



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 الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : toxicologie

### THÈME

**La biosynthèse des nanoparticules à base d'extrait de plante (*Nerium oleander*) et la caractérisation de leurs activités biologiques**

Présenté Par :

- ❖ M<sup>elle</sup> : Boukhazza Meriem
- ❖ M<sup>elle</sup> : Berrouba Hadil
- ❖ M<sup>elle</sup> : Debbache Abir
- ❖ M<sup>elle</sup> : Khalil Asma

Devant le jury composé de :

Président: Dr.Salemi.Said

M.A.A, Université d'El Oued.

Examineur: Dr.Youmbai.Asma

M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur: Dr. Ghania.Ahmed

M.A.A, Université d'El Oued.

Année universitaire: 2022/2023



## Remerciement

*En préambule à ce rapport nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et nous a donnés la patience et le courage durant toutes nos années d'étude .*

*Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université d'El Oued , pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiant meilleure éducations.*

*Nous tenons à remercier **Mr : Dr.Ghania Ahmed** .notre encadrant de mémoire, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, ainsi que pour ses encouragements lors de la réalisation de ce travail. Merci pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire , pour votre présence et votre disponibilité permanente.et merci aussi la **Présidente Dr.Salemi.Said et Examinatrice Dr.Youmbai.Asma** pour acceptées discutés ce mémoire.*

*Nous remercions sincèrement qui a accepté de présider le jury des ce mémoire, et nous remercions Co-encadrant **Oubiri khawla** de nous aider dans notre travail.*

*Nous remercions tous les enseignants qui nous ont guidé durant les cinq années de formation surtout les enseignants de la spécialité de toxicologie.*

*Un très précieux merci à tous les responsables du laboratoire officiel qui n'a pas hésité à nous aider en tout humilité, qui a participé avec nous au travail quotidien du laboratoire et nous tenons à remercier tous nos collègues du semestre et les étudiants de master, et leur souhaitons plus de succès et de réussite.*





---

## Dédicace



*Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier tout d'abord et en premier lieu **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force*

*Je me remercie de mes efforts et de ma fatigue, et je suis fier de moi pour le niveau que j'ai atteint après ce voyage, je demande à Dieu de m'accorder le succès dans ma vie et de faciliter mon chemin.*

*Je dédie cet humble travail à la mémoire de mon cher grand-père, (**Mohammed chadau**), que Dieu lui fasse miséricorde.*

*A ma chère mère (**Omah**) qui m'a donné force et continuité, qui a toujours été présente et qui a su se dévouer pour l'accomplissement de mes souhaits, et dont je suis fière, autant qu'elle peut l'être de moi. Que ce travail soit en guise de reconnaissance et de gratitude, qu'elle reçoit tout mon amour.*

*A mon cher père, (**Sadak**) que Dieu prolonge sa vie*

*A ma très chers grand mère qui ma soutenu et encouragé, que dieu la protège.*

*A ma très chère sœur (**Assia**) qui ma soutenu tout au long de mon cursus.*

*A mes chers frères (**Yahia**) et (**Haroun**).*

*A mon fiancé (**Oussama**) qui a été à mes côtés et m'a soutenu et encouragé à mener à bien ce travail*

*A ma chère copine (**Hanine**) **Aşkim** qui a partagé le travail avec moi.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*✍ Meriem*





## *Dédicace*

*Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier tout d'abord et en premier lieu*

***ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force,  
le courage et la patience de bien mener ce travail*

*Je me remercie pour mes efforts et ma fatigue tout au long de ce parcours  
académique, et je suis très fier du niveau que j'ai atteint*

*Je dédie ce travail À mes chers parents **LARBI** et **AICHA** Ils sont mon soutien  
dans ma vie, et sans leurs encouragements, je n'aurais pas atteint ce stade de  
mes études.*

*Je le dédie aussi à mes chers frères **Aymen** et **Rachid** et **Achref** et ma soeur  
**Khouloud** et à mes chers amis les plus proches de mon cœur **Romaissa** et  
**Ichrak***

*en particulier à **Mereim (Aşkim)**, qui a participé à mon travail.*

*Et à mon cher fiancé **Mohammed** qui m'a encouragée et m'a beaucoup aidée à  
surmonter la pression des études*



*✍ Hadil*





---

*Dédicace*

*je remercie tout d'abord Allah le tout puissant de m'avoir aidé à achever ce  
modeste travail.*

*Je dédie ce travail à :*

*A mes parents : mon très chère père **KHEMISTI** et ma chère mère **BECHIRA**  
pour tout leurs amours et soutiens qu'ils m'ont donné, Que Dieu les protège et  
leur procure une bonne santé et longue vie.*

