes

fonctionnels de la chitine et le ZnO, ce qui peut conduire à une séparation plus efficace des électrons et des trous lors des processus photocatalytiques.

La diminution la plus significative de l'énergie de la bande interdite a été observée dans le composite chitine-ZnO/PVP, qui a atteint une bande interdite de 3,20 eV. La présence de PVP non seulement améliore la stabilisation des NPs de ZnO au sein de la matrice de chitine, mais peut également introduire des états électroniques supplémentaires dans la bande interdite. Cette modification structurale facilite probablement des processus de séparation et de transfert de charge encore plus efficaces, améliorant l'activité photocatalytique du matériau.

En résumé, les résultats indiquent que l'encapsulation des NPs de ZnO au sein de la chitine et du PVP modifie de manière significative les propriétés optiques des nanoparticules, réduisant leur énergie de bande interdite. Cette réduction améliore le potentiel du matériau pour diverses applications, y compris la photocatalyse et comme agent antimicrobien, où une meilleure absorption de la lumière et une dynamique des porteurs de charge efficaces sont essentielles pour des performances optimales.

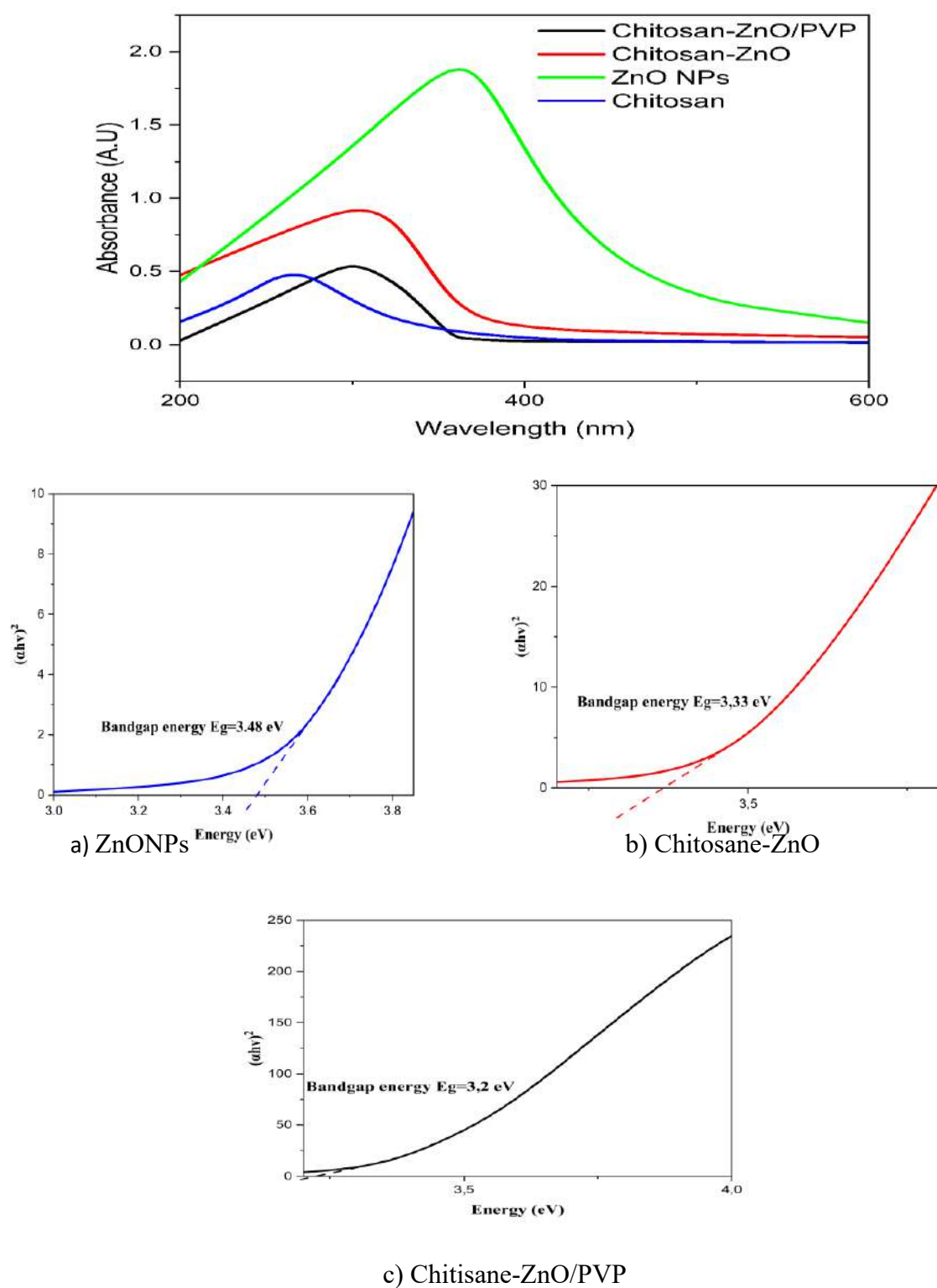


Figure III.34: Spectres UV-Vis et bande interdite d'énergie optique de ZnONPs, Chitosane-ZnONPs et Chitosane-ZnO/PVP

III.2.1.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) est une technique essentielle pour examiner les interactions chimiques et les structures moléculaires des composés étudiés. Dans cette analyse, les spectres FTIR des divers composants (Figure III. 34), notamment le chitosan, les nanoparticules de ZnO, le PVP, ainsi que les nanocomposites chitosan-ZnO et chitosan-ZnO/PVP, sont présentés afin de mettre en évidence leurs caractéristiques chimiques distinctes.

L'extrait de *S. nigrum* présente plusieurs pics d'absorption à des longueurs d'onde spécifiques. Les bandes observées à 3488 cm^{-1} , 2991 cm^{-1} , 2802 cm^{-1} , 1695 cm^{-1} , 1417 cm^{-1} et 1055 cm^{-1} sont attribuées à des groupes fonctionnels variés, tels que les amines (NH_2), les groupes méthyle (CH_3), les groupes méthylène (CH_2), les carbonyles ($\text{C}=\text{O}$), les liaisons C-N et les éthers ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) [131]. La présence de ces groupes fonctionnels dans l'extrait de plante indique une richesse chimique potentiellement bénéfique, suggérant la possibilité d'interactions avec d'autres matériaux. Ces interactions pourraient renforcer les propriétés antimicrobiennes ou antioxydantes de l'extrait lorsqu'il est combiné avec d'autres composés comme le chitosan ou les nanoparticules de ZnO.

Le chitosan, en tant que polysaccharide dérivé de la chitine, présente plusieurs groupes fonctionnels importants. Les pics d'absorption identifiés à des longueurs d'onde spécifiques, tels que 3488 cm^{-1} , 2991 cm^{-1} , 2802 cm^{-1} , 1695 cm^{-1} , 1417 cm^{-1} et 1055 cm^{-1} , sont attribués aux amines (NH_2), aux groupes méthyle (CH_3), aux groupes méthylène (CH_2), aux carbonyles ($\text{C}=\text{O}$), aux liaisons C-N et aux éthers ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) [155]. Ces groupes fonctionnels sont cruciaux pour les propriétés biologiques et chimiques du chitosan, notamment ses capacités antimicrobiennes et ses applications dans les systèmes de délivrance de médicaments. La présence de ces groupes suggère que le chitosan

est un matériau réactif, capable de former des liaisons avec d'autres composés, ce qui est fondamental pour sa fonctionnalisation dans des applications biomédicales [156].

Les nanoparticules de ZnO montrent un pic d'absorption distinct à 514 cm^{-1} , indiquant la vibration de liaison Zn=O. Ce pic est significatif car il confirme la structure chimique des nanoparticules de ZnO dans le mélange, ce qui est essentiel pour assurer leurs propriétés antimicrobiennes. Les nanoparticules de ZnO sont bien connues pour leur efficacité en tant qu'agents antimicrobiens, agissant par la libération d'ions Zn(II) et la génération de radicaux libres, qui peuvent endommager les membranes cellulaires des bactéries [157].

En ce qui concerne le nanocomposite chitosan-ZnO, l'analyse FTIR révèle un nouveau pic entre 524 et 529 cm^{-1} , qui n'apparaît pas dans le spectre du chitosan seul. Ce pic correspond à la vibration de stretch symétrique du ZnO, indiquant une interaction directe entre les nanoparticules de ZnO et le chitosan. Cette interaction est cruciale car elle contribue à la stabilité du nanocomposite et peut renforcer ses propriétés antimicrobiennes, en permettant une synergie dans les mécanismes d'action des deux composants [158].

Les modifications des pics FTIR observées pour le nanocomposite chitosan-ZnO indiquent également un décalage de la bande caractéristique du groupe NH à une fréquence plus basse, à 3451 cm^{-1} [159]. Cela suggère la formation de liaisons hydrogène entre le chitosan et le ZnO, ce qui peut améliorer la stabilité du nanocomposite et augmenter son efficacité dans des applications antimicrobiennes. De plus, le rétrécissement de la bande à 1626 cm^{-1} indique une interaction accrue, signalant une conjugaison des groupes fonctionnels hydroxyles et amines du chitosan avec les nanoparticules de ZnO.

Pour le PVP, le spectre FTIR montre une bande à 1734 cm^{-1} , attribuée à l'étirement intermédiaire du C=O dans l'anneau de pyrrolidone. Ce pic révèle également la présence de groupes

fonctionnels dans le PVP, qui peuvent interagir avec les nanoparticules de ZnO et le chitosan. Ces interactions sont essentielles pour la formation de nanocomposites stables et homogènes, contribuant ainsi à l'amélioration des propriétés fonctionnelles du système global [157].

Le nanocomposite chitosan-ZnO/PVP est structuré de manière à tirer parti des interactions entre le chitosan, les nanoparticules de ZnO et le PVP pour améliorer sa stabilité et ses propriétés fonctionnelles. Le spectre FTIR montre des pics caractéristiques confirmant l'intégration du ZnO dans la matrice, notamment un pic entre 524 et 529 cm^{-1} , indicatif des liaisons entre le ZnO et le chitosan. Les groupes fonctionnels amine et hydroxyle du chitosan interagissent avec les nanoparticules de ZnO via des liaisons hydrogène, renforçant ainsi la structure du composite [160]. Le PVP joue un rôle stabilisateur, empêchant l'agglomération des nanoparticules et assurant une dispersion homogène, ce qui confère au matériau des propriétés accrues en termes de stabilité, de biocompatibilité et d'efficacité antimicrobienne [158].

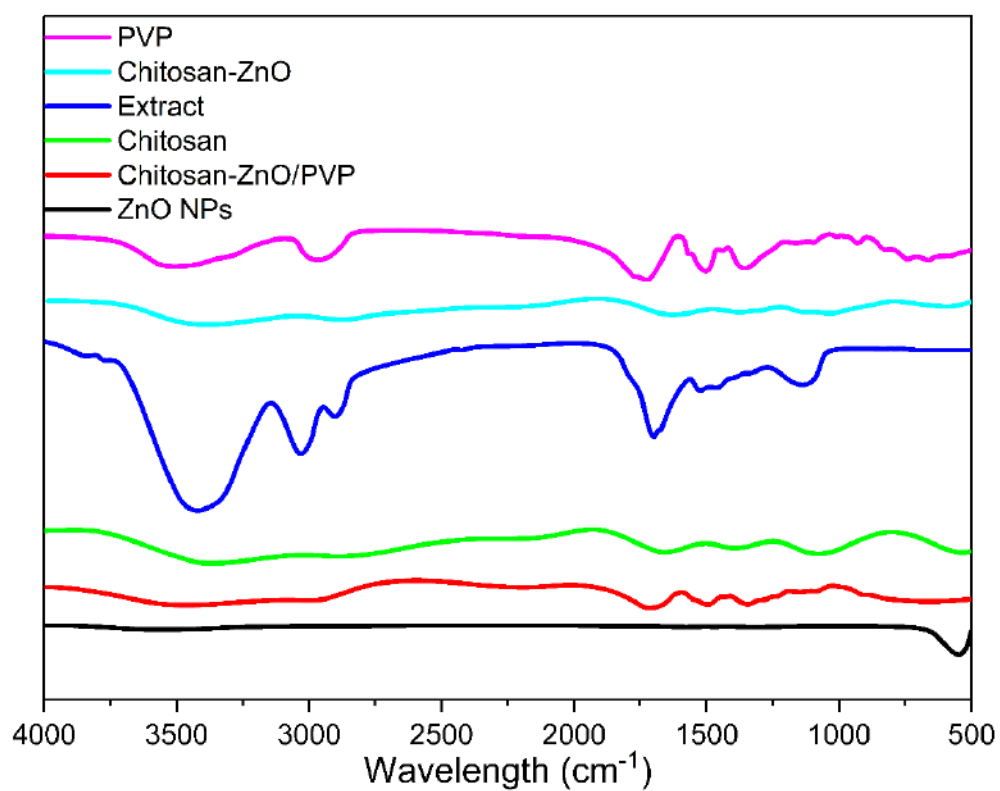


Figure III.35: Spectres FTIR de : extrait de *S. nigrum*, chitosane, ZnONPs , chitosane-ZnO, PVP et chitosane-ZnO/PVP NPs

III.2.1.3 Diffraction des rayons X (XRD.2.13)

La diffraction des rayons X (XRD) a permis d'étudier la structure cristalline des différents matériaux, notamment la chitosane, les nanoparticules de ZnO (ZnONPs), le complexe chitosane-ZnO et le nanocomposite chitosane-ZnO/PVP. Les résultats de cette analyse, représentés dans la figure 35 (a-e), offrent des informations cruciales sur la cristallinité et l'organisation structurale de chaque composant.

Dans le diffractogramme de la chitosane, trois pics de diffraction distincts sont visibles aux angles de $10,4^\circ$, $19,9^\circ$ et $29,1^\circ$, correspondant respectivement aux plans (020), (110) et (100) de la structure cristalline de la chitosane [161]. La différence d'intensité entre les pics, notamment l'intensité plus faible du pic à $10,4^\circ$ par rapport à celui de $19,9^\circ$, peut être attribuée à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires durant le processus de désacétylation. Ces liaisons hydrogène influencent la cristallinité et la structure de la chitosane, en renforçant l'organisation de la structure cristalline. Le degré de cristallinité de la chitosane a été déterminé en calculant l'indice de cristallinité selon la formule suivante [162].

$$\text{Crystallinity index} = \frac{(I_{110} - I_{am})}{I_{110}}$$

Où I_{am} correspond à l'intensité de diffraction amorphe centrée autour de $2\theta = 10,4^\circ$, et I_{110} représente l'intensité de diffraction maximale à $2\theta = 19,9^\circ$. La valeur calculée de 74,5 % indique un degré de cristallinité relativement élevé de la chitosane.

Pour les nanoparticules de ZnO (ZnONPs), plusieurs pics de diffraction sont observés aux angles suivants : $32,1^\circ$, $34,9^\circ$, $36,8^\circ$, $47,2^\circ$, $56,7^\circ$, $62,3^\circ$, $66,5^\circ$, $67,7^\circ$, $68,8^\circ$ et $72,9^\circ$. Ces pics sont

associés aux plans cristallins (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201) et (004) respectivement, confirmant la structure cristalline bien définie du ZnO sous la phase hexagonale wurtzite (selon la carte JCPDS n° 01-079-0205) [163]. Cette structure est caractéristique du ZnO et révèle une organisation cristalline stable, souvent observée dans les nanoparticules de ZnO de haute qualité.

Dans le complexe chitosane-ZnO, les pics caractéristiques de la chitosane à 10,4° et 19,9° sont moins prononcés, ce qui indique une interaction et une intégration entre la chitosane et le ZnO. Les autres pics de diffraction observés dans le complexe chitosane-ZnO correspondent aux mêmes plans cristallins que ceux du ZnO pur, mais avec une intensité plus marquée, soulignant une cristallinité accrue du ZnO au sein du complexe. Cette augmentation de la netteté et de l'intensité des pics indique la formation réussie du complexe chitosane-ZnO à l'échelle nanométrique, confirmée par la présence des pics caractéristiques du ZnO et les modifications d'intensité des pics de la chitosane [164]

Dans le cas du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP, les structures cristallines distinctes de la chitosane, du ZnO et du PVP sont identifiables, mais l'intensité des pics est réduite. Cette diminution de l'intensité des pics dans le nanocomposite suggère que le complexe chitosane-ZnO est complètement intégré dans la matrice polymérique du PVP, formant une structure homogène. Cette intégration efficace dans les chaînes polymériques de PVP a été confirmée par la diminution de l'intensité des pics de diffraction, ce qui indique une dispersion uniforme des particules dans la matrice polymère. Ces résultats de l'analyse XRD sont cohérents avec ceux obtenus par spectroscopie UV-visible et FTIR, renforçant la conclusion que le nanocomposite chitosane-ZnO/PVP est bien structuré et homogène, avec des interactions moléculaires stables entre ses composants [165].

Les données de diffraction XRD ont permis de déterminer l'indice de cristallinité ainsi que la taille moyenne des cristallites des différents échantillons. Comme le montre le tableau III 16, les valeurs de cristallinité obtenues pour les nanoparticules de ZnO, le chitosan-ZnO et le chitosan-ZnO/PVP sont respectivement de 85,7 %, 78,4 % et 80,2 %. Ces résultats montrent que l'ajout de chitosan et de PVP influence légèrement la cristallinité par rapport aux nanoparticules de ZnO seules. En ce qui concerne la taille moyenne des cristallites, elle a été mesurée à 15,3 nm pour les nanoparticules de ZnO, à 17,8 nm pour le composite chitosan-ZnO et à 30,1 nm pour le chitosan-ZnO/PVP.

Cette augmentation de la taille des cristallites dans le chitosan-ZnO/PVP pourrait être due à une meilleure dispersion des nanoparticules dans la matrice de polymère ainsi qu'à des interactions stabilisantes entre le ZnO, le chitosan et le PVP, favorisant une cristallisation plus marquée. En intégrant le PVP, le composite gagne en stabilité structurale, et les cristallites plus larges augmentent potentiellement les propriétés mécaniques et la durabilité du matériau, tout en conservant une bonne cristallinité.

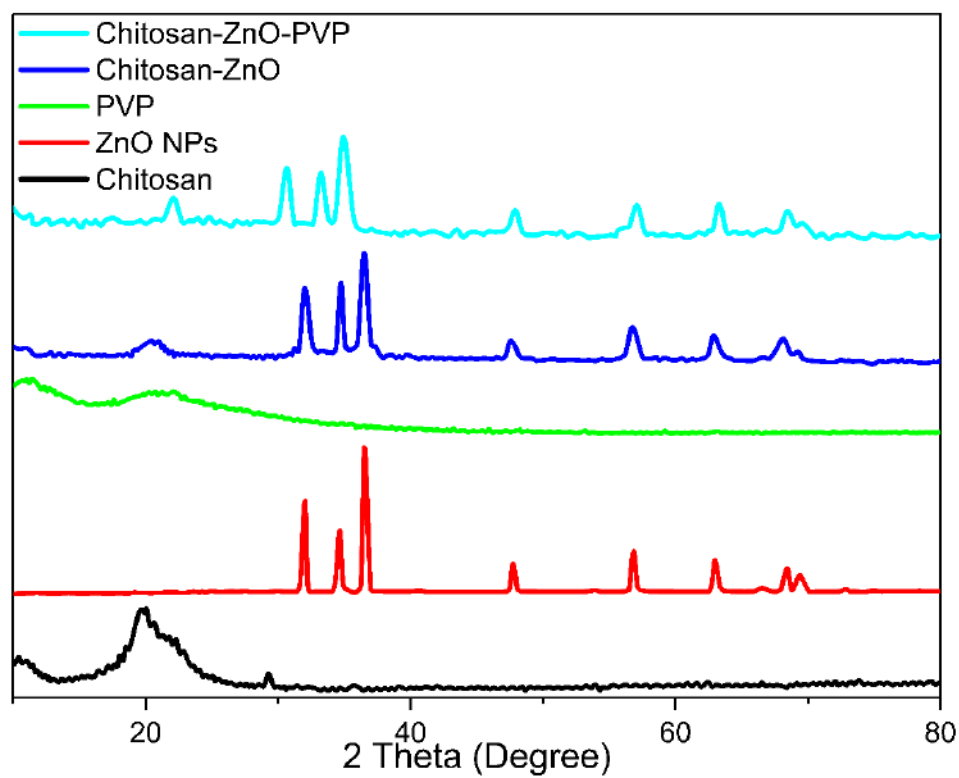


Figure III.36: Diagramme de diffraction des rayons X (DRX) de : chitosane, ZnONPs, PVP, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs

Tableau III.16: Résumé des différentes caractéristiques de ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs

Échantillon	Taille des cristallites (nm)	Cristallinité (%)	Bande interdite (eV)
ZnONPs	15.3	85.70	3.48
Chitosan-ZnO	27.8	78.40	3.33
Chitosan-ZnO/PVP	30.1	80.20	3.20

électronique à balayage (SEM.2.1.4 Microscopie):

L'analyse au microscope électronique à balayage (SEM) a été effectuée pour examiner la forme et la distribution de taille des différents matériaux, à savoir la chitosane, les nanoparticules de ZnO (ZnONPs), le complexe chitosane-ZnO et le nanocomposite chitosane-ZnO/PVP. Les résultats de cette analyse sont représentés dans la figure 36 : la chitosane apparaît en figure 36a, les ZnONPs en figures 36b et 36c, le complexe chitosane-ZnONPs en figures 36d et 36e, et enfin le nanocomposite chitosane-ZnO/PVP en figure 36f.

La surface de la chitosane, extraite des carapaces de crevettes, présente une texture rugueuse et irrégulière, caractérisée par de nombreux sillons. Cette morphologie spécifique est influencée par divers paramètres, notamment le degré de désacétylation, l'indice de cristallinité, le niveau de polymérisation et les conditions de température appliquées lors de la préparation. Ces paramètres jouent un rôle crucial en modifiant l'organisation et la compacité de la chitosane, lui conférant une structure unique qui peut aussi affecter ses propriétés de liaison et d'encapsulation.

Pour les nanoparticules de ZnO, les images SEM révèlent des agrégats de forme sphérique et elliptique, avec quelques particules isolées et bien dispersées dans la matrice. La taille moyenne de ces nanoparticules est d'environ 12 nm. La morphologie et la taille des ZnONPs sont influencées par plusieurs facteurs, tels que la concentration en ions Zn(II), la quantité de chitosane présente, ainsi que les conditions de température et de pH lors de la synthèse. Ces paramètres influencent les mécanismes de nucléation et de croissance des particules, entraînant la formation d'agrégats de tailles et de formes variées.

Lors de l'encapsulation des ZnONPs avec la chitosane, la morphologie des particules subit des changements visibles. Le complexe chitosane-ZnO se présente sous la forme d'agrégats de différentes formes, principalement sphériques, ovales et cristallines. Cette variation morphologique

résulte de l'encapsulation des agrégats de ZnO par la chitosane, qui entoure les particules et modifie leur aspect global. Comparativement aux ZnONPs non enrobés, les particules de chitosane-ZnONPs montrent une structure plus définie et organisée, confirmant l'efficacité de l'encapsulation. Cette encapsulation permet également une meilleure stabilisation des nanoparticules et favorise leur dispersion homogène.

Enfin, le diamètre moyen des nanoparticules de chitosane-ZnO atteint environ 21 nm, ce qui est plus élevé que celui des ZnONPs seuls. Cette augmentation de la taille moyenne s'explique par l'ajout de la couche de chitosane autour des ZnONPs, qui accroît leur dimension totale. Ces observations, issues de l'analyse SEM, confirment que la chitosane joue un rôle clé dans la structuration et la stabilisation des nanoparticules, permettant potentiellement de nouvelles applications grâce à ses propriétés d'encapsulation et à sa compatibilité avec d'autres polymères, comme le PVP dans le cas du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP.

