

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Mycologie et Biotechnologies Fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Les activités biologiques des nanoparticules d'oxyde de zinc à partir
des extraits de *Citrus reticulata***

Présenté par : BAHLOUL Ines Nada

Le 20/06/2023

BOUKHAMA Khadidja Feriel

DARI Marwa

Jury d'évaluation :

Encadreur : ABDELAZIZ Ouided (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Présidente : ALMI Hiba (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examinatrice : BELMESSIKH Aicha (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

**Année universitaire
2022 - 2023**

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons avant tout à exprimer notre gratitude envers ALLAH, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé le courage et la force nécessaires pour accomplir ce petit projet.

*En second lieu, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **Mme ABDLAZIZ OUIDED.***

Maître de conférences à l'Université Frères Mentouri de Constantine 1, qui est un encadreur attentive et disponible

Beaucoup aidés. Nous la remercions, pour son assistance matérielle et morale, pour son aide et son soutien.

Grace à votre esprit pédagogique et rigoureux, et pour vos Conseils précieux, complétés avec succès. Que Dieu Tout Puissant vous bénisse Santé, prospérité et bonheur.

Nous tenons à remercier l'ensemble de notre jury

*En premier **Mme ALMI HIBA***

Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri Constantin 1, à juger pour ce travail et insigne C'est un honneur qu'elle ait accepté d'être présidente du jury pour ce mémoire.

*A **Mme BELMASSIKH AICHA**, Maître de Conférences, Université Frères Mentouri Constantin 1, pour accepter de revoir et d'évaluer cet humble travaille.*

*Un grand merci à **Mr ATTAF NADHIR**, de nous avoir accueillie dans son laboratoire et aidés pour mener à bien une partie de notre recherche.*

Sans oublier toutes les personnes qui ont participé à cette étude en partageant leur temps et leur expertise. Votre contribution a été inestimable pour la collecte de données et l'obtention de résultats significatifs.

Nous sommes reconnaissants envers notre famille et nos amis pour leur soutien constant, leur encouragement et leur amour inconditionnel. Leur présence a été une source de motivation et de réconfort tout au long de notre parcours académique exigeant.



Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour le respect et la reconnaissance.

Je dédie ce travail :

*A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à ma source de force "**Ma mère**".*

*A mon support dans ma vie, qui m'a appris et m'a dirigé vers la gloire "**Mon père**".*

Un grand merci pour tous vos sacrifices, votre amour, votre encouragement, votre soutien et vos prières tout au long de mes études. Cette aventure n'aurait certainement pas existé sans vous, en témoigne de mon éternelle reconnaissance, que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

*A mon frère : **Khaled** et ma belle-sœur : **Lina***

*A mon meilleur ami **Ferdous** et mes belles cousines : **Boutheina, Sameh.***

A toute ma famille et mes amis

Pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

*A mon chère trinôme, **Khadîdja** et **Nada***

Pour son soutien moral, sa patience, sa sympathie et sa compréhension tout au long de ce travail.

Marwa 



Dédicaces

Je dédie ce travail en signe de respect, de reconnaissance et de remerciements :

A Dieu tout puissant

A mes Parents : Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien mes études. Vous avez su m'inculquer le sens du devoir, de la responsabilité, de la dignité, de l'honneur et de l'humilité. Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.

A mon frère Borhan pour le courage et l'attachement.

A Mon adorable binôme Marwa et Nada.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'étude supérieurs.

Khadidja ferial

Khadidja 



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A Dieu

Tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

A mes nobles parents

Mon Homme papa et mes yeux Maman.

Aucune dédicace n'est susceptible de vous exprimer ma profonde affection et mon immense gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mes études, et tout particulièrement à toi maman, t'étais toujours présente quand j'avais besoin de toi.


La personne la plus chère à mon cœur : Maman qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie

A mon frère Wassim. A ma chère sœur Hanane pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés.

À mon binôme Marwa et Khadidja et mon amie khawla et zahira et tous mes salutations à tous mes collègues et mes amis de la promotion du Master 2023

Pour les sympathique moments qu'on a passé ensemble

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

Toujours fait et ferez toujours partie de ma vie. A tous, du fond. Nada 

Résumé

L'utilisation de l'extrait des agrumes comme une source pour la production des nanoparticules d'Oxyde de zinc a attiré l'attention en raison de son protocole rapide, écologique, non pathogène et économique. Ce travail porte sur la synthèse des nanoparticules de ZnO à partir des extraits des écorces de mandarine (*Citrus reticulata*), et caractérisation de ces nanoparticules par DRX, MEB et EDX pour déterminer leur taille et leur composition. Nos résultats de caractérisation montrent que les NPs ZnO ont la forme hexagonale avec différents diamètres et les différents éléments chimiques présents dans la poudre telle que Ca, Cu, P, K, O, Zn. Les NPs ZnO ont montré une activité antibactérienne efficace contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, et une activité antifongique contre *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis* et *Trichophyton mentagrophytes*, et également des activités insecticides raisonnables sur l'insecte *Myzus persicae*. La somme des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que les NPs ZnO possèdent un potentiel important pour les activités biologiques investiguées. De ce fait, les bio-ingrédients présents dans l'extrait des écorces de mandarine étaient efficaces pour la synthèse des nanoparticules de ZnO avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans la composition des produits médicinaux, pharmaceutiques et environnementaux.

Mots clés : NPs ZnO, *Citrus reticulata*, activité antimicrobienne, insecticide, DRX, MEB-EDX.

Abstract

The use of citrus extract as a source for the production of ZnO nanoparticles has attracted attention due to its rapid, environmentally friendly, non-pathogenic and economical protocol. This work focuses on the synthesis of ZnO nanoparticles from extracts of mandarin peel (*Citrus reticulata*), and characterization of these nanoparticles by XRD, SEM and EDX to determine their size and composition. Our characterization results show that ZnO NPs have hexagonal shape with different diameters and different chemical elements present in the powder such as Ca, Cu, P, K, O, Zn. ZnO NPs showed effective antibacterial activity against the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*, and antifungal activity against *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis* and *Trichophyton mentagrophytes*, also reasonable insecticidal activities on the insect *Myzus persicae*. The sum total of the results obtained in this study clearly shows that ZnO NPs have significant potential for the biological activities investigated. As a result, the bio-ingredients present in mandarin peel extract were effective for the synthesis of ZnO nanoparticles with a biological efficiency that offers the possibility of incorporating it into the composition of medicinal, pharmaceutical and environmental products.

Keywords: ZnO NPs, *Citrus reticulata*, antimicrobial activity, insecticide, XRD, SEM-EDX.

ملخص

اجتذب استخدام مستخلص الحمضيات كمصدر لإنتاج جزيئات أكسيد الزنك النانوية الانتباه نظرًا لبروتوكوله السريع والصدى للبيئة وغير الممرض والاقتصادي. يركز هذا العمل على تصنيع الجسيمات النانوية ZnO من مستخلصات قشر الليمون (*Citrus reticulata*)، وتوصيف هذه الجسيمات النانوية بواسطة XRD و SEM و EDX لتحديد حجمها وتكوينها. تظهر نتائج التوصيف لدينا أن ZnO NPs لها شكل سداسي بأقطار مختلفة وعناصر كيميائية مختلفة موجودة في المسحوق مثل O، K، P، Cu، Ca، Zn. أظهر ZnO NPs نشاطًا فعالًا مضادًا للبكتيريا ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*، ونشاط مضاد للفطريات ضد *Trichophyton rubrum* و *Microsporium canis* و *Trichophyton*، وأيضًا أنشطة مبيدات حشرية معقولة على حشرة *Myzus persicae*. يظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بوضوح أن ZnO NPs لديها إمكانات كبيرة للأنشطة البيولوجية التي تم التحقيق فيها. نتيجة لذلك، كانت المكونات الحيوية الموجودة في مستخلص قشر الليمون فعالة في تخليق الجسيمات النانوية ZnO بكفاءة بيولوجية توفر إمكانية دمجها في تركيبات المنتجات الطبية والصيدلانية والبيئية.

الكلمات المفتاحية: ZnO، الحمضيات الشبكية النشاط المواد الميكروبات، مبيدات الحشرات، XRD، MEB-EDX

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Présentation de *Citrus reticulata*

I. Mandarine en Algérie 3

I.1. Généralité 3

I.2. Description botanique 3

I.2.1. La famille Rutacées 3

I.2.2. Le Genre Citrus 4

I.2.3. L'espèce *Citrus reticulata* 4

I.3. Les intérêts 5

I.3.1. Réduire le stress 5

I.3.2. Prévenir les infections cutanées 5

I.3.3. Favorise la santé gastro-intestinale 5

I.3.4. Contrôle du taux de cholestérol 6

I.3.5. Lutte contre le cancer 6

I.3.6. Aide à la perte de poids 6

I.3.7. Renforce le système immunitaire 6

I.4. Valorisation des déchets d'agrumes 7

I.4.1. Ecorce d'agrumes 8

Chapitre II : les nanoparticules d'oxyde de zinc

II. Les Nanoparticules.....	11
II.1. Définition des nanoparticules	11
II.2. Propriétés des nanoparticules.....	11
II.2.1. Les propriétés mécaniques	11
II.2.2. Les propriétés magnétiques	11
II.2.3. Les propriétés optiques et électroniques.....	12
III. Nanoparticules de ZnO	12
III.1. Définition	12
III.2. Propriétés physico chimique de ZnO	12
III.2. Caractérisation des nanoparticules de ZnO.....	13
III.2.1. La diffraction des rayons X	13
III.2.2. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	16
III.3. Applications des NPs deZnO III.3.1Application biomédicale.....	17
III.3.1.1. Activité anticancéreuse	17
III.3.1.2. Activité antibactérienne	19
III.3.1.3. NP ZnO pour le traitement du diabète	19
III.3.1.4. NP ZnO pour la bioimagerie.....	20
III.3.2 Application environnementale	21
III.3.2.1. Traitement des eaux.....	21
III.3.2.1.1. Purifier et rendre l'eau potable grâce à la nanofiltration	22

Chapitre III : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétale	24
I.1. Broyage.....	24
I.2. Macération	25

I.3. Filtration.....	26
I.4. Extraction des NPs ZnO.....	26
I.5. Centrifugation	27
II. Partie microbiologique.....	29
II.1. Origine des souches microbiennes	29
II.2. Test Antibiogramme	30
II.3. Préparation des dilutions des extraits	30
II.4. Préparation des disques	30
II.5. Préparation de l'inoculum.....	30
II.6. Ensemencement	30
II.7. Application des disques d'antibiogramme	31
II.8. Echantillon témoin (Ecorce)	32
II.9. Incubation et Lecture	33
III.Caractérisation des NPsZnO	33
IV. Test d'entomopathogénicité	34

Chapitre IV Résultat et discussion

I. Résultats physico-chimiques des poudres synthétisées.....	35
I.1. Analyse structurale des poudres synthétisées par DRX.....	35
I.2. Analyse morphologique et de composition des poudres synthétisées par MEB et EDS	37
I.2.1 Imagerie MEB des poudres.....	37
I.2.2 Analyses chimiques et compositions des échantillons par EDS.....	39
I.3. Composition chimique et proportions des éléments dans chaque échantillon.....	41
II. L'activité antimicrobienne	42
III. L'activité d'entomopathogénicité.....	50
Conclusion	52
Références bibliographiques	53

Liste des abréviations

NPs : Nanoparticules.

ZnO : Oxyde de zinc.

NPs ZnO : Nanoparticules d'oxyde de zinc.

UV-Vis : Ultraviolet visible spectromètre.

DRX : Diffraction des rayons X.

MEB : Microscopie électronique à balayage.

SFB : Sélénite acide sodium.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire Constantine

nm : Nanomètre.

µl : Microlitre.

pH : Potentiel hydrogène.

mm : Millimètre.

mL : Millilitre.

tr/min : Tour par minute.

.IRM : Imagerie par résonance magnétique.

ROS : Reactive oxygen species.

IL-8 : Interleukin 8.

CaCo2 : lignée cellulaire immortalisée de cellules humaines d'adénocarcinome colorectal.

LSPR : Résonance de plasmons de surface localisé.

HT-29 : Lignée cellulaire de cancer du côlon humain.

EDX : Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Applications des déchets d'écorces d'agrumes dans le secteur alimentaire et non alimentaire	8
2	Propriétés physicochimiques de ZnO.	13
3	Les effets anticancéreux des NP ZnO dans différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines.	18
4	NP ZnO pour le traitement du diabète.	20
5	Souches bactériennes utilisées.	28
6	Souches fongiques utilisées.	29
7	Présentation des pics relatifs à la phase ZnO avec leurs orientations et les évolutions de leurs intensités en fonction de la concentration en ZnSO ₄ de chaque échantillon.	36
8	Tableau récapitulatif des éléments chimiques qui constituent les échantillons synthétisés avec diverses concentrations de ZnSO ₄ : (0.4), (1.2), (2).	41
9	Zone d'inhibition des nanoparticules d'oxyde de zinc contre diverses souches microbiennes.	42
10	Les zones d'inhibitions des témoins.	46
11	Zone d'inhibition d'écorce de la mandarine contre diverses souches microbiennes.	47

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photos de l'espèce <i>Citrus reticulata</i>	5
2	Utilisations alimentaires des déchets de transformation des agrumes	7
3	Utilisations non alimentaires des déchets de transformation des agrumes	8
4	Nanoparticule et poudre de ZnO	12
5	Principe de la caractérisation par diffraction des rayons X.	15
6	Exemple de diffractogramme de nanotubes de ZnO en faisceaux faisant apparaître une structure hexagonale	15
7	Forme schématique de MEB.	16
8	Illustration schématique de l'activité antibactérienne des NP ZnO	19
9	La partie supérieure est l'image de microscopie électronique à transmission haute résolution (HRTEM) des nanoparticules de noyau-enveloppe de polymère ZnO et des solutions aqueuses de ZnO-1 et ZnO-2 sous une lumière UV ; la partie médiane est l'image DIC et l'image fluorescente des cellules d'hépatome humain marquées par ZnO-1 ; et la partie inférieure est l'image DIC et l'image fluorescente des cellules d'hépatome marquées par ZnO-2	21
10	Les écorces des mandarines avant et après séchage.	23
11	Les écorces de la mandarine avant et après broyage.	24
12	Mesure de la masse avec une balance.	24
13	Processus de macération et d'agitation pour l'extraction des échantillons.	25
14	Distribution des différentes concentrations de sulfate de zinc dans les extraits.	25
15	Agitation magnétique et séchage des échantillons.	26
16	(a) : Centrifugation , (b) : Lavage , (c) : Séparation du culot.	27
17	Récupération et séchage du culot.	27
18	Chauffage des échantillons dans un four à moufle.	28

19	Etape d'ensemencement.	30
20	Application des disques d'antibiogramme.	31
21	Témoin positive SFB.	31
22	Témoin positive Mycocide.	31
23	Témoin d'écorce.	32
24	Appareil de caractérisation DRX (PanalyticalEmpyrean).	33
25	Diffractogrammes des rayons X des échantillons de ZnO en poudres synthétisés avec différentes concentrations ZnSO ₄ (0.2, 0.4, 0.9, 1. 2, 2) et des écorces de mandarine broyées et recuites à 500°C pendant 3 heures.	36
26	Les images MEB des différents échantillons des poudres (0.4), (1.2) et (2) réalisés avec différents grossissements.	38
27	Regroupement des spectres d'analyse chimique par EDS des trois échantillons synthétisés avec des concentrations de ZnSO ₄ : (0.4), (1.2), (2).	39
28	Spectres d'analyse chimique par EDS des trois échantillons synthétisés avec des concentrations de ZnSO ₄ : (0.4), (1.2), (2).	40
29	Les résultats des échantillons témoins (écorces).	48
30	(a, b, c) Taux de mortalité de <i>Myzus persicae</i> par trois échantillons différents.	51

Introduction générale

La nanotechnologie peut être définie comme la science et l'ingénierie impliquées dans la conception, la synthèse, la caractérisation et l'application de matériaux et de dispositifs dont la plus petite organisation fonctionnelle, dans au moins une dimension, se situe à l'échelle du nanomètre ou d'un milliardième de mètre (**Saini, 2010**). Elle repose sur la synthèse et la modulation de nanoparticules (**Singh et al., 2016**).

Les nanoparticules sont des particules contrôlées ou manipulées au niveau atomique (1-100 nm). Elles présentent des propriétés liées à leur taille qui diffèrent sensiblement de celles des matériaux en vrac. Compte tenu de leur petite taille, ils ont des structures plus grandes que leurs homologues. Cette propriété distincte permet leur application possible dans de nombreux domaines tels que les biocapteurs, la nanomédecine et la bionanotechnologie. Les propriétés intrinsèques des NP métalliques telles que l'oxyde de zinc (ZnO) sont principalement caractérisées par leur taille, leur composition, leur cristallinité et leur morphologie (**Sirelkhatimet al., 2015**).

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (NPsZnO), l'une des plus importantes nanoparticules métallique, sont très utilisées dans divers domaines en raison de leurs propriétés physiques et chimiques particulières. Ils sont appliqués dans le domaine biomédical en particulier pour les antibactériens, l'administration de médicaments/gènes anticancéreux, l'imagerie cellulaire, la biodétection, etc. (**Jiang et al., 2018**). Comme elles peuvent être utilisées dans divers domaines environnementales telle que les traitements des eaux, la détection et la surveillance de la pollution environnementale.

L'extraction des nanoparticules de ZnO à partir de sources naturelles est devenue un domaine de recherche émergent, car cela permet d'éviter les méthodes de synthèse chimique conventionnelles, qui sont souvent coûteuses, toxiques et génèrent des déchets dangereux. Les écorces de *Citrus reticulata*, communément connues sous le nom d'écorces de mandarine, sont une source naturelle riche en composés bioactifs, dont certains ont montré un potentiel pour la synthèse de nanoparticules.