*A ma grand-mère bien-aimée, **FATIMA CHELALGA**, que Dieu prolonge sa vie.*

*Aux étoiles brillantes de ma vie mes sœurs : Aya, **Razane Elbatoul**.*

*A mes frères, mon soutien dans la vie : **HOUSSAM EDDINE, KHEIR  
EDDINE, MOHAMMED, TAYEB, AYOUB, AHMED** et **HOCINE**.*

*Au compagnon du parcours et partenaire de vie pour son encouragement  
**MOHAMMED AYOUB SERDOUK***

*A celles qui me soutiennent toujours mes copines : **Wiaam, Zahra, Rayane,**  
**Romaissa, Hadil, Aziza, Imane.***

*ES ABIR*





## Dédicace

*Au terme de ce travail, Je remercie d'abord Allah, grâce à lui que j'ai atteint ce stade et obtenu mon succès.*

*je dédie le fruit de mon travail :*

*A celle qui m'a soutenu dans ses prières et ses douas : A celle qui a éclairée mon chemin : A celle qui a partagée mes joies et mes chagrins : A celle qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est le savoir et la connaissance : A*

*celle qui a cherchée mon confort et ma réussite : A la source d'amour et de tendresse : A la plus grande femme du monde, ma chère mère « Meriem »*

*A mes parents adoptifs qui m'ont élevé et soutenu tout au long de mes études par leurs prières et leurs conseils, que Dieu les récompenses et les protèges à mon père « Tria Abd El Madjid » et ma mère « Khadija ».*

*A mes frères « Elhadi, Khaled, Kamel et Aimen » et mes soeurs « Samira, Soumia et Basma » et a mes neveux et mes nièces.*

*A ma très chère amie et l'âme sœur « Rakrouki Ouissal »*

*A mon fiancé qui ma soutien dans mes études et ma vie « Bechiri Moussa »*

*A tout les étudiants qui cherchent à acquérir des connaissances et à apporter leur rendement scientifique et culturel.*

*ASMA*



## *Résumé*

## Résumé:

L'objectif de nos travaux est la biosynthèse des nouvelles nanoparticules par dopage (zinc dopé par sélénium Zn-Se) à base d'extrait des feuilles de plante *Nerium Oleander* (laurier rose), et l'évaluation de leurs activités biologiques. À travers l'analyse de diffraction des rayons X (DRX), nous étudions la caractérisation des nanoparticules (confirmant la nature cristalline, taille et volume).

Les résultats des activités biologiques ont montré que l'activité anticoagulante a montré des temps de coagulation de 30s pour le Zn-SeNPs 0.5% et (115s) pour le Zn-SeNPs 2%.

Les activités antioxydantes Pour les tests (DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotène), a donné un résultat meilleur par rapport à l'acide ascorbique, qui est estimé à 100%, les résultats sont les suivants : les pouvoirs d'inhibition les plus élevés (93%) pour Zn-SeNPs 1%, le test FRAP a trouvé les d'inhibitions les plus élevés (96%) pour Zn-SeNPs 0.5%, le blanchissement du  $\beta$ -carotène pour les trois Zn-SeNPs sont (41,14%), (39,21%), (25,49%) pour Zn-SeNPs 2%, Zn-SeNPs 1%, Zn-SeNPs 0.5% respectivement.

L'effet d'inhibition activé l'hémolyse du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) a été réalisée dans les dopages de NPs qui sont (65.15%) pour Zn-SeNPs 2%, (114.64%) pour Zn-SeNPs 1% et (99.49%) pour Zn-SeNPs 0.5%. L'effet d'inhibition activité anti-hémolyse hypotonique (NaCl) obtenues sont proches les unes des autres Zn-SeNPs 2% qui présente (67.52%) et Zn-SeNPs 1% (61.81%), et Zn-SeNPs 0.5% (60.94%).

L'activité anti-inflammatoire de Zn-SeNPs 0.5% atteint un taux de (13,05%) contre (9,5%) et (9,2%) pour Zn-SeNPs 2% et Zn-SeNPs 1%.

L'activité antibactérienne des Zn-SeNPs 0.5% et Zn-SeNPs 1% et Zn-SeNPs 2% Ils ont peu d'effet pour quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, il n'y a pas d'effet pour l'activité anti-candidose sur une souche *Candida albicans*.

**Mot clés :** Oxyde de sélénium, Acétate de zinc, *Nerium Oleander*, nanoparticule, biosynthèse, activités biologiques.

**Abstract:**

The objective of our work is the biosynthesis of new nanoparticles by doping (zinc doped with selenium Zn-Se) based on the extract of the leaves of the Nerium Oleander (oleander) plant, and the evaluation of their biological activities. X-ray diffraction analysis (DRX). We study the characterization of nanoparticles (confirmed the crystalline nature, size and volume).