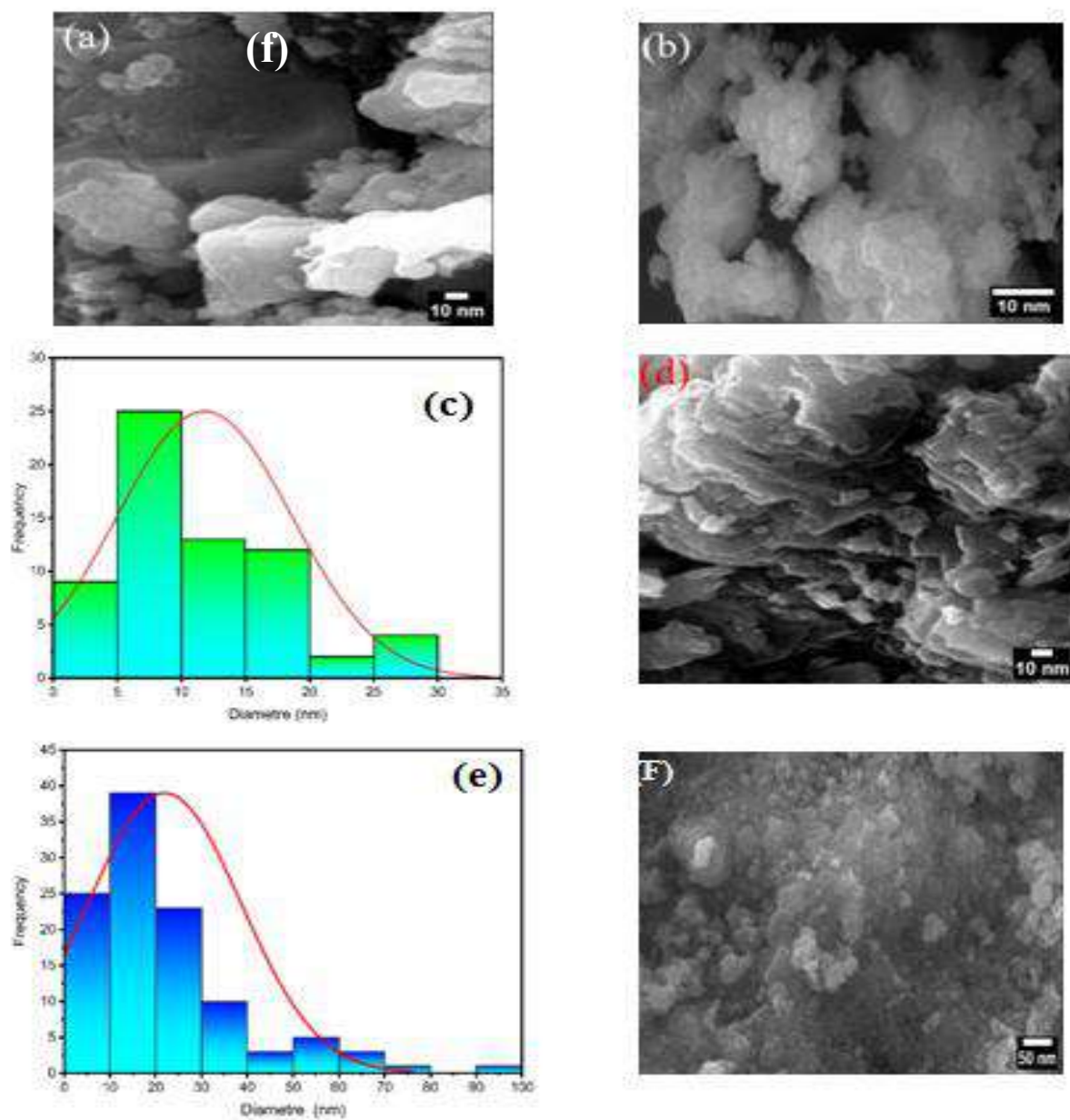


Figure III.37: Images MEB de (a) Chitosan (b,c) ZnONPs et (d,e) Chitosan-ZnONPs et (f) Chitosan-ZnOPVPNPs

III.2.1.4 L'analyse de la stabilité thermique:

L'analyse de la stabilité thermique des matériaux, représentée dans la figure III. 38, examine les courbes de stabilité thermique de la chitosane, des nanoparticules de ZnO (ZnONPs), du complexe chitosane-ZnO, et du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP. La première perte de poids de tous les matériaux est observée à des températures inférieures à 100 °C, principalement due à l'évaporation de l'humidité résiduelle. Par la suite, une seconde perte de poids survient entre 200 et 600 °C, liée à la perte d'eau cristalline retenue, notamment dans les cas des ZnONPs et des chitosane-ZnONPs. La décomposition initiale de la chitosane débute à des températures supérieures à 200 °C, et cette perte de masse est attribuée au détachement des groupes fonctionnels de sa structure principale. La décomposition de la chitosane se poursuit jusqu'à environ 800 °C, stade auquel le matériau est complètement carbonisé, atteignant ainsi une stabilité thermique.

La stabilité thermique des ZnONPs est obtenue autour de 450 °C, tandis que le complexe chitosane-ZnO atteint sa stabilité thermique vers 600 °C. Ces changements marqués dans les propriétés thermiques entre la chitosane seule, les ZnONPs et leur matériau composite montrent que la chitosane a une sensibilité thermique plus élevée, une observation liée à la rapidité de dégradation de ses composants polysaccharidiques. Les polysaccharides, composés de longues chaînes de sucres, sont intrinsèquement sensibles à la dégradation thermique. La décomposition des molécules de chitosane à haute température est due aux ruptures ou aux interactions chimiques entre les unités de N-acétylglucosamine et de glucosamine [164].

En comparaison, les ZnONPs et le complexe chitosane-ZnONPs présentent une plus grande stabilité thermique sous des conditions similaires. Cela montre que l'ajout de chitosane n'altère pas de manière significative les propriétés thermiques des nanoparticules, mais qu'au contraire, les ZnONPs augmentent la stabilité thermique globale de la chitosane. Des études antérieures corroborent cette

amélioration de la stabilité thermique de la chitosane lorsqu'elle est enrobée par des nanoparticules de ZnO, ce qui est dû à la présence de ZnO qui agit comme une barrière protectrice contre la dégradation thermique [166].

Les caractéristiques thermiques du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP ont été étudiées par analyse thermogravimétrique (TGA), et les réponses thermo-gravimétriques de ce nanocomposite sont également représentées dans la figure 7. La première perte de poids observée entre la température ambiante et 100 °C est attribuée à la déshydratation des molécules d'eau présentes dans tous les matériaux à base de chitosane et de PVP.

L'évolution thermique des nanocomposites chitosane-ZnO/PVP montre deux phases distinctes de perte de poids, entre 100-410 °C et 410-590 °C, correspondant respectivement à la carbonisation de PVP et des polysaccharides. La dérivée de poids du nanocomposite chitosane-ZnO/PVP indique une perte de masse significative de 41 %, ce qui témoigne d'une amélioration notable de la stabilité thermique du nanocomposite. Ces observations confirment que l'incorporation de ZnO et de PVP dans le nanocomposite améliore la résistance à la chaleur, rendant le matériau plus apte à résister à des conditions thermiques élevées [165]

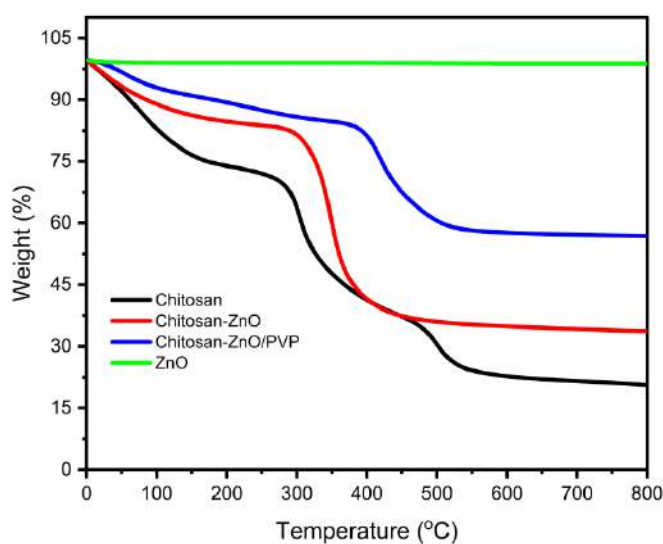


Figure III.38: Les courbes TGA obtenues pour chitosan, ZnONPs, chitosan-ZnONPs, et chitosan-ZnO/PVP NPs.

III.2.2. Activité antioxydante

III.2.2.1. Activité de piégeage des radicaux libres

L'efficacité des nanoparticules dans la neutralisation des radicaux libres, comme les radicaux ABTS et DPPH, est cruciale en raison de leurs effets potentiels pour la santé et l'environnement en réduisant l'oxydation nocive. Les résultats illustrés dans la Figure 38 montrent que les nanoparticules de ZnO (ZnONPs), ainsi que les composés chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP, possèdent des capacités variables à inhiber les radicaux ABTS, avec des taux de neutralisation maximaux atteignant respectivement 63 %, 67 % et 87 %. Ces valeurs démontrent leur aptitude à neutraliser efficacement les radicaux ABTS. Une tendance dépendante de la concentration a été observée : à mesure que la concentration augmentait, les valeurs d'absorbance diminuaient et le pourcentage d'inhibition augmentait, indiquant une inhibition accrue des radicaux avec des concentrations plus élevées (Figure 38a et 38b).

La comparaison de la capacité de piégeage des radicaux des ZnONPs, chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP avec l'acide ascorbique montre que tous les échantillons présentent une capacité de piégeage des radicaux significative, cohérente avec les études antérieures soulignant le potentiel antioxydant du chitosane et des nanoparticules de zinc [167]. En examinant également l'activité antioxydante vis-à-vis du DPPH, les pourcentages d'inhibition maximaux observés étaient de 51 %, 56 % et 72 % pour ZnO, chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP respectivement (Figure 39a), indiquant une efficacité dans la neutralisation des radicaux DPPH. Comme pour ABTS, une relation dépendante de la concentration a également été observée pour DPPH, avec une capacité d'inhibition qui diminuait aux concentrations plus faibles (Figure 39b).

Les résultats des valeurs IC_{50} , un indicateur de la concentration requise pour inhiber 50 % des radicaux, indiquent que les valeurs étaient de 0,092, 0,079, 0,059 et 0,045 mg/mL respectivement pour ZnONPs, chitosane-ZnO, chitosane-ZnO/PVP et l'acide ascorbique dans le test ABTS. Dans le test DPPH, les valeurs IC_{50} étaient de 0,095, 0,083, 0,061 et 0,064 mg/mL. L'incorporation du zinc dans les matrices de chitosane puis dans les matrices de PVP a significativement amélioré l'efficacité de l'élimination des radicaux libres, ce qui peut être attribué aux effets synergiques du zinc, du chitosane et du PVP.

La capacité du zinc à inhiber les radicaux ABTS et DPPH repose sur des mécanismes de donation d'électrons et des réactions d'oxydo-réduction. En raison de sa grande surface et de sa réactivité élevée, le zinc est capable de transférer des électrons aux radicaux ABTS et DPPH, les réduisant ainsi en formes non radicalaires et stables, ce qui empêche les dommages oxydatifs [168]. Dans le test ABTS, la réduction des radicaux ABTS par les nanoparticules de zinc entraîne une diminution de l'intensité de la couleur, indiquant une inhibition efficace de ABTS. De même, dans le

cas du DPPH, le piégeage des radicaux DPPH réduit l'intensité de la couleur violette de la solution DPPH, qui vire au jaune, ce qui indique l'activité antioxydante des composés [169].

Le chitosane contribue également à l'inhibition des radicaux ABTS et DPPH grâce à ses propriétés antioxydantes et sa capacité à piéger les radicaux libres. En tant que biopolymère dérivé de la chitine, le chitosane est bien connu pour son activité antioxydante grâce à ses groupes amine ($-NH_2$), qui peuvent interagir efficacement avec les radicaux libres comme ABTS. Ces groupes amine agissent comme des donneurs d'électrons, neutralisant ainsi les radicaux. De plus, le chitosane peut effectuer un transfert d'atome d'hydrogène, renforçant sa capacité de piégeage des radicaux libres [169].

L'oxyde de zinc nanométrique (ZnO) possède une surface élevée et une réactivité chimique qui lui permettent de jouer un rôle efficace dans la neutralisation des radicaux libres. La grande surface spécifique de ZnO favorise l'interaction directe avec les radicaux tels que ABTS et DPPH, facilitant ainsi les réactions de transfert d'électrons. Le ZnO exerce son effet inhibiteur principalement par don d'électrons, ce qui neutralise les radicaux libres en les réduisant en formes stables et non radicalaires. Ce processus empêche les dommages oxydatifs et protège les cellules et molécules environnantes contre le stress oxydatif. Par ailleurs, l'oxyde de zinc a la capacité de réagir avec les radicaux en créant des espèces réactives supplémentaires qui participent aussi à l'élimination des radicaux nocifs. Cette propriété unique, due à la petite taille des nanoparticules et à leur structure, permet au ZnO de stabiliser et de réduire efficacement les radicaux [117].

Le polyvinylpyrrolidone (PVP) agit comme un polymère stabilisant et dispersant qui améliore les performances antioxydantes de ZnO lorsqu'il est incorporé dans une matrice avec ZnO et la chitosane. Grâce à ses groupes fonctionnels hydrophiles, le PVP assure une distribution homogène des nanoparticules de ZnO et de chitosane dans le milieu, améliorant ainsi la biodisponibilité et

l'interaction avec les radicaux libres. Le PVP facilite aussi la formation de liaisons hydrogène et d'interactions électrostatiques entre ses molécules et les radicaux libres, augmentant leur neutralisation. En outre, le PVP contribue à stabiliser les particules actives de ZnO, évitant leur aggrégation et maintenant leur efficacité antioxydante. L'intégration de PVP dans le système augmente ainsi la capacité globale de piégeage des radicaux grâce à une dispersion optimale et une interaction renforcée avec les radicaux [170].

L'intégration du chitosane-ZnO dans la matrice de PVP améliore encore son efficacité à neutraliser les radicaux libres en combinant les propriétés antioxydantes du chitosane et de l'oxyde de zinc avec les capacités de dispersion et de stabilisation du PVP. Cette intégration permet une distribution uniforme des sites actifs, améliore la solubilité et la biodisponibilité, et renforce les interactions électrostatiques et les liaisons hydrogène avec les radicaux libres. En outre, l'activité photocatalytique du ZnO est stabilisée dans la matrice, permettant un piégeage des radicaux plus efficace et durable [165].

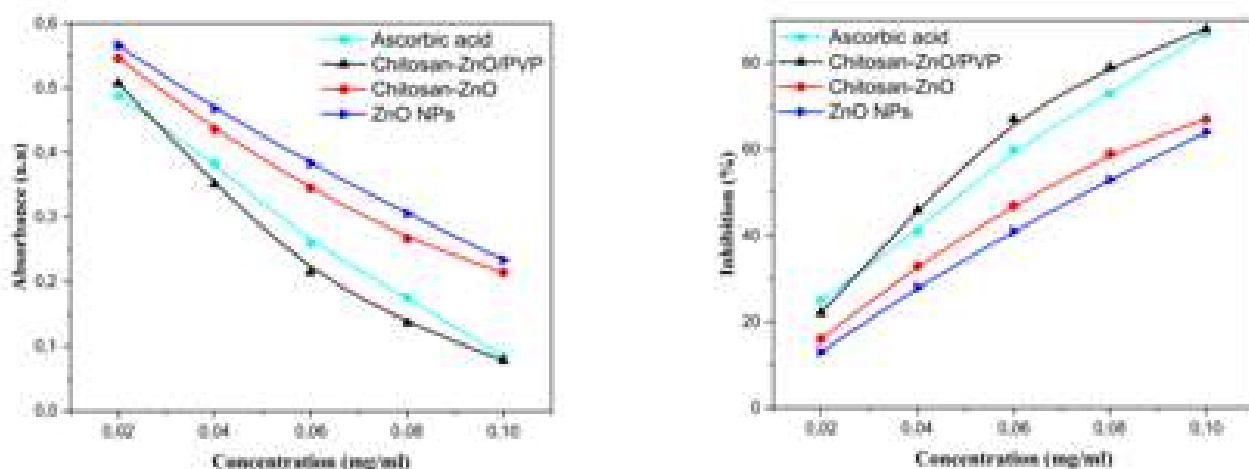


Figure III.39: Activité de piégeage des radicaux ABTS de l'acide ascorbique, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs.

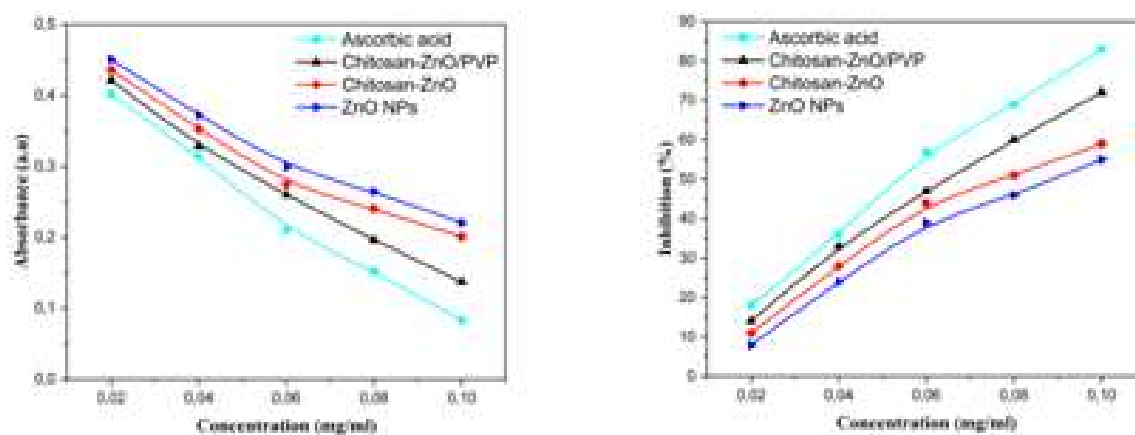


Figure III.40: Activité de piégeage des radicaux DPPH de l'acide ascorbique, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et chitosane-ZnO/PVP NPs.

Tableau III.17: Résultats Activité de piégeage des radicaux libres

Échantillon	IC ₅₀ (mg/mL)	
	ABTS	DPPH
ZnONPs	0,092 ± 0,09	0,095 ± 0,16
Chitosan-ZnO	0,079 ± 0,21	0,083 ± 0,39
Chitosan-ZnO/PVP	0,059 ± 0,11	0,061 ± 0,01

III.2.2.2. Activité antioxydante

Le tableau III. 18 présente les valeurs de l'activité antioxydante de trois échantillons à l'aide des tests FRAP et TAC. Les résultats ont montré que l'échantillon ZnONPs a enregistré les valeurs les plus basses dans les deux tests, avec ($82,11 \pm 1,06$ mM) pour le test AEAC et ($287,92 \pm 4,18$) pour le test TAC. Lors de l'ajout de chitosane dans l'échantillon Chitosan-ZnO, les valeurs ont augmenté de manière significative à ($135,68 \pm 0,78$ mM) pour le test AEAC et ($351,20 \pm 2,34$) pour le test TAC. Quant à l'échantillon Chitosan-ZnO/PVP, auquel a été ajouté le PVP, il a enregistré les valeurs les plus élevées parmi les trois échantillons ($217,24 \pm 3,33$ mM pour l'AEAC et $367,43 \pm 1,82$ pour le TAC). Ces résultats montrent clairement que l'activité antioxydante augmente progressivement avec l'ajout de chitosane, puis de PVP à l'oxyde de zinc nanoparticulaire.

Le mécanisme de l'activité antioxydante dans les trois échantillons repose sur l'interaction intégrée entre les composants ZnO, le chitosane et le PVP. L'échantillon ZnONPs a montré la plus faible activité antioxydante en raison de l'absence de groupes fonctionnels capables de donner des électrons, tels que les amines et les hydroxyles. Le ZnO agit par des interactions de surface avec les radicaux libres à travers des mécanismes d'oxydation et de réduction, où il adsorbe les radicaux libres sur sa surface et contribue à réduire leur activité (Figure III. 41). Cependant, ce mécanisme est limité

en raison du manque de fonctions chimiques efficaces dans le ZnO, ce qui pourrait améliorer son efficacité dans l'interaction avec les radicaux libres [171].

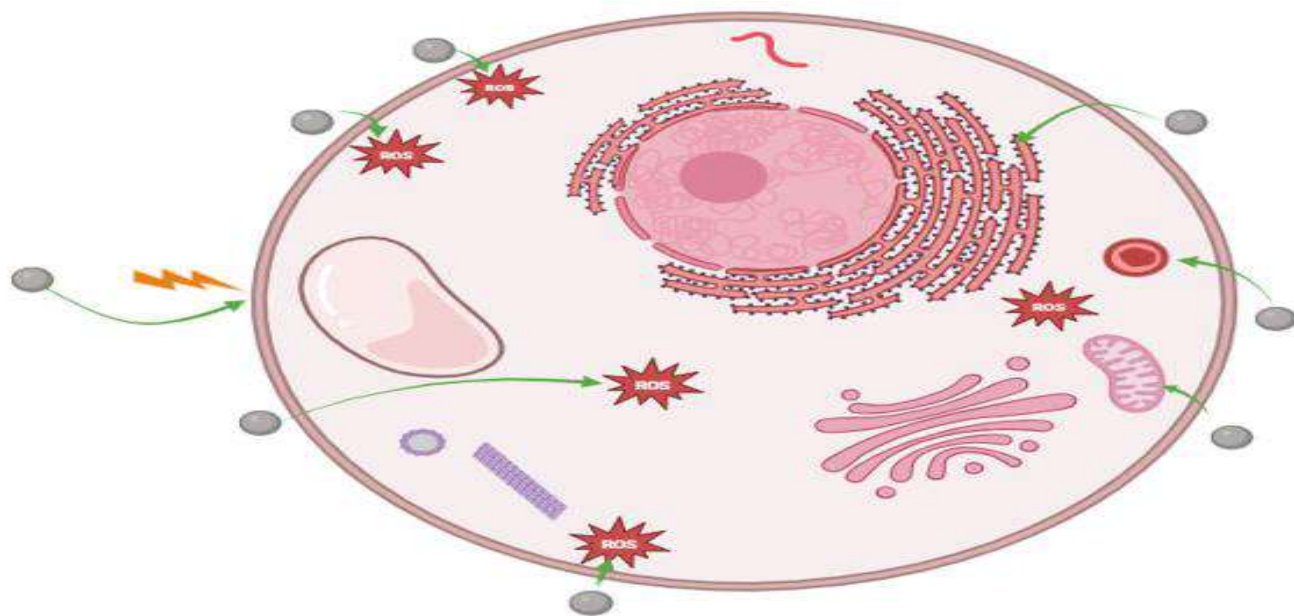


Figure III.41: Mécanisme de protection cellulaire par les nanoparticules contre le stress oxydatif.

Lors de l'ajout de chitosane dans l'échantillon Chitosan-ZnO, l'activité antioxydante a augmenté de manière significative en raison de la présence de groupes fonctionnels actifs dans le chitosane, tels que les groupes amine ($-NH_2$) et hydroxyle ($-OH$), qui sont considérés comme des sources efficaces d'électrons. Ces groupes agissent en donnant des électrons aux radicaux libres, ce qui permet de les neutraliser et de les transformer en formes stables et non nuisibles. De plus, le chitosane possède la capacité de former des liaisons hydrogène avec les radicaux libres, ce qui stabilise ces radicaux et empêche leurs effets destructeurs [172]. En outre, le chitosane renforce l'interaction de surface avec le ZnO en formant un revêtement polymère autour des nanoparticules, ce qui augmente son efficacité dans la résistance à l'oxydation [173].