La détermination de la morphologie, de la taille et du fonctionnement des nanoparticules avec des structures régulées est essentielle pour les activités biologiques. Les ZnO NPs ont montré une activité thérapeutique contre le cancer, le diabète, les infections microbiennes, l'inflammation et une activité antioxydante potentielle, et peuvent être utilisées comme vecteurs de médicaments, outils d'imagerie et biocapteurs (**Deka et al., 2022**).

L'objectif de ce mémoire de master est d'étudier l'extraction des nanoparticules de ZnO à partir de sources naturelles, en mettant l'accent sur leur activité antimicrobienne, antioxydante et insecticide. Ce domaine de recherche présente un grand potentiel pour le développement de nouvelles méthodes durables et respectueuses de l'environnement pour la synthèse de nanoparticules de ZnO, en exploitant les ressources naturelles disponibles.

Le présent document est organisé en deux grandes parties. La première est consacrée à la Synthèse bibliographique.

✓ **Le premier chapitre** : vise la description et la présentation botanique des déchets naturelle écorce de mandarine (*Citrus reticulata*) ainsi que des informations sur leur intérêt et leur valorisation.

✓ **Le deuxième chapitre** : se focalise sur les nanoparticules de ZnO, notamment la synthèse, caractérisation et leurs applications

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

✓ **Le troisième chapitre** : est consacré à la synthétisation des NPs de ZnO ; nous présentons la démarche expérimentale, ainsi les techniques des caractérisations comme le DRX et MEB avec les méthodes d'études des effets antibactériens, antifongiques, antiluveriene, antioxydants et comme insecticide.

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

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

Chapitre I

Présentation de Citrus reticulata

I. Mandarine en Algérie

I.1. Généralité

Le premier mandarinier algérien serait apparu en 1902 dans le jardin de l'orphelinat des Peres du Saint-Esprit à Misserghin, en Algérie. Le père Clément Rodier a découvert cet hybride par hasard parmi d'autres plantes de mandarines. Louis Trabut, du Jardin botanique algérien, très impressionné par la maturité précoce de l'arbre et la saveur particulière de ses fruits, a nommé le cultivar "Clémentine" en l'honneur de Rodier. Le botaniste Walter Swingle, du ministère américain de l'agriculture, a apporté en Floride, en 1909, des bourgeons de "Clémentine", c'est-à-dire des pousses en croissance active prêtes à être greffées. En 1914, le cultivar a été apporté en Californie par Howard S. Fawcett du Centre de recherche sur les agrumes de Riverside (Wolfe, 2021).

La mandarine algérienne est connue pour sa couleur orange foncé, sa peau lisse, brillante, sa chair sucrée, juteuse et facile à peler, ce qui en fait un en-cas pratique et populaire. Elle est également utilisée dans les salades, les desserts et les produits de boulangerie, et constitue un ingrédient courant des marmelades et des conserves (Anonyme 1, 2023).

Les mandarines algériennes poussent au milieu d'un feuillage dense et persistant sur des arbres presque sans épines qui peuvent atteindre sept mètres de haut. Il existe également des variétés naines pour les jardins d'intérieur, qui atteignent environ huit mètres de haut. La variété est également connue sous le nom de clémentine, et il en existe trois types principaux provenant d'Afrique du Nord, à savoir les fruits sans pépins, les fruits standards et les fruits Monreal. Les fruits sans pépins ne contiennent aucune graine, les fruits standard contiennent jusqu'à dix graines, tandis que les fruits Monreal en contiennent plus de dix (Anonyme 2, 2022).

La saison des mandarines algériennes s'étend généralement de la fin de l'automne au début du printemps, avec un pic de disponibilité en décembre et janvier. Elles constituent une bonne source de vitamine C, d'antioxydants et d'autres nutriments essentiels (Anonyme 1, 2023).

I.2. Description botanique

I.2.1. La famille Rutacées

La famille des Rutacées est considérée comme l'une des plantes angiospermes dicotylédones. C'est une famille diversifiée qui comprend environ **170** genres et **1600** espèces mondiales ou plus. Les Rutacées ont une distribution plus ou moins cosmopolite, mais sont principalement concentrées dans les régions tropicales et tempérées chaudes du globe, en

particulier la région méditerranéenne, le sud des États-Unis, l'Afrique du Sud et l'Australie (**Anonyme 3, 2023**).

Dans cette famille, on trouve des arbres et des arbustes à feuilles persistantes ou à feuilles caduques, et moins fréquemment des plantes herbacées, souvent vivaces. Leurs feuilles sont disposées en alternance ou en opposition. Ils sont de forme simple ou composée, avec un fût ailé et des pétioles ailés et articulés. Certaines feuilles composées pennées dégènerent en feuilles simples et parfois même en épines (**Anonyme 4, 2022**).

I.2.2. Le Genre Citrus

Citrus portent des agrumes, désignent les plantes de la famille des Rutacées de grands arbustes ou arbres vivaces (entre **5** et **15** m de hauteur). Le genre contient trois espèces et de nombreux hybrides cultivés, y compris les fruits les plus commercialisés tels que les citrons, les oranges, les citrons verts, les pamplemousses, les mandarines... etc.

Sont généralement des arbres ou des arbustes à feuilles persistantes, de forme ovale et brillante, de nombreuses espèces ont des épines. Les fleurs sont généralement blanches avec cinq pétales et sont très parfumées. Les fruits sont une sorte de baie modifiée appelée hespéride, et la chair est divisée en segments remplis de minuscules vésicules remplies de jus. La peau, ou l'écorce, des fruits est coriace et constellée de glandes à huile (**Lind et al., 2023**).

I.2.3.. L'espèce Citrus reticulata

Citrus reticulata est un arbuste appartenant à la famille des Citrus. Il peut atteindre une hauteur de 6 m (**Anonyme 5, 2023**).

Ses feuilles vert foncé en forme de lance sur de longues tiges avec de petites ailes. Cet arbre fruitier porte des fleurs blanches parfumées du milieu à la fin de l'automne, suivies de fruits dorés, ovales ou aplatis, à chair sucrée, de novembre à décembre. Le mandarinier doit être planté en plein soleil ou à l'ombre partielle, dans un sol bien drainé et neutre. Les fruits sont Plus petits que les oranges et la peau est lâche, facile à peler et contient de nombreuses pépins (**Anonyme 6, 2023**).

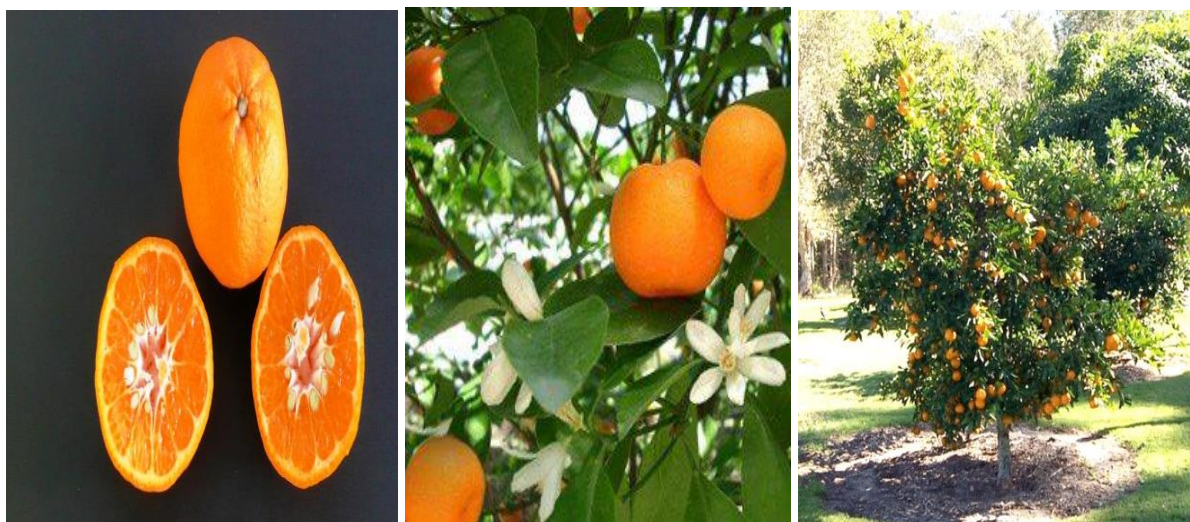


Figure 1 : Photos de l'espèce *Citrus reticulata* (Anonyme 6, 2023).

I.3. Les intérêts

L'écorce d'agrumes séchée (chenpi) est le péricarpe sec et mûr de *Citrus reticulata*, contient de nombreux composants actifs, tels que l'huile essentielle, les flavonoïdes, la pectine, les fibres insolubles (Qian *et al.*, 2021), qui contribuent à la santé du foie, du cholestérol et de la glycémie. L'écorce peut également aider à préserver la santé digestive et à faciliter la digestion des aliments gras. Voici quelques-uns des bienfaits de le Chenpi pour la santé.

I.3.1. Réduire le stress

Utilisée pour soulager l'anxiété et l'insomnie. Vous pouvez la faire bouillir et la boire sous forme de tisane.

I.3.2. Prévenir les infections cutanées

Utilisée pour éviter les troubles cutanés et améliorer la santé de la peau. Le zeste peut vous aider à traiter les complications cutanées telles que l'acné, les boutons, les éruptions cutanées et d'autres affections cutanées. En outre, il peut contribuer à rajeunir votre peau, lui permettant de rester plus jeune et plus saine. L'écorce de mandarine étant riche en vitamine C, elle renforce la santé de la peau.

I.3.3. Favorise la santé gastro-intestinale

Des experts de l'Institut bulgare de chimie organique ont découvert que l'écorce de mandarine pouvait contribuer à améliorer l'inconfort gastro-intestinal, à favoriser la satiété et à renforcer le système immunitaire. Comme l'écorce contient de la pectine de qualité, une fibre alimentaire soluble aux vertus bénéfiques pour la santé, ses bienfaits sont incommensurables.

I.3.4. Contrôle du taux de cholestérol

Selon un article publié par l'American Chemical Society, les écorces de mandarine pourraient avoir de meilleurs effets que certains médicaments qui régulent le taux de cholestérol dans le sang. La tangerétine, un super-flavonoïde présent dans l'écorce de mandarine, s'est révélée être un moyen efficace de réduire le taux de cholestérol, selon des études. La consommation quotidienne de la tisane d'écorce de mandarine permet de contrôler efficacement le mauvais cholestérol grâce à l'abondance de flavonoïdes.

I.3.5. Lutte contre le cancer

La teneur élevée en antioxydants des écorces de mandarine peut contribuer à prévenir la formation de tumeurs cancéreuses. La peau contient 20 fois plus d'antioxydants que le fruit lui-même. La tangerétine, l'antioxydant contenu dans l'écorce, renforce les activités anticancéreuses de l'organisme et pourrait être utile dans la prévention du cancer du souffle. Les polyphénols peuvent présenter aussi un potentiel thérapeutique et un effet chimio préventif contre le cancer du sein.

I.3.6. Aide à la perte de poids

Selon une étude, l'écorce de mandarine peut être utilisée pour réduire les calories. Vous pouvez la prendre sous forme de tisane avant les repas. En plus d'être suggérée, l'écorce infusée peut également être utilisée comme épice dans diverses recettes et remplacer les vinaigrettes malsaines.

I.3.7. Renforce le système immunitaire

L'écorce de mandarine est ridiculement riche en vitamine C, ce qui permet au système immunitaire d'être suffisamment fort pour lutter contre les infections (Nwokolo, 2022).

Dans le Compendium of Materia Medica, œuvre de Li Shizhen, herboriste de la dynastie Ming, il est dit que les zestes peuvent "guérir une centaine de maladies" et qu'ils ont la capacité de soulager la chaleur et l'humidité du corps. Les zestes séchés ont un goût piquant et amer et peuvent contribuer à nourrir la rate et les poumons et à débarrasser la gorge des mucosités. Le simple fait de les tremper dans de l'eau chaude et de boire le liquide est un remède efficace contre la toux et les mucosités.

Selon un dicton courant dans la province chinoise du Guangdong (sud), les écorces de mandarines séchées sont précieuses que des pépites d'or.

I.4. Valorisation des déchets d'agrumes

En raison de la valeur des constituants fonctionnels présents dans les déchets d'agrumes et de l'intérêt croissant pour la valorisation des déchets, les chercheurs utilisent les déchets d'agrumes de plusieurs manières utiles, en minimisant les dommages causés à l'environnement par une élimination inappropriée des déchets. Les déchets d'agrumes (pelures, pulpe, marc et pépins) contiennent plusieurs composés phytochimiques bioactifs tels que la pectine, l'huile essentielle, les flavonoïdes polyphénoliques, les caroténoïdes, les fibres alimentaires, les limonoïdes, les acides organiques et les vitamines (**Di Donna et al., 2020**). Ces composés issus des déchets d'agrumes pourraient être extraits et utilisés pour la préparation d'aliments fonctionnels et de produits nutraceutiques (**Zhu et al., 2020**). Ces composants bioactifs servent non seulement d'ingrédients fonctionnels, mais protègent également la santé contre les microbes, les allergies et les maladies (**Babbar et al., 2011**).

Les déchets d'agrumes sont également utilisés comme aliments pour animaux, pour la préparation de certains biocarburants et bioéthanol (**Bernal-Vicente et al., 2008**) ;(**Casquete et al., 2015**). Les déchets d'agrumes solides et liquides concentrés peuvent être convertis en "mélasse à base de déchets d'agrumes", en acide lactique, en levure alimentaire, en alcool/éthanol industriel et en vinaigre (**Di Donna et al., 2020**). Les applications des différentes parties des déchets d'agrumes dans le secteur alimentaire et non alimentaire sont

Illustrées dans les figures suivantes (2 et 3).

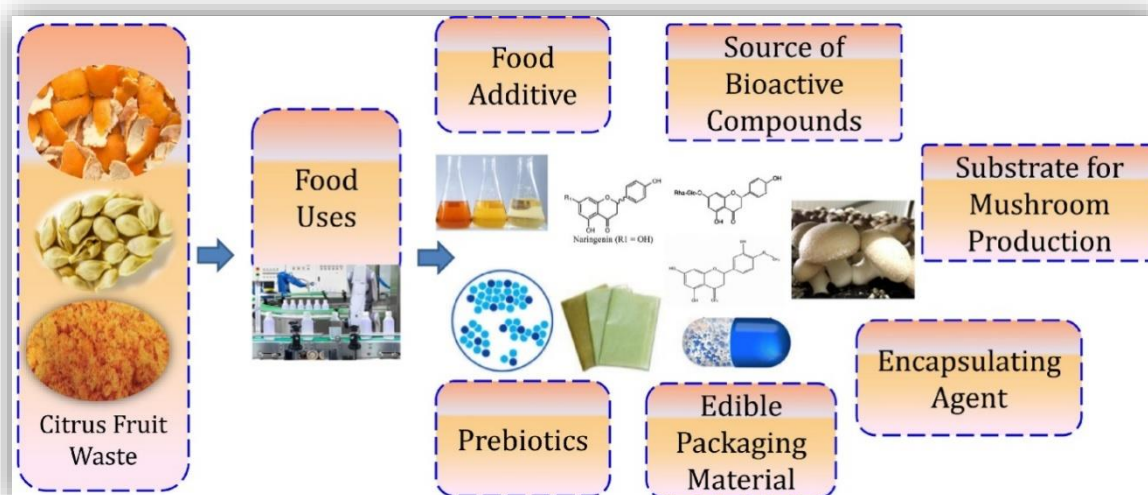


Figure 2 : Utilisations alimentaires des déchets de transformation des agrumes (**Suri et al., 2022**).

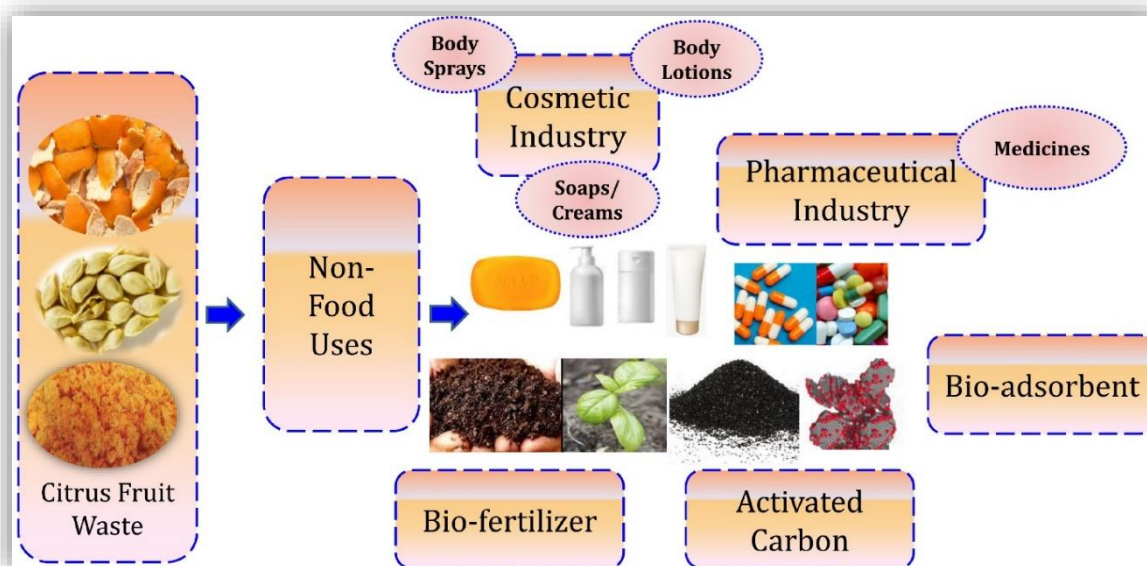


Figure 3 : Utilisations non alimentaires des déchets de transformation des agrumes (Suri *et al.*, 2022).