The results of the biological activities showed that the anticoagulant activity showed coagulation times of 30s for Zn-SeNPs 0.5%. and (115s) for 2% Zn-SeNPs.

The antioxidant activities For the tests (DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotene) gave a better result compared to ascorbic acid which is estimated at 100%, the results are the following the highest inhibiting powers (93 %) for 1% Zn-SeNPs, the FRAP test found the highest inhibition (96%) for 0.5% Zn-SeNPs, the  $\beta$ -carotene bleaching for the three Zn-SeNPs are (41.14%), (39.21%), (25.49%) for Zn-SeNPs 2%, Zn-SeNPs 1%, Zn-SeNPs 0.5% respectively.

The inhibition effect activated the hemolysis of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) was carried out in the dopings of NPs which are (65.15%) for Zn-SeNPs 2%, (114.64%) for Zn-SeNPs 1% and (99.49%) for 0.5% Zn-SeNPs. The hypotonic anti-hemolysis (NaCl) activity inhibition effect obtained are close to each other of the other 2% Zn-SeNPs which present (67.52%) and 1% Zn-SeNPs (61.81%), and Zn-SeNPs 0.5% (60.94%).

The anti-inflammatory activity of Zn-SeNPs 0.5% reaches a rate of (13.05%) against (9.5%) and (9.2%) for Zn-SeNPs 2% and Zn-SeNPs 1%.

The antibacterial activity of Zn-SeNPs 0.5% and Zn-SeNPs 1% and Zn-SeNPs 2% They have little effect on other bacterial strains Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, there is no effect for anti-candidiasis activity on a Candida albicans strain.

**Keywords:** Selenium oxide, Zinc acetate, Nerium Oleander, nanoparticle, biosynthesis, biological activities

## ملخص

الهدف من عملنا هو التخليق الحيوي للجسيمات النانوية الجديدة عن طريق تعاطي المنشطات ( znic dopé par ) (sélénuim Zn-Se) بناءً على مستخلص أوراق نبات Neruim Oleander (الدفلى) وتقييم أنشطتها البيولوجية من خلال تحليل حيود الأشعة السينية (XRD) نقوم بدراسة توصيف الجسيمات النانوية (أكدنا طبيعتها وحجمها وحجمها البلوري).

أظهرت نتائج الأنشطة البيولوجية أن النشاط المضاد للتخثر أظهر أوقات تخثر 30 ثانية لـ 0.5 Zn-SeNPs. و (115 ثانية) لـ 2 Zn-SeNPs.

النشاطات المضادة للأوكسدة لاختبارات ( DPPH ، FRAP ، بيتا كاروتين) أعطت نتيجة أفضل مقارنة بحمض الأسكوربيك الذي يقدر بـ 100% ، النتائج التالية هي أعلى قوى تثبيط (93%) لـ 1 Zn- SeNPs ، وجد اختبار FRAP أعلى تثبيط (96%) لـ 0.5 Zn-SeNPs ، التبييض  $\beta$ -carotene لثلاثة (41.14 Zn-SeNPs) ، (39.21%) ، (25.49%) لـ 2 Zn-SeNPs ، 1 Zn-SeNP ، 0.5 Zn-SeNP على التوالي.

تم إجراء تأثير التثبيط في تنشيط انحلال بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) في منشطات NPs والتي تبلغ (65.15%) لـ 2 Zn-SeNPs و (114.64%) لـ 1 Zn-SeNPs و (99.49%) مقابل 0.5 Zn-SeNPs. تأثير تثبيط نشاط مضاد انحلال الدم ناقص التوتر (NaCl) الذي تم الحصول عليه قريب من بعضه البعض الآخر من 2 Zn-SeNPs التي تظهر (67.52%) و 1 Zn-SeNPs (61.81%) ، و (60.94%) Zn- SeNPs 0.5.

يصل النشاط المضاد للالتهابات لـ 0.5 Zn-SeNPs إلى معدل (13.05%) مقابل (9.5%) و (9.2%) لـ Zn- t 2 SeNPs و 1 Zn-SeNPs.