Lors de l'ajout de PVP dans l'échantillon Chitosan-ZnO/PVP, une augmentation encore plus grande de l'activité antioxydante a été observée en raison de l'effet synergiques entre ZnO, le chitosane et le PVP. Le PVP est un polymère hydrophile qui se caractérise par sa capacité à stabiliser les électrons générés par les réactions chimiques entre le chitosane et les radicaux libres. Cette stabilisation empêche la perte rapide des électrons et maintient une interaction efficace avec les radicaux libres [174]. De plus, le PVP améliore la distribution des nanoparticules et du chitosane dans le milieu, ce qui augmente les chances d'interaction entre les composants actifs et les radicaux libres [175]. En outre, le PVP agit comme un stabilisateur moléculaire qui aide à réduire le stress oxydatif en formant des complexes stables avec les radicaux libres. Cela contribue à améliorer la stabilité électronique et moléculaire du système, et augmente l'efficacité de l'échantillon dans la résistance à l'oxydation [176].

Tableau III.18: Résultats de l'activité antioxydante

Échantillon	AEAC (mM of Fe ²⁺ /g)	TAC mg (EAA/g)
ZnONPs	82,11 ± 1,06	287,92 ± 4,18
Chitosan-ZnO	135,68 ± 0,78	351,20 ± 2,34
Chitosan-ZnO/PVP	217,24 ± 3,33	367,43 ± 1,82

III.2.3. Essai d'inhibition de l'hémolyse oxydative

Le tableau III.19 présente les valeurs mesurées de la concentration IC₅₀ pour la lyse des érythrocytes (Hemolysis IC₅₀) de quatre échantillons différents : ZnONPs, Chitosan-ZnO, Chitosan-ZnO/PVP et acide ascorbique. Ces valeurs reflètent la concentration nécessaire pour induire 50 % de lyse des érythrocytes, ce qui signifie que les valeurs plus élevées indiquent une toxicité moindre,

tandis que les valeurs plus faibles indiquent un effet plus marqué sur la lyse des cellules (Figure III. 42). Les résultats montrent que ZnONPs a enregistré la plus faible valeur ($0,057 \pm 0,01$ mg/ml), ce qui indique qu'elles ont le plus grand effet de lyse sur les érythrocytes, tandis que Chitosan-ZnO a enregistré une valeur de ($0,421 \pm 0,094$ mg/mL), ce qui montre une toxicité réduite par rapport à ZnONPs, mais a encore un effet relatif sur la lyse des cellules. En revanche, Chitosan-ZnO/PVP a enregistré la valeur la plus élevée ($0,713 \pm 0,088$ mg/mL), ce qui indique qu'il est le moins susceptible de provoquer la lyse des érythrocytes. Cela peut être attribué à l'effet de PVP qui réduit l'interaction directe des particules avec les membranes cellulaires, tandis que l'acide ascorbique a enregistré une valeur de ($0,116 \pm 0,023$ mg/mL), ce qui montre qu'il a un effet intermédiaire entre ZnONPs et Chitosan-ZnO, mais plus élevé que ZnONPs.

Ces résultats peuvent être expliqués par les propriétés physiques et chimiques de chaque composé. ZnONPs possède une surface hautement réactive qui peut provoquer des perturbations dans la membrane cellulaire, entraînant une augmentation du taux de lyse des érythrocytes [177]. Lorsque le ZnO est combiné avec du chitosane (Chitosan-ZnO), les propriétés de surface changent, réduisant relativement l'interaction directe avec les membranes cellulaires, mais il reste capable de provoquer une certaine lyse [178]. Dans le cas de Chitosan-ZnO/PVP, la présence de PVP réduit la charge de surface des particules et améliore leur stabilité dans le milieu biologique, limitant ainsi leur toxicité sur les érythrocytes et conduisant à une valeur IC_{50} plus élevée [179]. En ce qui concerne l'acide ascorbique, son effet lié à ses propriétés antioxydantes, qui peuvent réduire les dommages directs aux membranes cellulaires, bien qu'il soit encore capable de provoquer certains effets de lyse des érythrocytes [180].

Tableau III.19: Résultats de l'activité anti-hémolyse

Échantillon	Hémolyse IC ₅₀ (mg/mL)
ZnONPs	0,057 ± 0,01
Chitosan-ZnO	0,421 ± 0,094
Chitosan-ZnO/PVP	0,713 ± 0,0088
Acide ascorbique	0,116 ± 0,023

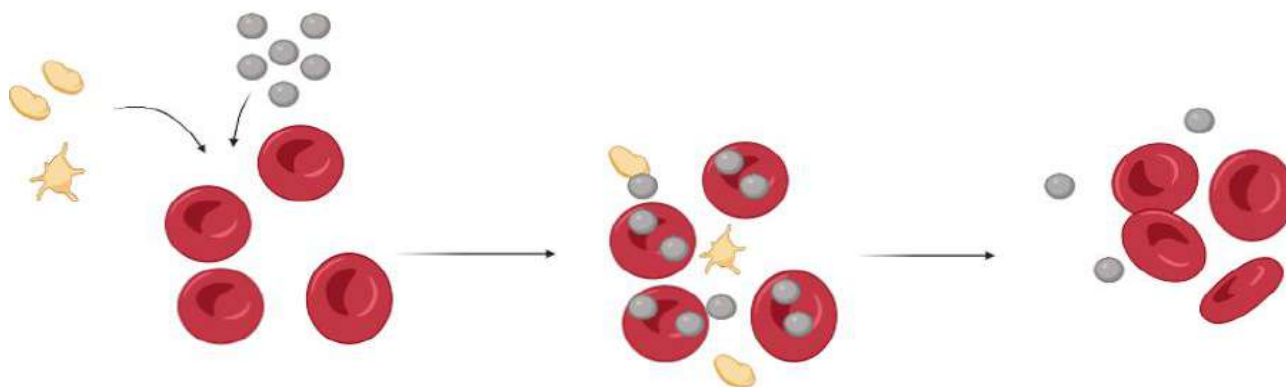


Figure III.42: Effet protecteur des nanoparticules sur les érythrocytes.

III.2.4 Évaluation du facteur de protection solaire (FPS)

Le tableau III. 20 représente les valeurs mesurées du facteur de protection solaire (SPF) pour quatre échantillons différents : ZnONPs, Chitosan-ZnO, Chitosan-ZnO/PVP et Avene® (1 mg/ml), permettant ainsi d'évaluer leur efficacité dans la protection contre les rayons ultraviolets (UV). Les résultats ont montré que les ZnONPs ont enregistré une valeur de $36 \pm 0,44$, tandis que la valeur de Chitosan-ZnO a augmenté pour atteindre $42 \pm 0,17$, indiquant ainsi une amélioration de la protection lorsque l'oxyde de zinc est combiné avec le chitosane. Quant à Chitosan-ZnO/PVP, il a obtenu la

valeur la plus élevée avec $57 \pm 0,86$, surpassant le produit commercial Avene® (1 mg/ml), qui a affiché $53 \pm 0,54$.

Ces résultats peuvent être expliqués en fonction des propriétés physiques et chimiques de chaque formulation. L'oxyde de zinc nanométrique (ZnONPs) agit comme un agent de protection physique principal, absorbant et diffusant les rayons UV grâce à son large spectre d'absorption, notamment dans les régions UVB (280-320 nm) et UVA (320-400 nm). Cependant, les nanoparticules ont tendance à s'agglomérer, ce qui peut réduire leur efficacité en limitant une couverture uniforme de la surface de la peau, expliquant ainsi la valeur relativement faible du SPF pour cet échantillon [181].

L'association du ZnO avec le chitosane (Chitosan-ZnO) améliore l'efficacité de la protection en raison des propriétés physiques et chimiques du chitosane. Ce polymère biodégradable chargé positivement interagit avec la surface de la peau, améliorant ainsi l'adhérence des nanoparticules et réduisant leur agglomération, ce qui favorise une meilleure dispersion du ZnO et entraîne une augmentation du SPF. De plus, le chitosane possède des propriétés antioxydantes qui peuvent aider à atténuer les dommages causés par l'exposition aux UV [182].

L'ajout du PVP (polyvinylpyrrolidone) dans Chitosan-ZnO/PVP a permis d'obtenir la valeur SPF la plus élevée. Cela peut être attribué au rôle du PVP en tant que stabilisant des nanoparticules, réduisant davantage l'agglomération et améliorant leur répartition sur la peau. De plus, il forme une fine couche polymérique qui stabilise le ZnO de manière plus homogène, augmentant ainsi son efficacité d'absorption et de diffusion des rayons UV [183].

Tableau III.20: Résultats de l'évaluation du facteur de protection solaire (FPS)

Échantillon	Facteur de protection solaire (FPS)
ZnONPs	36 ± 0.44
Chitosan-ZnO	$42 \pm 0,17$
Chitosan-ZnO/PVP	57 ± 86
Avene® (1 mg/ml)	$53 \pm 0,54$

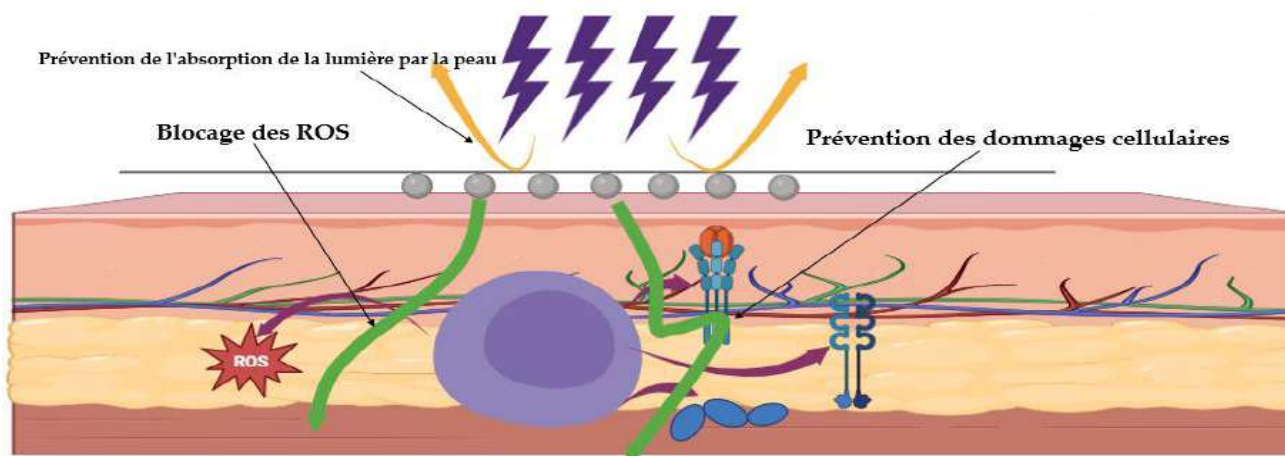


Figure III.43: Mécanisme de protection cutanée par les nanoparticules contre les rayons ultraviolets.

2.5. Activité anti-inflammatoire

Le tableau III 21 représente les valeurs IC₅₀ (en mg/ml) pour l'inhibition de la dénaturation des protéines causée par le stress thermique, en utilisant le test d'inhibition de la dénaturation des protéines de blanc d'œuf pour un ensemble d'échantillons, y compris les nanoparticules d'oxyde de

zinc (ZnONPs), le composé d'oxyde de zinc combiné avec du chitosane (Chitosan-ZnO), le composé d'oxyde de zinc combiné avec du chitosane et du polyvinylpyrrolidone (Chitosan-ZnO/PVP), ainsi que l'échantillon de référence, le Diclofénac (Diclofenac).

Les résultats montrent que le Diclofénac possède la valeur IC_{50} la plus basse ($0,116 \pm 0,023$ mg/ml), ce qui souligne son efficacité élevée dans l'inhibition de la dénaturation des protéines, grâce à son mécanisme d'action qui repose sur l'inhibition des enzymes des protéines inflammatoires (comme la COX-2) et la réduction de la libération des médiateurs inflammatoires [184]. En revanche, l'échantillon ZnONPs a montré la plus faible efficacité parmi les échantillons ($0,827 \pm 0,108$ mg/ml), ce qui peut être attribué à un mécanisme limité basé sur l'interaction directe avec les protéines pour perturber leur activité, une interaction qui peut être moins efficace en l'absence de facteurs de soutien améliorant son activité biologique [185].

Le composé Chitosan-ZnO a montré une amélioration significative de l'efficacité ($0,540 \pm 0,081$ mg/ml), ce qui peut être expliqué par le rôle du chitosane en tant que promoteur d'interaction avec les protéines inflammatoires grâce à sa charge positive, qui facilite l'interaction avec les protéines chargées négativement, augmentant ainsi la capacité du composé à inhiber la dénaturation [433]. L'échantillon Chitosan-ZnO/PVP a montré une efficacité élevée ($0,201 \pm 0,074$ mg/ml), proche de celle du Diclofénac, indiquant un effet synergique entre le ZnO, le chitosane et le PVP. Cet effet expliqué par la capacité du PVP à améliorer la dispersion et la stabilité chimique des nanoparticules, augmentant leur interaction avec les protéines ciblées et renforçant leur capacité à inhiber la dénaturation [186].

Le mécanisme d'action des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONPs) (*Figure III.46*), il repose sur leurs propriétés physiques et chimiques en tant que matériau nanométrique avec une activité catalytique. Les ZnONPs agissent principalement par interaction avec les protéines cibles

[187], provoquant des modifications de leur structure secondaire en formant des liaisons avec les groupes thiol ou amine présents dans les protéines. De plus, les ZnO possèdent une activité antioxydante qui peut réduire le stress oxydatif contribuant à l'inflammation. Cependant, sous leur forme individuelle, les ZnO peuvent manquer de capacité à cibler efficacement les protéines inflammatoires en raison de leur agglomération ou de leur distribution hétérogène dans le milieu [188].

Dans le cas du Chitosan-ZnO, l'ajout de chitosane améliore considérablement le mécanisme d'action. Le chitosane, étant un polymère bioactif chargé positivement, contribue à renforcer l'interaction entre les ZnO et les protéines inflammatoires grâce à une liaison électrostatique accrue avec les protéines chargées négativement. En outre, le chitosane possède des propriétés anti-inflammatoires grâce à sa capacité à réduire la libération de médiateurs inflammatoires tels que les cytokines. Cette interaction combinée entre les ZnO et le chitosane améliore l'efficacité du composé dans l'inhibition de la dénaturation des protéines [189].

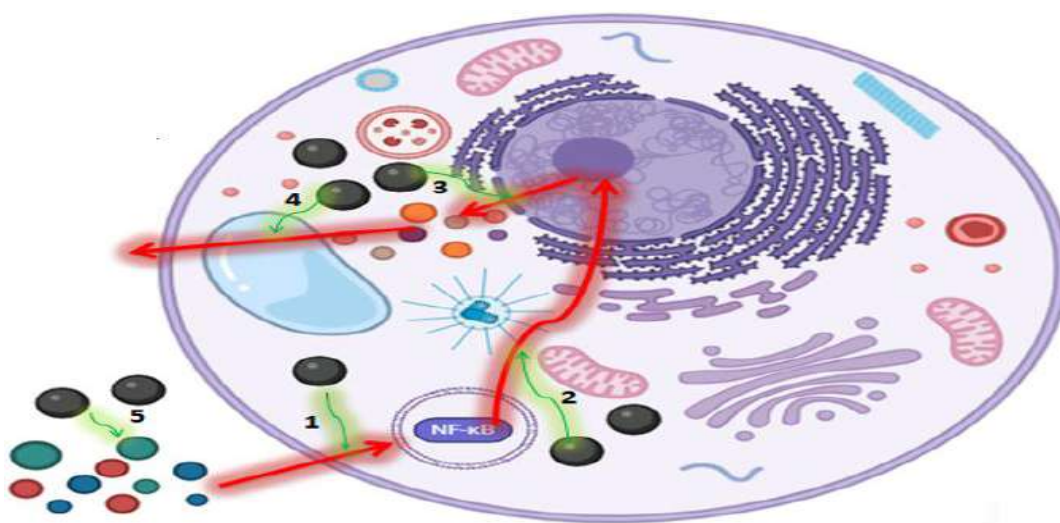


Figure III.44: Mécanisme d'action intracellulaire des nanoparticules et modulation de la voie NF-κB.

L'ajout de PVP dans le composé Chitosan-ZnO/PVP apporte un avantage supplémentaire grâce aux propriétés stabilisantes et dispersantes du PVP. Le PVP réduit l'agglomération des nanoparticules de ZnO, augmentant ainsi la surface active pour l'interaction avec les protéines cibles [190]. De plus, le PVP améliore la solubilité et la diffusion dans le milieu, facilitant l'accès du composé aux sites inflammatoires. L'interaction de ce trio (ZnO, chitosane et PVP) génère un effet synergique, où chaque mécanisme individuel est amplifié, conduisant à une efficacité comparable à celle du composé de référence, le Diclofénac [191].

Tableau III.21: Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Échantillon	Inhibition de la dénaturation des protéines de l'œuf, test IC ₅₀ (mg/mL)
ZnONPs	0,827 ± 108
Chitosan-ZnO	0,540 ± 0,081
Chitosan-ZnO/PVP	0,201 ± 074
Diclofenac	0,116 ± 0,023

III.2.6 Activité antibactérienne

L'étude approfondie de l'activité antibactérienne des composés de chitosane, des nanoparticules de ZnO (ZnONPs), et des complexes de chitosane-ZnO et chitosane-ZnO/PVP révèle des interactions complexes et puissantes contre différentes bactéries, en fonction de leur structure cellulaire et des propriétés uniques de chaque agent antibactérien. Le chitosane, un polymère naturel,

présente une action antibactérienne efficace contre divers types de bactéries, avec une efficacité accrue lorsque sa concentration est plus élevée. Son activité repose sur sa structure chimique, notamment la présence de groupes amines protonés (chargés positivement) qui interagissent avec les composés chargés négativement des membranes cellulaires bactériennes. Ces interactions électrostatiques provoquent une perturbation des membranes cellulaires, entraînant une perméabilité accrue, des fuites de contenu cellulaire, et finalement la mort bactérienne. Ce mécanisme est particulièrement efficace contre les bactéries Gram-négatives qui, en raison de leur fine couche de peptidoglycane et de leur structure externe, sont plus vulnérables à l'action du chitosane [192].

Des recherches antérieures, comme celles menées par [193], ont également montré l'efficacité du chitosane sous diverses formulations. Ces études ont noté qu'un degré de désacétylation (DD) élevé du chitosane augmente sa charge positive, optimisant ainsi son interaction avec les parois cellulaires bactériennes, surtout lorsque le chitosane est utilisé en combinaison avec d'autres composés naturels comme l'huile de Buriti. Une désacétylation plus élevée réduit la présence de groupes acétyles, ce qui renforce la densité de charge positive du chitosane et augmente ainsi ses capacités d'adhésion et de destruction des cellules bactériennes. Ces caractéristiques confèrent au chitosane des propriétés antibactériennes prometteuses, ce qui en fait un candidat idéal pour des applications en santé et en préservation des aliments, entre autres.

En comparaison, les nanoparticules de ZnO se révèlent également être de puissants agents antimicrobiens. Leur efficacité est plus marquée contre les bactéries Gram-positives, dont la paroi cellulaire plus perméable permet une interaction plus directe avec les nanoparticules. Les mécanismes d'action des ZnONPs incluent la libération d'ions Zn (II) dans le milieu, qui perturbent le métabolisme bactérien et provoquent des altérations de la membrane cellulaire. Parallèlement, les ZnONPs génèrent des radicaux libres oxygénés (comme les ions hydroxyles et les radicaux

superoxydes) lorsqu'ils sont exposés à la lumière UV, intensifiant leur capacité à déstabiliser et détruire les structures bactériennes [194]. Ces radicaux libres causent des dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et aux acides nucléiques des cellules bactériennes, les rendant non fonctionnelles et les menant à une destruction rapide. Ce phénomène est particulièrement efficace contre les bactéries Gram-positives telles que *Staphylococcus aureus*, qui, bien qu'ayant une paroi épaisse, ne disposent pas de membrane externe protectrice comme les Gram-négatives.

Le chitosane-ZnO et le chitosane-ZnO/PVP démontrent une activité antibactérienne encore plus prononcée en raison de l'effet synergique entre le chitosane et les ZnONPs. Cette synergie résulte de la combinaison des propriétés de fixation de membrane du chitosane et de l'action oxydative des ZnONPs, offrant ainsi une double action contre les bactéries. La présence de ZnO même en faible quantité dans la matrice de chitosane suffit pour intensifier l'effet antibactérien, probablement en augmentant la densité de charges positives et en facilitant la production de radicaux libres sur la surface du catalyseur [195]. Ces complexes ont démontré une efficacité supérieure, même contre des bactéries résistantes, suggérant une application prometteuse dans des contextes où des solutions antimicrobiennes robustes sont nécessaires.

Enfin, *Staphylococcus aureus*, une bactérie Gram-positive, s'est montrée la plus sensible parmi les souches testées, ce qui peut s'expliquer par des différences dans la structure de la paroi cellulaire et les propriétés des membranes. Les bactéries Gram-positives sont caractérisées par une paroi épaisse mais plus perméable, composée principalement de peptidoglycane, qui ne forme pas de barrière aussi efficace que celle des bactéries Gram-négatives, lesquelles possèdent une membrane externe. Ainsi, dans les Gram-négatives, cette membrane joue un rôle protecteur contre les agents antimicrobiens, et la région périplasmique, qui agit comme une couche de filtration, limite l'accès des agents inhibiteurs. Dans le cas des Gram-positives, la paroi est plus facilement pénétrée par le

chitosane-ZnO et le chitosane-ZnO/PVP, permettant aux agents antibactériens d'atteindre rapidement les cibles intracellulaires, entraînant une action létale rapide [193].

Ces observations montrent clairement que les nanoparticules de chitosane-ZnO et de chitosane-ZnO/PVP sont des agents antibactériens puissants et polyvalents, agissant de manière efficace par des mécanismes combinés qui exploitent les propriétés de chaque composant. Leur potentiel pour des applications biomédicales et environnementales est d'autant plus significatif qu'ils montrent une forte activité antibactérienne sans nécessiter de concentrations élevées, ce qui réduit les risques de toxicité et offre une approche durable dans la lutte contre les infections bactériennes.

Tableau III.22: Zone d'inhibition du chitosane, ZnONPs, chitosane-ZnONPs et du chitosane-ZnO/PVP NPs à différentes doses contre les souches bactériennes étudiées.