I.4.1. Ecorce d'agrumes

Lors de la préparation du jus d'agrumes, environ 30 à 34 % des écorces d'agrumes constituent le principal déchet (Rafiq *et al.*, 2018). Les écorces d'agrumes contiennent une multitude de substances phytochimiques et de composants bioactifs, par exemple des polyphénols-flavonoïdes (flavones polyméthoxylées - hespéridine, naringine, nobiletine, tangerétine), des huiles essentielles (D-limonène), des pigments (caroténoïdes), des hydrates de carbone (pectine, cellulose, hémicellulose et fibres alimentaires), des composés aromatiques et des pigments (Wang *et al.*, 2014). Étant une source puissante de composés phytochimiques, les écorces d'agrumes sont utilisées dans l'alimentation, les boissons, la parfumerie, les médicaments et l'industrie cosmétique, comme le montre le **tableau 1**.

Tableau 1 : Applications des déchets d'écorces d'agrumes dans le secteur alimentaire et non alimentaire (Suri *et al.*, 2022).

Num éro	Applications	Rôle spécifique	Résultats
Applications alimentaires des écorces d'agrumes			
1	Additif dans les produits alimentaires	Préparation de biscuits riches en nutriments	L'incorporation de 6 % de poudre d'écorce de <i>Citrus reticulata</i> L. (mandarine) a amélioré le potentiel nutritionnel et antioxydant des biscuits.
2	Réserve de composés bioactifs	Polyphénols	-L'extraction séquentielle par solvant assistée par micro-ondes des bioactifs des écorces de Kinnow (<i>Citrus reticulata</i>) a montré un rendement d'extraction plus élevé (30,743%), des phénols totaux (88,404 mg GAE/g), des flavonoïdes totaux (69,887 mg CE/g), une inhibition du radical DPPH (86,056%), une inhibition du radical ABTS (86,173%), des caroténoïdes totaux (49,533 mg BET/g) et de l'acide ascorbique (119,712 mg AA/g). -Les écorces de <i>Citrus × clementina</i> présentent une teneur élevée en hespéridine.
		Caroténoïdes	Les caroténoïdes extraits des écorces d'agrumes par décharge électrique à haute tension ont montré une meilleure bio-accessibilité (82,5 %) avec une augmentation de l'apport énergétique de 55 kJ/kg à 364 kJ/kg
		Pectine	-L'extraction séquentielle par solvant assistée par micro-ondes de la pectine des écorces de mandarine (Kinnow) a permis d'obtenir un rendement de 27,58% de pectine avec des paramètres optimisés.
3	Prébiotique	Activité prébiotique de l'oligosaccharide pectique d'agrumes	-Le produit développé a montré des effets prébiotiques plus importants en raison de ses propriétés antimicrobiennes et modulatrices du microbiote améliorées.

4	Agent encapsulant	Nanoparticules de pectine/zéine d'agrumes chargées de resvératrol en tant qu'agent d'administration orale	<p>-Les nanoparticules enrichies en resvératrol obtenu à partir de pectine d'écorce d'agrumes et de zéine ont montré une bonne stabilité à la chaleur (80 °C pendant une heure) et au pH (2-7).</p> <p>-Le resvératrol encapsulé présente une forte activité antioxydante in-vitro et cellulaire.</p>
5	Aliments pour bétail	Aliments pour poulets de chair, cailles, bétail, etc.	<p>-L'incorporation d'un extrait d'écorce de citrus sinensis (orange) dans le régime alimentaire des poulets de chair améliore leur profil sanguin.</p> <p>L'ajout de déchets de mandarines (<i>Citrus reticulata</i>) sur l'apport alimentaire et l'utilisation des nutriments chez les chèvres a entraîné une augmentation du rapport calcium/phosphore. Cependant, aucun effet négatif n'a été observé sur la santé des chèvres, comme l'a montré le profil biochimique du sang</p>
Applications non alimentaires des écorces d'agrumes			
1	Source de biocarburants	Production de bioéthanol	<p>-Les déchets d'écorces de mandarines ont permis de produire de l'éthanol (50-60 L/1000 kg) grâce à un prétraitement par explosion de vapeur, une hydrolyse enzymatique et une fermentation avec <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.</p>
2	Produits cosmétiques	Produits cosmétiques	<p>-L'extrait de peau de <i>Citrus reticulata</i> Blanco obtenu par Soxhlation présente un potentiel anti-collagénase et anti-élastase.</p> <p>- L'étude in vitro a mis en évidence l'activité antioxydante et anti-enzymatique élevée de l'extrait</p>
3	Médicament pharmaceutique	Effets anti-obésité	<p>-L'inclusion d'écorces d'agrumes vieilles (chenpi) dans le régime alimentaire de rats a entraîné une diminution du poids, une inhibition du développement des cellules.</p>

Chapitre II

*Nanoparticules d'oxyde de
zinc*

II. Les Nanoparticules

II.1. Définition des nanoparticules

La nanotechnologie est la branche qui comprend la synthèse, l'ingénierie et l'utilisation de matériaux dont la taille est comprise entre 1 et 100 nm, connus sous le nom de nanomatériaux. (Joudeh et Linke, 2022).

Les nanoparticules sont des matériaux minuscules constitués d'environ 10^6 atomes, leurs propriétés diffèrent de celles des atomes liés entre eux pour former des matériaux volumineux. Ils sont généralement considérés comme de nombreux atomes ou molécules réunis avec un rayon inférieur à 100 nm (Messai *et al.*, 2020). Elles peuvent être classées en différentes catégories en fonction de leurs propriétés, de leurs formes ou de leurs tailles, comprennent les fullerènes, les NPs métalliques, les NPs céramiques et les NPs polymériques.

Les nanoparticules possèdent propriétés physiques et chimiques uniques en raison de leur surface élevée et de leur taille nanométrique (Khan *et al.*, 2019).

II.2. Propriétés des nanoparticules

II.2.1. Les propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques distinctes des NP permettent aux chercheurs de rechercher de nouvelles applications dans de nombreux domaines importants tels que la tribologie, l'ingénierie des surfaces, la nano fabrication. Différents paramètres mécaniques tels que le module d'élasticité, la dureté, la contrainte et la déformation, l'adhésion et la friction peuvent être étudiés pour connaître la nature mécanique exacte des nanoparticules. Les NPs présentent des propriétés mécaniques dissemblables par rapport aux microparticules et à leurs matériaux en vrac. (Khan *et al.*, 2019).

II.2.2. Les propriétés magnétiques

Les propriétés magnétiques des nanoparticules sont utilisées pour l'administration de médicaments, les traitements thérapeutiques, les agents de contraste pour l'imagerie IRM, la bio séparation et les diagnostics in vitro. Ces particules de taille nanométrique sont super paramagnétiques, une propriété qui résulte de leur taille minuscule quelques nanomètres seulement, soit une fraction de la largeur d'un cheveu humain. Les nanoparticules super paramagnétiques ne sont pas magnétiques lorsqu'elles se trouvent dans un champ magnétique nul, mais elles deviennent rapidement magnétiques lorsqu'un champ magnétique externe est appliqué. Lorsqu'elles sont replacées dans un champ magnétique nul, elles reviennent

rapidement à un état non magnétise. Le super paramagnétisme est l'une des propriétés les plus importantes des nanoparticules utilisées pour la séparation biomagnétique (Martinez, 2022).

II.2.3. Les propriétés optiques et électroniques

Les NP métalliques et semi-conductrices possèdent d'intéressantes propriétés d'absorption linéaire, d'émission par photoluminescence et d'optique non linéaire dues au confinement quantique et à l'effet de résonance plasmonique de surface localisée (LSPR). Les phénomènes de LSPR surviennent lorsque la fréquence du photon incident est constante avec l'excitation collective des électrons conducteurs. En raison de ce phénomène, les NP de métaux nobles présentent une bande d'extinction UV-visible forte et dépendante de la taille qui n'est pas présente dans les spectres des métaux en vrac. En général, les propriétés optiques des NP dépendent de la taille, de la forme et de l'environnement diélectrique des NP (Joudeh et Link, 2022).

III. Nanoparticules de ZnO

III.1. Définition

Le zinc est un oligo-élément essentiel que l'on trouve dans les muscles, les os, la peau et les tissus durs des dents (Pushpalatha *et al.*, 2022). Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) sont le deuxième oxyde métallique le plus abondant après le fer. Elles sont peu coûteuses, sûres et faciles à préparer (Lakshmi priya et Gopinath, 2021). Les NPs de ZnO sont une poudre blanche inodore dont le poids moléculaire est de 81,38 g/mol. Ses nombreuses applications sont dues à ses propriétés optiques, magnétiques, morphologiques, électriques, catalytiques, mécaniques et photochimiques uniques, qui peuvent être facilement modifiées en fonction des besoins : en modifiant la taille, en dopant avec des composés supplémentaires ou en ajustant les conditions de synthèse. Plus la taille des particules diminue, plus les caractéristiques recherchées s'améliorent (Pushpalatha *et al.*, 2022).



Figure 4 : Nanoparticule et poudre de ZnO (Azom, 2011 ; Azonano, 2013).

III.2. Propriétés physico chimique de ZnO

L'oxyde de zinc est thermochromique, passant du blanc au jaune lorsqu'il est chauffé et, dans l'air, revenant au blanc lorsqu'il est refroidi. Ce phénomène est dû à une très faible perte d'oxygène à haute température.

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques de ZnO (Behara, 2009) (Malik, 2015) (Mazouzen et Benabdeslam, 2014).

Formule brute	ZnO
Solubilité	-Il est presque insoluble dans l'eau et l'alcool. -Il est soluble dans l'acide chloridrique et forme ZnCl ₂ . -Il est soluble dans l'acide acétique et forme l'acétate de zinc de forme Zn(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ .
Masse molaire	81,37
Température de fusion	1975°C
Densité	5,60 g/cm ³
Force de liaison chimique	66 Kcal/mol
Température de vaporisation	1370°C-1400°C

III.2. Caractérisation des nanoparticules de ZnO

Les propriétés optiques des NPs de ZnO biosynthétisées ont été caractérisées à l'aide de différentes techniques d'analyse. Tout d'abord, la spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) a été contrôlée pour vérifier la technique de réduction utilisée pour la synthèse des NP de ZnO. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a été utilisée pour détecter la présence de biomolécules potentielles et de groupes fonctionnels. La diffraction des rayons Xa été utilisée pour vérifier la formation, le comportement cristallin et la qualité de la poudre de NP de ZnO bioréduite (Shaikhaldein *et al.*, 2021).

III.2.1. La diffraction des rayons X

La méthode DRX convient mieux aux échantillons en poudre, qui sont fraîchement préparés après séchage des solutions colloïdales respectives des échantillons. Grâce à l'équipement DRX, la position et l'intensité des pics d'un échantillon sont comparées aux schémas de diverses bases de données de diffraction, ce qui permet de quantifier la composition des nanoparticules (Mourdikoudis *et al.*, 2018).

Le principe de fonctionnement de la méthode DRX implique la diffusion des rayons X due à la révolution des électrons dans le noyau de l'atome lorsque les rayons frappent les nanoparticules. Les rayons X diffusés sont réfléchis dans différentes directions, ce qui provoque des figures d'interférence. Ces figures sont soit destructives, soit constructives (**Fultz et Howe, 2013**), mais seuls les rayons X diffusés qui subissent une interaction constructive donnent lieu à une diffraction.

Dans une nanoparticule, l'interférence constructive se produit lorsque deux ondes se déplacent en phase l'une avec l'autre, et l'interférence destructive résulte d'un mouvement hors phase. L'arrangement à l'échelle atomique et la diffraction sont fortement et inversement corrélés : les atomes ayant des arrangements périodiques plus courts présentent des angles de diffraction plus grands et vice versa (**Fultz & Howe, 2013**).

La caractérisation des nanoparticules par DRX nécessite une source, un détecteur et un échantillon. Des films minces de nanoparticules sont préparés pour l'analyse DRX, ce qui implique la coulée de la nanoparticule sur un substrat approprié à faible bruit de fond. Les échantillons de nanoparticules présentant l'orientation recherchée sont placés sur un goniomètre approprié, où plusieurs réflexions sont évaluées. Cependant, un échantillon d'orientation aléatoire peut ne nécessiter qu'un balayage rapide à travers un angle de diffraction de 2θ .

La caractérisation des nanoparticules par DRX commence par l'identification de la phase du matériau de l'échantillon ; le type de cristal dans l'échantillon est déterminé par un processus de recherche et de correspondance, qui est effectué dans les régions où les pics de fortes intensités sont observés.

Les différentes configurations de pics de DRX sont le résultat de diverses dispositions d'atomes. Dans une technique DRX, l'interférence se produit lorsque la lumière d'une longueur d'onde donnée illumine une structure périodique ayant un espacement prédéfini. Le principe de la DRX suit la loi de Bragg ($n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta$), où λ , n , d et θ désignent respectivement la longueur d'onde des rayons X, le nombre entier, l'espacement des plans atomiques et le demi-angle de diffraction. Par conséquent, des informations concernant les défauts cristallins de l'échantillon, la taille des cristaux, la phase cristalline, l'anisotropie de forme, la déformation et la texture peuvent être obtenues à partir de l'évaluation de la largeur, de la forme et de la position des pics de diffraction (**Widjonarko, 2016**).

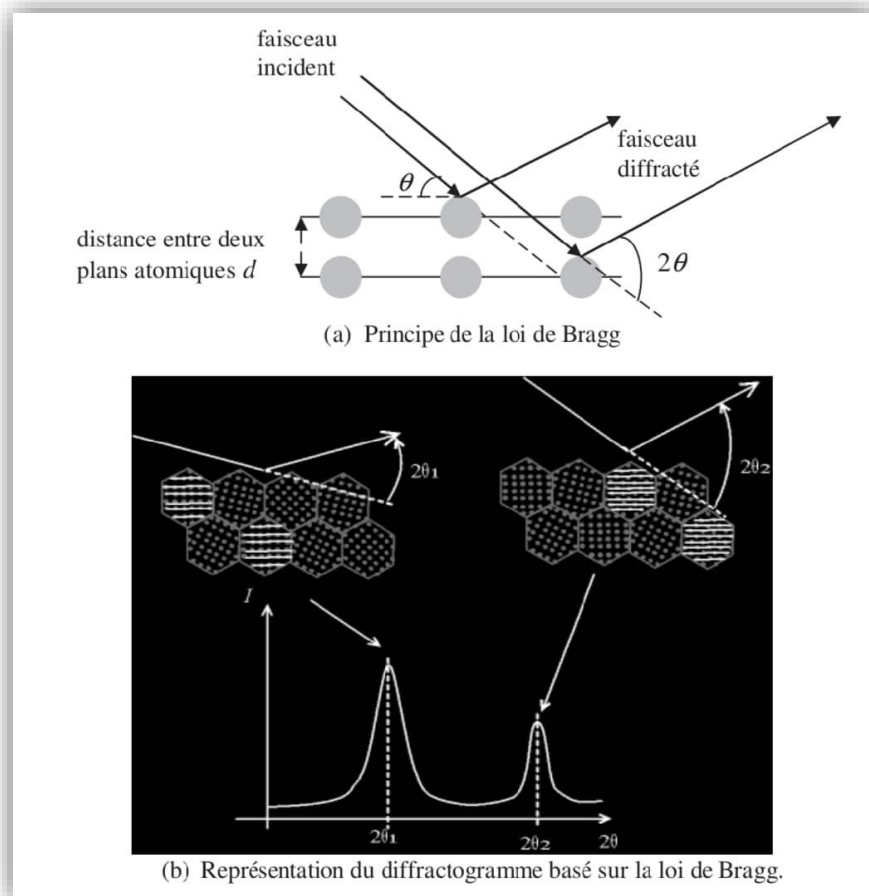


Figure 5 : Principe de la caractérisation par diffraction des rayons X.

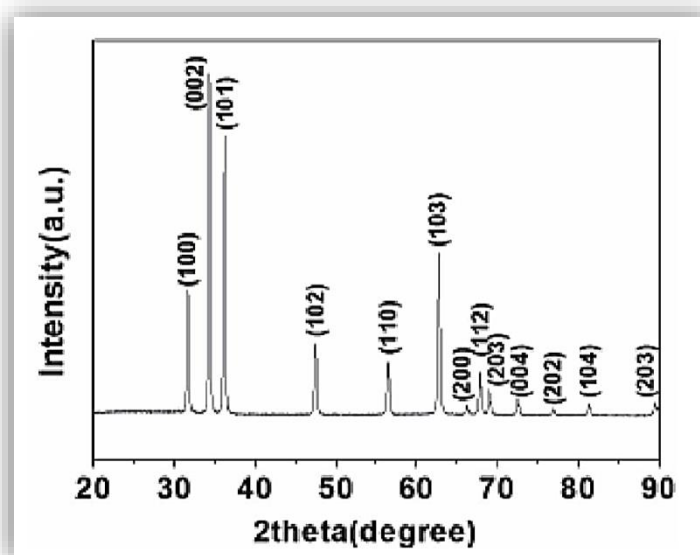


Figure 6 : Exemple de diffractogramme de nanotubes de ZnO en faisceaux faisant apparaître une structure hexagonale (Yang, 2013).

III.2.2. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est un microscope électronique qui crée des images de la surface de l'échantillon en la balayant avec un flux d'électrons à haute énergie. Le schéma du MEB est illustré à la **figure 7**.