النشاط المضاد للبكتيريا لـ 0.5 Zn-SeNPs و 1 Zn-SeNPs و 2 Zn-SeNPs لهما تأثير ضئيل على السلالات البكتيرية الأخرى Escherichia coli و Staphylococcus aureus و Pseudomonas aeruginosa و Klebsiella pneumoniae ولا يوجد تأثير على النشاط المضاد لداء المبيضات على سلالة Candida albicans لمرضات داء المبيضات على سلالة

**الكلمات المفتاحية:** أكسيد السيلينيوم ، أسيتات الزنك ، النوريوم أوليندر ، الجسيمات النانوية ، التخليق الحيوي ، الأنشطة البيولوجية

## Liste des Figures

N° des Figures	Titres des Figures	pages
Figure 01	Gamme des tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques	6
Figure 02	Tailles des différents types de nanoparticules	6
Figure 03	Types des nanoparticules selon leurs dimensions	7
Figure 04	Classification des nanomatériaux selon leur localisation au sein du composant/ objet /produit considéré	7
Figure 05	Développement des nanotechnologies - Les 4 générations de (nanostructures /nanosystèmes)	11
Figure 06	Schéma illustrant les différentes techniques de synthèse des nanoparticules	12
Figure 07	Déformation superplastique d'un nanomatériau massif à base de Cu	13
Figure 08	Schéma d'un biocapteur typique	16
Figure 09	Carte géographique de plante <i>Nerium Oleander</i> dans le monde	21
Figure 10	Arbuste de <i>Nerium Oleander</i> (El Oued 2023)	22
Figure 11	Feuilles de <i>Nerium Oleander</i> (El Oued 2023)	22
Figure 12	Fleurs de <i>Nerium oleander</i>	23
Figure 13	Fruits de <i>Nerium oleander</i>	23
Figure 14	Quelques métabolites secondaires de <i>Nerium oleander</i>	24
Figure 15	Représente les formes organiques et inorganiques du sélénium	29
Figure 16	Représente le métabolisme cellulaire du sélénium selon	31
Figure 17	Représente un récapitulatif des rôles du sélénium	34
Figure 18	Structures cristallines du ZnO : (a) rock Salt cubique, (b) zinc blende, (c) hexagonale würtzite. Atomes de zinc en gris et oxygène en noir	39
Figure 19	Schéma représentant le principe de la diffraction des rayons X par les plans réticulaires d'indices h, k et l	63
Figure 20	Schéma de principe du montage d'un diffractomètre RX	65
Figure 21	Extraits aqueux de <i>Nerium Oleander</i> avant la biosynthèse des nanoparticules.	74
Figure 22	Extraits aqueux de <i>Nerium Oleander</i> après la biosynthèse des nanoparticules	74
Figure 23	Caractérisation de Zn-SeNPs 2% par le DRX	76
Figure 24	Caractérisation de Zn-SeNPs 1% par le DRX	76
Figure 25	Caractérisation de Zn-SeNPs 0,5% par le DRX	77
Figure 26	Activité anti-oxydant des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5%) à la concentration 100 µg/ml par test DPPH.	78
Figure 27	Activité anti-oxydant des dopages NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5%) à la concentration 100 µg/ml par test FRAP.	79
Figure 28	Activité anti-oxydant des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5%) par test B-carotène en fonction de temps.	80
Figure 29	Diagramme d'activité antioxydante des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5%) à la concentration 100 µg/ml par teste de blanchissement du β-carotène.	81

Figure 30	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) et du diclofénac de sodium (22,89 µg/ml).	82
Figure 31	Temps de Cèphaline-Kaolin active( tck) des dopages des NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPS 1% / Zn-SeNPs0.5% ) à une concentration d'On 10ug/ul.	83
Figure 32	Effets des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) sur l' hémolyse hypotonique (NaCl).	84
Figure 33	Effets des dopages de NPs(Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) sur l' hémolyse induite par le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	85

## Liste des tableaux

N° des tableaux	Titres des tableaux	pages
Tableau 01	Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique	8
Tableau 02	Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités	9
Tableau 03	Evolution des propriétés des particules à l'échelle nanométrique	12
Tableau 04	Exemples des domaines d'application des (nanoparticules Kurtz-Chalot, Andréa. 2014)	17
Tableau 05	Propriétés pharmacologiques de <i>Nerium oleander</i>	25
Tableau 06	Principales utilisations de <i>Nerium oleander</i> en médecine traditionnelle selon les pays	25
Tableau 07	Représente l'apports quotidiens en sélénium recommandés par le Nutrition Board américain	30
Tableau 08	Caractéristiques cristallographiques principales du ZnO	39
Tableau 09	Aperçu des autres minéraux	46
Tableau 10	Matériels des laboratoires utilisés	55
Tableau 11	Liste des souches microbiennes testées	56
Tableau 12	Rendements massiques d'extraction d'Zn-SeNPs des <i>Nerium oleander</i>	75
Tableau 13	Caractirisation des dopages des NPs par le DRX	75
Tableau 14	Résumé d'activité antibactérien	85
Tableau 15	Résumé d'activité anti-candidose	86