	Zone d'inhibition (mm)				
NPs	Conc (mg/ml)	Gram positif		Gram négatif	
		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphulococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
ZnONPs	0.2	14 ± 0.25	17 ± 0.33	13 ± 0.13	12 ± 0.25
	0.4	16 ± 0.21	18 ± 0.25	14 ± 0.54	13 ± 0.25
	0.6	17 ± 0.33	19 ± 0.25	15 ± 0.21	15 ± 0.15
Chitosan-ZnONPs	0.2	14 ± 0.25	21 ± 0.15	14 ± 0.75	15 ± 0.33
	0.4	21 ± 0.25	23 ± 0.66	16 ± 0.34	17 ± 0.66

		0.30			
	0.6	21 ±	24 ± 0.80	18 ± 0.63	19 ± 0.21
		0.30			
Chitosan-ZnO/PVP	0.2	20 ±	22 ± 0.34	16 ± 0.23	18 ± 0.67
		0.39			
	0.4	21 ±	23 ± 0.25	18 ± 0.44	19 ± 0.33
		0.21			
	0.6	22 ±	25 ± 0.21	19 ± 0.21	22 ± 0.39
		0.34			
Ciprofloxacin (CIP-5)	0.2	21 ±	21 ± 0.30	18 ± 0.25	18 ± 0.33
		0.15			
	0.4	22 ±	23 ± 0.13	20 ± 0.25	21 ± 0.17
		0.21			
	0.6	22 ±	25 ± 0.33	22 ± 0.67	24 ± 0.14
		0.73			



Figure III.45: L'effet de l'activité antibactérienne des échantillons préparés

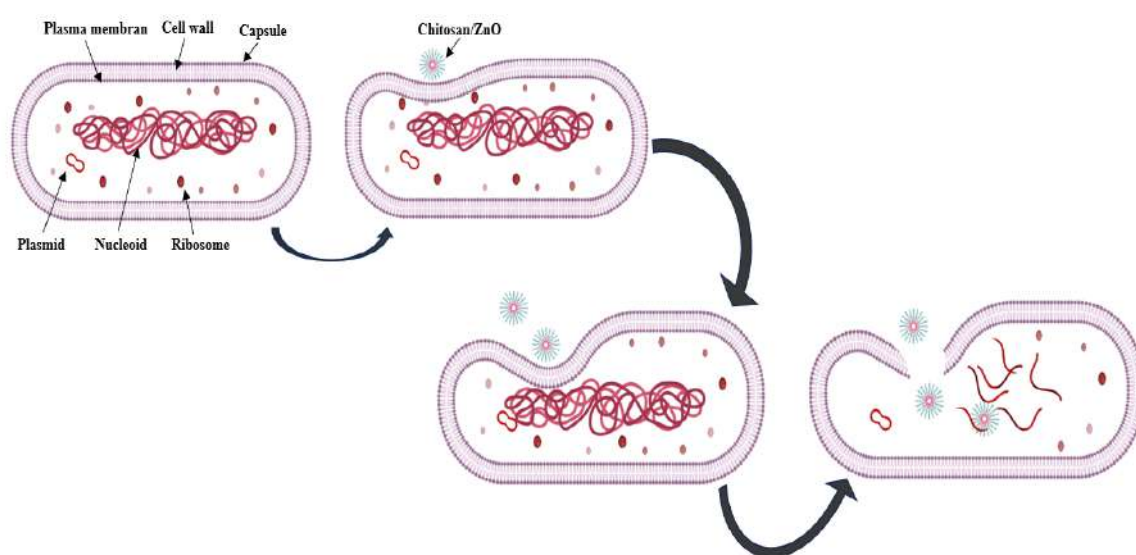


Figure III.46: Le mécanisme probable de l'activité antibactérienne

L'étude actuelle a révélé que l'efficacité antibactérienne du chitosane et des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) correspondait de manière significative aux résultats observés dans des recherches antérieures, confirmant l'efficacité de ces matériaux en tant qu'agents antimicrobiens. Cependant, il a été particulièrement intéressant de constater que l'activité antibactérienne des

nanoparticules d'oxyde de zinc recouvertes de chitosane dépassait les niveaux rapportés dans les études précédentes, comme indiqué dans le tableau III. 22 [196]. Cela montre que l'intégration du chitosane aux nanoparticules de ZnO renforce substantiellement leurs effets bactéricides, aboutissant à une amélioration considérable de l'efficacité antimicrobienne [197].

Ce renforcement de l'efficacité s'explique par l'action synergique entre le chitosane et les nanoparticules de ZnO. Le chitosane, grâce à ses groupes amino chargés positivement, interagit directement avec les parois cellulaires des bactéries, qui sont chargées négativement [198]. Cette interaction électrostatique entraîne une perturbation structurale de la membrane bactérienne, facilitant la pénétration des substances actives dans les cellules et provoquant leur rupture et destruction. Parallèlement, les nanoparticules de ZnO apportent une contribution cruciale grâce à leurs propriétés bactéricides intrinsèques. En effet, sous l'effet de la lumière, ces nanoparticules libèrent des ions Zn (II) et génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le peroxyde d'hydrogène, les radicaux hydroxyles et les ions superoxydes. Ces espèces réactives induisent un stress oxydatif élevé au sein des cellules bactériennes, ce qui entraîne des dommages cellulaires irréversibles et finalement, la mort des bactéries [23].

Il convient de souligner que la combinaison de ces mécanismes est particulièrement efficace contre les deux principaux types de bactéries, à savoir les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Les bactéries Gram-négatives, souvent plus résistantes en raison de leur membrane externe supplémentaire, sont tout de même vulnérables à cette approche. Le chitosane favorise la perméabilité de cette membrane, permettant aux ions et aux ROS produits par le ZnO de pénétrer plus efficacement dans la cellule bactérienne. Cette double attaque, consistant en l'altération de la paroi cellulaire par le chitosane et l'oxydation intracellulaire par le ZnO, maximise l'efficacité de la désinfection [199].

L'utilisation des nanoparticules de ZnO recouvertes de chitosane se révèle être une solution prometteuse pour diverses applications nécessitant des propriétés antibactériennes fortes et durables, telles que la purification des eaux et les dispositifs biomédicaux. L'association de ces matériaux permet de bénéficier à la fois de l'efficacité de l'oxyde de zinc dans la production de ROS et de la capacité du chitosane à cibler et désorganiser la membrane bactérienne, offrant ainsi une stratégie antibactérienne puissante et polyvalente [23].

Tableau III.23: Comparaison de l'activité antibactérienne du chitosane, des nanoparticules de ZnO et des nanoparticules de chitosane-ZnO par rapport aux données de la littérature.

NPs	Zone d'inhibition (mm)				Ref.
	Conc (mg/ml)	Gram negative		Gram positif	
		<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Staphulococcus Aureus</i>	<i>Listeria Innocua</i>	
Chitosan	6	19	7	6	[453]
Chitosan	6	22	14	11	[453]
ZnONPs	6	16	14	22	[452]
ZnONPs	6	13	16	19	[452]
Chitosan- ZnONPs	0.04	-	11	-	[460]
Chitosan- ZnONPs	0.008	0	0	0	[430]

III.2.7 Activités antifongiques

Selon les résultats présentés dans le tableau III. 24 l'activité antifongique des échantillons ZnONPs, Chitosan-ZnONPs et Chitosan-ZnO/PVP a été évaluée en comparaison avec la référence Ciprofloxacine (CIP-5) contre les champignons *Candida albicans* et *Saccharomyces ce revisiae*. Pour ZnONPs, l'activité la plus faible a été enregistrée contre *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de $(9 \pm 0,34 \text{ mm})$ à une concentration de 1 mg/mL augmentant , progressivement jusqu'à $(10,5 \pm 0,78 \text{ mm})$ à une concentration de 10 mg/mL . Contre *Saccharomyces ce revisiae*, l'activité était légèrement meilleure, avec une zone d'inhibition de $(10,5 \pm 0,11 \text{ mm})$ à la concentration la plus basse et $(13 \pm \text{ mm})$ à la 0,17 concentration la plus élevée. Enrevanche, les Chitosan-ZnONPs ont montré une activité supérieure à celle des ZnONPs, avec une zone d'inhibition de $(11 \pm 0,67 \text{ mm})$ contre *Candida albicans* à 1 mg/mL et de $(12,5 \pm 0,78 \text{ mm})$ à 10 mg/mL Contre . *Saccharomyces ce revisiae*, l'activité était également plus élevée, allant de $(15 \pm 0,21 \text{ mm})$ à $(17 \pm 0,67 \text{ mm})$ selon la concentration. Parailleurs, l'échantillon Chitosan-ZnO/PVP a montré la meilleure activité parmi les trois échantillons, avec une zone d'inhibition contre *Candida albicans* de $(14 \pm 0,17 \text{ mm})$ à 1 mg/mL et de $(16 \pm 0,27 \text{ mm})$ à 10 mg/mL tandis que contre *Saccharomyces ce revisiae*, les zones d'inhibition étaient respectivement de $(17 \pm 0,34 \text{ mm})$ et $(19,5 \pm 0,19 \text{ mm})$. Enfin, la référence Ciprofloxacine (CIP-5) a montré une activité nettement supérieure, avec des zones d'inhibition contre *Candida albicans* de $(13,5 \pm 0,21 \text{ mm})$ à 1 mg/mL et de $(17 \pm 0,67 \text{ mm})$ à 10 mg/mL et , contre *Saccharomyces ce revisiae*, des valeurs de $(19 \pm 0,27 \text{ mm})$ et $(22 \pm 0,33 \text{ mm})$ aux mêmes concentrations.

L'effet des ZnONPs repose sur la production d'espèces réactives de ,l'oxygène (ROS) telles que les radicaux libres et l'oxygène singulet, qui entraînent la perturbation des protéines et des membranes cellulaires des champignons. Ces nanoparticules interagissent de manière limitée avec la

paroi cellulaire des champignons, ce qui provoque une perméabilité accrue et des dommages cellulaires. Cependant, cet effet reste modéré en l'absence de facteurs supplémentaires pour améliorer l'interaction d'absorption ou les interactions directes [200]. Dans l'échantillon Chitosan-ZnONPs, une synergie évidente se produit entre les ZnO et le chitosane, ce dernier jouant un rôle clé dans l'amélioration de l'activité antifongique. Chargé positivement, le chitosane attire les parois cellulaires des champignons chargées négativement, entraînant une perturbation de la membrane cellulaire et une augmentation de sa perméabilité [201]. De plus, l'effet des ROS générés par les ZnO devient plus efficace grâce aux interactions physico-chimiques induites par le chitosane, ce qui explique une activité antifongique plus élevée par rapport aux ZnONPs seuls [202]. L'ajout de PVP (polyvinylpyrrolidone) au système Chitosan-ZnO/PVP a permis une meilleure distribution des ZnONPs et du chitosane, augmentant ainsi leurs interactions avec les cellules fongiques. Le PVP agit comme un stabilisant pour les nanoparticules, garantissant une meilleure dispersion et empêchant leur aggrégation [203]. Cette distribution optimisée améliore l'absorption des ZnO et du chitosane à la surface des champignons, augmentant l'efficacité globale. En outre, le PVP peut renforcer la pénétration de la paroi cellulaire des champignons, ce qui explique l'activité la plus élevée parmi les échantillons [204]. Quant à la ciprofloxacine, elle agit comme référence avec un mécanisme efficace ciblant directement l'ADN des cellules fongiques en inhibant des enzymes telles que la DNA gyrase et la topoisomérase IV, ce qui empêche la réplication de l'ADN et bloque complètement la croissance des cellules fongiques. La supériorité de cette référence reflète la nature ciblée et spécifique de son mécanisme d'action par rapport aux nanoparticules [204].

Tableau III.24: Résultats de l'activité antifongique

NPs	Zone d'inhibition (mm)		
	Conc (mg/mL)	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
ZnONPs	1	9 ± 0,34	10,5 ± 0,11
	5	10 ± 0.17	12 ± 0.33
	10	10,5 ± 0,78	13 ± 0,17
Chitosan- ZnONPs	1	11 ± 0.67	15 ± 0.21
	5	12 ± 0,33	17 ± 0,68
	10	12,5 ± 0.78	17 ± 0.67
Chitosan- ZnO/PVP	1	14 ± 0,17	17 ± 0,34
	5	14,5 ± 0.81	18 ± 0.54
	10	16 ± 0,27	19,5 ± 0,19
Ciprofloxacin (CIP-5)	1	13,5 ± 0.21	19 ± 0.27
	5	15 ± 0,34	21 ± 0,73
	10	17 ± 0.67	22 ± 0.33

III.2.8. Dégradation photocatalytique des colorants MB et TB

III.2.8.1. Discussion des résultats

La dégradation photocatalytique des colorants bleu de méthylène (MB) et bleu de toluidine (TB) (Figure III.47 et 48) constitue une méthode efficace pour éliminer les colorants synthétiques des eaux usées. L'adsorption des colorants sur des photocatalyseurs, comme le chitosane et les

nanoparticules de ZnO, est un mécanisme clé dans ce processus. Le chitosane, avec sa haute fonctionnalité en groupes amino, favorise les interactions avec les molécules de MB et TB par le biais de liaisons covalentes, électrostatiques et hydrogènes. Cette capacité d'adsorption est renforcée par un degré élevé d'acétylation du chitosane, son greffage ou son réticulage avec d'autres polymères, ce qui améliore ses propriétés d'adsorption et sa résistance aux conditions sévères des milieux. Un facteur essentiel à cet égard est le degré de désacétylation (DD) du chitosane : plus il est élevé, plus la capacité d'adsorption est importante [192].

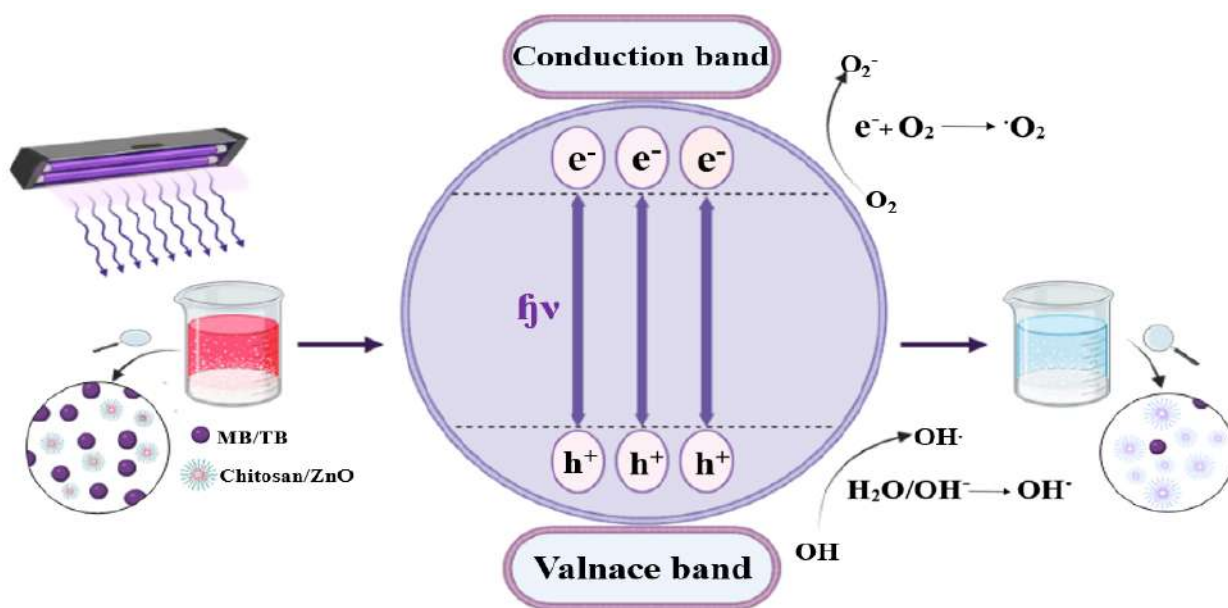


Figure III.47: Le diagramme illustrant le mécanisme par lequel ZnONPs sont utilisées pour photodégrader les colorants MB et TB

Dans les résultats de cette étude, l'efficacité des nanoparticules de ZnO, des nanoparticules de chitosane-ZnO et du composite chitosane-ZnO/PVP a été mesurée pour la dégradation du MB, atteignant respectivement 97,4 %, 99,6 % et 100 % en l'espace de 120 minutes, comme indiqué dans le tableau 28 et la figure 44. Pour le TB, l'efficacité de dégradation des colorants était également très élevée, avec des valeurs de 96,8 %, 99,5 % et 100 %, respectivement, après 120 minutes, selon le tableau III. 25.

Le tableau III. 25 met en comparaison l'efficacité du chitosane et des nanoparticules de ZnO pour éliminer les colorants azoïques provenant de diverses sources. Lorsque les nanoparticules de ZnO sont exposées à la lumière, elles peuvent décomposer certaines molécules chimiques nocives, grâce à leurs propriétés photocatalytiques. L'efficacité de ce processus dépend des caractéristiques des nanoparticules de ZnO et de la nature des espèces actives générées dans le milieu réactionnel. Pour étudier le rôle potentiel de différentes espèces actives dans la photodégradation des colorants azoïques, des tests de piégeage de radicaux ont été réalisés. Ces tests ont montré que la dégradation des colorants azoïques en présence de lumière implique plusieurs substances. Cependant, dans le cadre de cette étude, aucun piègeur extrême n'a été utilisé ; seuls des polluants organiques modèles, à savoir les colorants MB et TB, ont été évalués pour leur activité photocatalytique lorsque les nanoparticules de ZnO sont exposées aux rayons UV [205].

Les colorants MB et TB sont connus pour leur toxicité, leur potentiel cancérigène et leur non-biodégradabilité, ce qui soulève de graves préoccupations pour la santé humaine et l'environnement. Par conséquent, le développement de méthodes efficaces et écologiques pour leur dégradation et leur élimination des eaux usées est d'une importance capitale. En particulier, la dégradation photocatalytique est recommandée en raison de son potentiel pour une minéralisation complète des pigments en espèces non toxiques et de ses coûts de traitement considérablement réduits. En

comparant les concentrations de MB ou de TB dans la solution aqueuse après les tests de photolyse, les chercheurs peuvent évaluer l'efficacité de l'adsorption [387].

Le processus photocatalytique a été déclenché par l'utilisation de lumière UV, qui a permis de réduire les colorants de manière catalytique. L'efficacité de dégradation photocatalytique des deux colorants a été calculée à l'aide de l'équation suivante [453].

$$\text{Degradation ratio (\%)} = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100$$

Où C_t est la concentration actuelle et C_0 est la concentration initiale de MB ou TB.

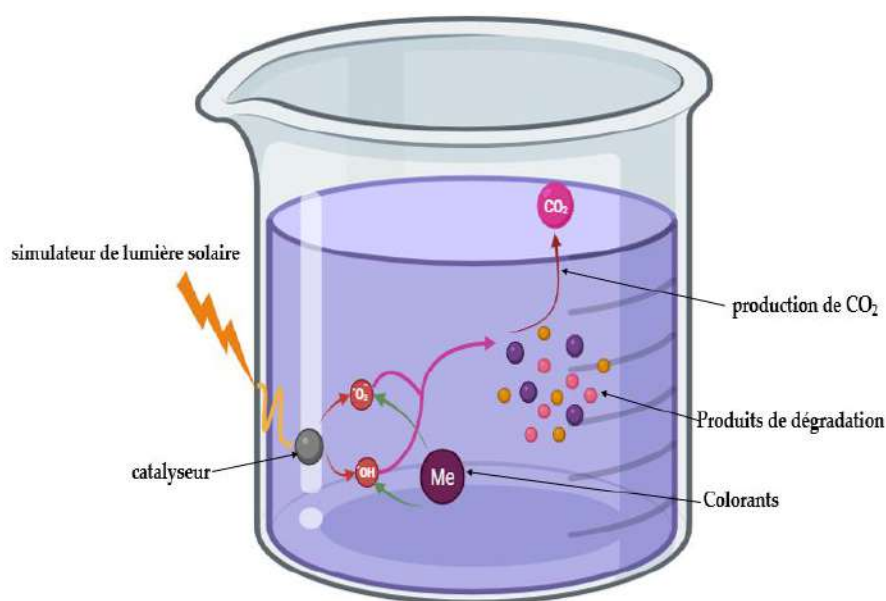


Figure III.48: Schéma du mécanisme photocatalytique de dégradation des colorants sous irradiation lumineuse.

2.8.2. Mécanisme de dégradation photocatalytique

Tableau III.25: Comparaison des résultats d'efficacité d'élimination des colorants MB et TB en utilisant du chitosane, des nanoparticules de ZnO, des nanoparticules de chitosane-ZnO et du chitosane-ZnO/PVP

NPs	Colorant azoïque	Temps (min)	Enlèvement de colorant	Reference
Chitosan	Bleu de méthylène	60	93.2%	[469]
Chitosan	Bleu de méthylène	60	84.9%	[468]
Chitosan	Rouge de méthyl	60	90.9%	[470]
ZnONPs	Bleu de méthylène	120	78%	[471]
ZnONPs	Bleu de méthylène	90	87.5%	[472]
ZnONPs	Bleu de méthylène	120	97%	[466]
ZnONPs	Bleu de méthylène	120	97.4%	Cette étude
	Bleu de toluidine		96.8%	
Chitosan-ZnONPs	Bleu de méthylène	120	99.6%	Cette étude
	Bleu de toluidine		99.46%	
Chitosan-ZnO/PVP	Bleu de méthylène	120	100%	Cette étude
	Bleu de toluidine		100%	

2.8.3. Performance de Recyclage

L'efficacité d'un photocatalyseur dans le traitement des eaux usées est étroitement liée à sa capacité à être séparé et réutilisé, ce qui est essentiel pour garantir une application durable et économique dans la dépollution. Dans cette étude, les photocatalyseurs ZnO, Chitosan-ZnO et Chitosan-ZnO/PVP ont été soumis à des cycles de photocatalyse après un processus de séchage. Cela a été fait afin d'évaluer leur recyclabilité, un facteur déterminant dans l'optimisation des processus de traitement des eaux.

Les résultats obtenus, présentés dans les Figures III.50 (50e, 50j, 50o) pour le colorant méthylène bleu (MB) et dans les Figures III. 49 (49e, 49j, 49o) pour le bleu de thiazine (TB), montrent une performance remarquable des photocatalyseurs au cours des cycles successifs. Au début, les photocatalyseurs ont démontré une grande efficacité dans la dégradation des colorants, ce qui indique leur capacité à activer les réactions photocatalytiques de manière optimale. Cependant, après dix cycles, une légère diminution de l'activité photocatalytique a été observée.

Cette réduction de l'efficacité peut être attribuée à plusieurs facteurs. D'une part, il est possible que l'usure des photocatalyseurs se soit produite durant les étapes de centrifugation et de lavage, où les particules peuvent perdre une partie de leur masse ou de leur surface active. D'autre part, l'adsorption des espèces intermédiaires formées pendant le processus de dégradation pourrait également entraver l'activité photocatalytique en bloquant les sites actifs sur la surface des photocatalyseurs. Ces espèces intermédiaires, qui sont souvent plus stables que les colorants d'origine, peuvent s'accumuler sur les photocatalyseurs, réduisant ainsi leur efficacité à décomposer d'autres molécules organiques [206].

En outre, les analyses par diffraction des rayons X ont été réalisées pour évaluer la stabilité structurelle des photocatalyseurs après ces cycles. Les résultats montrent que les pics de diffraction

caractéristiques des photocatalyseurs ZnO, Chitosan-ZnO et Chitosan-ZnO/PVP restent inchangés même après dix cycles. Cela indique que la structure cristalline des photocatalyseurs n'a pas été altérée par les traitements subis, ce qui est un point positif car cela signifie que leur intégrité structurale est maintenue, renforçant ainsi leur potentiel pour une utilisation répétée dans des applications de traitement des eaux usées.

Ces observations soulignent non seulement l'efficacité des photocatalyseurs étudiés, mais aussi leur robustesse face aux cycles d'utilisation. La capacité des photocatalyseurs à conserver leur performance au fil du temps est cruciale pour leur application dans la dépollution, car elle permet de réduire les coûts et de favoriser une approche durable dans la gestion des polluants organiques dans l'eau. Les résultats de cette étude suggèrent que l'utilisation de photocatalyseurs à base de ZnO, en combinaison avec le chitosane et le PVP, pourrait représenter une solution viable pour traiter efficacement les eaux polluées tout en respectant des critères de durabilité et de réutilisation.

2.8.4. Effet du pH

L'un des principaux facteurs qui influencent le taux de dégradation de certains polluants organiques est la valeur du pH, car elle détermine les propriétés de charge de surface du catalyseur ainsi que la taille des agrégats qu'il forme [207]. Dans cette étude, les Figures III. 50 (a-o) et 49 (a-o) représentent l'efficacité de photodégradation, le temps de réaction, le pH, les cycles, ainsi que le pourcentage de dégradation des colorants MB et TB après 10 cycles, où les Figures III. 50 et 49 (a-e) correspondent aux NPs de ZnO ; les Figures III.50 et 49 (f-j) concernent les NPs de chitosan-ZnO ; et les Figures III. 59 et 49 (k-o) montrent le chitosan-ZnO/PVP.

L'effet du pH sur la dégradation des colorants MB et TB a été étudié à des valeurs de pH de 3, 5, 7 et 9. La meilleure performance de dégradation des colorants MB et TB a été atteinte à un pH de 3, suivie par un pH de 5, pH de 7 et pH de 9, comme le montre les Figures III. 49 (49c, 49h,

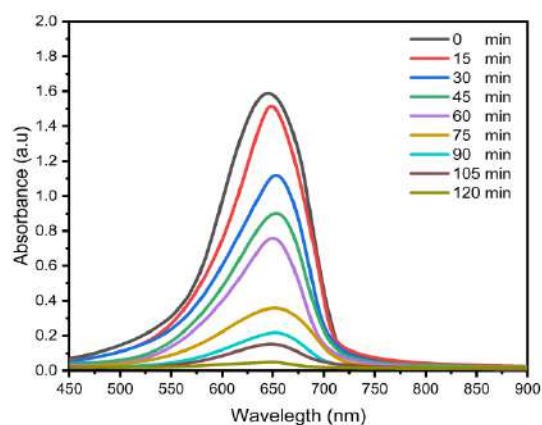
49m) et (50c, 50h, 50m) pour les colorants MB et TB respectivement. À mesure que la valeur du pH augmente, le pourcentage de dégradation des colorants MB et TB diminue. Les oxydes métalliques semi-conducteurs exhibent généralement un comportement amphotérique, ce qui influence les propriétés de charge de surface (pH_{pzc}) du catalyseur lorsque les réactions se produisent à la surface du semi-conducteur [208].