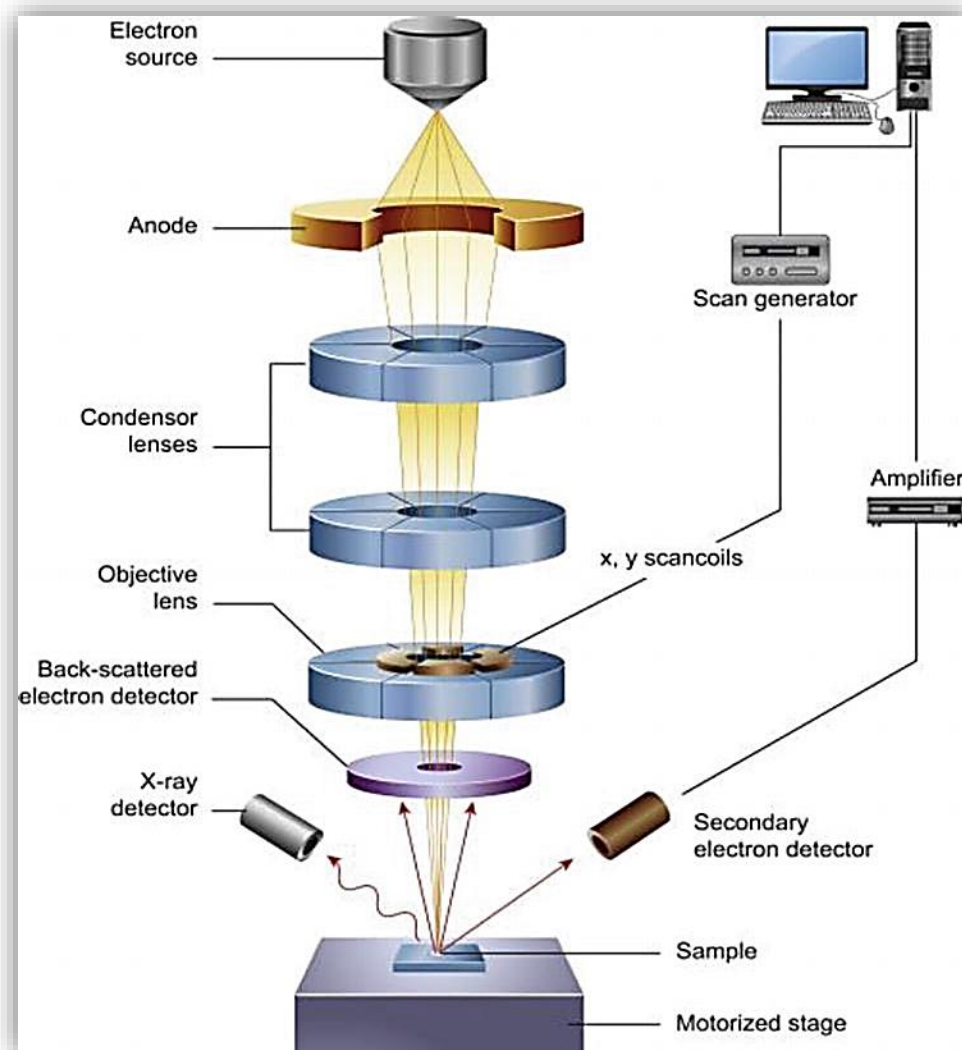


Figure 7 : Forme schématique de MEB.

La morphologie de la surface des matériaux a été étudiée à l'aide de la technique de microscopie électronique à balayage (MEB). Cette technique diffère de la microscopie électronique à transmission au niveau de l'emplacement de l'échantillon et de l'intensité des faisceaux d'électrons. Dans le cas de la MET, le faisceau d'électrons pénètre dans l'échantillon, alors que dans le cas du MEB, le faisceau d'électrons est incident sur la surface de l'échantillon. Le MEB fournit des informations sur la morphologie de la surface et la composition des matériaux. La technique MEB présente plusieurs avantages dans l'analyse morphologique et

dimensionnelle, mais les informations sont limitées en ce qui concerne la taille de la distribution et la population moyenne réelle. L'étude d'une solution de nanoparticules à l'aide du MEB nécessite un séchage pour obtenir une poudre avant de la monter sur un porte-échantillon et de revêtir la surface de l'échantillon d'un métal conducteur, tel que l'or, à l'aide d'un dispositif de pulvérisation cathodique. L'échantillon de surface est scanné lorsqu'un flux d'électrons à haute énergie est incident sur lui. Les images agrandies à haute résolution produites lorsque le faisceau d'électrons étroit révèle des détails d'une taille inférieure à 1-5 nm produisent une image tridimensionnelle caractéristique permettant de comprendre la structure de l'échantillon de surface (Ali, 2020).

III.3. Applications des NPs de ZnO

III.3.1. Application biomédicale

Les nanoparticules de ZnO, un nouveau type de nanomatériau peu coûteux et peu toxique, ont suscité un grand intérêt dans divers domaines biomédicaux, notamment pour les activités anticancéreuses, antibactériennes, antioxydantes, antidiabétiques et anti-inflammatoires, ainsi que pour l'administration de médicaments et les applications de bio-imagerie. Les nanoparticules de ZnO de moins de 100 nm sont considérées comme relativement biocompatibles, ce qui favorise leurs applications biomédicales et représente une propriété puissante pour promouvoir la recherche biomédicale.

III.3.1.1. Activité anticancéreuse

Le cancer, une condition de prolifération incontrôlée de cellules malignes, est généralement traité par la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie au cours des dernières décennies. Bien que toutes ces thérapies semblent en théorie très efficaces pour tuer les cellules cancéreuses, ces méthodes thérapeutiques non sélectives entraînent également de nombreux effets secondaires graves. Récemment, la nanomédecine à base de nanomatériaux, qui présente une biocompatibilité élevée, une fonctionnalisation de surface aisée, un ciblage du cancer et une capacité d'administration de médicaments, a démontré qu'elle pouvait surmonter ces effets secondaires. Le Zn^{2+} est un nutriment essentiel pour les adultes et les nanomatériaux de ZnO sont considérés comme sûrs *in vivo*. Compte tenu de ces avantages, les nanoparticules de ZnO peuvent être choisies comme nanoplateformes biocompatibles et biodégradables et peuvent également être explorées pour le traitement du cancer. L'activité anticancéreuse des nanoparticules de ZnO dans différents cancers est présentée dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Les effets anticancéreux des NP ZnO dans différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines.

Type de cancer	Effet et mécanisme
Cancer du colon	<p>-Les NP de ZnO ont supprimé la viabilité cellulaire de la lignée cellulaire Caco-2 en augmentant les ROS et en induisant la libération d'IL-8</p> <p>-Les NP de ZnO et les acides gras peuvent induire une déstabilisation lysosomale dans les cellules Caco-2</p> <p>-Les NP de ZnO induisent une cytotoxicité des cellules Caco-2 associée à une augmentation des ions Zn intracellulaires</p> <p>-Les NP de ZnO conjuguées à des peptides ont eu un effet antiprolifération plus important sur les cellules cancéreuses du côlon HT-29 que les autres NP d'Al et les NP de Fe₃O₄.</p>
Cancer du sein	<p>_Les NP de ZnO formulées de manière écologique arrêtent le cycle cellulaire dans la phase G2/M et régulent à la hausse les gènes proapoptotiques p53, p21, Bax et JNK et à la baisse les gènes antiapoptotiques Bcl-2, AKT1 et ERK1/2 de manière dose-dépendante dans les cellules MCF-7.</p> <p>-A doxorubicin delivery system based on zinc oxide nanomaterials can bypass the P-gp increase in the drug accumulation in resistant MCF-7R and MCF-7S cells.</p> <p>-Les nanoparticules composites magnétiques ZnO-Fe₃O₄ spécifiques au site n'ont pas de toxicité significative pour les cellules NIH 3T3 non cancéreuses mais montrent une toxicité évidente à une concentration similaire pour les cellules MDA-MB-231.</p>
Cancer du poumon	<p>-Les NPs de ZnO incorporées dans les liposomes ont non seulement rendu le pH sensible au vecteur mais ont également présenté une action anticancéreuse chimio-photodynamique synergique.</p> <p>-Les cellules d'adénocarcinome pulmonaire humain présentant une mutation de l'EGFR sont sensibles aux NP20 de ZnO et aux NP20 d'Al-ZnO, qui entraînent une mort cellulaire non autophagique.</p>
Cancer des ovaires	<p>-Les NP de ZnO sont capables d'induire une cytotoxicité significative, l'apoptose et l'autophagie dans les cellules SKOV3 par le biais de la génération d'espèces réactives de l'oxygène et du stress oxydatif.</p>

III.3.1.2. Activité antibactérienne

Les nanoparticules de ZnO peuvent être choisies comme matériau antibactérien en raison de leurs propriétés supérieures, telles qu'une surface spécifique élevée et une forte activité de blocage d'un large éventail d'agents pathogènes. Les principaux mécanismes de toxicité antibactérienne des NP de ZnO étaient basés sur leur capacité à induire une production excessive de ROS, tels que l'anion superoxyde, les radicaux hydroxyles et la production de peroxyde d'hydrogène. L'activité antibactérienne peut impliquer l'accumulation de NP de ZnO dans la membrane externe ou le cytoplasme des cellules bactériennes et déclencher la libération de Zn^{2+} , ce qui entraînerait la désintégration de la membrane des cellules bactériennes, la détérioration des protéines membranaires et l'instabilité génomique, aboutissant à la mort des cellules bactériennes.

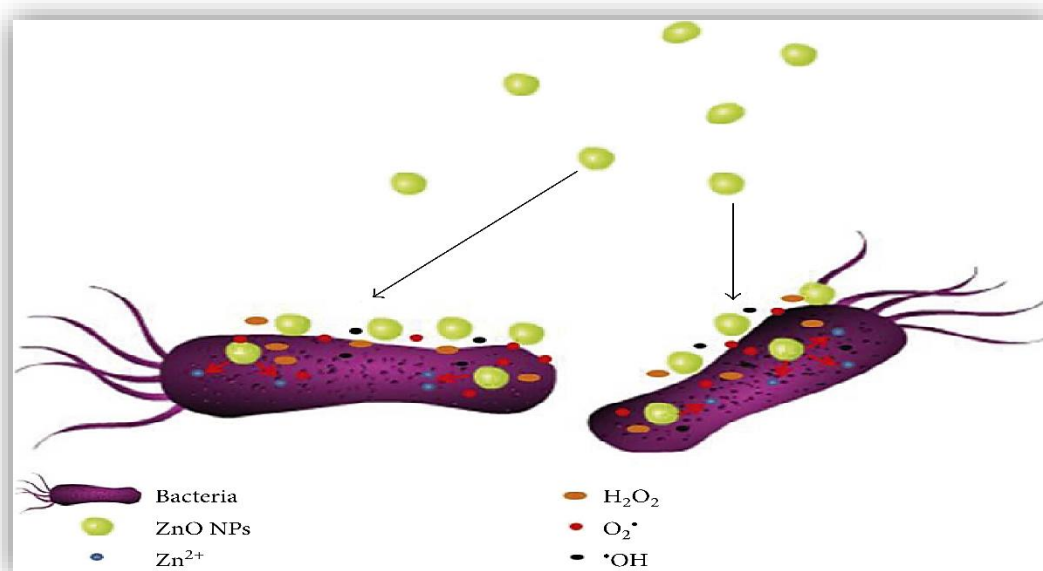


Figure 8 : Illustration schématique de l'activité antibactérienne des NP ZnO

III.3.1.3. NP ZnO pour le traitement du diabète

Le diabète sucré est une maladie métabolique causée par l'incapacité de l'organisme à produire de l'insuline ou par l'utilisation inefficace de l'insuline produite. Le zinc est un oligo-élément et un minéral abondant dans tous les tissus et liquides tissulaires humains. Le zinc est bien connu pour maintenir l'intégrité structurelle de l'insuline et joue un rôle actif dans la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques. Il participe également à la synthèse, au stockage et à la sécrétion de l'insuline. C'est pourquoi des NP de ZnO ont été développées et évaluées pour leur potentiel antidiabétique en tant que nouvel agent permettant de délivrer du zinc.

Tableau 4 : NP ZnO pour le traitement du diabète.

Type de NP	Taille	Médicament chargé/synergie	Effets
NP ZnO	~20 nm sphérique	–	la glycémie à jeun et une augmentation des taux de lipoprotéines de haute densité
NP ZnO	10–30 nm	Thiamine	NP ZnO en association avec une thérapie du diabète améliorée par la thiamin
NP ZnO	~10 nm	–	Les NP ZnO ont présenté des effets antidiabétiques pléiotropes via une meilleure signalisation de l'insuline, une meilleure absorption du glucose, une diminution de la production hépatique de glucose, une diminution de la lipolyse et une augmentation de la masse de la cellule bêta pancréatique.

III.3.1.4. NP ZnO pour la bioimagerie

Les NP de ZnO présentent des émissions bleues efficaces et des émissions proches de l'UV, qui ont une luminescence verte ou jaune liée à des lacunes dans l'oxygène, ce qui élargit son application dans le domaine de la bio-imagerie.

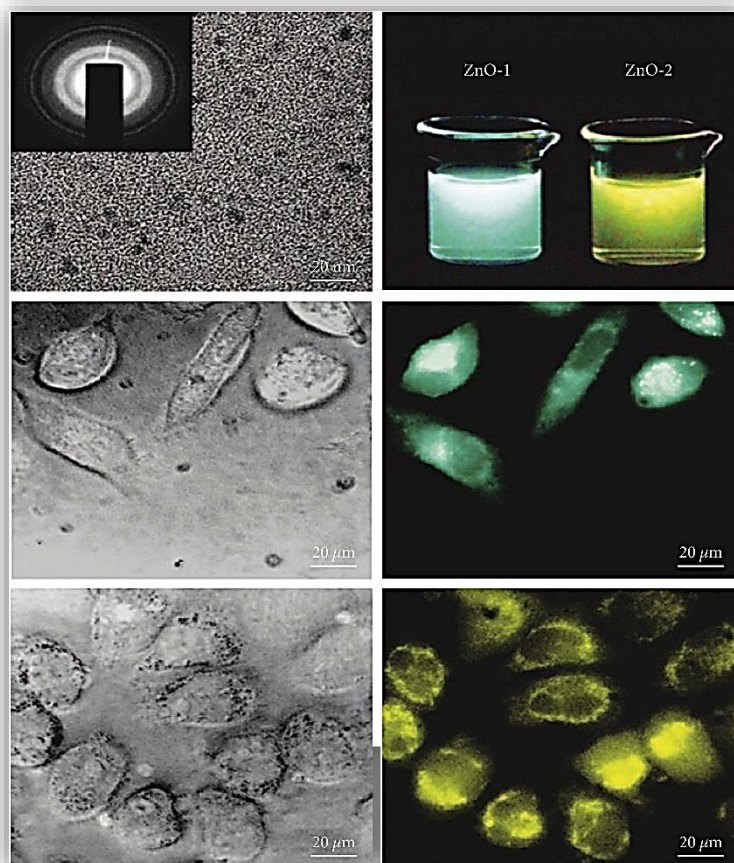


Figure 9 : La partie supérieure est l'image de microscopie électronique à transmission haute résolution (HRTEM) des nanoparticules de noyau-enveloppe de polymère ZnO et des solutions aqueuses de ZnO-1 et ZnO-2 sous une lumière UV ; la partie médiane est l'image DIC et l'image fluorescente des cellules d'hépatome humain marquées par ZnO-1 ; et la partie inférieure est l'image DIC et l'image fluorescente des cellules d'hépatome marquées par ZnO-2(Jiang *et al.*, 2018).

III.3.2. Application environnementale

III.3.2.1. Traitement des eaux

Le développement de nanoparticules inorganiques d'ingénierie présentant un intérêt direct ou potentiel pour le traitement de l'eau potable. L'incorporation de nanoparticules artificielles dans les technologies de traitement de l'eau potable pour l'élimination des métaux lourds, des micro-organismes et des polluants organiques apparaît comme une branche très dynamique de la nanotechnologie. Les nanoparticules doivent leur potentiel à leur surface spécifique élevée et à leur réactivité de surface par rapport aux matériaux en vrac conventionnels. En fonction du mécanisme d'absorption, les nanoparticules peuvent être conçues pour établir une sélectivité élevée contre des polluants spécifiques et fournir l'efficacité requise pour l'application. Toutefois les nanoparticules se heurtent à un certain nombre de limites pour être promues et

faire partie des installations de traitement de l'eau à grande échelle. Le plus important est leur disponibilité dans les grandes quantités requises et leur efficacité pour répondre aux réglementations strictes en matière de consommation d'eau potable et de sécurité environnementale. Tous deux traitent du coût de préparation des particules et du coût de l'opération de traitement par rapport à l'augmentation du prix de l'eau fournie aux consommateurs (Simeonidis *et al.*, 2016).

III.3.2.1.1. Purifier et rendre l'eau potable grâce à la nanofiltration

En gros, les nanotechnologies permettent de créer des membranes de nanofiltration pour purifier l'eau de manière très efficace en éliminant les bactéries, les virus et les polluants tels que l'arsenic, le mercure et le plomb.

Cette technique est déjà utilisée dans certains pays côtiers qui manquent d'eau et permet de réduire le coût de l'eau potable obtenue par désalinisation de l'eau de mer de 25%.

Les membranes de nanofiltration sont utilisées pour réduire la quantité de calcaire et pour traiter les eaux usées. Ces membranes agissent comme une barrière physique qui retient tous les micro-organismes ou les particules dont la taille est supérieure à celle de leurs pores nanométriques, et rejettent certaines substances de manière sélective (France nature environnement, 2020).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Dans ce chapitre, la méthodologie a été utilisée pour la synthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc à partir des déchets (écorces) de mandarine et présenter les différents paramètres opérationnels pour optimiser la synthèse. Le travail a été réalisé aux niveaux de l'Université Des frères Mentouri Constantine 1, Faculté de Science de la nature et de la vie (Laboratoire de Microbiologie) et la faculté de Science de la matière (Laboratoire de physique).