## Liste des abréviations

**R:** rendement

**DDPH:** 2,2 diphényl 1-1 picrylhydrazyl

**FRAP:** Ferric Reducing Antioxidant power

**Abc:** absorbance

**I % :** pourcentage d'inhibition

**Ac :** Absorbance contrôle

**At :** Absorbance teste

**TCK :** Temps du céphaline – Kaolin

**Mg/ml :** Milligramme par millilitre

**Ug/ml :** Microgramme par millilitre

**Ul :** Microlitre

**% :** pourcentage

**Fe :** Fer

**°C :** Degré celsius

**NPs :** Nanoparticules.

**Zn :** Acétat de zinc.

**SeO :** Oxyde séléniume

## Sommaire

Remerciement .....	
Dédicace.....	
Dédicace.....	
Dédicace.....	
Liste des Figures .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des abréviations .....	
Sommaire.....	
Introduction générale.....	1

### Partie Bibliographie

#### Chapitre I : Généralités sur Les nanoparticules

I.1) Généralités.....	5
I.2) Définition des nanoparticules.....	5
I.3) Tailles des différents types de nanoparticules.....	6
I.4) Classification des nanoparticules .....	6
I.4.1) Classification de nanomatériaux selon leurs formes d'utilisation .....	6
I.4.2) Classification des nanomatériaux selon leur localisation au sein du composant /objet /produit considéré.....	7
I.4.3) Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique.....	8
I.4.4) Classification de nanoparticules en fonction de leurs sources .....	9
I.4.4.1) Origine naturelle .....	9
I.5) Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités.....	9
I.6) Les générations des nanoparticules .....	11
I.7) Procédés de fabrication de nano-objets et de nanomatériaux .....	11
I.8) Propriétés des nanoparticules .....	12
I.8.1) Propriétés mécaniques .....	13
I.8.2) Propriétés électriques.....	13
I.8.3) Propriétés optiques .....	13
I.8.4) Propriétés magnétiques.....	14

I.8.5) Propriétés de barrier.....	14
I.8.6) Propriétés thermiques .....	14
I.8.7) Inflammabilité .....	14
I.8.8) Propriétés catalytiques .....	15
I.9) Applications médicales des nanoparticules.....	15
I.9.1) Biocapteurs .....	15
I.9.2) Hyperthermie magnétique .....	16
I.9.3) Bioimagerie .....	16
I.9.4) Délivrance ciblée des médicaments.....	16
I.10) Autres domaines d'applications des nanoparticules .....	17

## **Chapitre II : Présentation de plante utilisée**

II.1) Aspect botanique.....	19
II.1.1) La famille Apocynacea.....	19
II.1.2) Genre Nerium .....	19
II.1.3) Espèce Nerium oleander.....	19
II.1.3.1) Noms communs .....	20
II.1.3.2) Synonymes.....	20
II.1.3.3) Taxonomie .....	20
II.1.3.4) Distribution géographique .....	20
II.1.3.5) Description botanique.....	21
II.2) Aspect chimique.....	23
II.3) Aspects pharmacologiques.....	24
II.3.1) Propriété pharmacologique du genre Nerium .....	24
II.4) Utilisations traditionnelles dans le monde .....	25
II.5) Toxicité .....	26
II.6) Utilisations thérapeutiques et activités biologiques .....	26

## **Chapitre III : Généralités sur les minéraux**

III.1) Sélénium .....	28
III.1.1) Les propriétés physico-chimiques.....	28

III.1.2) Source et dose recommandée en sélénium.....	29
III.1.3) Métabolisme du sélénium dans l'organisme.....	30
III.1.3.1) Voies de penetration.....	30
III.1.3.2) Absorption.....	31
III.1.3.3) Transport .....	31
III.1.3.4) Métabolisme du selenium.....	32
III.1.3.5) Elimination.....	33
III.1.4) Usages du selenium.....	33
III.1.4.1) Utilisation du sélénium dans l'industrie.....	33
III.1.4.2) Utilisations médicales du sélénium .....	33
III.1.5) Les fonctions du sélénium dans l'organisme .....	34
III.1.5.1) Le rôle des formes actives du sélénium .....	34
III.1.5.2) Rôle immunomodulateur.....	36
III.1.5.3) Sélénium et cancer .....	36
III.1.5.4) Sélénium et fertilité .....	36
III.1.5.5) Fonctionnement de la thyroïde .....	36
III.1.5.6) Le sélénium dans le cerveau humain .....	37
III.1.5.7) Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds .....	37
III.1.5.8) Modulation de inflammation .....	37
III.1.6) Carence, apport supplémentaire et toxicité.....	37
III.2) Zinc .....	38
III.2.1) Propriétés de ZnO .....	38
III.2.1.1) Propriétés cristallographiques .....	38
III.2.1.2) Propriétés électromécaniques du cristal de ZnO .....	39
III.2.1.3) Propriétés optiques .....	40
III.2.1.4) Propriétés électriques .....	40
III.2.1.5) Propriétés chimiques et catalytiques .....	40
III.2.2) Méthodes de synthèse de ZnO .....	41