Ainsi, étant donné que MB et TB sont des anions chargés négativement, ils tendent à s'accumuler à la surface des catalyseurs ZnO, Chitosan-ZnO et Chitosan-ZnO/PVP lorsque le pH de la solution est faible. Cela s'explique par le fait que ces catalyseurs sont naturellement chargés positivement à des valeurs de pH inférieures au pH_{pzc} . Cette accumulation se produit parce que l'interaction électrostatique entre les molécules de colorants MB et TB et les catalyseurs ZnO, Chitosan-ZnO et Chitosan-ZnO/PVP augmente, entraînant une dégradation plus rapide des colorants à des valeurs de pH faibles [209].

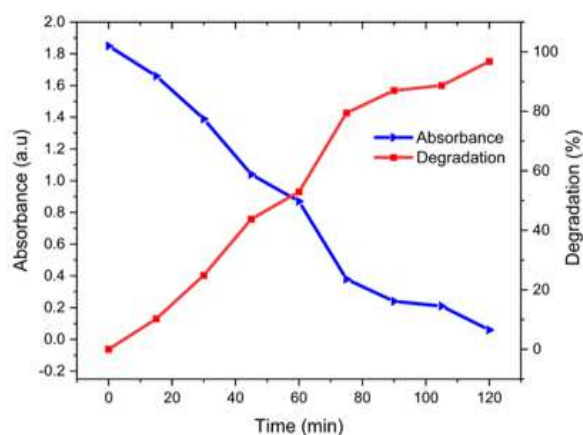
L'importance du pH dans les réactions de dégradation est principalement liée à la nature des interactions électrostatiques. À un pH faible, les surfaces des catalyseurs sont positivement chargées, ce qui attire les anions tels que MB et TB. Cette interaction favorise l'adsorption des colorants sur les surfaces actives des catalyseurs, augmentant ainsi la probabilité de réaction et la dégradation des colorants. En revanche, à des pH plus élevés, la charge des catalyseurs peut devenir neutre ou même négative, réduisant ainsi leur capacité à adsorber les anions, ce qui entraîne une diminution de l'efficacité de dégradation [210].

Les résultats de cette étude soulignent la nécessité de contrôler le pH dans les procédés de dégradation photochimique afin d'optimiser l'efficacité des catalyseurs. L'ajustement du pH peut être un outil stratégique dans le développement de technologies pour la dépollution, permettant

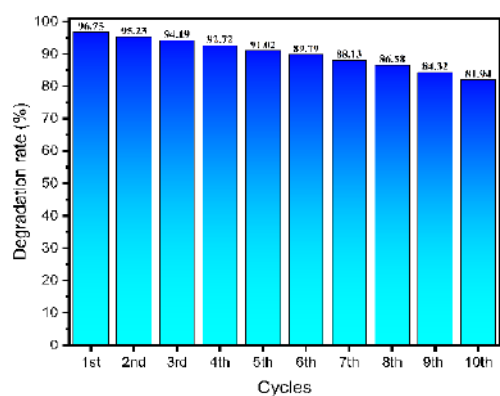
d'améliorer la réactivité des catalyseurs et d'augmenter les taux de dégradation des contaminants organiques dans les eaux usées.



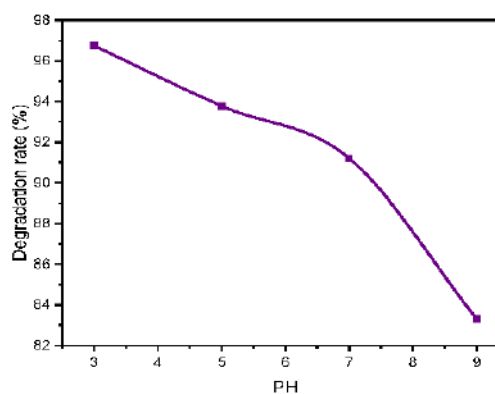
a)



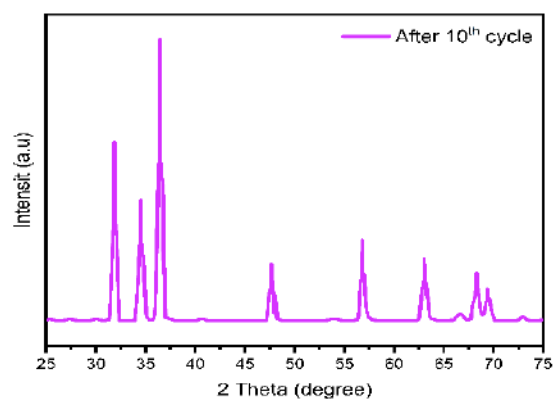
b)



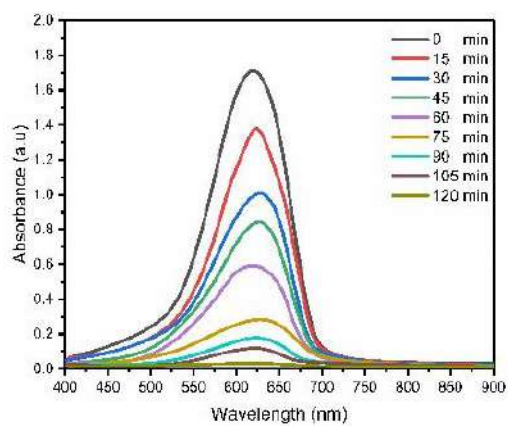
c)



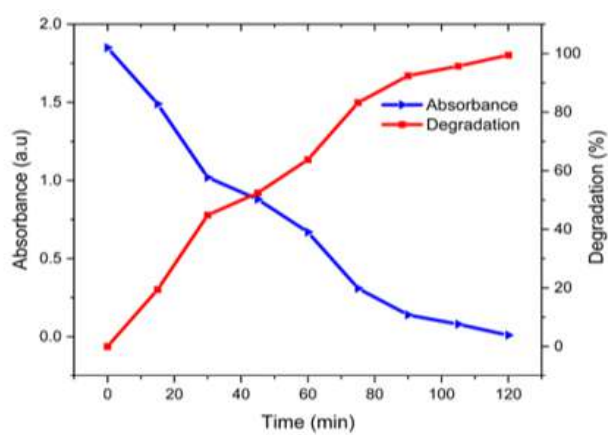
d)



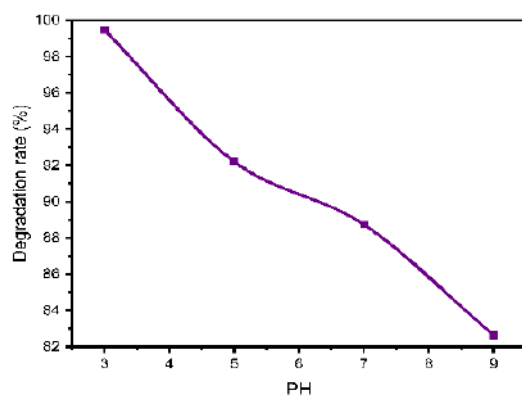
e)



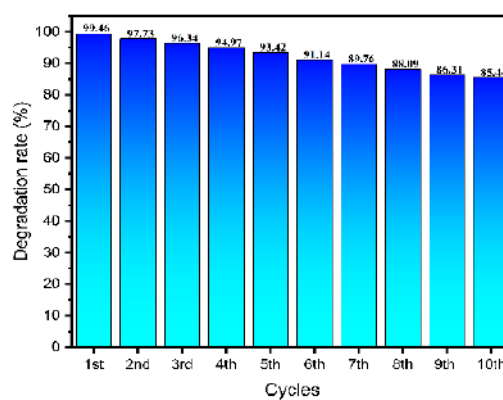
f)



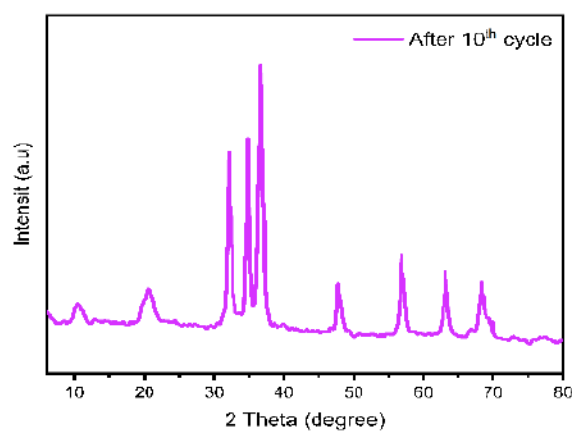
g)



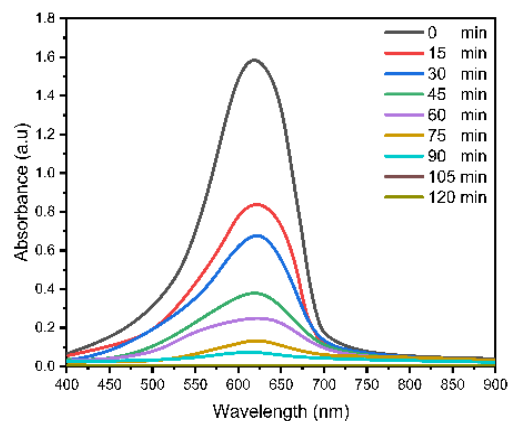
h)



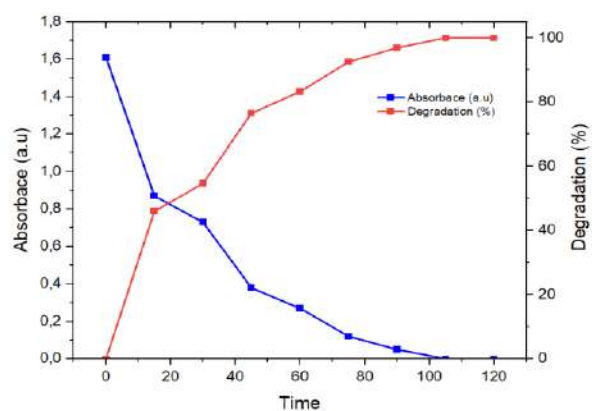
i)



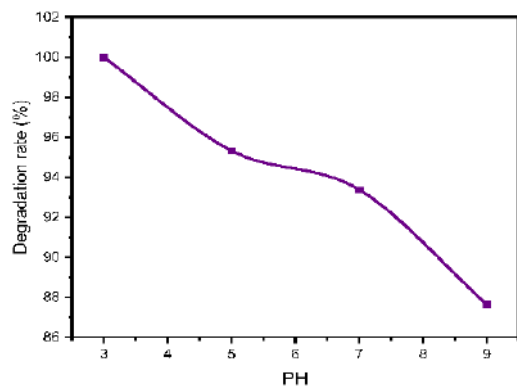
j)



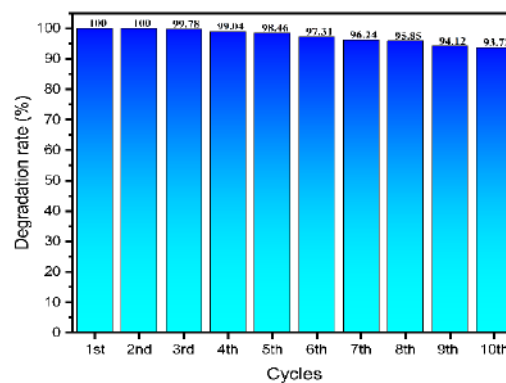
(k)



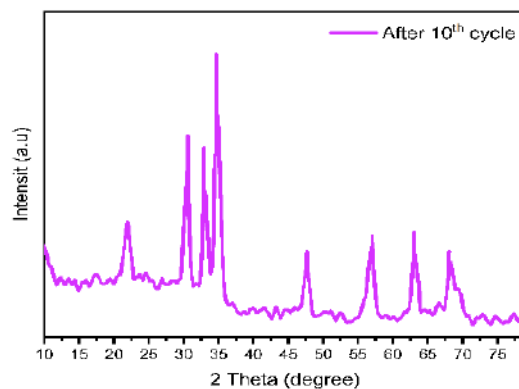
(l)



(m)

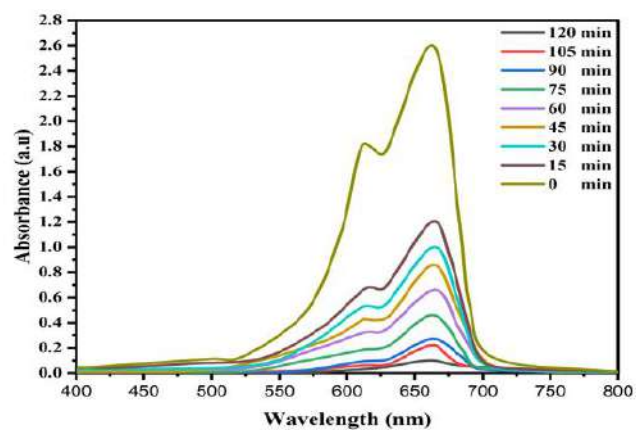


(n)

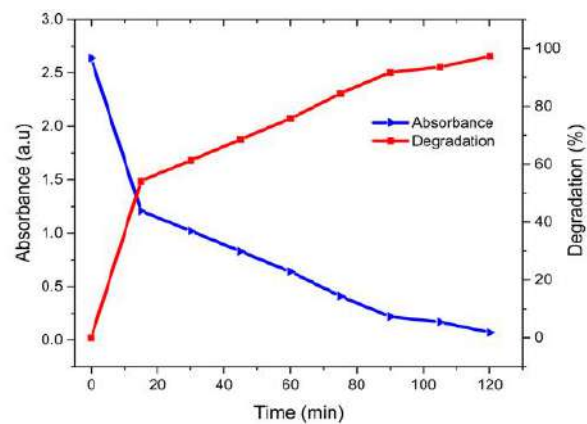


(o)

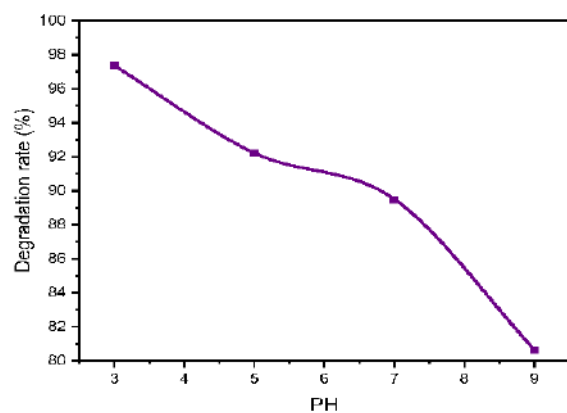
Figure III.49: L'efficacité de photodégradation, temps de réaction, pH, cycles, DRX après 10 cycles et pourcentage de dégradation de colorant bleu de toluidine (TB)(a-e) ZnONPs; (f-j) chitosane-ZnONPs; et (k-o) chitosane- ZnO/PVP NPs



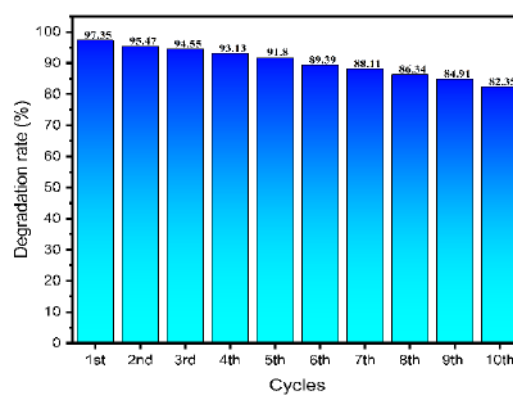
a)



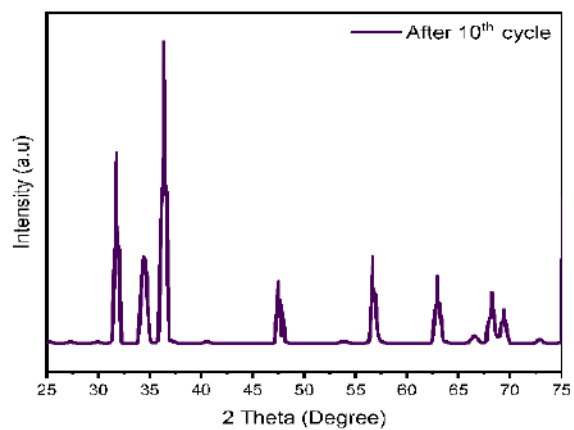
b)



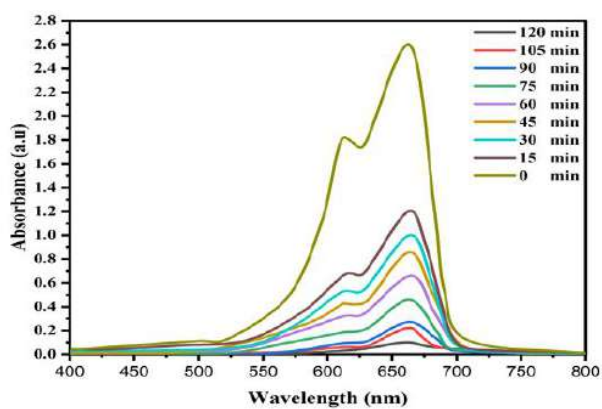
c)



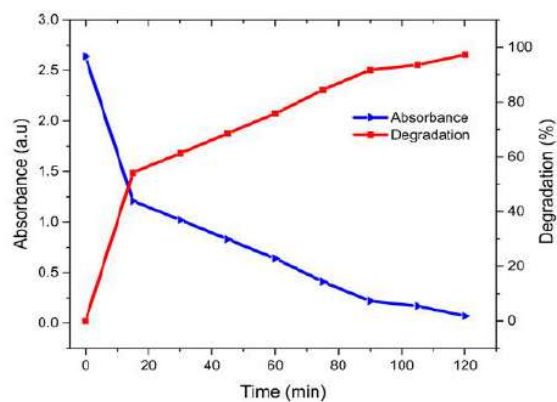
d)



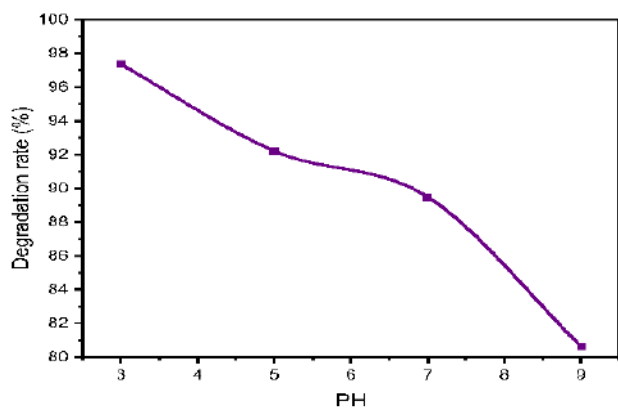
e)



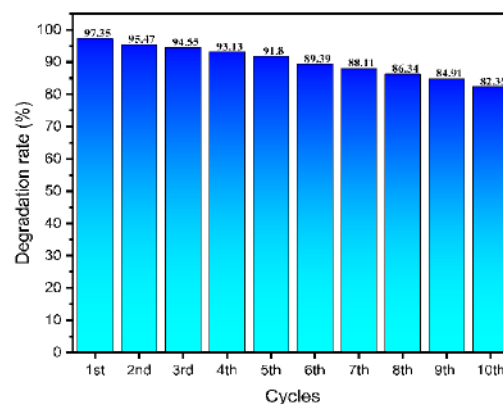
f)



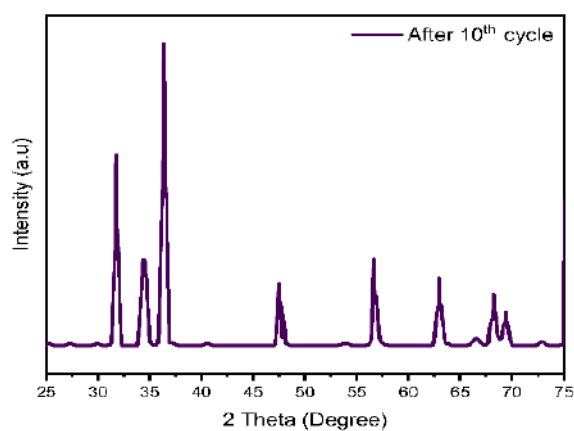
g)



h)



i)



j)

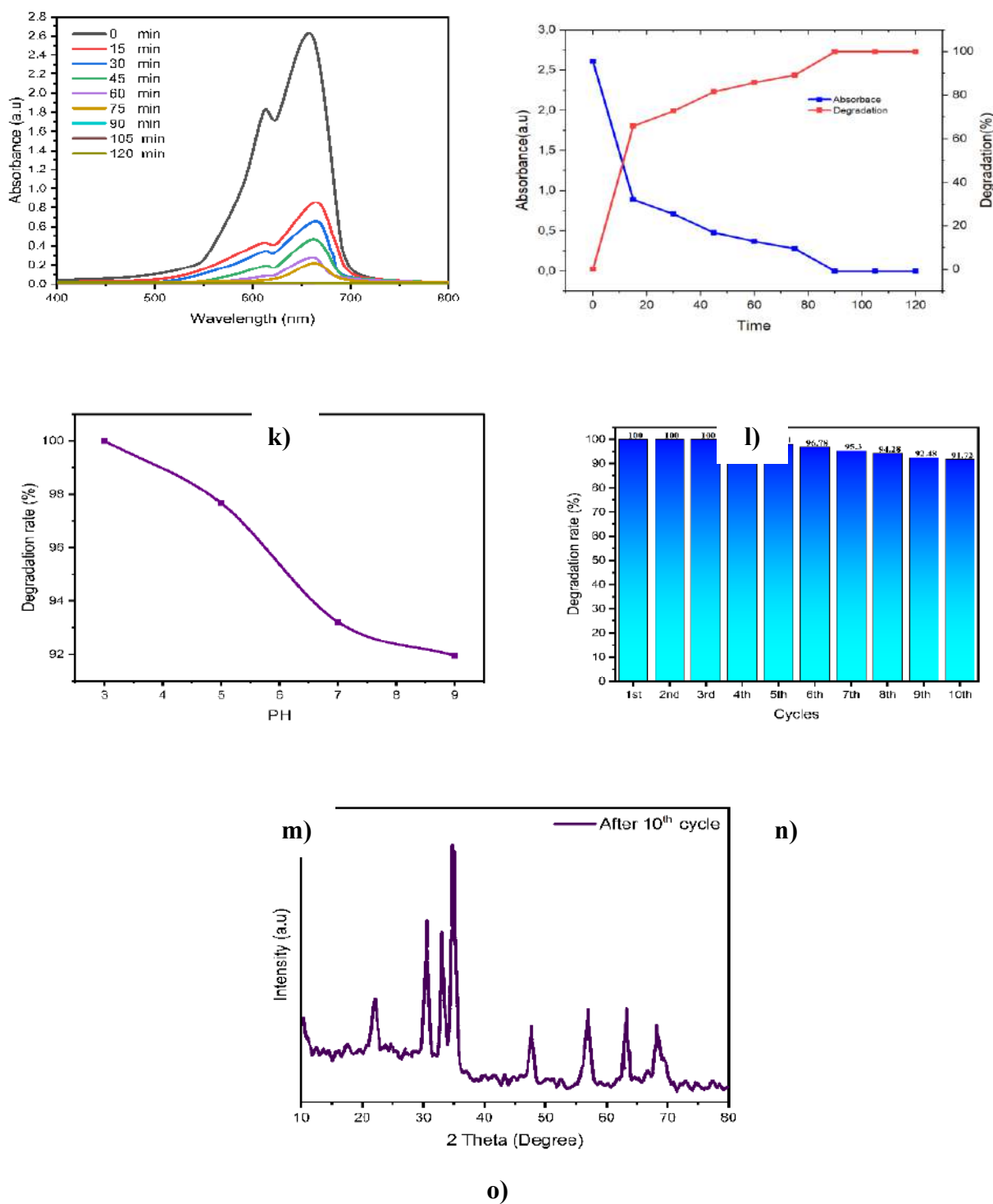


Figure III.50: L'efficacité de la photodégradation, le temps de réaction, le pH, les cycles, le DRX après 10 cycles et le pourcentage de dégradation du colorant bleu de méthylène (MB) e) ZnONPs ; (f-j) chitosane-ZnONPs ; et (k-o) chitosane-ZnO/PVP NPs

III.2.9. Prédications de toxicité spécifique à un organe à l'aide de ProTox II

Les prédictions de toxicité spécifiques aux organes à l'aide de ProTox-II reposent sur une analyse approfondie de divers paramètres toxicologiques, ce qui permet d'obtenir une évaluation *in silico* détaillée du potentiel toxique des substances étudiées. Cette méthode permet de détecter plusieurs types de toxicité, notamment l'hépatotoxicité, la carcinogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité, offrant ainsi une évaluation complète qui va au-delà des analyses de toxicité classiques. Grâce à l'utilisation de voies toxicologiques spécifiques, telles que les récepteurs des hydrocarbures aromatiques (AhR), les récepteurs androgéniques (AR), et le récepteur alpha des œstrogènes (ER), ainsi que des marqueurs de réponse au stress, ProTox-II permet d'identifier les effets potentiels des substances étudiées sur des systèmes biologiques complexes. Cela inclut la réponse cellulaire au stress, mesurée par des indicateurs tels que la protéine ATAD5 et le potentiel de membrane mitochondriale (MMP), qui sont essentiels pour comprendre l'impact des nanoparticules sur les cellules vivantes [139].