I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude c'est les écorces de la mandarine (*Citrus reticulata*).

Les échantillons *Citrus reticulata* ont été collectés aux niveaux des marchés de Constantine en Janvier 2023. Avant d'utiliser les fruits, il est nécessaire de les laver à l'eau pour éliminer les souillures et les tâches noires présentes à la surface de l'écorce. Les morceaux d'écorce ont été disposés sur des plateaux de séchage dans un endroit sec, bien ventilé et à l'ombre pendant plusieurs semaines jusqu'à ce qu'ils deviennent secs. Le temps de séchage peut varier en fonction de l'humidité de l'air et de l'épaisseur des écorces (Thakkar, 2010).



Figure 10 : Les écorces des mandarines avant et après séchage.

I.1. Broyage

1. Pour le broyage, nous avons utilisé un moulin à café. Il est essentiel de s'assurer que l'équipement est propre et sec avant de l'utiliser, notamment pour éviter toute humidité résiduelle.

2. Lors du broyage, nous avons pris les écorces séchées et les avons placées dans l'équipement en petites quantités à chaque fois.

3. Les écorces ont été broyées jusqu'à obtenir une poudre uniforme et fine.



Figure 11 : Les écorces de la mandarine avant et après broyage.

I.2. Macération

L'extrait brut des échantillons étudiés est obtenu par macération, qui est réalisée en mettant en contact un support solide avec un solvant. Dans notre expérience, 100 g de poudre d'écorce de mandarine a été mélangé avec 1 litre d'eau distillée. Le mélange a été placé sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24 heures. De plus, 50 g d'écorce a été mélangé avec 500 ml d'eau distillée.



Figure 12 : Mesure de la masse avec une balance.

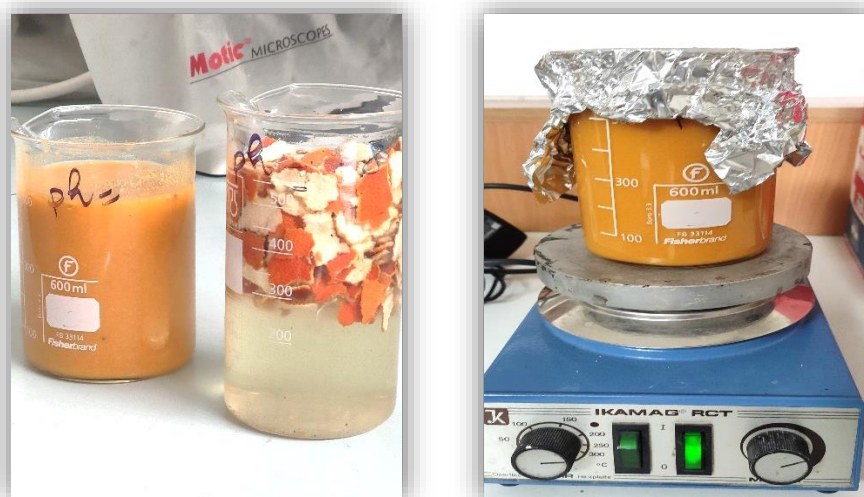


Figure 13 : Processus de macération et d'agitation pour l'extraction des échantillons.

I.3. Filtration

Une fois la macération terminée, nous avons procédé à la filtration des deux mélanges en utilisant des compresses stériles plusieurs fois jusqu'à obtenir un filtrat clair, dépourvu de pulpe ou de particules indésirables (Thakkar, 2010).

I.4. Extraction des NPs ZnO

L'ajout de sulfate de zinc ($ZnSO_4$) respectivement 0,4 g, 1,2 g et 2 g à chaque 200 ml d'extrait de la poudre d'écorce. Ainsi, prépararion d'autres échantillons avec 0,18 g et 0,9 g de sulfate de zinc à chaque 80 ml d'extrait d'écorce. Ces concentrations correspondent respectivement à 2 g/l ; 6g/l ; 10g/l ; 2,25g/l et 11,25 g/l.

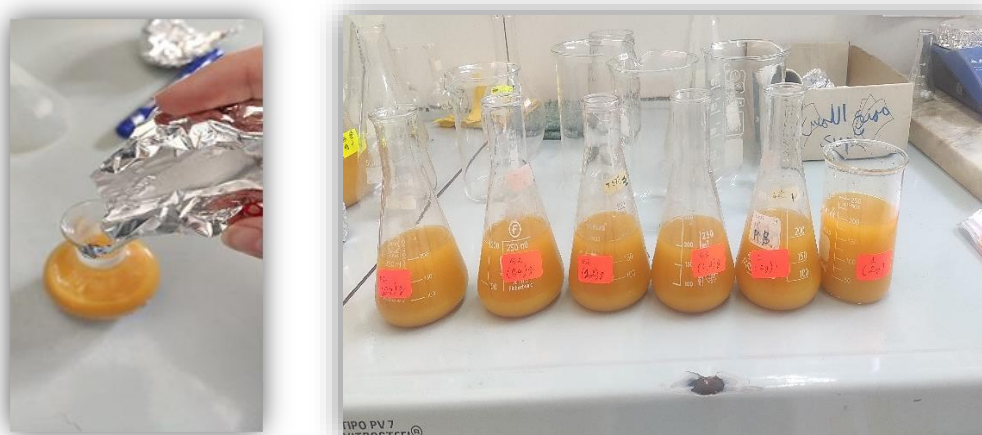


Figure 14 : Distribution des différentes concentrations de sulfate de zinc dans les extraits.

Chauffage à 85°C avec une agitation (350tr/min) pendant 1 heure et séchage à (100°C) pendant un jour (Thakkar, 2010).



Figure15 : Agitation magnétique et séchage des échantillons.

I.5. Centrifugation

L'ajout de l'eau distillée à l'échantillon, puis l'est placé dans la machine de centrifugation. La centrifugation a été réalisée à une vitesse de 2800 tr/min pendant 5 minutes. Ce processus a été répété trois fois, en remplaçant le liquide à chaque fois par de l'eau distillée (opération de lavage), dans le but d'éliminer les impuretés présentes (Gericke, 2006).



(a)

(b)

(c)

Figure 16 : (a) : Centrifugation , (b) : Lavage , (c) : Séparation du culot.

Séparation du culot (sédiment) du surnageant (liquide clair) dans l'échantillon. Après cette séparation, le culot a été transféré dans une étuve préchauffée à 100 °C pendant environ 24 heures pour être séché. Ce processus de séchage permet d'éliminer toute humidité résiduelle présente dans le culot (**Hasan, 2015**).



Figure 17 : Récupération et séchage du culot.

Les échantillons ont été chauffés dans un four à moufle à 500 °C pendant 3 heures. Cette étape de chauffage prolongée permet de réaliser une calcination ou une pyrolyse, où les composants organiques sont entièrement brûlés ou éliminés, laissant ainsi les composants inorganiques ou minéraux présents dans l'échantillon (Saxena, 2010).



Figure 18 : Chauffage des échantillons dans un four à moufle.

II. Partie microbiologique

II.1. Origine des souches microbiennes

Les souches bactériennes et fongiques utilisées ont été fournies respectivement, par les laboratoires de Microbiologie de l'université des Frères Mentouri Constantine 1 et de Mycologie/Parasitologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Benbadis de Constantine (Tableau 5 et 6).

Tableau 5 : Souches bactériennes utilisées.

Souches bactériennes	Référence	Origine
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	UFMC1
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	UFMC1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	UFMC1

Tableau 6 : Souches fongiques utilisées.

Souches fongiques	Référence	Origine
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	UFMC1
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC	UFMC1
<i>Microsporium canis</i>	/	CHU-Benbadis
<i>Trichophyton rubrum</i>	/	CHU-Benbadis
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	/	CHU-Benbadis

II.2. Test Antibiogramme

L'évaluation de l'activité antimicrobienne, antifongique et anti levurienne des NPs ZnO a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait de la plante et NPsZnO, dans le milieu de culture contre les souches test utilisées.

II.3. Préparation des dilutions des extraits

Dans les tubes d'ependorf de 2 ml, nous avons ajouté 1,5 ml d'eau distillée. Chaque tube contenait respectivement 0,005 mg et 0,01 mg de la poudre de NPs ZnO à chaque concentration de sulfate de zinc (0,4 g, 1,2 g, 2 g).

II.4. Préparation des disques

Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques stériles de papier Whitman n°1 de 5 mm de diamètre.

II.5. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure des souches microbienne à tester sur milieu d'isolement, racler par une pipette Pasteur, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension microbienne.
- L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum.

II.6. Ensemencement

Nous avons réalisé la surfusion des milieux de cultures : Muller Hinton pour les bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) et milieu Sabouraud

pour les champignons (*Aspergillus niger*, *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes*) et les levures (*Candida albicans*).

Les étapes ci-dessous décrivent le processus d'ensemencement :

1. La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène ;
2. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse) ;
3. L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
4. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas ;
5. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
6. Incuber les boîtes à 4°C pendant 5 min pour empêcher la croissance bactérienne.

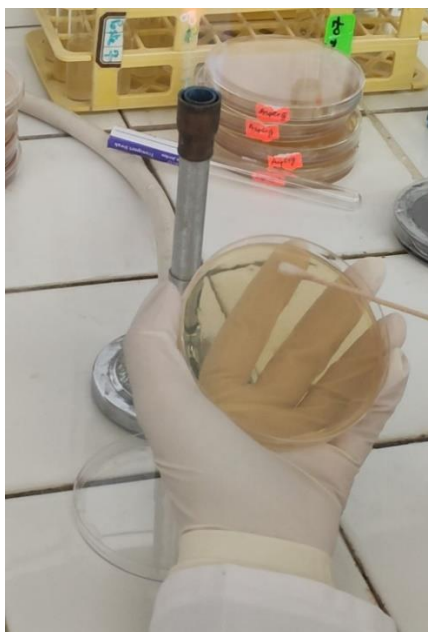


Figure 19 : Etape d'ensemencement.

II.7. Application des disques d'antibiogramme

Dans chaque boîte de Pétri, nous avons prélevé 30 µl de chaque dilution d'extraits et les avons déposés sur des disques. Deux disques ont été réalisés à différentes concentrations d'extraits (0,0005 g et 0,001 g) et ils doivent être espacés dans la boîte. Une boîte témoin a été préparée pour l'expérience, contenant deux disques. Un disque était un témoin positif, contenant

un additif spécifique pour les bactéries SFB (sélénite acide sodium), Mycocide pour les champignons et les levures tandis que l'autre disque était un témoin négatif, contenant de l'eau distillée stérile.

Il est important de presser chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application correcte. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

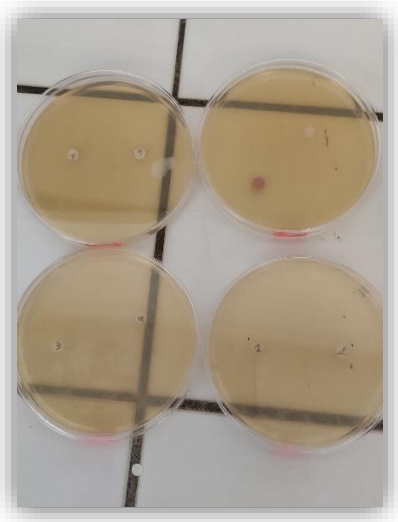


Figure 20 : Application des disques d'antibiogramme.



Figure 21 : Témoin positive SFB.

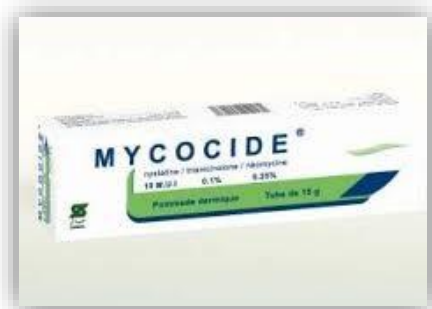


Figure 22 : Témoin positive Mycocide.

II.8. Echantillon brute (Ecorce)

Dans le cadre de cette expérience, l'ensemencement des souches microbiennes dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose Müller-Hinton pour les bactéries et de la gélose Sabouraud

pour les champignons. Ensuite, l'insertion d'un petit morceau d'écorce de mandarine au centre de chaque boîte.

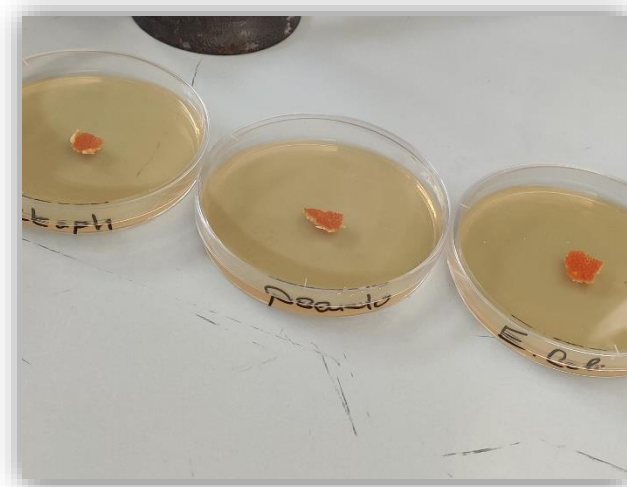


Figure 23 : Témoin d'écorce.

II.9. Incubation et Lecture

Après incubation 24 heures à 37°C et 30°C pour les souches bactériennes et fongiques dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition.

III. Caractérisation des NPsZnO

Au sein de laboratoire de physique, faculté des Sciences de la matière, Université frères Mentouri Constantine 1, nous avons employées deux approches distinctes pour effectuer la caractérisation des nanoparticules de ZnO : La diffraction des rayons X (DRX) et la microscopie électronique à balayage (MEB).



Figure 24 : Appareil de caractérisation DRX (PanalyticalEmpyrean).

IV. Test d'entomopathogénicité

Afin de déterminer les propriétés biocides des nanoparticules, nous avons adopté la méthode d'inoculation directe par trempage. La technique recommandée par la FAO comme méthode standard de la détection et de mesure de la résistance des pucerons aux insecticides et particulièrement pour mesurer la toxicité des NPs par contact. Pour chaque concentration des NPs et notamment vis-à-vis *Myzus persicae*, les pucerons sont trempés pendant 10 secondes dans la suspension des NPs préparée à une concentration de l'ordre de 0.1mg/ml. Par la suite, sur des sections rectangulaires de feuilles de pomme de terre, désinfectées au préalable avec l'eau de Javel, puis rincées plusieurs fois à l'eau distillée, les pucerons traités sont répartis, à raison de 5 individus par boîte de Pétri avec six répétitions par traitement. Quant aux pucerons témoins, ils ont été trempés dans de l'eau distillée stérile contenant 0,05% de Tween 80 avant d'être répartis de la même manière. Ainsi, l'évaluation du pouvoir pathogène est réalisée sur la base de 30 pucerons pour chaque concentration des NPs. Les insectes traités ont été maintenus à une température de 25°C et l'humidité 60%. La mortalité des individus traités est contrôlée pendant 1er, 3ème, 5ème et 7ème jours jusqu'à la mort de tous les individus, il est à noter que les sections foliaires sont remplacées régulièrement chaque deux jours par de nouvelles sections foliaires désinfectées et rincées. À chaque contrôle, les insectes morts sont éliminés avant la diffusion des NPs pour éviter la transmission horizontale de l'infection dans une même boîte.

Le pourcentage de mortalité est calculé et corrigé par la formule d'Abbott (1925). (Saruhan *et al.*, 2015).

**La mortalité % = ((pucerons vivants des témoins – pucerons vivants traités) X100)/
Pucerons vivants des témoins**

Chapitre IV

Résultats et discussion

I. Résultats physico-chimiques des poudres synthétisées

Après obtention des matériaux, sous forme de poudres, synthétisés avec diverses concentrations du sel ZnSO₄ anhydre (0.2, 0.4, 0.9, 1.2 et 2) dans différents volumes, qui correspondent aux concentrations réelles respectives en g/l suivantes : (1, 2, 11.25, 6, 10). On note que seule la concentration de 11.25 g/l est obtenue avec des écorces de mandarine contrairement aux autres concentrations qui sont produites par des poudres.

Nous avons procédé à quelques analyses structurales, de compositions et de morphologies dans le but de confirmer la synthèse de ZnO en poudres. Cette investigation nous permettra de connaître les phases chimiques qui se forment dans le matériau, leurs états cristallographiques, ainsi que la composition chimique de chaque échantillon élaboré.