III.2.2.1) Méthodes physiques .....	41
III.2.2.2) Méthodes Chimiques .....	42
III.2.2.3) Synthèse verte .....	43
III.2.3) Applications de ZnO .....	44
III.2.3.1) Cellules photovoltaïques .....	44
III.2.3.2) Vitrages intelligents et couches de revêtements anti UV .....	45
III.2.3.3) Capteur piézoélectrique.....	45
III.2.3.4) Protection UV .....	45
III.2.3.5) Capteurs de gaz .....	46

#### **Chapitre IV : Les activité biologique**

IV.1) Activité antioxydante .....	52
IV.2) Activité anti-inflammatoire .....	52
IV.3) Activité antibactérienne .....	52
IV.4) Activité anti hémolytique .....	53

#### **Partie expérimentale**

##### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

I.1.Objectif .....	56
I.1. Matériel d'étude.....	56
I.1.1. Matériel non biologique .....	56
I.1.2. Matériel biologique .....	57
I. Méthodes .....	58
I.1. Préparation de la plante .....	58
I.1.1. Séchage et broyage .....	58
I.1.2 Macération .....	58
I.2. Détermination des rendements d'extraction .....	58
I.3. Biosynthèse vert du d'Zn-SeNPs .....	59
I.4) Techniques de caractérisation de nanopoudres de Zn-Se .....	63
I.4.1) Caractérisation des propriétés structurales diffraction des rayons X .....	63
I.4.1.3) Détermination de la taille des grains .....	64

I.5. Les activiés biologiques .....	66
I.5.1. Activité antioxydant .....	66
I.5.2. Activité anticoagulante .....	69
I.5.3. Activité anti-inflammatoire .....	70
I.4.4. Activité anti-hémolytique .....	71
I.5.5. Activites antibactérienne .....	72
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>	
II.1) La biosynthèse des nanoparticules d’Zn-Se .....	75
II.2) Le rendements .....	76
II.2) Caractérisation de la synthèse verte des NPs de Zn-Se .....	76
II.4) Activités biologique .....	78
II.4.1) Activité Antioxydant .....	78
II.4.1.1) Test du piégeage du radical libre DPPH.....	78
II.4.1.2) Test de réduction du fer (FRAP) .....	80
II.4.1.2) Test de blanchissement du $\beta$ -carotène .....	80
II.4.2) Activité anti-inflammatoire .....	82
II.4.3) Activité anticoagulante.....	84
II.4.4) Activité anti-hémolytique.....	84
II.4.4.1) Activité anti-hémolyse hypotonique (NaCl) .....	84
II.4.4.2) Activité anti-hémolyse induite par le radical $H_2O_2$ .....	85
II.4.5) Activité antibactérienne .....	86
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>89</b>
<b>Références .....</b>	<b>92</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>104</b>

# *Introduction générale*

## Introduction générale

Le mot « nano » est dérivé du mot grec « Nanos » qui signifie « nain » et que l'échelle nanométrique représente une partie d'un milliard, un nanomètre équivaut donc  $10^{-9}$  mètres. [**Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014).**]

La nanotechnologie est considérée comme l'une des technologies les plus importantes qui pénètrent dans de nombreux domaines, elle dépend de la formation de particules de dimensions nanométriques, et elles ont des propriétés différentes de celles de métaux qui les composent et cela dépend de l'ingénierie des particules métalliques des différentes formes et tailles, l'intérêt pour la production des nanomatériaux métalliques a été revu ces dernières années en raison de son utilisation dans divers domaines tels que la biomédecine et l'agriculture.

Les nanoparticules métalliques ont une large considération en raison de sa demande dans la variété des domaines, y compris les sciences biomédicales, l'industrie chimique, l'électronique, la livraison de médicaments-gène et biocapteur, etc...

D'habitude, les nanoparticules peuvent être synthétisées par différents procédés physico-chimiques comme la déposition de vapeur et la réduction chimique. Depuis quelques années la communauté scientifique étudie plutôt les organismes vivants (bactéries, champignons, plantes, levures...) comme biocapteurs pour fabriquer les nanoparticules. L'intérêt des synthèses par les plantes, outre leur simplicité de mise en œuvre, est la disponibilité de la matière première et surtout l'activité biologique que peut présenter cette dernière. (**Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016).**)

Les produits végétaux trouvent une utilisation nécessaire dans la biosynthèse verte des nanoparticules du fait de leur simplicité de mise en œuvre et leur exploitation fait des progrès étonnants dans l'extraction et la purification de leurs composants actifs.