Les résultats obtenus, illustrés dans le tableau III. 26 et la figure III. 51, révèlent que les échantillons testés sont classés comme “inactifs” ou “actifs” en fonction de leur potentiel toxique, où “inactif” indique une absence de toxicité significative et “actif” une indication de toxicité potentielle. Cette catégorisation aide à différencier les substances sûres des composés potentiellement dangereux dès les premières phases de l'étude. D'après les évaluations de toxicité, les échantillons analysés ne présentent aucun risque de toxicité spécifique aux organes. Cependant, il est essentiel de noter que, malgré l'utilité de ProTox-II, certaines limites demeurent, telles que la variabilité des prédictions et le manque de fiabilité absolue dans les résultats. Par conséquent, des études *in vitro* et *in vivo* supplémentaires sont nécessaires pour valider et confirmer les effets toxiques réels des substances en conditions expérimentales contrôlées [211]

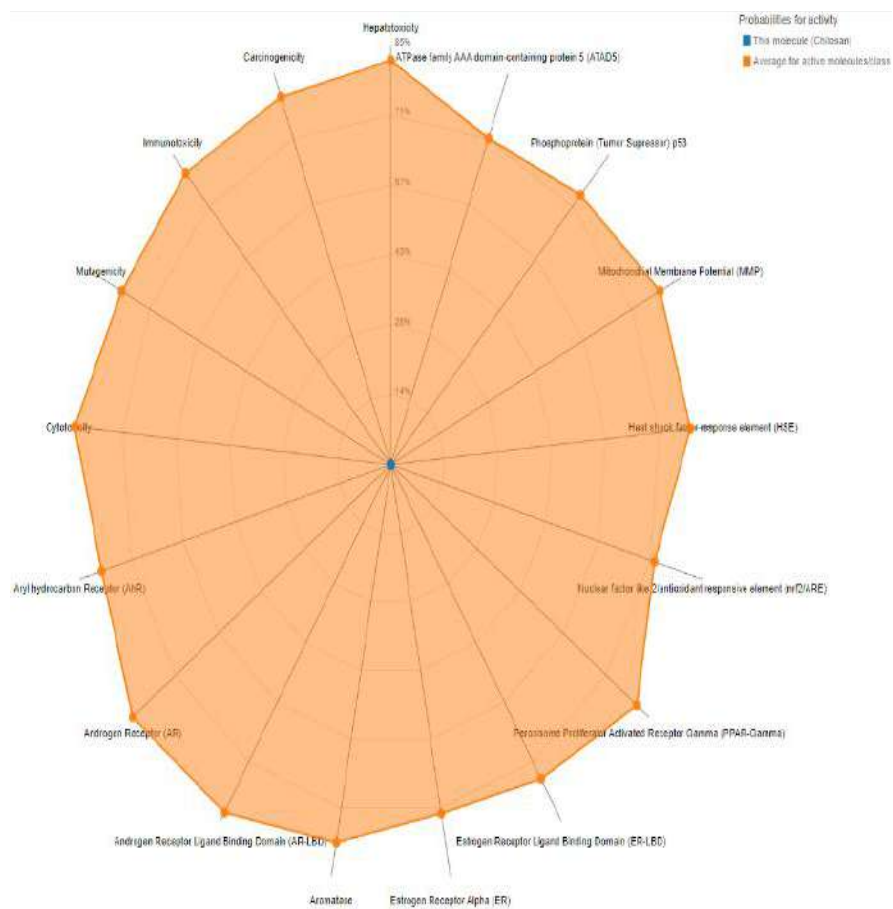
En analysant les différences entre les études in vivo de toxicité et les profils générés par ProTox-II (Tableau III. 27), plusieurs conclusions intéressantes peuvent être tirées concernant la capacité prédictive du modèle pour différents types de toxicité. Les résultats de ProTox-II se montrent souvent en accord avec les résultats expérimentaux, en particulier pour des critères de toxicité tels que la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité. Cette cohérence entre les prédictions in silico et les données expérimentales renforce la crédibilité de ProTox-II comme outil de prédiction fiable dans le domaine de l'évaluation de la sécurité chimique.

Un aspect essentiel de ProTox-II est son approche basée sur des descripteurs moléculaires et des algorithmes d'apprentissage automatique, offrant une plateforme évolutive et adaptable qui peut s'ajuster aux avancées scientifiques. En intégrant des données nouvelles et variées, ProTox-II dispose d'un modèle puissant pour évaluer divers effets toxiques, y compris des paramètres tels que la néphrotoxicité, la neurotoxicité, la génotoxicité et la cardiotoxicité. Les performances actuelles du modèle, qui se traduisent par une précision notable, témoignent de la robustesse de la plateforme. Ces caractéristiques font de ProTox-II un outil prédictif dynamique et en constante amélioration, apte à répondre aux exigences complexes de la découverte de médicaments et de l'évaluation des risques [139].

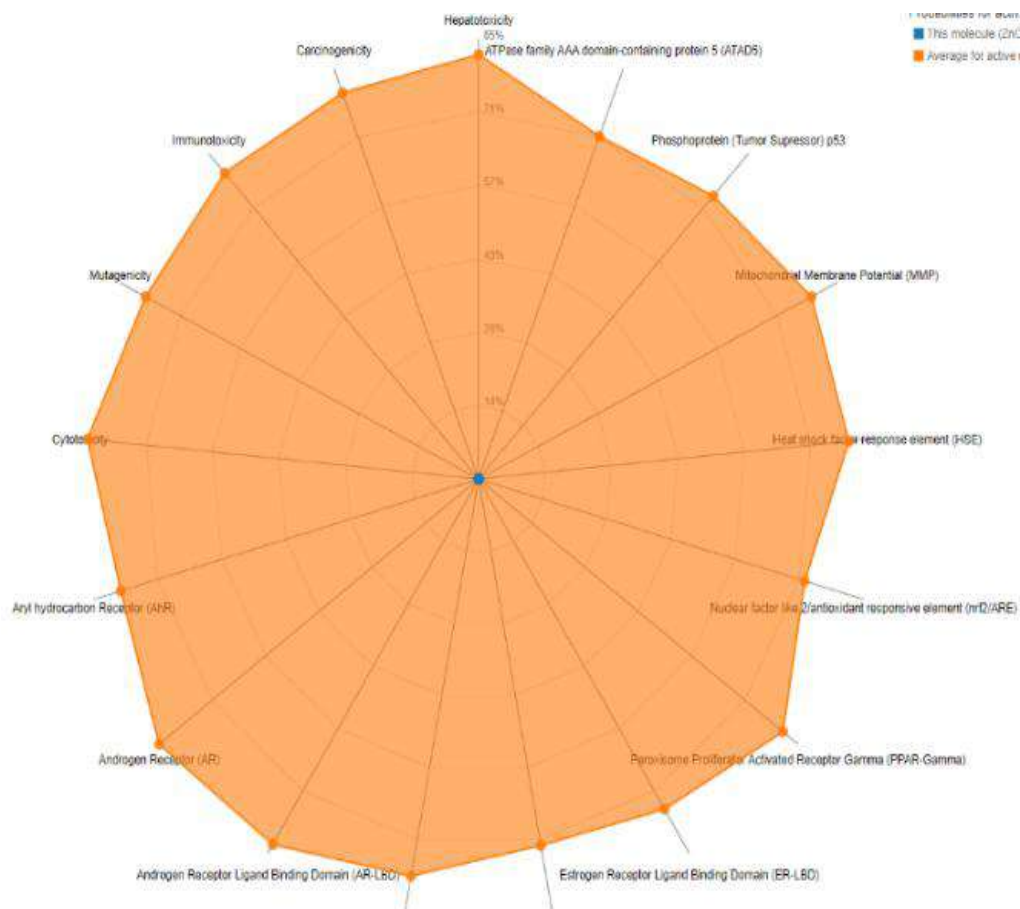
Tableau III.26: Prédictions de toxicité spécifique à un organe à l'aide de ProTox II

Classification	Cible	Chitosan		ZnONPs		Chitosan/ZnO	
		Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité
Toxicité organique	Hépatotoxicité	Inactive	0.74	Inactive	0.97	Inactive	0.97
Paramètres de toxicité	Cancérogénicité	Inactive	0.69	Inactive	0.66	Inactive	0.57
	Immunotoxicité	Inactive	0.83	Inactive	0.99	Inactive	0.99
	Mutagénicité	Inactive	0.62	Inactive	0.59	Inactive	0.85
	Cytotoxicité	Inactive	0.65	Inactive	0.79	Inactive	0.78
Tox21 - Voies de signalisation des récepteurs nucléaires	Récepteur d'hydrocarbures aryliques (AhR)	Inactive	0.97	Inactive	0.97	Inactive	1.0
	Récepteur d'androgènes (AR)	Inactive	0.92	Inactive	1.0	Inactive	1.0
	Domaine de liaison du ligand du récepteur des androgènes (AR-LBD)	Inactive	0.96	Inactive	0.88	Inactive	0.99
	Aromatase	Inactive	0.98	Inactive	0.93	Inactive	0.82
	Récepteur d'œstrogène alpha (ER)	Inactive	0.69	Inactive	0.94	Inactive	0.99
	Domaine de liaison du ligand du récepteur des œstrogènes (ER-LBD)	Inactive	0.94	Inactive	0.86	Inactive	1.0
	Récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR-Gamma)	Inactive	0.99	Inactive	0.86	Inactive	0.99
Tox21 - Voies de	Facteur nucléaire (dérivé des	Inactive	0.98	Inactive	0.79	Inactive	0.99

réponse au stress	érythroïdes 2) de type 2/élément sensible aux antioxydants (nrf2/ARE)						
	Élément de réponse au facteur de choc thermique (HSE)	Inactive	0.98	Inactive	0.79	Inactive	0.99
	Potentiel de membrane mitochondriale (MMP)	Inactive	0.95	Inactive	0.95	Inactive	0.83
	Phosphoprotéine (suppresseur de tumeur) p53	Inactive	0.95	Inactive	0.89	Inactive	0.99
	Protéine 5 contenant le domaine AAA de la famille ATPase (ATAD5)	Inactive	0.98	Inactive	0.88	Inactive	0.99



(a) chitosan



(b) ZnONPs

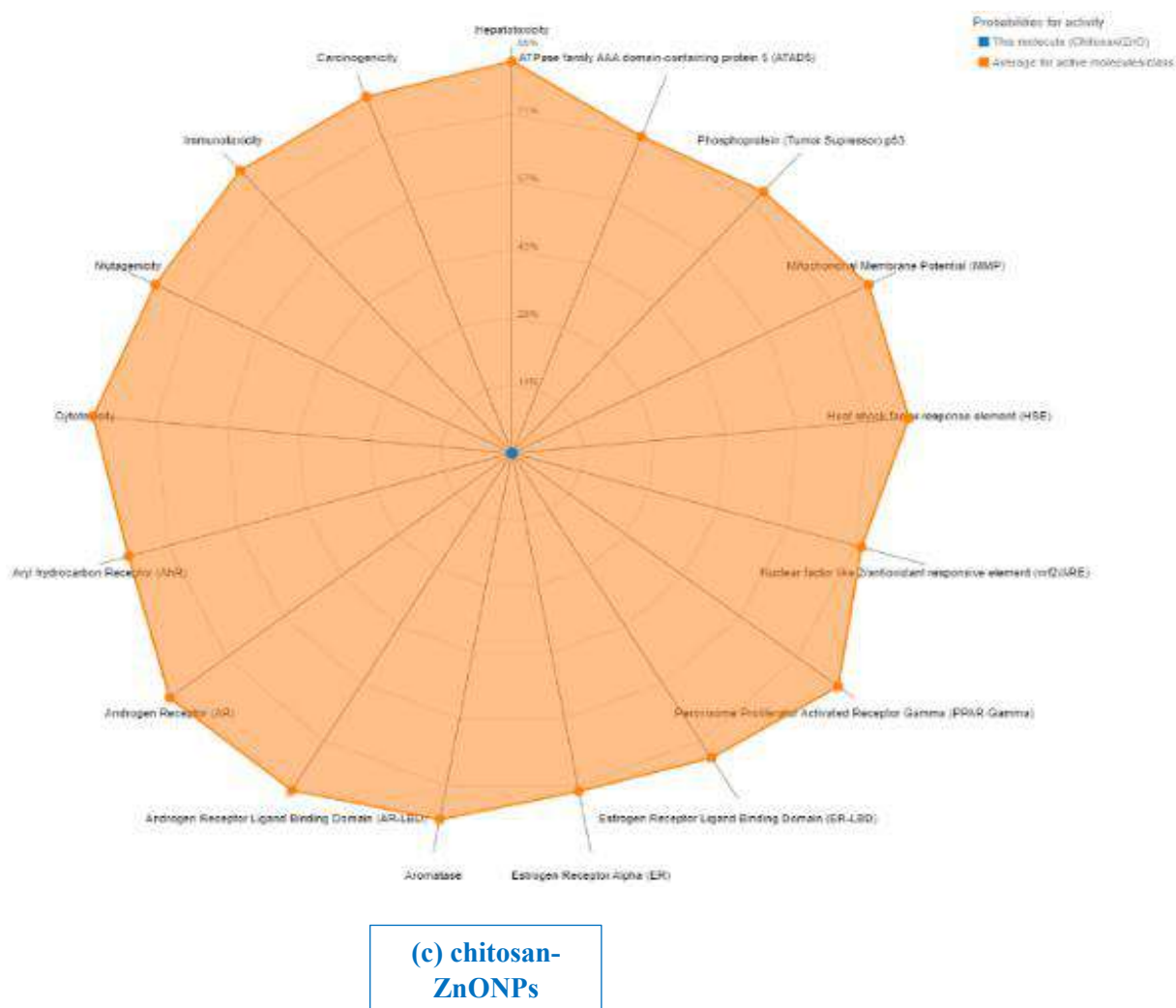


Figure III.51: Analyse de la toxicité spécifique à l'organe (a) du chitosane ; (b) des ZnONPs ; et (c) des chitosane-ZnONPs

Tableau III.27: Comparaison des résultats d'études de toxicité in vivo et prédiction informatique des profils de toxicité des produits chimiques à l'aide de la méthode ProTox-II

Toxicité in vivo			Profils de toxicité des produits chimiques à l'aide de la méthode ProTox-II							
			Cancérogénicité		Immunotoxicité		Mutagénicité		Cytotoxicité	
Composé	Toxicité	Refer	Prédicti on	Prob abilité	Prédicti on	Prob abilité	Prédicti on	Pro bab ilité	Prédicti on	Prob abili té
Isoeugénol	Fort	[478]	Active	0.55	Active	0.85	Inactive	0.97	Inactive	0.85
DNCB (témoin positif)	Extrême ment fort	[479]	Inactive	0.93	Inactive	0.65	Active	0.98	Inactive	0.73
Formaldéhyde	Fort	[480]	Active	0.78	Inactive	0.99	Active	0.83	Inactive	0.82
Paraphénylène diamine	Extrême ment fort	[480]	Inactive	0.85	Inactive	0.99	Active	0.84	Inactive	0.75
Amylcinnamal déhyde	Modéré	[478]	Inactive	0.61	Inactive	0.80	Inactive	0.95	Inactive	0.62
Cinnamaldéhyd e	Modéré	[480]	Inactive	0.71	Inactive	0.98	Active	0.72	Inactive	0.92
Hydroxycitrone llal	Modéré	[478]	Inactive	0.67	Inactive	0.94	Inactive	0.87	Inactive	0.86
Géraniol	Faible	[478]	Inactive	0.76	Inactive	0.99	Inactive	0.97	Inactive	0.86
Alcoolcinnamiq ue	Faible	[478]	Inactive	0.84	Inactive	0.98	Inactive	0.94	Inactive	0.93
Eugénol	Faible	[480]	Inactive	0.73	Inactive	0.83	Inactive	0.97	Inactive	0.90
Acide para- aminobenzoïque (PABA)	Faible	[481]	Inactive	0.62	Active	0.96	Inactive	0.97	Inactive	0.93

Tableau III.28: Résultats des études de toxicité in vivo dans les études précédentes

Compound	Toxicity	Refer
ChitosanNPs	Non toxique	[482]
ChitosanNPs	Non toxique	[483]
ChitosanNPs	Non toxique	[484]
ZnONPs	Non toxique	[485]
ZnONPs	Non toxique	[486]
ZnO-CTS	Non toxique	[486]
ZnO-PEG	Non toxique	[486]

Conclusion:

Pour synthétiser des nanoparticules, plusieurs méthodes sont utilisées, notamment chimiques et physiques. Cependant, ces méthodes ont un impact négatif sur la santé humaine et l'environnement. Il est donc devenu nécessaire de rechercher des méthodes respectueuses de l'environnement. C'est pourquoi les scientifiques s'orientent actuellement vers la synthèse de nanoparticules de manière biologique. Parmi ces méthodes figure l'utilisation d'extraits de plantes comme agent réducteur.

Dans ce travail, nous nous sommes appuyés sur l'extrait de la plante *Solanum nigrum* pour synthétiser des nanoparticules de ZnO. Ces nanoparticules présentaient des formes sphériques, compactées les unes sur les autres, avec un diamètre d'environ 15,3 nm. Le pourcentage de cristallinité était de 85,70 %, et la bande interdite était de 3,48 eV.

Afin d'améliorer leurs propriétés, une nanoparticule a été préparée à partir de chitosane extrait des carapaces de crevettes. L'indice de cristallinité du chitosane était de 74,5 %. Ensuite, des nanoparticules de ZnO ont été incorporées dans la matrice polymère de chitosane, formant des sphères agglomérées plus grandes que les nanoparticules de ZnO seules, avec un diamètre de 27,8 nm, une cristallinité de 78,40 %, et une bande interdite de 3,33 eV.

Par la suite, une nouvelle nanoparticule à base de PVP a été préparée pour améliorer la dispersion du chitosane-ZnO. Ces nanoparticules présentaient un diamètre de 30,1 nm, une cristallinité de 80,20 %, et une bande interdite de 3,20 eV.

Les propriétés biologiques de ces trois nanoparticules ont été étudiées. Les résultats de l'activité antioxydante, mesurés via le test DPPH IC_{50} (mg/ml), étaient respectivement de $(0,095 \pm 0,16)$, $(0,083 \pm 0,39)$ et $(0,061 \pm 0,01)$ pour les nanoparticules de ZnO, le chitosane-ZnO, et le

chitosane-ZnO/PVP. Les résultats du test ABTS IC_{50} (mg/ml) étaient respectivement de $(0,092 \pm 0,09)$, $(0,079 \pm 0,21)$ et $(0,059 \pm 0,11)$.

Les résultats du test TAC étaient de $(287,92 \pm 4,18)$, $(351,20 \pm 2,34)$ et $(367,43 \pm 1,82)$, tandis que ceux du test FRAP étaient respectivement de $(82,11 \pm 1,06)$, $(135,68 \pm 0,78)$ et $(217,24 \pm 3,33)$. Par ailleurs, la capacité des trois nanoparticules a été évaluée dans le test d'hémolyse oxydative, avec des résultats IC_{50} respectifs de $(0,057 \pm 0,01)$, $(0,421 \pm 0,094)$ et $(0,713 \pm 0,088)$.

Leur efficacité a également été évaluée dans le test du facteur de protection solaire (FPS), avec des résultats de $(36 \pm 0,44)$, $(42 \pm 0,17)$ et $(57 \pm 0,86)$ respectivement. En outre, l'activité anti-inflammatoire a été testée, révélant des résultats IC_{50} de $(0,827 \pm 0,108)$, $(0,540 \pm 0,081)$ et $(0,201 \pm 0,074)$ respectivement.

L'activité antibactérienne a également été testée, montrant de très bons résultats pour tous les échantillons, avec une efficacité plus prononcée contre les bactéries Gram-positives. Des résultats similaires ont été observés dans le test d'activité antifongique, où une relation directe entre la concentration des échantillons et l'inhibition des bactéries et des champignons a été constatée.

Ensuite, la dégradation photocatalytique des colorants MB et TB a été étudiée. Les résultats de tous les échantillons ont été excellents, le pourcentage d'élimination des colorants atteignant 100 % avec le chitosane-ZnO/PVP. L'effet du pH a également été étudié, montrant que les meilleurs résultats étaient obtenus à des pH faibles.

Enfin, la toxicité a été évaluée à l'aide de ProTox-II, révélant que les échantillons ne présentaient aucune propriété toxique.

Références:

- [1] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, “Nanotechnology: History and future,” *Hum Exp Toxicol*, vol. 34, no. 12, pp. 1318–1321, 2015.
- [2] F. Sanchez and K. Sobolev, “Nanotechnology in concrete—a review,” *Constr Build Mater*, vol. 24, no. 11, pp. 2060–2071, 2010.
- [3] S. B. Manjunatha, D. P. Biradar, and Y. R. Aladakatti, “Nanotechnology and its applications in agriculture: A review,” *J farm Sci*, vol. 29, no. 1, pp. 1–13, 2016.
- [4] Y. Khan *et al.*, “Classification, synthetic, and characterization approaches to nanoparticles, and their applications in various fields of nanotechnology: A review,” *Catalysts*, vol. 12, no. 11, p. 1386, 2022.
- [5] N. Kulkarni and U. Muddapur, “Biosynthesis of metal nanoparticles: a review,” *J Nanotechnol*, vol. 2014, no. 1, p. 510246, 2014.
- [6] C. L. Keat, A. Aziz, A. M. Eid, and N. A. Elmarzugi, “Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles,” *Bioresour Bioprocess*, vol. 2, pp. 1–11, 2015.
- [7] I. Singh and S. Singh, “Study of algal mediated biosynthesis of nanoparticle: future of green nanotechnology,” *Curr Life Sci*, vol. 5, no. 1, pp. 7–14, 2019.
- [8] A. Negi and K. K. Kesari, “Chitosan nanoparticle encapsulation of antibacterial essential oils,” *Micromachines (Basel)*, vol. 13, no. 8, p. 1265, 2022.
- [9] S. Jarudilokkul, A. Tongthammachat, and V. Boonamnuayvittaya, “Preparation of chitosan nanoparticles for encapsulation and release of protein,” *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 28, pp. 1247–1251, 2011.
- [10] R. Harris, E. Lecumberri, I. Mateos-Aparicio, M. Mengibar, and A. Heras, “Chitosan nanoparticles and microspheres for the encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*,” *CarbohydrPolym*, vol. 84, no. 2, pp. 803–806, 2011.