I.1. Analyse structurale des poudres synthétisées par DRX

Nous présentons sur la figure (A) les résultats de la diffraction des rayons X (DRX) de toute la série, composée de cinq échantillons qui étaient préparés avec différentes concentrations d'un sel de sulfate de zinc tandis que les autres conditions opératoires ont été maintenues constantes. Dans cette caractérisation l'angle de diffraction (2θ) a été varié dans la gamme [0, 90°]. Comme on peut le voir sur cette figure qui regroupe l'ensemble des diffractogrammes des échantillons élaborés à différentes concentrations massiques de sel variant de 1 jusqu'à 11.25 g/l. Les matériaux (poudres) sont tous polycristallins, présentant plusieurs pics positionnés dans les mêmes angles de diffraction. L'étude préliminaire confirme que les cristallites sont bien cristallisées, ne présentant aucune phase amorphe, dont les pics les plus intenses sont ceux de la phase ZnO comme le confirme la fiche ASTM (code N° 1397-089-01). Les pics sélectionnés sont positionnés selon les angles de diffractions (31.66 ; 34.34 ; 36.16 ; 47.45 ; 56.49 ; 62.75 ; 67.83 ; 69.04°) qui correspondent aux plans d'orientations [h,k,l] comme indiqués sur la même figure A : (001 ; 002 ; 101 ; 102 ; 110 ; 103 ; 112 ; 201). On note également l'existence d'autres pics de très faibles intensités qui ne sont pas de ZnO mais peuvent être assignés à d'autres phases secondaires qui dérivent, probablement, des constituants de la mandarine : CaO, MgO, CuO,

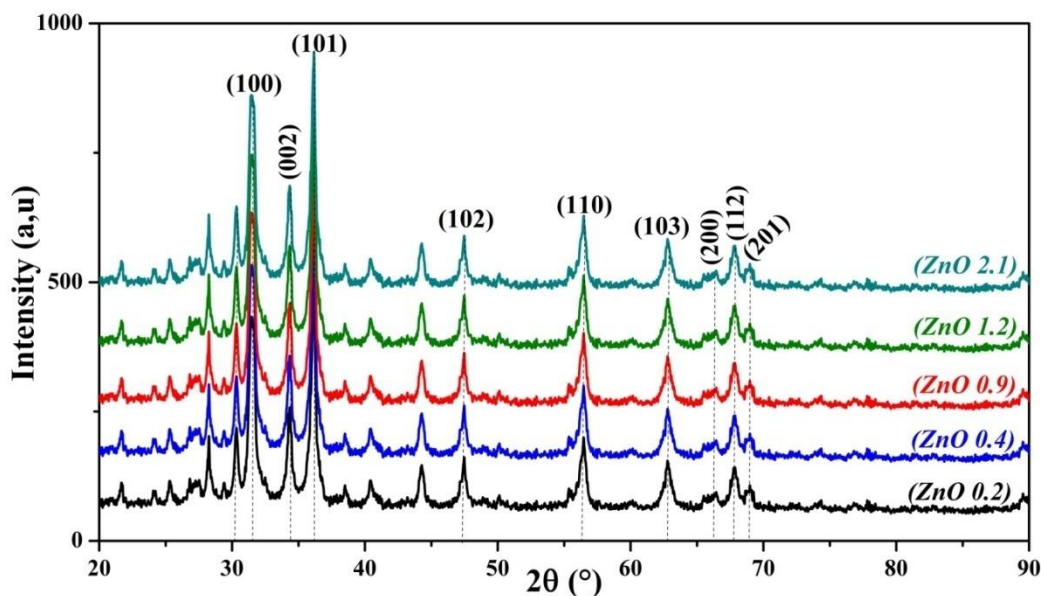


Figure 25 : Diffractogrammes des rayons X des échantillons de ZnO en poudres synthétisés avec différentes concentrations ZnSO_4 (0.2, 0.4, 0.9, 1.2, 2) et des écorces de mandarine broyées et recuites à 500°C pendant 3 heures.

Les résultats des évolutions des intensités de chaque pic en fonction de la concentration du précurseur ZnSO_4 sont regroupés dans le tableau 7. On remarque que les intensités des pics augmentent avec la concentration du sel précurseur de Zinc. En plus, la croissance des cristallites est produite en premier lieu selon la direction privilégiée du plan (101) qui présente la plus forte intensité correspondant à la plus faible énergie de formation, suivie ensuite par celles des directions (100), (002), ...etc.

Tableau 7 : Présentation des pics relatifs à la phase ZnO avec leurs orientations et les évolutions de leurs intensités en fonction de la concentration en ZnSO_4 de chaque échantillon.

Ech.	0.2 (1g/l)		0.4 (2g/l)		0.9* (11.25g/l)		1.2 (6g/l)		2 (10g/l)	
	2θ (°)	I (u.a)	2θ (°)	I (u.a)	2θ (°)	I (u.a)	2θ (°)	I (u.a)	2θ (°)	I (u.a)
(001)	31,66	332,55	31,64	346,73	31,59	398,24	31,67	457,90	31,61	517,99
(002)	34,34	184,71	34,28	249,55	34,20	231,61	34,33	305,70	34,29	435,63
(101)	36,16	458,59	36,08	516,48	36,07	537,92	36,10	660,07	36,07	873,83
(102)	47,45	86,75	47,34	107,80	47,35	96,18	47,44	117,56	47,37	156,59
(110)	56,49	123,18	56,47	159,82	56,41	168,56	56,49	217,07	56,48	255,00
(103)	62,75	80,80	62,76	107,30	62,74	109,51	62,75	150,21	62,67	190,69
(112)	67,83	67,07	67,78	105,86	67,81	83,08	67,88	116,83	67,76	168,22
(201)	69,04	29,79	68,89	58,76	69,00	45,99	68,98	64,51	68,99	77,31

I.2. Analyse morphologique et de composition des poudres synthétisées par MEB et EDS

Dans cette seconde analyse par Microscopie électronique à balayage (MEB) équipé d'un EDS (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy), nous avons préparé trois échantillons de poudres sur un support conducteur (papier d'Aluminium) afin d'évacuer les électrons en surface lors de la mesure. Les échantillons sélectionnés pour cette étude sont ceux préparés avec des concentrations en sulfate de zinc : 0.4 (2g/l), 1.2 (6g/l) et 2 (10g/l).

I.2.1 Imagerie MEB des poudres

Les images sont obtenues suite à un bombardement électronique de l'échantillon par un faisceau d'électrons primaires énergétique qui fait émettre des électrons secondaires. Cette émission est exploitée pour avoir des images comme résultat. Plusieurs images, avec différents grossissements, ont été prises afin de bien observer la cartographie de chacune des poudres, ainsi que les détails et les précisions des formes nanométriques dans le matériau.

Comme il est montré sur les figures MEB (échantillons 0.4), nous observons, une forme spongieuse formée d'agglomérats interconnectés, de tailles et de formes non uniformes. La taille des pores n'est pas régulière, elle varie du μm jusqu'au 10 μm . Par ailleurs, pour des agrandissements plus grands de x50 000 et plus, nous observons la formation de nanotiges ou nanofils de ZnO de longueurs variant de 1 à 3 μm et de diamètres nanométriques (20-100 nm) et de directions différentes. Nous observons également des agglomérations de petits grains nanométriques de formes sphériques et hexagonales.

Pour l'échantillon de concentration 1.2, nous observons aussi des agglomérations constituées de petits grains nanométriques collés les uns aux autres dans lesquels des nanotiges, de directions variées, sont attachés. Ces derniers ont des sections hexagonales avec des tailles et des directions variables, ce qui est en accord avec le ZnO. Nous avons remarqué que la densité des nanotubes a augmenté avec la concentration du précurseur.

Le dernier échantillon de concentration 2 montre un aspect différent des autres. Il est formé de feuilles (chites) et de nanoparticules avec une absence totale des nanotiges et une apparition de quelques nanoaiguilles avec une faible densité. La dispersion des feuilletés est pratiquement homogène ne montrant aucune forme typique. Les images obtenues avec un agrandissement important de x100000 révèlent que les surfaces sont plus ou moins rugueuses, variant d'une zone à l'autre.

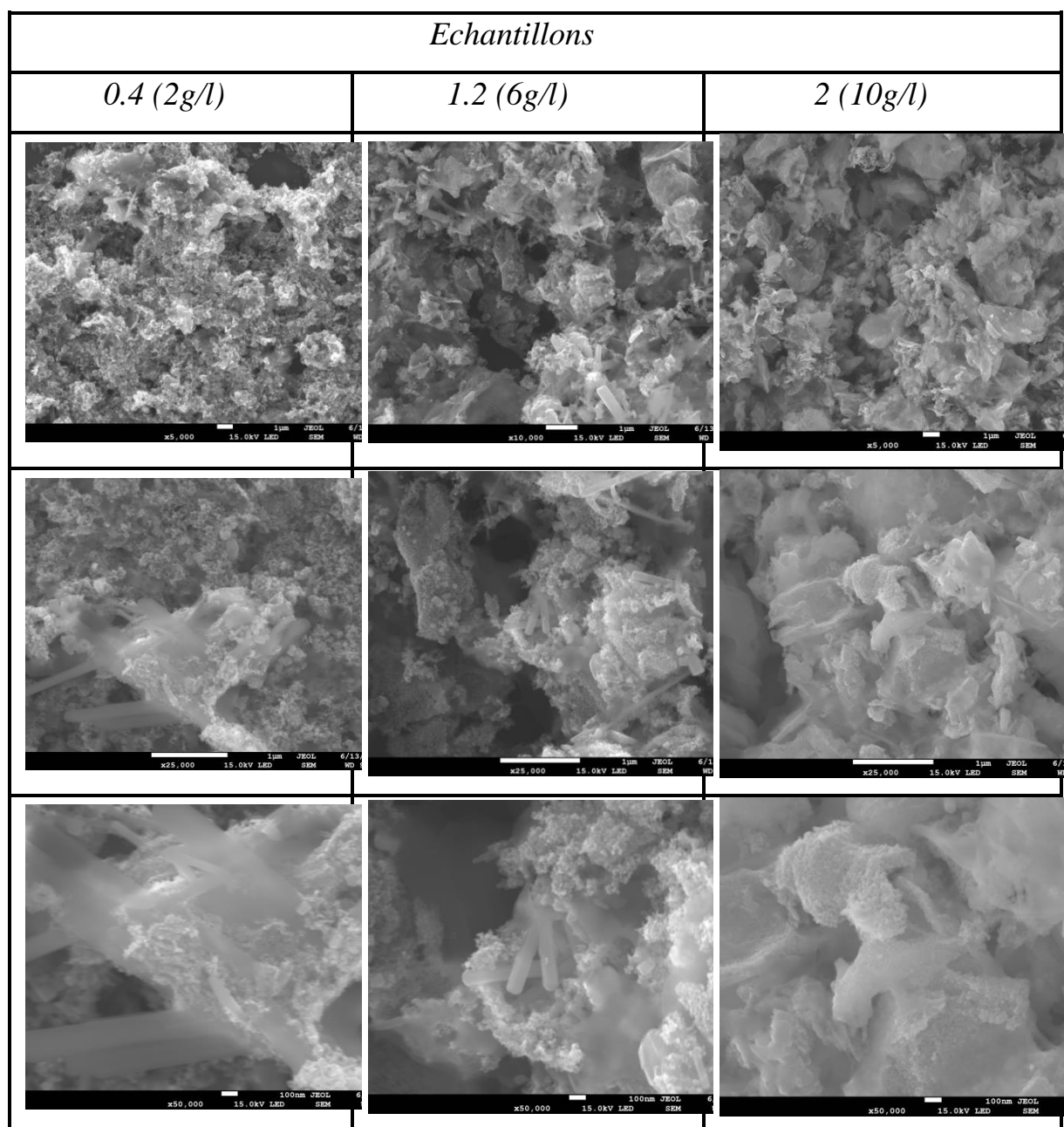


Figure 26 : Les images MEB des différents échantillons des poudres (0.4), (1.2) et (2) réalisées avec différents grossissements.

Le dernier échantillon de concentration égale à 2 montre un aspect différent des autres, le matériau est formé de feuillets (chites) et de nanoparticules avec l'absence totale des nanotiges, néanmoins il y a apparition de quelques nanoaiguilles avec une faible densité. La dispersion des feuillets est pratiquement homogène ne montrant aucune forme typique. Un grossissement important de x100000 révèle des surfaces sont plus ou moins rugueuses, avec une rugosité qui varie d'une zone à une autre.

I.2.2. Analyses chimiques et composition des échantillons par EDS

Les spectres EDS des trois échantillons analysés sont montrés dans les trois figures ci-dessous :

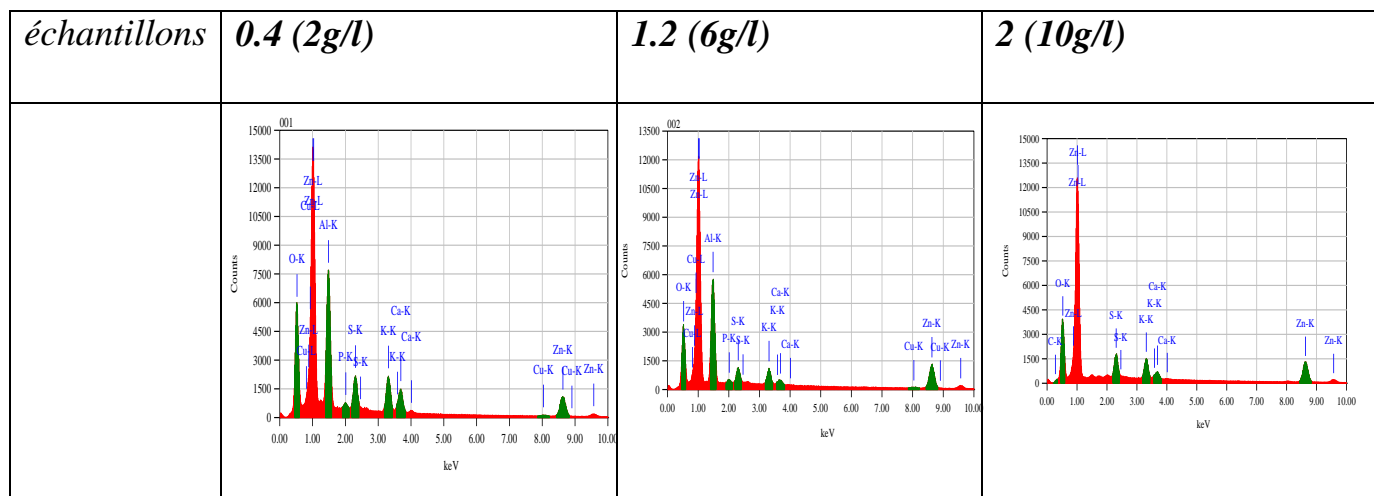


Figure 27 : Regroupement des spectres d'analyse chimique par EDS des trois échantillons synthétisés avec des concentrations de $ZnSO_4$: (0.4), (1.2), (2).

On représente dans la figure 28 ci-dessous, le spectre de chaque échantillon seul. Cette analyse nous a permis de détecter les différents éléments chimiques présents dans la poudre, ainsi que leurs quantités massiques et atomiques.

Comme on peut le voir sur les différents spectres il existe des éléments tels que l'Aluminium (Al) et le Soufre (S) qui proviennent respectivement du support de la poudre (papier en Aluminium) et du précurseur SO_4 utilisé. Les taux les plus importants sont ceux du Zinc et de l'Oxygène qui constituent la molécule ZnO . Cette analyse nous a permis aussi de déceler les autres éléments chimiques qui sont issues de la mandarine : Carbone (C), Phosphore (P), Soufre (S), Potassium (K), Calcium (Ca) et le Cuivre (Cu). On note que ces éléments sont présents dans les poudres avec des faibles quantités (traces) dont certains peuvent être liés à l'oxygène pour donner des oxydes en phases secondaires tels que CaO , CuO ,...etc.

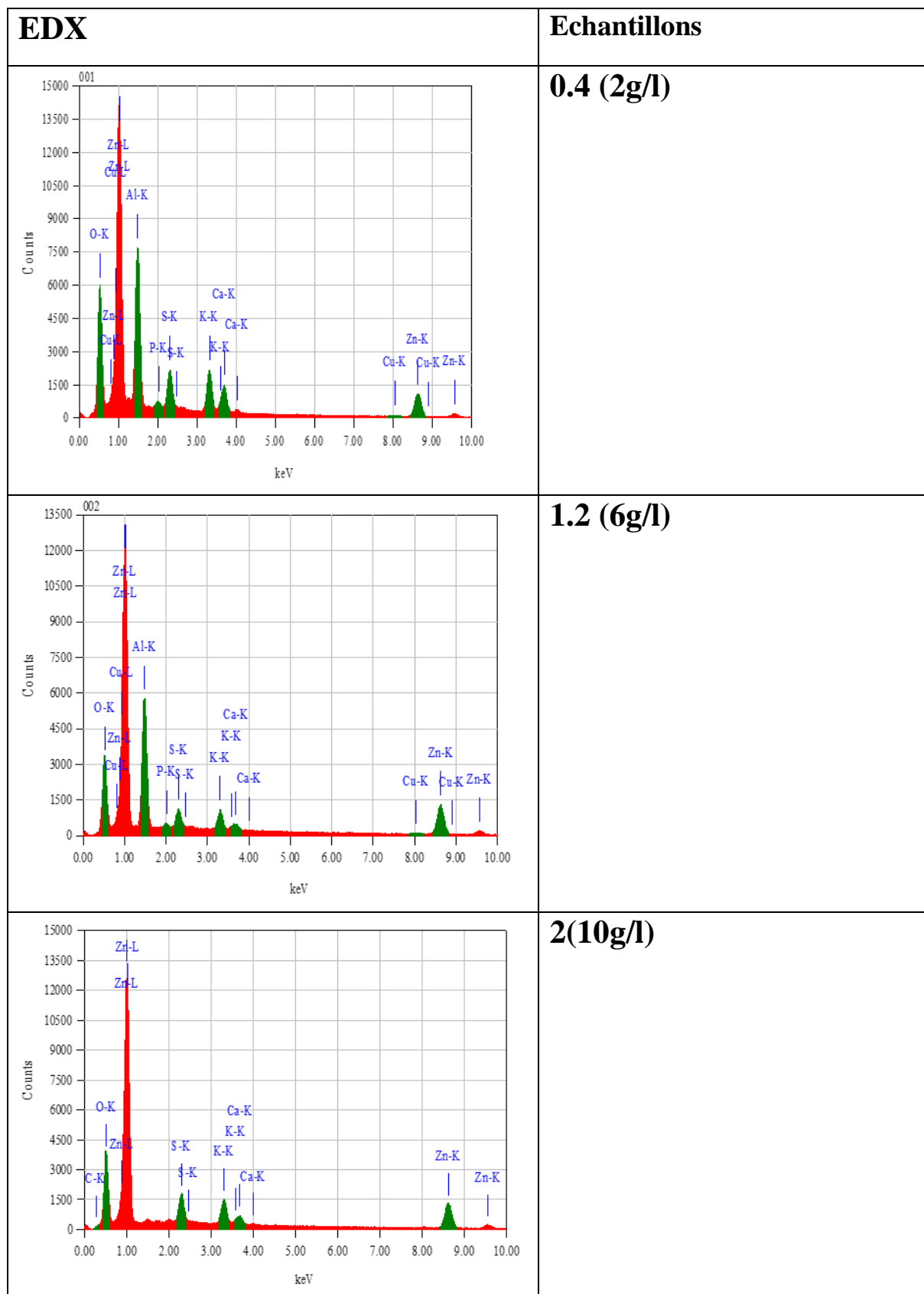


Figure 28 : Spectres d'analyse chimique par EDS des trois échantillons synthétisés avec des concentrations de ZnSO₄ : (0.4), (1.2), (2).