L'objectif de ce travail est la biosynthèse des nouvelles nanoparticules à base des extraits de plante (**les feuilles de *Nerium Oleander***) et l'évaluation de leur activités biologiques.

Ce mémoire comporte deux parties : une partie bibliographique et une partie expérimentale. La partie bibliographique comporte le chapitre I qui est généralités sur les nanoparticules, et le chapitre II est la présentation de la plante étudiée, le chapitre III est généralités sur

## Introduction générale

---

les ménireux utilisés. chapitre IV est les activités biologiques. La partie expérimentale comporte chapitre I matériel et méthode et chapitre II est résultat et discussions.

## *Partie Bibliographie*

*Chapitre I :*  
*Généralités sur Les*  
*nanoparticules*

**I.1) Généralités :**

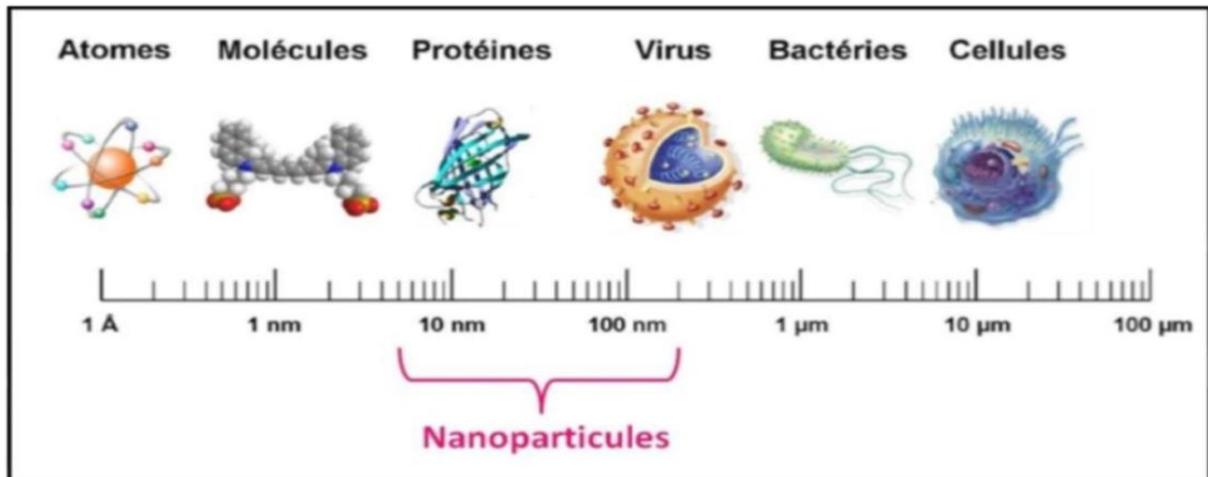
Le domaine de la nanotechnologie est défini comme une combinaison de science et d'ingénierie. La nanotechnologie peut également influencer la conception, la synthèse et la caractérisation des particules (**Sahoo, Parveen et Panda, 2007**).

La nanotechnologie a produit des matériaux de différents types au niveau nano. Les nanoparticules (NP) sont une large classe de matériaux qui contiennent des particules qui peuvent être 0D, 1D, 2D ou 3D (**Tiwari et al. D, 2012**). L'importance de ces matériaux a été réalisée lorsque les chercheurs ont découvert que la taille peut affecter les propriétés physiques et chimiques d'un matériau, qui est un domaine de recherche et développement interdisciplinaire basé sur la connaissance et la maîtrise des choses infiniment petites. Plus précisément, elle regroupe toutes les technologies permettant de synthétiser, traiter et caractériser la matière à l'échelle nanométrique et comprend plusieurs domaines différents. C'est une science qui vise à étudier et comprendre les propriétés de la matière au niveau atomique et moléculaire (**Dreaden et al., 2012**).