- [11] H. Sun et al., "Investigating the multiple roles of polyvinylpyrrolidone for a general methodology of oxide encapsulation," *J Am Chem Soc*, vol. 135, no. 24, pp. 9099–9110, 2013.
- [12] J.-O. Nam, J. Kim, S. H. Jin, Y.-M. Chung, and C.-S. Lee, "Microfluidic preparation of a highly active and stable catalyst by high performance of encapsulation of polyvinylpyrrolidone (PVP)-Pt nanoparticles in microcapsules," *J Colloid Interface Sci*, vol. 464, pp. 246–253, 2016.
- [13] P. Kumar, S. Kumar, and N. Thakur, "Azadirachta indica and polyvinylpyrrolidone encapsulated Fe₂O₃ nanoparticles to enhance the photocatalytic and antioxidant activity," *Inorg Chem Commun*, vol. 155, p. 111084, 2023.
- [14] C. P. Coelho, D. C. Gomes, F. A. G. Guilherme, and L. F. Souza, "Reproductive biology of endemic *Solanum melissarum* Boiss (Solanaceae) and updating of its current geographic distribution as the basis for its conservation in the Brazilian Cerrado," *Brazilian Journal of Biology*, vol. 77, pp. 809–819, 2017.
- [15] J. Samuels, "Biodiversity of food species of the Solanaceae family: a preliminary taxonomic inventory of subfamily Solanoideae," *Resources*, vol. 4, no. 2, pp. 277–322, 2015.
- [16] V. V. Shah, N. D. Shah, and P. V. Patrekar, "Medicinal plants from Solanaceae family," *Res J Pharm Technol*, vol. 6, no. 2, pp. 143–151, 2013.
- [17] M. A. Bin Nyeem, A. M. U. Rashid, M. Nowrose, and M. A. Hossain, "*Solanum nigrum* (Maku): A review of pharmacological activities and clinical effects," *IJAR*, vol. 3, no. 1, pp. 12–17, 2017.
- [18] R. Chauhan, K. M. Ruby, A. Shori, and J. Dwivedi, "*Solanum nigrum* with dynamic therapeutic role: A review," *Int. J Pharm Sci Rev Res*, vol. 15, no. 1, pp. 65–71, 2012.

- [19] A. Campisi, R. Acquaviva, G. Raciti, A. Duro, M. Rizzo, and N. A. Santagati, "Antioxidant activities of *Solanum nigrum* L. leaf extracts determined in in vitro cellular models," *Foods*, vol. 8, no. 2, p. 63, 2019.
- [20] T. M. Saleem, C. Chetty, S. Ramkanth, M. Alagusundaram, K. Gnanaprakash, and V. T. Rajan, "S, Angalaparameswari,< i> *Solanum nigrum*</i> Linn," A review, *Pharmacogn. Rev*, vol. 3, pp. 342–345, 2009.
- [21] M. Ammaan and S. Subramanian, "Efficacy of organic manures and biofertilizers on soil microbial count and yield of Black Nightshade (*Solanum nigrum* L.)," *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, vol. 6, no. 7, pp. 1780–1786, 2017.
- [22] P. Singh, "EFFECT OF *SOLANUM NIGRUM* GLYCOALKALOID ON LIVER PROTEIN OF ALBINO RATS.," *International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences*, vol. 7, no. 4, 2017.
- [23] S. A. Ali et al., "Enhancing physical characteristics and antibacterial efficacy of chitosan through investigation of microwave-assisted chemically formulated chitosan-coated ZnO and chitosan/ZnO physical composite," *Sci Rep*, vol. 14, no. 1, p. 9348, 2024.
- [24] S. Xin-Yuan and T. Tian-Wei, "New contact lens based on chitosan/gelatin composites," *J Bioact Compat Polym*, vol. 19, no. 6, pp. 467–479, 2004.
- [25] G. Crini, "Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review," *Bioresour Technol*, vol. 97, no. 9, pp. 1061–1085, 2006.
- [26] S. Chen, M. Liu, S. Jin, and B. Wang, "Preparation of ionic-crosslinked chitosan-based gel beads and effect of reaction conditions on drug release behaviors," *Int J Pharm*, vol. 349, no. 1–2, pp. 180–187, 2008.
- [27] S. Boufas, M. E. H. Benhamza, B. Ben Seghir, and F. Hadria, "Synthesis and Characterization of Chitosan/Carrageenan/Hydroxyethyl cellulose blended gels," *Asian Journal of Research in Chemistry*, vol. 13, no. 3, pp. 209–215, 2020.
- [28] A. I. Khuri and S. Mukhopadhyay, "Response surface methodology," *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat*, vol. 2, no. 2, pp. 128–149, 2010.

- [29] K. Wandelt, Encyclopedia of interfacial chemistry: surface science and electrochemistry. Elsevier, 2018.
- [30] D. Pal and S. Saha, “Current status and prospects of chitosan: Metal nanoparticles and their applications as nanotheranostic agents,” *Nanotheranostics: Applications and Limitations*, pp. 79–114, 2019.
- [31] Z. Khan, “Chitosan capped Au@ Pd@ Ag trimetallic nanoparticles: Synthesis, stability, capping action and adsorbing activities,” *Int J Biol Macromol*, vol. 153, pp. 545–560, 2020.
- [32] S. Firoozi, M. Jamzad, and M. Yari, “Biologically synthesized silver nanoparticles by aqueous extract of *Satureja intermedia* CA Mey and the evaluation of total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity,” *J Nanostructure Chem*, vol. 6, pp. 357–364, 2016.
- [33] C. Qin, J. Gao, L. Wang, L. Zeng, and Y. Liu, “Safety evaluation of short-term exposure to chitooligomers from enzymic preparation,” *Food and chemical toxicology*, vol. 44, no. 6, pp. 855–861, 2006.
- [34] K. Mukherjee, R. Gupta, G. Kumar, S. Kumari, S. Biswas, and P. Padmanabhan, “Synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus clausii* and computational profiling of nitrate reductase enzyme involved in production,” *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, vol. 16, no. 2, pp. 527–536, 2018.
- [35] H. E. Hansen, F. Seland, S. Sunde, O. S. Burheim, and B. G. Pollet, “Two routes for sonochemical synthesis of platinum nanoparticles with narrow size distribution,” *Mater Adv*, vol. 2, no. 6, pp. 1962–1971, 2021.
- [36] A. Abedini, A. R. Daud, M. A. Abdul Hamid, N. Kamil Othman, and E. Saion, “A review on radiation-induced nucleation and growth of colloidal metallic nanoparticles,” *Nanoscale Res Lett*, vol. 8, pp. 1–10, 2013.
- [37] G. R. Nasretdinova et al., “Electrochemical synthesis of silver nanoparticles in solution,” *Electrochemcommun*, vol. 50, pp. 69–72, 2015.

- [38] A. Bonyáret et al., “Investigation of the performance of thermally generated gold nanoislands for LSPR and SERS applications,” *Sens Actuators B Chem*, vol. 255, pp. 433–439, 2018.
- [39] H. Kang et al., “Stabilization of silver and gold nanoparticles: preservation and improvement of plasmonic functionalities,” *Chem Rev*, vol. 119, no. 1, pp. 664–699, 2018.
- [40] H. Huang, Q. Yuan, and X. Yang, “Preparation and characterization of metal–chitosan nanocomposites,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 39, no. 1–2, pp. 31–37, 2004.
- [41] L. Sun, J. Li, J. Cai, L. Zhong, G. Ren, and Q. Ma, “One pot synthesis of gold nanoparticles using chitosan with varying degree of deacetylation and molecular weight,” *Carbohydr Polym*, vol. 178, pp. 105–114, 2017.
- [42] S. M. O’Malley, *Computational methods for contrast-enhanced intravascular ultrasound sequence analysis*. University of Houston, 2007.
- [43] N. Baig, I. Kammakakam, and W. Falath, “Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges,” *Mater Adv*, vol. 2, no. 6, pp. 1821–1871, 2021.
- [44] B. PJA, “The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC,” *Part Fibre Toxicol*, vol. 3, pp. 1186–1221, 2006.
- [45] R. A. Sheldon, “Enzyme immobilization: the quest for optimum performance,” *Adv Synth Catal*, vol. 349, no. 8-9, pp. 1289–1307, 2007.
- [46] C. Buzea, I. I. Pacheco, and K. Robbie, “Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity,” *Biointerphases*, vol. 2, no. 4, pp. MR17–MR71, 2007.
- [47] C. W. Bunn, “A comparative review of ZnO materials and devices,” in *Proc. Phys. Soc., London*, 1935, p. 835.

- [48] S. J. Pearton, D. P. Norton, K. Ip, Y. W. Heo, and T. Steiner, "Recent progress in processing and properties of ZnO," *Superlattices Microstruct*, vol. 34, no. 1–2, pp. 3–32, 2003.
- [49] V. A. Coleman and C. Jagadish, "Basic properties and applications of ZnO," in *Zinc oxide bulk, thin films and nanostructures*, Elsevier, 2006, pp. 1–20.
- [50] Ü. Özgüret al., "A comprehensive review of ZnO materials and devices," *J Appl Phys*, vol. 98, no. 4, 2005.
- [51] L. Vayssieres, K. Keis, A. Hagfeldt, and S.-E. Lindquist, "Three-dimensional array of highly oriented crystalline ZnO microtubes," *Chemistry of Materials*, vol. 13, no. 12, pp. 4395–4398, 2001.
- [52] Ü. Özgüret al., "Applied physics reviews," *J Appl Phys*, vol. 98, p. 041301, 2005.
- [53] A. Khalid, R. Khan, M. Ul-Islam, T. Khan, and F. Wahid, "Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds," *CarbohydrPolym*, vol. 164, pp. 214–221, 2017.
- [54] V. V. Makarov et al., "'Green' nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants," *Acta Naturae (англоязычная версия)*, vol. 6, no. 1 (20), pp. 35–44, 2014.
- [55] D. Sharma, S. Kanchi, and K. Bisetty, "Biogenic synthesis of nanoparticles: a review," *Arabian journal of chemistry*, vol. 12, no. 8, pp. 3576–3600, 2019.
- [56] K. Velsankar, S. Sudhahar, G. Parvathy, and R. Kaliammal, "Effect of cytotoxicity and antibacterial activity of biosynthesis of ZnO hexagonal shaped nanoparticles by *Echinochloa frumentacea* grains extract as a reducing agent," *Mater Chem Phys*, vol. 239, p. 121976, 2020.
- [57] A. K. Singh, P. Pal, V. Gupta, T. P. Yadav, V. Gupta, and S. P. Singh, "Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc oxide quantum dots using *Eclipta alba*," *Mater Chem Phys*, vol. 203, pp. 40–48, 2018.

- [58] N. Matinise, X. G. Fuku, K. Kaviyarasu, N. Mayedwa, and M. Maaza, “ZnO nanoparticles via *Moringa oleifera* green synthesis: Physical properties & mechanism of formation,” *Appl Surf Sci*, vol. 406, pp. 339–347, 2017.
- [59] R. M. Tripathi, A. S. Bhadwal, R. K. Gupta, P. Singh, A. Shrivastav, and B. R. Shrivastav, “ZnO nanoflowers: novel biogenic synthesis and enhanced photocatalytic activity,” *J PhotochemPhotobiol B*, vol. 141, pp. 288–295, 2014.
- [60] H. Agarwal, S. V. Kumar, and S. Rajeshkumar, “A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach,” *Resource-Efficient Technologies*, vol. 3, no. 4, pp. 406–413, 2017.
- [61] N. T. Ashley, Z. M. Weil, and R. J. Nelson, “Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation,” *Annu Rev EcolEvol Syst*, vol. 43, no. 1, pp. 385–406, 2012.
- [62] S.-H. Chang, Y.-Y. Lin, G.-J. Wu, C.-H. Huang, and G. J. Tsai, “Effect of chitosan molecular weight on anti-inflammatory activity in the RAW 264.7 macrophage model,” *Int J Biol Macromol*, vol. 131, pp. 167–175, 2019.
- [63] M. Ilveset al., “Topically applied ZnO nanoparticles suppress allergen induced skin inflammation but induce vigorous IgE production in the atopic dermatitis mouse model,” *Part FibreToxicol*, vol. 11, pp. 1–12, 2014.
- [64] B. Klosterhalfen, C. Tons, S. Hauptmann, L. Tietze, F. Offner, and W. Kupper, “Influence of heat shock protein 70 and metallothionein induction by zinc on the release of inflammatory mediators in a porcine model of recurrent endotoxemia,” *BiochemPharmacol*, vol. 52, no. 8, pp. 1201–1210, 1996.
- [65] C. Koechlin-Ramonatxo, “Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires,” *Nutrition clinique et métabolisme*, vol. 20, no. 4, pp. 165–177, 2006.
- [66] J. C. Ozougwu, “The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress,” *International Journal of Research*, vol. 1, no. 8, pp. 1–8, 2016.

- [67] X. Li et al., “Physicochemical characteristics, polyphenol compositions and antioxidant potential of pomegranate juices from 10 Chinese cultivars and the environmental factors analysis,” *Food Chem*, vol. 175, pp. 575–584, 2015.
- [68] J. P. Kehrer and L.-O. Klotz, “Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health,” *Crit Rev Toxicol*, vol. 45, no. 9, pp. 765–798, 2015.
- [69] B. Halliwell, “Free radicals and antioxidants: updating a personal view,” *Nutr Rev*, vol. 70, no. 5, pp. 257–265, 2012.
- [70] D. Valero, S. H. Mirdehghan, M. Sayyari, and M. Serrano, “Vapor treatments, chilling, storage, and antioxidants in pomegranates,” in *Processing and impact on active components in food*, Elsevier, 2015, pp. 189–196.
- [71] J. D. Hayes, A. T. Dinkova-Kostova, and K. D. Tew, “Oxidative stress in cancer,” *Cancer Cell*, vol. 38, no. 2, pp. 167–197, 2020.
- [72] J. Zhou et al., “Advances in the preparation and assessment of the biological activities of chitosan oligosaccharides with different structural characteristics,” *Food Funct*, vol. 12, no. 3, pp. 926–951, 2021.
- [73] D.-H. Ngo, Z.-J. Qian, T.-S. Vo, B. Ryu, D.-N. Ngo, and S.-K. Kim, “Antioxidant activity of gallate-chitooligosaccharides in mouse macrophage RAW264. 7 cells,” *CarbohydrPolym*, vol. 84, no. 4, pp. 1282–1288, 2011.
- [74] T.-K. Eom, M. Senevirathne, and S.-K. Kim, “Synthesis of phenolic acid conjugated chitooligosaccharides and evaluation of their antioxidant activity,” *Environ ToxicolPharmacol*, vol. 34, no. 2, pp. 519–527, 2012.
- [75] S. Pu, J. Li, L. Sun, L. Zhong, and Q. Ma, “An in vitro comparison of the antioxidant activities of chitosan and green synthesized gold nanoparticles,” *CarbohydrPolym*, vol. 211, pp. 161–172, 2019.
- [76] D. Skrajnowska and B. Bobrowska-Korczak, “Role of zinc in immune system and anti-cancer defense mechanisms,” *Nutrients*, vol. 11, no. 10, p. 2273, 2019.

- [77] D. Das, B. C. Nath, and P. Phukon, “kalita A, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 111, pp. 556–560, 2013.
- [78] S. Ebrahimiasl, A. Zakaria, A. Kassim, and S. N. Basri, “Novel conductive polypyrrole/zinc oxide/chitosan bionanocomposite: synthesis, characterization, antioxidant, and antibacterial activities,” *Int J Nanomedicine*, pp. 217–227, 2015.
- [79] K. R. Basavalingiah, S. Harishkumar, Udayabhanu, G. Nagaraju, D. Rangappa, and Chikkahanumantharayappa, “Highly porous, honeycomb like Ag–ZnO nanomaterials for enhanced photocatalytic and photoluminescence studies: green synthesis using *Azadirachta indica* gum,” *SN Appl Sci*, vol. 1, pp. 1–13, 2019.
- [80] D. Rehana, D. Mahendiran, R. S. Kumar, and A. K. Rahiman, “In vitro antioxidant and antidiabetic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using different plant extracts,” *Bioprocess BiosystEng*, vol. 40, no. 6, pp. 943–957, 2017.
- [81] A. Hafez, E. Nassef, M. Fahmy, M. Elsabagh, A. Bakr, and E. Hegazi, “Impact of dietary nano-zinc oxide on immune response and antioxidant defense of broiler chickens,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, pp. 19108–19114, 2020.
- [82] M. F. Sohail et al., “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by Neem extract as multi-facet therapeutic agents,” *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 59, p. 101911, 2020.
- [83] Xia, T., Kovoichich, M., Liong, M., Mädler, L., & Nel, A. E. (2008). *Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties*. *ACS Nano*, 2(10), 2121–2134.
- [84] A. Mukherjee and P. R. Ghosh, “Cellular and Molecular Physiology,” in *Textbook of Veterinary Physiology*, Springer, 2023, pp. 21–35.
- [85] S. M. A. Wasserman, “Guide to Infection Control in the Hospital, Chapter: 16, Bundles in Infection Prevention and Safety, Chapter ed. Bearman G,” *International Society for Infectious Diseases*, 2018.

- [86] I. A. Myles and S. K. Datta, “Staphylococcus aureus: an introduction,” in *Seminars in immunopathology*, Springer, 2012, pp. 181–184.
- [87] S. M. Finegold, “Anaerobic gram-negative bacilli,” 2011.
- [88] D. López and R. Kolter, “Extracellular signals that define distinct and coexisting cell fates in *Bacillus subtilis*,” *FEMS Microbiol Rev*, vol. 34, no. 2, pp. 134–149, 2010.
- [89] D. Raafat and H. G. Sahl, “Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *MicrobBiotechnol* 2: 186–201,” 2009.
- [90] D. Raafat, K. Von Bargen, A. Haas, and H.-G. Sahl, “Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound,” *Appl Environ Microbiol*, vol. 74, no. 12, pp. 3764–3773, 2008.
- [91] Z. Si et al., “Antimicrobial effect of a novel chitosan derivative and its synergistic effect with antibiotics,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 13, no. 2, pp. 3237–3245, 2021.
- [92] A. A. Hamed, I. A. Abdelhamid, G. R. Saad, N. A. Elkady, and M. Z. Elsabee, “Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a novel chitosan Schiff bases based on heterocyclic moieties,” *Int J Biol Macromol*, vol. 153, pp. 492–501, 2020.
- [93] C.-L. Ke, F.-S. Deng, C.-Y. Chuang, and C.-H. Lin, “Antimicrobial actions and applications of chitosan,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 6, p. 904, 2021.
- [94] A. Ivasket al., “Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro,” *PLoS One*, vol. 9, no. 7, p. e102108, 2014.
- [95] C. D. Brown, D. M. Cruz, A. K. Roy, and T. J. Webster, “Synthesis and characterization of PVP-coated tellurium nanorods and their antibacterial and anticancer properties,” *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 20, pp. 1–13, 2018.

- [96] S. Gunalan, R. Sivaraj, and V. Rajendran, "Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens," *Progress in Natural Science: Materials International*, vol. 22, no. 6, pp. 693–700, 2012.
- [97] D. Suresh and P. C. Nethravathi, "Udayabhanu; Rajanaika, H.; Nagabhushana, H.; Sharma, SC Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using *Cassia fistula* plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities," *Mater. Sci. Semicond. Process*, vol. 31, pp. 446–454, 2015.
- [98] R. Dobrucka and J. Długaszewska, "Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract," *Saudi J Biol Sci*, vol. 23, no. 4, pp. 517–523, 2016.
- [99] B. Joseph, M. Chacko, S. Rebello, R. Ks, R. B. Ng, and S. Karthikeyan, "Molecular taxonomic identification, biosynthesis and in vitro antibacterial activity of ZNO nanoparticles using *Boerhaviadiffusa* against MRSA," *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res*, vol. 8, pp. 40–44, 2016.
- [100] S. Rajeshkumar and M. Jeevitha, "Plant-mediated biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles," in *Zinc-Based Nanostructures for Environmental and Agricultural Applications*, Elsevier, 2021, pp. 37–51.
- [101] K. C. Lai et al., "Ice-templated graphene oxide/chitosan aerogel as an effective adsorbent for sequestration of metanil yellow dye," *Bioresour Technol*, vol. 274, pp. 134–144, 2019.
- [102] E. Repo, J. K. Warchol, T. A. Kurniawan, and M. E. T. Sillanpää, "Adsorption of Co (II) and Ni (II) by EDTA-and/or DTPA-modified chitosan: kinetic and equilibrium modeling," *Chemical engineering journal*, vol. 161, no. 1–2, pp. 73–82, 2010.
- [103] J. Sokolowska-Gajda, H. S. Freeman, and A. Reife, "Synthetic dyes based on environmental considerations. Part 2: Iron complexes formazan dyes," *Dyes and pigments*, vol. 30, no. 1, pp. 1–20, 1996.
- [104] E. N. Zare, A. Motahari, and M. Sillanpää, "Nanoadsorbents based on conducting polymer nanocomposites with main focus on polyaniline and its derivatives for

- removal of heavy metal ions/dyes: a review,” *Environ Res*, vol. 162, pp. 173–195, 2018.
- [105] A. Mudhoo, A. Mudhoo, and D. Beekaroo, *Adsorption of reactive red 158 dye by chemically treated Cocos nucifera L. shell powder*. Springer, 2011.
- [106] Z. Carmen and S. Daniela, *Textile organic dyes-characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents-a critical overview*, vol. 3. IntechOpen Rijeka, 2012.
- [107] J.-J. Lefrère and P. Rouger, *La transfusion sanguine: une approche sécuritaire*. John Libbey Eurotext, 2000.
- [108] V. Danel and P. Barriot, *Intoxications aiguës en réanimation*. Arnette, 1999.
- [109] I. Gulkaya, G. A. Surucu, and F. B. Dilek, “Importance of H_2O_2/Fe^{2+} ratio in Fenton’s treatment of a carpet dyeing wastewater,” *J Hazard Mater*, vol. 136, no. 3, pp. 763–769, 2006.
- [110] D. Barani, M. L. Tedjani, Z. Younes, S. Meneceur, S. E. Laouini, and H. Hammami, “Biomass-mediated synthesis of ZnO and Mg@ ZnO nanoparticles for enhancing the degradation of m-toluidine and p-toluidine,” *Biomass Convers Biorefin*, vol. 13, no. 8, pp. 7311–7318, 2023.
- [111] N. N. Bahrudin and M. A. Nawi, “Mechanistic of photocatalytic decolorization and mineralization of methyl orange dye by immobilized TiO_2 /chitosan-montmorillonite,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 31, p. 100843, 2019.
- [112] D. Chen et al., “Photocatalytic degradation of organic pollutants using TiO_2 -based photocatalysts: A review,” *J Clean Prod*, vol. 268, p. 121725, 2020.
- [113] H. Zhu et al., “Effective photocatalytic decolorization of methyl orange utilizing TiO_2/ZnO /chitosan nanocomposite films under simulated solar irradiation,” *Desalination*, vol. 286, pp. 41–48, 2012.
- [114] H. Khan, A. K. Khalil, A. Khan, K. Saeed, and N. Ali, “Photocatalytic degradation of bromophenol blue in aqueous medium using chitosan conjugated magnetic