I.3. Composition chimique et proportions des éléments dans chaque échantillon

Dans le tableau 8 ci-dessous, nous avons portés les résultats qualitatifs concernant les types d'atomes et/ou molécules constituant les matériaux synthétisés dans ce travail. La première colonne du Tableau présente les éléments chimiques tandis que la première ligne indique la concentration de ZnSO₄ utilisée dans la préparation de chacun. La proportion de chaque élément est donnée en (%) massique et atomique. Les résultats des analyses montrent que l'échantillon élaboré avec une concentration de précurseur de 2 contient une petite quantité de carbone, ceci peut être dû au non disparition complète de la matière organique. Pour résoudre ce problème nous préconisons soit une élévation de la température de recuit ou un prolongement du temps de recuit. On remarque également pour cet échantillon l'inexistence du phosphore P et du cuivre Cu, cela peut être expliqué par leurs taux en traces ou qu'ils restent contenus dans la partie organique. L'élimination du soufre (S) peut être résolue par la substitution du précurseur ZnSO₄ par un autre précurseur de Zn, en l'occurrence l'acétate de Zinc ou le chlorure de Zinc.

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des éléments chimiques qui constituent les échantillons synthétisés avec diverses concentrations de ZnSO₄ : (0.4), (1.2), (2).



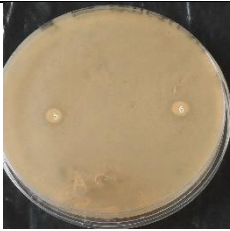
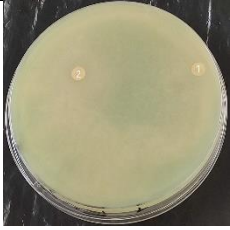
<i>échantillons</i>	0.4		1.2		2.1	
<i>éléments</i>	<i>Mass%</i>	<i>Atom%</i>	<i>Mass%</i>	<i>Atom%</i>	<i>Mass%</i>	<i>Atom%</i>
C	//	//	//	//	0.69	2.16
O	23.44	48.88	16.82	41.86	17.66	41.40
P	1.50	1.61	1.18	1.52	//	//
S	8.62	8.97	5.14	6.38	8.39	9.81
K	12.06	10.29	6.67	6.79	9.14	8.77
Ca	7.73	6.43	1.85	1.84	3.00	2.81
Cu	1.42	0.75	1.43	0.90	//	//
Zn	45.23	23.07	66.90	40.72	61.12	35.05
Total	100	100	100	100	100	100








II. L'activité antimicrobienne

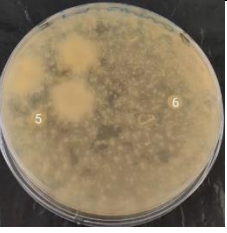






Les résultats obtenus dans le tableau 8 montrent que les NPs ZnO ont un effet considérable contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm) et contre les souches fongique *Trichophyton rubrum* (22 mm), *Microsporium canis* (13 mm) et *Trichophyton mentagrophytes* (13,5 mm).

Par ailleurs, les NPs ZnO présentent un effet faible contre les bactéries *E.coli* (6,5 mm), contre la levure *Candida albicans* (11 mm) et contre le champignon *Aspergillus niger* (6 mm).

Tableau 9 : Zone d'inhibition des nanoparticules d'oxyde de zinc contre diverses souches microbiennes.

Les souches Microbiennes	Concentration du sulfate de zinc (g/ml)	Les photos	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		Sensibilité
			0,005 (mg)	0,01 (mg)	
<i>Candida albicans</i>	0,4		11	9	Sensible(+)
	1,2		7	7	
	2		10	9	
<i>Trichophyton rubrum</i>	0,4		20	5	Sensible(+)

	1,2		8,5	8	
	2		22	20	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0,4		13,5	10,5	Sensible(+)
	1,2		7	5,5	
	2		6,5	6,5	
<i>Microsporum canis</i>	0,4		7	13	Sensible(+)
	1,2		5	10	

	2		6	9	
<i>Aspergillus niger</i>	0,4		5,5	5,5	Sensible(+)
	1,2		5	6	
	2		5	5	
<i>Escherichia coli</i>	0,4		6	6	Sensible(+)
	1,2		6	6	
	2		6	6,5	

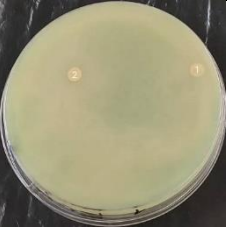





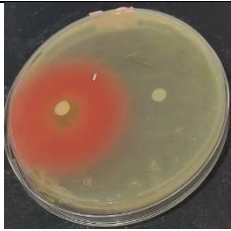

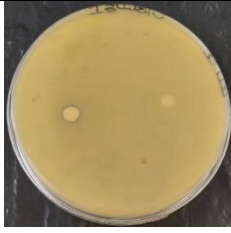

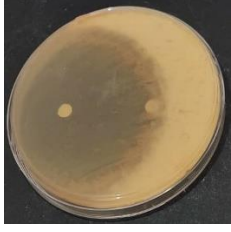

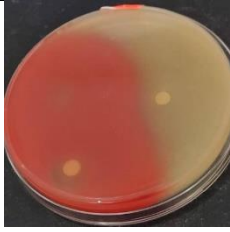
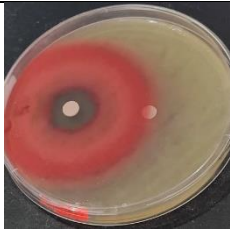
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,4		6,5	7	Sensible(+)
	1,2		6,5	5	
	2		6	5,5	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,4		10	7	Sensible(+)
	1,2		15	11,5	
	2		7,5	11	

Tableau 10 : Les zones d'inhibitions des témoins.

Les souches	Témoin(+)	La zone d'inhibition (mm)	Résultats
<i>Candida albican</i>	Antifongique Mycocide	18,5	
<i>Trichophyton rubrum</i>		25,5	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>		8	
<i>Microsporum canis</i>		9	
<i>Aspergillus niger</i>		14,5	
<i>Escherichia coli</i>	Antibactérien SBF	21	

<i>Staphylococcus aureus</i>		13,5	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		16	

:

Cependant, les échantillons des écorces (témoin) ont un effet considérable contre les souches bactériennes *E. coli* (16 mm), *Pseudo aeruginosa* (15,5 mm) et contre la souche fongiques *Microsporum canis* (14 mm).

En outre, ils présentent un effet faible contre le champignon *Aspergillus niger* (6 mm).

Tableau 11 : Zone d'inhibition d'écorce de la mandarine contre diverses souches microbiennes.

Les souches microbiennes	La zone d'inhibition (mm)	Sensibilité
<i>Candida albican</i>	13,5	Sensible(+)
<i>Trichophyton rubrum</i>	11	Sensible(+)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9	Sensible(+)
<i>Microsporum canis</i>	14	Sensible(+)
<i>Aspergillus niger</i>	6	Sensible(+)
<i>Escherichia coli</i>	16	Sensible(+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	Sensible(+)
<i>Pseudo aeruginosa</i>	15,5	Sensible(+)

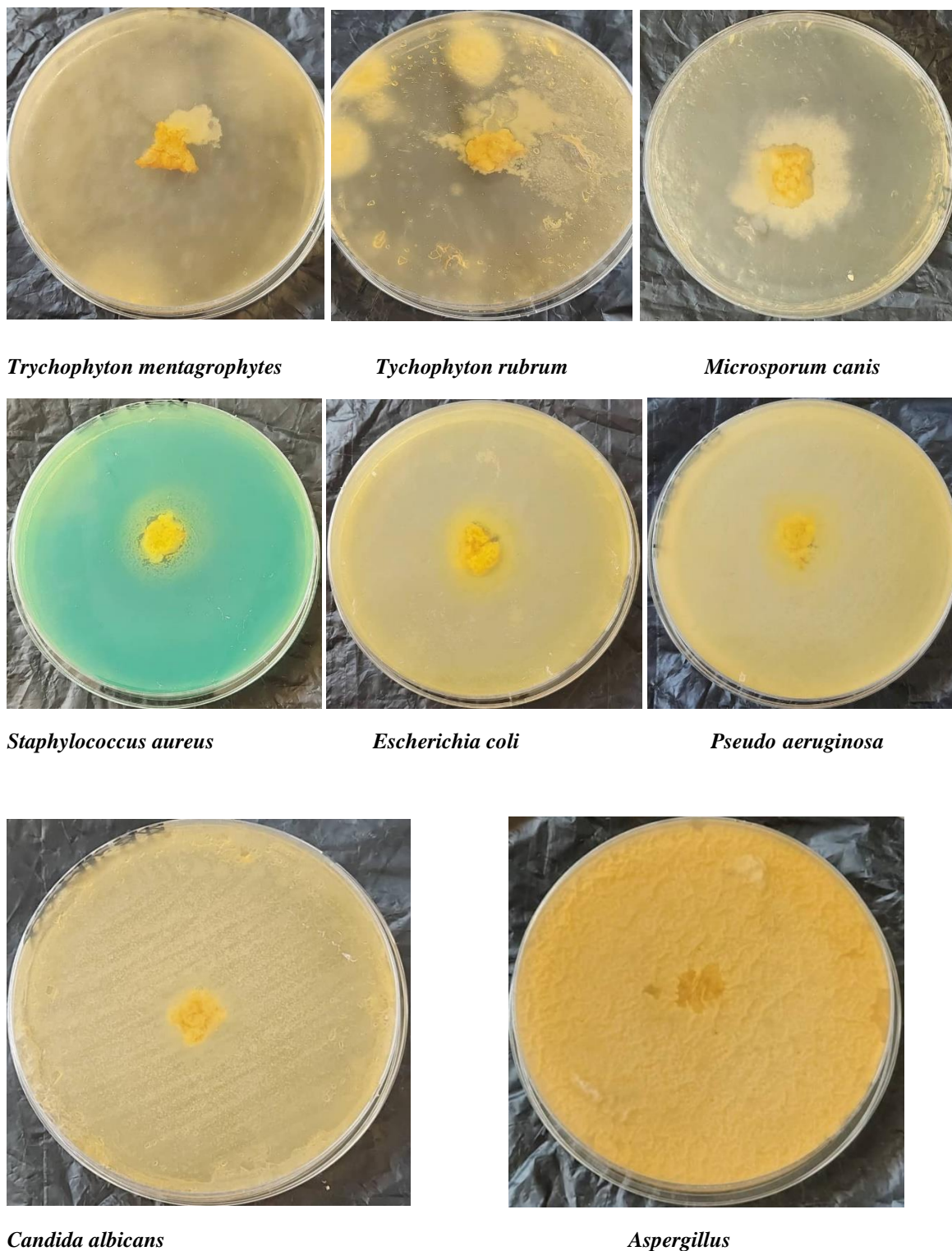


Figure 29 : les résultats des échantillons témoins (écorces).

Nos résultats sont en accords avec **Aysa et al., (2016)** qui' ont testé l'activité de 3 concentrations de NPs ZnO (20-30-40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) contre trois isolats de *Pseudomonas aeruginosa* par la technique de diffusion d'agar. Les résultats de l'activité antimicrobienne du nano-ZnO testée contre *P. aeruginosa* ont montré que la meilleure zone d'inhibition était de (35,5 mm) à

une concentration de 40 µg/ml, tandis que la zone d'inhibition la plus faible était de (16 mm) à une concentration de 20 µg/ml. L'étude, il est évident que la relation entre la concentration de l'agent nano ZnO et les zones d'inhibitions de *P. aeruginosa* est exponentiellement proportionnelle.

Barnes et al., (2013) ont testé une large gamme de nanoparticules de TiO₂ et de ZnO pour la dégradation de la membrane bactérienne (génération de ROS) et la destruction photocatalytique corrélée de quatre espèces bactériennes représentatives (deux Gram-positives et deux Gram-négatives). L'analyse TEM (microscopie électronique en transmission) a révélé que les particules étaient de taille similaire à celle annoncée.

Par ailleurs, **Sedira et al., (2014)** ont montré que l'ajout de nanoparticules de ZnO et l'acide acétique peut renforcer l'effet bactéricide des NPs d'argent contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats sont en accord aussi avec l'étude de **Vidic et al., (2013)** qui ont testé les activités antimicrobiennes des nanoparticules à différentes concentrations (0.001-1 mg/mL) contre *E. coli* et *Bacillus subtilis* en milieu LB. Après 5 h de traitement, les NPs-ZnO ont inhibé la croissance des deux bactéries. Un effet bactéricide est enregistré si les concentrations sont supérieures à 0,1 mg/mL. En revanche, l'incubation des bactéries pendant 5 h avec les NPs-MgO ou les NPs-ZnMgO a entraîné un taux relativement faible d'inactivation de la croissance bactérienne pour une concentration inférieure 1 mg/mL.

L'étude de **Brayner et al., (2006)** a été démontré que, après l'interaction entre ZnO et *E. coli*, il y a une rupture de la paroi cellulaire, ce qui provoque l'internalisation des nanoparticules dans des cellules bactériennes. Les cellules d'*E. coli* présentent alors des dégâts considérables, avec des parois cellulaires désorganisées, une morphologie altérée et des fuites du contenu intracellulaire.

Zhang et al., (2008) ont montré que les mécanismes dominants dans l'activité antibactérienne des nanoparticules ZnO sont la génération d'ROSs et les dégâts provoqués par ces derniers sur la cellule. Des dommages physiques à l'enveloppe cellulaire peuvent également être induits par ZnO.

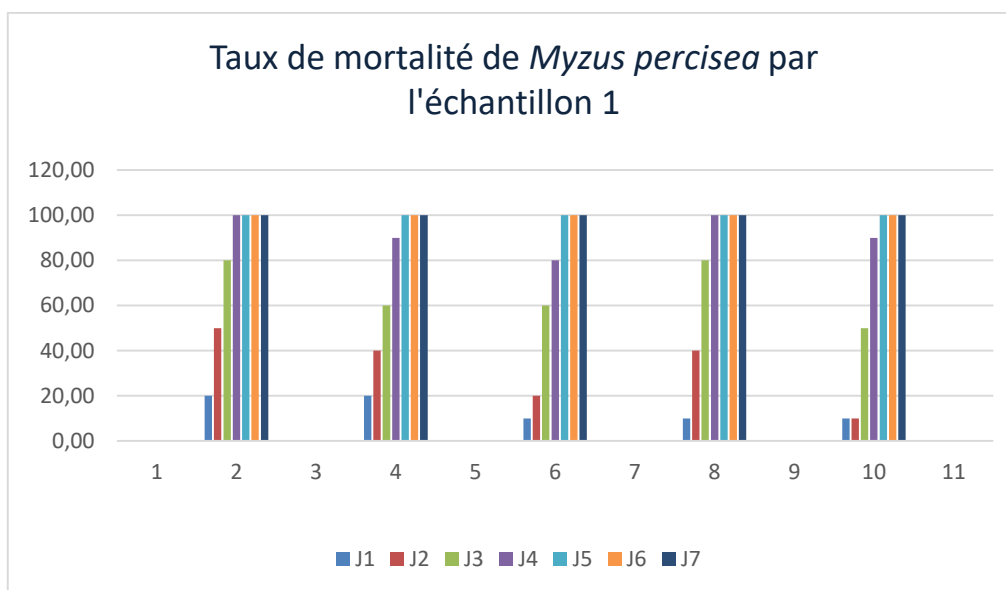
L'augmentation de susceptibilité vis-à-vis de ZnO de *S. aureus* par rapport à *E. coli* pourrait également être due aux différences de polarité de la membrane cellulaire (la membrane de *S. aureus* a une charge négative inférieure à celle d'*E. coli*). Cela permettrait un taux de

pénétration plus élevée des radicaux libres chargés négativement tels que les radicaux superoxyde et les anions peroxyde causant des dommages et la mort des cellules de *S. aureus* à des concentrations inférieures à celle requise pour provoquer le même effet chez *E. coli*. **Gordon et al., (2011)**. Il y a des différences dans les processus métaboliques des ions Zn^{2+} qui dépendent des caractéristiques intrinsèques de chaque microorganisme. Cela pourrait être l'une des raisons possibles pour les différences observées dans les seuils de toxicité de nanoparticules de ZnO.