- nanoparticles,” *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 33, pp. 2802–2807, 2016.
- [115] M. A. M. Adnan, B. L. Phoon, and N. M. Julkapli, “Mitigation of pollutants by chitosan/metallic oxide photocatalyst: a review,” *J Clean Prod*, vol. 261, p. 121190, 2020.
- [116] S. Liang, K. Xiao, Y. Mo, and X. Huang, “A novel ZnO nanoparticle blended polyvinylidene fluoride membrane for anti-irreversible fouling,” *J Memb Sci*, vol. 394, pp. 184–192, 2012.
- [117] A. Aouadi et al.(a), “Unveiling the antioxidant power: synthesis and characterization of lemon and orange peel-derived carbon quantum dots with exceptional free radical scavenging activity,” *Biomass Convers Biorefin*, pp. 1–14, 2024.
- [118] A. Aouadi (b), D. H. Saoud, A. Rebiai, F. M. ABD, S. Hadjadj, and A. A. Mustafa, “Impact of different extraction solvents and concentrations on the total phenolics content and bioactivity of the Algerian lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extracts,” *Ovidius University Annals of Chemistry*, vol. 35, pp. 16–26, 2024.
- [119] X. Zhao et al., “Development of UHPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS Technique for Determination of Proanthocyanidins (PAs) Monomer Composition Content in Persimmon,” *Plants*, vol. 13, no. 11, p. 1440, 2024.
- [120] P. Zhang, Q. Wu, Y. Wang, Y. Huang, M. Xie, and L. Fan, “Rapid Detection of Tannin Content in Wine Grapes Using Hyperspectral Technology,” *Life*, vol. 14, no. 3, p. 416, 2024.
- [121] Z. Irina et al., “Assessment of vitamin-and mineral-content stability of tomato fruits as a potential raw material to produce functional food,” *Functional Foods in Health and Disease*, vol. 14, no. 1, pp. 14–32, 2024.
- [122] S. Pradhan and P. Huidrom, “Antimicrobial Properties and Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants: A Review”, vol. 13, no. 1, 2024

- [123] A. Aouadi et al. (c), “Chemical composition’s effect on *Solanum nigrum* Linn.’s antioxidant capacity and erythrocyte protection: Bioactive components and molecular docking analysis,” *Open Life Sci*, vol. 19, no. 1, p. 20220944, 2024.
- [124] M. Kaya, O. Seyyar, T. Baran, and T. Turkes, “Bat guano as new and attractive chitin and chitosan source,” *Front Zool*, vol. 11, pp. 1–10, 2014.
- [125] A. Aouadi et al. (d), “Introducing the antibacterial and photocatalytic degradation potentials of biosynthesized chitosan, chitosan–ZnO, and chitosan–ZnO/PVP nanoparticles,” *Sci Rep*, vol. 14, no. 1, p. 14753, 2024.
- [126] M. M. Abdelhady, “Preparation and characterization of chitosan/zinc oxide nanoparticles for imparting antimicrobial and UV protection to cotton fabric,” *International journal of carbohydrate chemistry*, vol. 2012, no. 1, p. 840591, 2012.
- [127] H. A. Mohammed Mohammed, M. Souhaila, L. S. Eddine, G. G. Hasan, I. Kir, and M. S. Mahboub, “A novel biosynthesis of MgO/PEG nanocomposite for organic pollutant removal from aqueous solutions under sunlight irradiation,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 30, no. 19, pp. 57076–57085, 2023.
- [128] A. Aouadi et al., “Synergistic chitin-zinc nanocomposites from shrimp shell waste: characterization, antioxidant, and antibacterial properties,” *Biomass Convers Biorefin*, pp. 1–17, 2023.
- [129] H. Hameed et al., “Green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles from green algae and their assessment in various biological applications,” *Micromachines (Basel)*, vol. 14, no. 5, p. 928, 2023.
- [130] J. Vera et al., “Antioxidant activity as an indicator of the efficiency of plant extract-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles,” *Antioxidants*, vol. 12, no. 4, p. 784, 2023.
- [131] H. Abul-Khair, S. Elmeligie, A. Bayoumi, A. Ghiaty, A. El-Morsy, and M. H. Hassan, “Synthesis and Evaluation of Some New (1, 2, 4) Triazolo (4, 3-a) Quinoxalin-4 (5H)-one Derivatives as AMPA Receptor Antagonists,” *J Heterocycl Chem*, vol. 50, no. 5, pp. 1202–1208, 2013.

- [132] J.-D. Fourneron, F. Faraud, and A. Fourneron, “Sur la mesure in vitro de la protection solaire de crèmes cosmétiques,” *Comptes Rendus de l’Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry*, vol. 2, no. 7–8, pp. 421–427, 1999.
- [133] J. S. Mansur, M. N. R. Breder, M. C. d’Ascensão Mansur, and R. D. Azulay, “Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria,” *An. Bras. Dermatol*, pp. 121–124, 1986.
- [134] M. Messaoudiet al., “Effect of extraction methods on polyphenols, flavonoids, mineral elements, and biological activities of essential oil and extracts of *Mentha pulegium* L.,” *Molecules*, vol. 27, no. 1, p. 11, 2021.
- [135] Y. Mouas, F. Z. Benrebiha, and C. Chaouia, “Evaluation de l’activité antibacterienne de l’huile essentielle et de l’extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l,” *Revue Agrobiologia*, vol. 7, no. 1, pp. 363–370, 2017.
- [136] C. Valgas, S. M. de Souza, E. F. A. Smânia, and A. Smânia Jr, “Screening methods to determine antibacterial activity of natural products,” *Brazilian journal of microbiology*, vol. 38, pp. 369–380, 2007.
- [137] M. Kadri, A. Yahia, S. Goubi, N. E. Mekhedmi, M. Selmane, and A. E. Chems, “Chromatography analysis, in vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso of Boussaâda, Algeria,” *Biodiversitas*, vol. 23, no. 9, 2022.
- [138] S. Alkaykh, A. Mbarek, and E. E. Ali-Shattle, “Photocatalytic degradation of methylene blue dye in aqueous solution by MnTiO₃ nanoparticles under sunlight irradiation,” *Heliyon*, vol. 6, no. 4, 2020.
- [139] P. Banerjee, A. O. Eckert, A. K. Schrey, and R. Preissner, “ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals,” *Nucleic Acids Res*, vol. 46, no. W1, pp. W257–W263, 2018.
- [140] K. Shanmugapriya, P. S. Saravana, H. Payal, S. P. Mohammed, and W. Binnie, “Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Artocarpus*

- heterophyllus and Manilkara zapota seeds and its reduction potential,” *Int J Pharm Pharm Sci*, vol. 3, no. 5, pp. 256–260, 2011.
- [141] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, “[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent,” in *Methods in enzymology*, vol. 299, Elsevier, 1999, pp. 152–178.
- [142] K. Pareek and P. V Jagasia, “Determination of the antioxidant content in selected medicinal plants of Kalyan and Kolhapur,” *International Research Journal on Advanced Engineering and Management (IRJAEM)*, vol. 2, no. 03, pp. 290–298, 2024.
- [143] F. M. Realini et al., “Anti-herbivory defences delivered by Epichloë fungal endophytes: a quantitative review of alkaloid concentration variation among hosts and plant parts,” *Ann Bot*, vol. 133, no. 4, pp. 509–520, 2024.
- [144] A. Arar, “Determination of the Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial activities of Arbutus andrachne L. Methanolic Leaf and Fruit Extract,” 2024.
- [145] S. Baliyan et al., “Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of Ficus religiosa,” *Molecules*, vol. 27, no. 4, p. 1326, 2022.
- [146] H. A. Benesi and J. H. Hildebrand, “A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons,” *J Am Chem Soc*, vol. 71, no. 8, pp. 2703–2707, 1949.
- [147] A. C. Payne, A. Mazzer, G. J. J. Clarkson, and G. Taylor, “Antioxidant assays—consistent findings from FRAP and ORAC reveal a negative impact of organic cultivation on antioxidant potential in spinach but not watercress or rocket leaves,” *Food Sci Nutr*, vol. 1, no. 6, pp. 439–444, 2013.
- [148] L. Kebal, N. Djebli, K. Pokajewicz, N. Mostefa, and P. P. Wiczorek, “Antioxidant Activity and Effectiveness of Fig Extract in Counteracting Carbon Tetrachloride-Induced Oxidative Damage in Rats,” *Molecules*, vol. 29, no. 9, p. 1997, 2024.

- [149] F. El Kamari et al., “Chemical Profiling and Antioxidant, Antimicrobial, and Hemolytic Properties of *Euphorbia calyptrata* (L.) Essential oils: in Vitro and in Silico Analysis,” *ChemistryOpen*, p. e202300243, 2024.
- [150] X. Chen et al., “*Solanum nigrum* Linn.: an insight into current research on traditional uses, phytochemistry, and pharmacology,” *Front Pharmacol*, vol. 13, p. 918071, 2022.
- [151] G. Hao et al., “Physicochemical characteristics of chitosan from swimming crab (*Portunustrituberculatus*) shells prepared by subcritical water pretreatment,” *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 1646, 2021.
- [152] A. V. Singh et al., “Harmonization risks and rewards: nano-QSAR for agricultural nanomaterials,” *J Agric Food Chem*, vol. 72, no. 6, pp. 2835–2852, 2024.
- [153] M. Haase, H. Weller, and A. Henglein, “Photochemistry and radiation chemistry of colloidal semiconductors. 23. Electron storage on zinc oxide particles and size quantization,” *J Phys Chem*, vol. 92, no. 2, pp. 482–487, 1988.
- [154] J.-W. Oh, S. C. Chun, and M. Chandrasekaran, “Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles and their broad-spectrum antifungal action compared to antibacterial activities against phytopathogens of tomato,” *Agronomy*, vol. 9, no. 1, p. 21, 2019.
- [155] H. S. Abulkhair et al., “In vivo-and in silico-driven identification of novel synthetic quinoxalines as anticonvulsants and AMPA inhibitors,” *Arch Pharm (Weinheim)*, vol. 354, no. 5, p. 2000449, 2021.
- [156] S. Ihmaidet et al., “Rational design, synthesis, pharmacophore modeling, and docking studies for identification of novel potent DNA-PK inhibitors,” *Bioorg Chem*, vol. 72, pp. 234–247, 2017.
- [157] G. Hitkari, S. Singh, and G. Pandey, “Structural, optical and photocatalytic study of ZnO and ZnO–ZnS synthesized by chemical method,” *Nano-Structures & Nano-Objects*, vol. 12, pp. 1–9, 2017.

- [158] S. Hammani, S. Daikhi, M. Bechelany, and A. Barhoum, “Role of ZnO Nanoparticles Loading in Modifying the Morphological, Optical, and Thermal Properties of Immiscible Polymer (PMMA/PEG) Blends,” *Materials*, vol. 15, no. 23, p. 8453, 2022.
- [159] F. Xie et al., “Carboxyl-terminated polybutadiene–poly (styrene-co-4-vinylpyridine) supramolecular thermoplastic elastomers and their shape memory behavior,” *Macromolecules*, vol. 49, no. 19, pp. 7322–7330, 2016.
- [160] A. Musa et al., “Phenylpyrazolone-1, 2, 3-triazole hybrids as potent antiviral agents with promising SARS-CoV-2 main protease inhibition potential,” *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 3, p. 463, 2023.
- [161] A. Musa et al., “The anticancer and EGFR-TK/CDK-9 dual inhibitory potentials of new synthetic pyranopyrazole and pyrazolone derivatives: X-ray crystallography, in vitro, and in silico mechanistic investigations,” *J Biomol Struct Dyn*, vol. 41, no. 21, pp. 12411–12425, 2023.
- [162] M. Kaya et al., “Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta),” *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 20, pp. 168–179, 2015.
- [163] 163S. Fakhari, M. Jamzad, and H. KabiriFard, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison,” *Green Chem Lett Rev*, vol. 12, no. 1, pp. 19–24, 2019.
- [164] P. Bhadra, M. K. Mitra, G. C. Das, R. Dey, and S. Mukherjee, “Interaction of chitosan capped ZnO nanorods with *Escherichia coli*,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 31, no. 5, pp. 929–937, 2011.
- [165] M. Karpuraranjith and S. Thambidurai, “Chitosan/zinc oxide-polyvinylpyrrolidone (CS/ZnO-PVP) nanocomposite for better thermal and antibacterial activity,” *Int J Biol Macromol*, vol. 104, pp. 1753–1761, 2017.
- [166] F. S. Kittur, K. V. H. Prashanth, K. U. Sankar, and R. N. Tharanathan, “Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by

- differential scanning calorimetry,” *CarbohydrPolym*, vol. 49, no. 2, pp. 185–193, 2002.
- [167] H.-Y. Lin and C.-C. Chou, “Antioxidative activities of water-soluble disaccharide chitosan derivatives,” *Food research international*, vol. 37, no. 9, pp. 883–889, 2004.
- [168] P. C. Nagajyothi, S. J. Cha, I. J. Yang, T. V. M. Sreekanth, K. J. Kim, and H. M. Shin, “Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract,” *J PhotochemPhotobiol B*, vol. 146, pp. 10–17, 2015.
- [169] H. Chandra, D. Patel, P. Kumari, J. S. Jangwan, and S. Yadav, “Phyto-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles of *Berberis aristata*: Characterization, antioxidant activity and antibacterial activity with special reference to urinary tract pathogens,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 102, pp. 212–220, 2019.
- [170] M. Malekkiani, A. Heshmati Jannat Magham, F. Ravari, and M. Dadmehr, “Facile fabrication of ternary MWCNTs/ZnO/Chitosan nanocomposite for enhanced photocatalytic degradation of methylene blue and antibacterial activity,” *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, p. 5927, 2022.
- [171] D. Das, B. C. Nath, P. Phukon, and S. K. Dolui, “Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 111, pp. 556–560, 2013.
- [172] T. Sun, D. Zhou, J. Xie, and F. Mao, “Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity,” *European Food Research and Technology*, vol. 225, pp. 451–456, 2007.
- [173] G. Shu et al., “The antioxidant, antibacterial, and infected wound healing effects of ZnO quantum dots-chitosan biocomposite,” *Appl Surf Sci*, vol. 611, p. 155727, 2023.
- [174] P. Pusporini, D. Edikresnha, I. Sriyanti, T. Suciati, M. M. Munir, and K. Khairurrijal, “Electrospun polyvinylpyrrolidone (PVP)/green tea extract composite

- nanofiber mats and their antioxidant activities,” *Mater Res Express*, vol. 5, no. 5, p. 054001, 2018.
- [175] R. Javed, M. Ahmed, I. ul Haq, S. Nisa, and M. Zia, “PVP and PEG doped CuO nanoparticles are more biologically active: Antibacterial, antioxidant, antidiabetic and cytotoxic perspective,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 108–115, 2017.
- [176] B. Dinesh, J. Poyya, F. Zameer, L. K. Sannegowda, C. G. Joshi, and A. V Raghu, “Effect of Polyvinylpyrrolidone on Antioxidant and Antibacterial Activity of Silver Metal Nanoparticles: A Comparative Analysis,” *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section A: Physical Sciences*, vol. 94, no. 4, pp. 359–368, 2024.
- [177] G. S. Thirumoorthy, O. Balasubramaniam, P. Kumaresan, P. Muthusamy, and K. Subramani, “*Tetraselmis indica* mediated green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and evaluating its antibacterial, antioxidant, and hemolytic activity,” *Bionanoscience*, vol. 11, no. 1, pp. 172–181, 2021.
- [178] S. Hajji et al., “Biomedical potential of chitosan-silver nanoparticles with special reference to antioxidant, antibacterial, hemolytic and in vivo cutaneous wound healing effects,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, vol. 1863, no. 1, pp. 241–254, 2019.
- [179] Z. Ferdous, S. Beegam, S. Tariq, B. H. Ali, and A. Nemmar, “The in vitro effect of polyvinylpyrrolidone and citrate coated silver nanoparticles on erythrocytic oxidative damage and eryptosis,” *Cellular Physiology and Biochemistry*, vol. 49, no. 4, pp. 1577–1588, 2018.
- [180] J. Takebayashiet al., “Inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis by 2-O-substituted ascorbic acid derivatives,” *Free Radic Biol Med*, vol. 43, no. 8, pp. 1156–1164, 2007.
- [181] P. Singh and A. Nanda, “Enhanced sun protection of nano-sized metal oxide particles over conventional metal oxide particles: An in vitro comparative study,” *Int J Cosmet Sci*, vol. 36, no. 3, pp. 273–283, 2014.

- [182] C. Cerqueira-Coutinho, R. Santos-Oliveira, E. dos Santos, and C. R. Mansur, "Development of a photoprotective and antioxidant nanoemulsion containing chitosan as an agent for improving skin retention," *Eng Life Sci*, vol. 15, no. 6, pp. 593–604, 2015.
- [183] H. P. Borase, C. D. Patil, R. B. Salunkhe, R. K. Suryawanshi, B. K. Salunke, and S. V Patil, "Phytolates synthesized gold nanoparticles as novel agent to enhance sun protection factor of commercial sunscreens," *Int J Cosmet Sci*, vol. 36, no. 6, pp. 571–578, 2014.
- [184] R. Cassano et al., "Synthesis, characterization, and anti-inflammatory activity of diclofenac-bound cotton fibers," *Biomacromolecules*, vol. 11, no. 7, pp. 1716–1720, 2010.
- [185] H. Agarwal and V. Shanmugam, "A review on anti-inflammatory activity of green synthesized zinc oxide nanoparticle: Mechanism-based approach," *Bioorg Chem*, vol. 94, p. 103423, 2020.
- [186] A. N. Yilma, S. R. Singh, S. Dixit, and V. A. Dennis, "Anti-inflammatory effects of silver-polyvinyl pyrrolidone (Ag-PVP) nanoparticles in mouse macrophages infected with live *Chlamydia trachomatis*," *Int J Nanomedicine*, pp. 2421–2432, 2013.
- [187] A. S. Abdelbaky, T. A. Abd El-Mageed, A. O. Babalghith, S. Selim, and A. M. H. A. Mohamed, "Green synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Pelargonium odoratissimum* (L.) aqueous leaf extract and their antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities," *Antioxidants*, vol. 11, no. 8, p. 1444, 2022.
- [188] M. Rangeela, S. Rajeshkumar, T. Lakshmi, and A. Roy, "Anti-inflammatory activity of zinc oxide nanoparticles prepared using amla fruits," *Drug Invention Today*, vol. 11, no. 10, 2019.
- [189] J. Zhang, L. Wang, W. Tan, Q. Li, F. Dong, and Z. Guo, "Preparation of chitosan-rosmarinic acid derivatives with enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities," *Carbohydr Polym*, vol. 296, p. 119943, 2022.

- [190] M. Jafaret al., “Formulation of Curcumin- β -cyclodextrin-polyvinylpyrrolidone supramolecular inclusion complex: experimental, molecular docking, and preclinical anti-inflammatory assessment,” *Drug Dev Ind Pharm*, vol. 46, no. 9, pp. 1524–1534, 2020.
- [191] D. R. Baganizi, E. Nyairo, S. A. Duncan, S. R. Singh, and V. A. Dennis, “Interleukin-10 conjugation to carboxylated PVP-coated silver nanoparticles for improved stability and therapeutic efficacy,” *Nanomaterials*, vol. 7, no. 7, p. 165, 2017.
- [192] I. Ben Amor, H. Hemmami, S. E. Laouini, H. Ben Temam, H. Zaoui, and A. Barhoum, “Biosynthesis MgO and ZnO nanoparticles using chitosan extracted from *Pimelia Payraudi Latreille* for antibacterial applications,” *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 39, no. 1, p. 19, 2023.
- [193] I. Ben Amor, H. Hemmami, S. E. Laouini, A. G. Abdelaziz, and A. Barhoum, “Influence of chitosan source and degree of deacetylation on antibacterial activity and adsorption of AZO dye from water,” *Biomass Convers Biorefin*, vol. 14, no. 14, pp. 16245–16255, 2024.
- [194] R. C. de Souza, L. U. Haberbeck, H. G. Riella, D. H. B. Ribeiro, and B. A. M. Carciofi, “Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by solochemical process,” *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 36, no. 2, pp. 885–893, 2019.
- [195] F. Devlieghere, A. Vermeulen, and J. Debevere, “Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables,” *Food Microbiol*, vol. 21, no. 6, pp. 703–714, 2004.
- [196] S. Chandrasekaran, S. Anusuya, and V. Anbazhagan, “Anticancer, anti-diabetic, antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: A comparative analysis,” *J Mol Struct*, vol. 1263, p. 133139, 2022.
- [197] I. Perelshteyn et al., “Chitosan and chitosan–ZnO-based complex nanoparticles: formation, characterization, and antibacterial activity,” *J Mater Chem B*, vol. 1, no. 14, pp. 1968–1976, 2013.

- [198] M. Shafiq, T. Yasin, M. Aftab Rafiq, and Shaista, “Structural, thermal, and antibacterial properties of chitosan/ZnO composites,” *Polym Compos*, vol. 35, no. 1, pp. 79–85, 2014.
- [199] M. Malini, M. Thirumavalavan, W.-Y. Yang, J.-F. Lee, and G. Annadurai, “A versatile chitosan/ZnO nanocomposite with enhanced antimicrobial properties,” *Int J Biol Macromol*, vol. 80, pp. 121–129, 2015.
- [200] I. Ben Amor, H. Hemmami, S. E. Laouini, M. S. Mahboub, and A. Barhoum, “Sol-gel synthesis of ZnO nanoparticles using different chitosan sources: effects on antibacterial activity and photocatalytic degradation of AZO Dye,” *Catalysts*, vol. 12, no. 12, p. 1611, 2022.
- [201] A. Lipovsky, Y. Nitzan, A. Gedanken, and R. Lubart, “Antifungal activity of ZnO nanoparticles—the role of ROS mediated cell injury,” *Nanotechnology*, vol. 22, no. 10, p. 105101, 2011.
- [202] L. Y. Ing, N. M. Zin, A. Sarwar, and H. Katas, “Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties,” *Int J Biomater*, vol. 2012, no. 1, p. 632698, 2012.
- [203] G. Baskar, J. Chandhuru, K. S. Fahad, and A. S. Praveen, “Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles,” *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 3, no. 4, pp. 142–146, 2013.
- [204] E. Charvaloset al., “Water-soluble amphotericin B–polyvinylpyrrolidone complexes with maintained antifungal activity against *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. and reduced haemolytic and cytotoxic effects,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 57, no. 2, pp. 236–244, 2006.
- [205] S. H. S. Dananjaya, R. S. Kumar, M. Yang, C. Nikapitiya, J. Lee, and M. De Zoysa, “Synthesis, characterization of ZnO-chitosan nanocomposites and evaluation of its antifungal activity against pathogenic *Candida albicans*,” *Int J Biol Macromol*, vol. 108, pp. 1281–1288, 2018.

- [206] Y. J. Jang, C. Simer, and T. Ohm, "Comparison of zinc oxide nanoparticles and its nano-crystalline particles on the photocatalytic degradation of methylene blue," *Mater Res Bull*, vol. 41, no. 1, pp. 67–77, 2006.
- [207] K. Elumalai, S. Velmurugan, S. Ravi, V. Kathiravan, and G. A. Raj, "Bio-approach: Plant mediated synthesis of ZnO nanoparticles and their catalytic reduction of methylene blue and antimicrobial activity," *Advanced Powder Technology*, vol. 26, no. 6, pp. 1639–1651, 2015.
- [208] M. Amoli-Diva, A. Anvari, and R. Sadighi-Bonabi, "Synthesis of magneto-plasmonic Au-Ag NPs-decorated TiO₂-modified Fe₃O₄ nanocomposite with enhanced laser/solar-driven photocatalytic activity for degradation of dye pollutant in textile wastewater," *Ceram Int*, vol. 45, no. 14, pp. 17837–17846, 2019.
- [209] M. Saquib and M. Muneer, "TiO₂-mediated photocatalytic degradation of a triphenylmethane dye (gentian violet), in aqueous suspensions," *Dyes and pigments*, vol. 56, no. 1, pp. 37–49, 2003.
- [210] E. E. Elemike, D. C. Onwudiwe, and J. I. Mbonu, "Green Synthesis, Structural Characterization and Photocatalytic Activities of Chitosan-ZnO Nano-composite," *J InorgOrganometPolym Mater*, vol. 31, pp. 3356–3367, 2021.
- [211] I. Kazeminezhad and A. Sadollahkhani, "Influence of pH on the photocatalytic activity of ZnO nanoparticles," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 27, pp. 4206–4215, 2016.
- [212] V. Bhat and J. Chatterjee, "The use of in silico tools for the toxicity prediction of potential inhibitors of SARS-CoV-2," *Alternatives to Laboratory Animals*, vol. 49, no. 1–2, pp. 22–32, 2021.