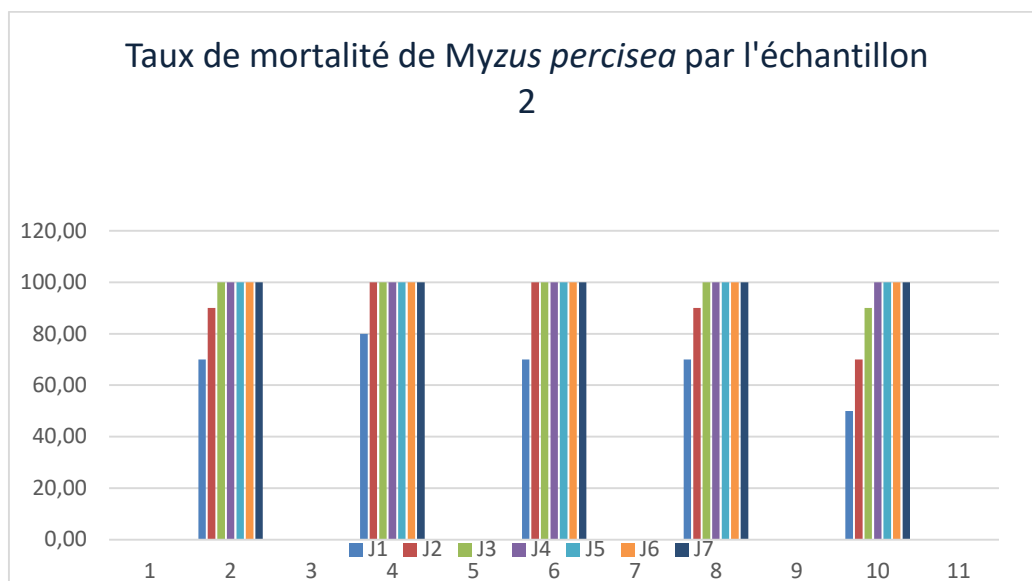
III. L'activité d'entomopathogénicité

Les nanoparticules d'oxyde de zinc ont démontré une activité insecticide remarquable sur une durée de 3 jours, ce qui indique une efficacité considérable dans la lutte contre l'insecte *Myzus persicae*.

(a)



(b)



(c)

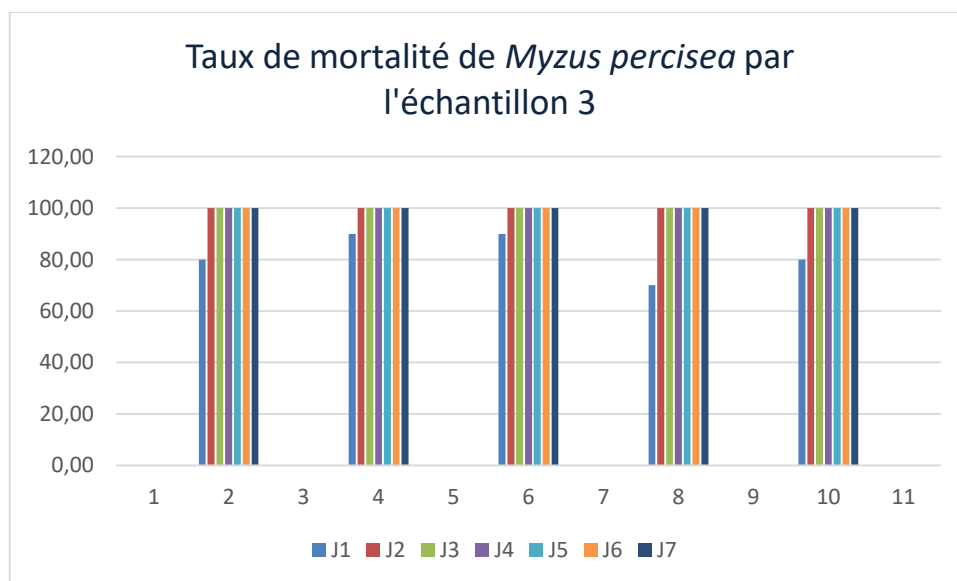


Figure 30 : (a, b, c) Taux de mortalité de *Myzus persicae* par trois échantillons différent

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne et insecticide de nanoparticules d'oxyde de zinc extraites des écorces de mandarine (*Citrus reticulata*) afin de valoriser leurs effets inhibiteurs contre des agents pathogènes bactériens, fongiques et insecticides pour l'Homme.

Les résultats de l'étude ont montré que les nanoparticules de ZnO ont un effet inhibiteur significatif sur *Pseudomonas aeruginosa*, avec une zone d'inhibition de 15 mm. En revanche, leur effet inhibiteur était plus faible sur d'autres bactéries telles que *E. coli* (6,5 mm) et *Staphylococcus aureus* (7 mm).

Pour l'activité antifongique, les nanoparticules de ZnO ont démontré leur pouvoir inhibiteur sur *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* et *Trichophyton mentagrophytes*, avec des zones d'inhibition de 22 mm, 13 mm et 13,5 mm respectivement.

En ce qui concerne l'activité insecticide, les nanoparticules d'oxyde de zinc ont été capables d'inhiber la croissance et le développement de l'insecte *Myzus persicae* pendant une période de 3 jours.

Les propriétés optiques et la composition chimique des nanoparticules de ZnO biosynthétisées ont été caractérisées par différentes techniques telles que la diffraction des rayons X (DRX), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectrométrie de dispersion d'énergie (EDX). Ces analyses ont révélé la présence de différents composés chimiques tels que le cuivre, l'oxygène, le zinc, le calcium et le potassium, etc.

Les perspectives futures de cette étude comprennent :

- La confirmation du potentiel inhibiteur des nanoparticules de ZnO en testant d'autres concentrations,
- La réalisation de tests sur de nouvelles espèces bactériennes et fongiques avec de nouvelles concentrations,
- La production naturelle de ces nanoparticules à partir d'autres plantes en vue de leur utilisation dans le traitement des pathologies humaines,
- Ainsi que la poursuite de la recherche et du développement avant une éventuelle application commerciale à grande échelle.

Références bibliographiques

1. Algerian Tangerines Information and Facts [WWW Document], n.d. URL https://specialtyproduce.com/produce/Algerian_Tangerines_11611.php (consulté le 5.19.23). Anonyme 2.
2. Ali, A.S., 2020. Application of Nanomaterials in Environmental Improvement, in: Nanotechnology and the Environment. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91438>
3. Babbar, N., Oberoi, H.S., Uppal, D.S., Patil, R.T., 2011. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. Food Research International 44, 391–396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.001>
4. Barnes R. J., Molina R., Xu J., Dobson P. J., Thompson I. P. (2013). Comparison of TiO₂ and ZnO nanoparticles for photocatalytic degradation of methylene blue and the correlated inactivation of gram-positive and gram-negative bacteria. Journal of nanoparticle research. 15(2), 1-11
5. Behera, J., 2009. Synthesis and Characterizations of ZnO Mémoire de Mastère:Département of physics National Institute of technology,ROURKELA,ORISSA,INDIA.p10
6. Bernal-Vicente, A., Ros, M., Tittarelli, F., Intrigliolo, F., Pascual, J.A., 2008. Citrus compost and its water extract for cultivation of melon plants in greenhouse nurseries. Evaluation of nutriactive and biocontrol effects. Bioresource Technology 99, 8722–8728. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.019>
7. Casquete, R., Castro, S.M., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Saraiva, J.A., Córdoba, M.G., Teixeira, P., 2015. Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. Innovative Food Science & Emerging Technologies 31, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.07.005>
8. Citrus | plant genus | Britannica [WWW Document], 2023. URL <https://www.britannica.com/plant/Citrus> (consulté le 6.9.23).
9. Citrus reticulata (Mandarin orange), n.d. Plantinfo. URL <https://plantinfo.co.za/plant/citrus-reticulata/> (consulté le 5.19.23). Anonyme 6.
10. Deka, B., Baruah, C., Babu, A., Kalita, P., 2022. Biological and Non-Conventional Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs): Their Potential Applications. J Nanotechnol Nanomaterials Volume 3, 79–89. <https://doi.org/10.33696/Nanotechnol.3.034>
11. Di Donna, L., Bartella, L., De Vero, L., Gullo, M., Giuffrè, A.M., Zappia, C., Capocasale, M., Poiana, M., D’Urso, S., Caridi, A., 2020. Vinegar production from Citrus bergamia by-

- products and preservation of bioactive compounds. *Eur Food Res Technol* 246, 1981–1990. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03549-1>
12. Fultz, B., Howe, J., 2013. *Transmission Electron Microscopy and Diffractometry of Materials*, Graduate Texts in Physics. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-29761-8>
13. Gordon T., Perlstein B., Houbara O., Felner L., Banin E., Margel S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 374(1), 1-8.
14. Jiang, J., Pi, J., Cai, J., 2018. The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Bioinorg Chem Appl* 2018, 1062562. <https://doi.org/10.1155/2018/1062562>
15. Joudeh, N., Linke, D., 2022. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology* 20, 262. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
16. Khan, Ibrahim, Saeed, K., Khan, Idrees, 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* 12, 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
17. Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., Yildirim, A., 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 53, 9452–9458. <https://doi.org/10.1021/jf0516538>
18. Lakshmipriya, T., Gopinath, S.C.B., 2021. 1 - Introduction to nanoparticles and analytical devices, in: Gopinath, S.C.B., Gang, F. (Eds.), *Nanoparticles in Analytical and Medical Devices*. Elsevier, pp. 1–29. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821163-2.00001-7>
19. Mandarin “Algerian” - Alvarez Nursery [WWW Document], n.d. URL <https://www.alvareznursery.com/product/mandarin-algerian/> (consulté le 5.19.23). Anonyme 1.
20. Mandarinier (*Citrus reticulata*) [WWW Document], n.d. *La Vie Naturelle*. URL <https://www.la-vie-naturelle.com/plantes-13/mandarinier-13-184.html> (Consulté le 5.19.23). Anonyme 5.
21. Messai, R., Bellahouel, H., Derkouche, S., (2019). Synthèse verte des nanoparticules de ZnO par l'extrait des feuilles de phœnix dactylifera.l. Mémoire de fin d'étude Master Académique : Génie pétrochimique. Université echahid hamma lakhdar El OUED, 4p.

- Mazouzen,Z., Benabdeslam,N., (2014). Synthèse de nanostructures de ZnO par voie chimique hydrothermale. Mémoire de Master : Chimie des Matériaux. Université A. MIRA – Béjaïa, 12p.
- Aysa N. H., Salman H. D. (2016). Antibacterial activity of modified zinc oxide nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* isolates of burn infections. *World Scientific News*. (33), 1-14
22. Mourdikoudis, S., Pallares, R.M., Thanh, N.T.K., 2018. Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale* 10, 12871–12934. <https://doi.org/10.1039/C8NR02278J>
23. Nanoparticle | Definition, Size Range, & Applications | Britannica [WWW Document], n.d. URL <https://www.britannica.com/science/nanoparticle> (consulté le 6.5.23).
24. Nwokolo, C., 2022. 10 Grand Health Benefits of Tangerine Peel [WWW Document]. Health Guide NG. URL <https://healthguide.ng/health-benefits-tangerine-peel/> (consulté le 6.5.23).
25. Officer, L.M.M., SEPMAG Chief Scientific, n.d. Magnetic properties of nanoparticles [WWW Document]. URL <https://www.sepmag.eu/blog/magnetic-properties-of-nanoparticles> (accessed 5.19.23).
26. Plantes et botanique : Famille des Rutaceae [WWW Document], n.d. URL https://www.plantes-botanique.org/famille_rutaceae (Consulté le 5.19.23). Anonyme 3.
27. Pushpalatha, C., Suresh, J., Gayathri, V., Sowmya, S., Augustine, D., Alamoudi, A., Zidane, B., Mohammad Albar, N.H., Patil, S., 2022. Zinc Oxide Nanoparticles: A Review on Its Applications in Dentistry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 10.
28. Qian, Y., Gao, Z., Wang, C., Ma, J., Li, G., Fu, F., Guo, J., Shan, Y., 2021. Effects of Different Treatment Methods of Dried Citrus Peel (Chenpi) on Intestinal Microflora and Short-Chain Fatty Acids in Healthy Mice. *Front Nutr* 8, 702559. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.702559>
29. Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S.A., Bashir, N., Nazir, F., Ahmad Nayik, G., 2018. Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 17, 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.006>
30. Rutacées [WWW Document], n.d. URL https://www.quelleestcetteplante.fr/description_familles.php?famille=Rutac%E9es (Consulté le 5.19.23).Anonyme 4.
31. Saini, R., Saini, S., Sharma, S.2010u.Nanotechnology: The Future Medicine.Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery, avril-juin2023, 3, and 32. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.63301>

32. Says, J.C., 2013. Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles – Properties & Applications [WWW Document]. AZoNano.com. URL <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3348> (consulté le 5.23.23).
33. Sedira S., Ayachi A. A., Lakehal S., Fateh M., Achour S. (2014). Silver nanoparticles in combination with acetic acid and zinc oxide quantum dots for antibacterial activities improvement, a comparative study. *Applied surface science*. 311, 659-665.
34. Shaikhaldein, H.O., Al-Qurainy, F., Khan, S., Nadeem, M., Tarroum, M., Salih, A.M., Gaafar, A.-R.Z., Alshameri, A., Alansi, S., Alenezi, N.A., Alfarradj, N.S., 2021. Biosynthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles Using *Ochradenus arabicus* and Their Effect on Growth and Antioxidant Systems of *Maerua oblongifolia*. *Plants (Basel)* 10, 1808. <https://doi.org/10.3390/plants10091808>
35. Simeonidis, K., Mourdikoudis, S., Kaprara, E., Mitrakas, M., Polavarapu, L., 2016. Inorganic engineered nanoparticles in drinking water treatment: a critical review. *Environmental Science: Water Research & Technology* 2, 43–70. <https://doi.org/10.1039/C5EW00152H>
36. Singh, P., Kim, Y.-J., Zhang, D., Yang, D.-C., 2016. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology* 34, 588–599. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006>
37. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H., Mohamad, D., 2015. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 7, 219–242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
38. Suri, S., Singh, A., Nema, P.K., utilisation alimentaire et non alimentaire des déchets de transformation des argumes, (2022). [shéma]. Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook. *Applied Food Research* 2, 100050. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100050>
39. Vidic J., Stankic S., Haque F., Ciric D., Le Goffic R., Vidy A., Delmas B. (2013). Selective antibacterial effects of mixed ZnMgO nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 15(5), 1-10.
40. Wang, X., Chen, Q., Lü, X., 2014. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocolloids* 38, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.003>
41. Widjonarko, N., 2016. Introduction to Advanced X-ray Diffraction Techniques for Polymeric Thin Films. *Coatings* 6, 54. <https://doi.org/10.3390/coatings6040054>

42. Wolfe, J., n.d. Dwarf Algerian Tangerine Tree Information [WWW Document]. URL <https://www.weekand.com/home-garden/article/dwarf-algerian-tangerine-tree-information-18032513.php> (consulté 5.19.23).
43. Yang, L., n.d. Caractérisation de couches minces de ZnO élaborées par la pulvérisation cathodique en continu.thèse, École Doctorale sciences pour l'ingénieur : Université Du littoral Côte d'Opale ; p28-30. Zinc Oxide – Properties, Applications and the Future for ZnO [WWW Document], 2011. . AZoM.com. URL <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=5818> (consulté le 5.23.23).
44. Zhang L., Jiang V., Ding Y., Povey M., York D., (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*. 9, 479-489
45. Zhu, Z., Gavahian, M., Barba, F.J., Roselló-Soto, E., Bursac Kovačević, D., Putnik, P., Denoya, G.I., 2020. Chapter 11 - Valorization of waste and by-products from food industries through the use of innovative technologies, in: Barba, F.J., Putnik, P., Kovačević, D.B. (Eds.), *Agri-Food Industry Strategies for Healthy Diets and Sustainability*. Academic Press, pp. 249–266. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817226-1.00011-4>
46. Saruhan I, Erper I, Tuncer C, Akca I (2015) Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agents against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). *Pak J Agric Sci* 52(2):273 –278.
47. Thakkar, K.N., Mhatre, S.S. and Parikh, R.Y. (2010) Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6, 257-262. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.002>
48. Gericke, M. and Pinches, A. (2006) Biological Synthesis of Metal Nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83, 132-140. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.019>
49. Hasan, S. (2015) A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences*, 4, 1-3.
50. Saxena, A., Tripathi, R.M. and Singh, R.P. (2010) Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Onion (*Allium cepa*) Extract and Their Antibacterial Activity. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5, 427-432.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Mycologie et Biotechnologies Fongique

Titre

**Les activités biologiques des nanoparticules d'oxyde de zinc
à partir des extraits de *Citrus reticulata***

Résumé

L'utilisation de l'extrait des agrumes comme un bioréacteur pour la production des nanoparticules d'Oxyde de zinc a attiré l'attention en raison de son protocole rapide, écologique, non pathogène et économique. Ce travail porte sur la synthèse des nanoparticules de ZnO à partir des extraits des écorces de mandarine (*Citrus reticulata*), et caractérisation de ces nanoparticules par DRX, MEB et EDX pour déterminer leur taille et leur composition. Nos résultats de caractérisation montrent que les NPs ZnO ont la forme hexagonale avec différents diamètres et les différents éléments chimiques présents dans la poudre telle que Ca, Cu, P, K, O, Zn. les NPs ZnO ont montrés une activité antibactérienne efficace contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, et une activité antifongique contre *Trichophyton rubrum*, *Microsporiumcanis* et *Trichophyton mentagrophytes*, et également des activités insecticides raisonnables sur l'insecte *Myzus persicae*. La somme des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que les NPs ZnO possèdent un potentiel important pour les activités biologiques investiguées. De ce fait, le bio-ingrédients présents dans l'extrait des écorces de mandarine était efficaces pour la synthèse des nanoparticules de ZnO avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans la composition des produits médicinales, pharmaceutiques et environnementales.

Mot clés : NPs ZnO, *Citrus reticulata*, activité antimicrobienne, insecticide, DRX, MEB-EDX.

Membre du jury :

Encadreur : ABDELAZIZ Ouided (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Présidente : ALMI Hiba (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examitrice : BELMESSIKH Aicha (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Présentée par :

BAHLOUL Ines Nada

BOUKHAMA Khadidja Ferial

DARI Marwa