**I.2) Définition des nanoparticules :**

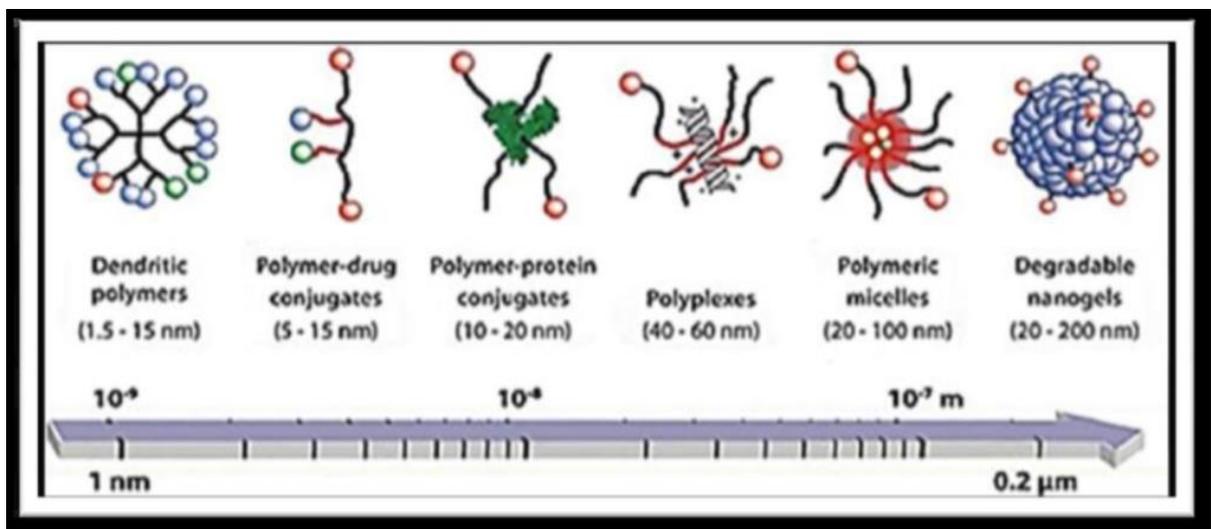
Les nanoparticules (NPs) sont des agrégats de petites molécules de taille nanométrique (dimension entre 1 et 100 nm) constitués de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. La taille nanométrique augmente la surface de contacts entre les matériaux, ce qui leur confère une plus grande réactivité (**Delay and Frimmel 2012**).

C'est un agglomérat des millions d'atomes qui forment une molécule dont la dimension est comprise entre 5 et 200 nm (**Faraji et Wipf 2009**) ou plus globalement inférieure à 1 $\mu$ m. Les tailles des nanoparticules sont donc du même que les protéines et les virus (Figure1). (**D.E. Belfennache, constantine, 2012**).



**Figure N°01 :** Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (D.E. Belfennache, constantine, 2012).

### I.3) Tailles des différents types de nanoparticules :



**Figure N°02 :** Tailles des différents types de nanoparticules (Belfennache, 2012)

### I.4) Classification des nanoparticules :

#### I.4.1) Classification de nanomatériaux selon leurs formes d'utilisation :

##### ✓ Matériaux de dimension 0 :

Matériaux sous forme dispersée, aléatoire ou organisée comme dans les cristaux colloïdaux pour l'optique ou les fluides magnétiques.

##### ✓ Matériaux de dimension 1 :

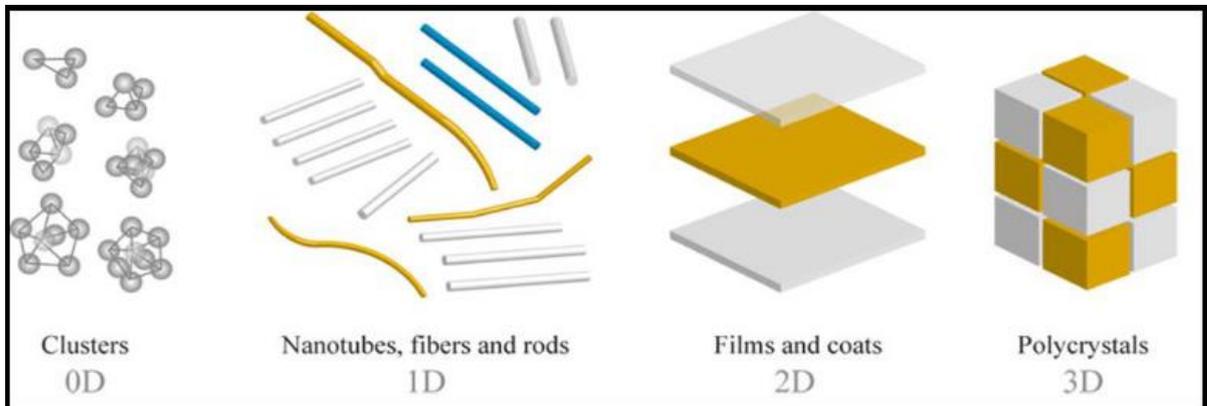
Matériaux sous forme de nanofils ou de nanotubes.

✓ **Matériaux de dimension 2 :**

Matériaux sous forme de couche mince, comme dans les dépôts d'agrégats ou de revêtements épais obtenus par projection plasma ou voie électrochimique.

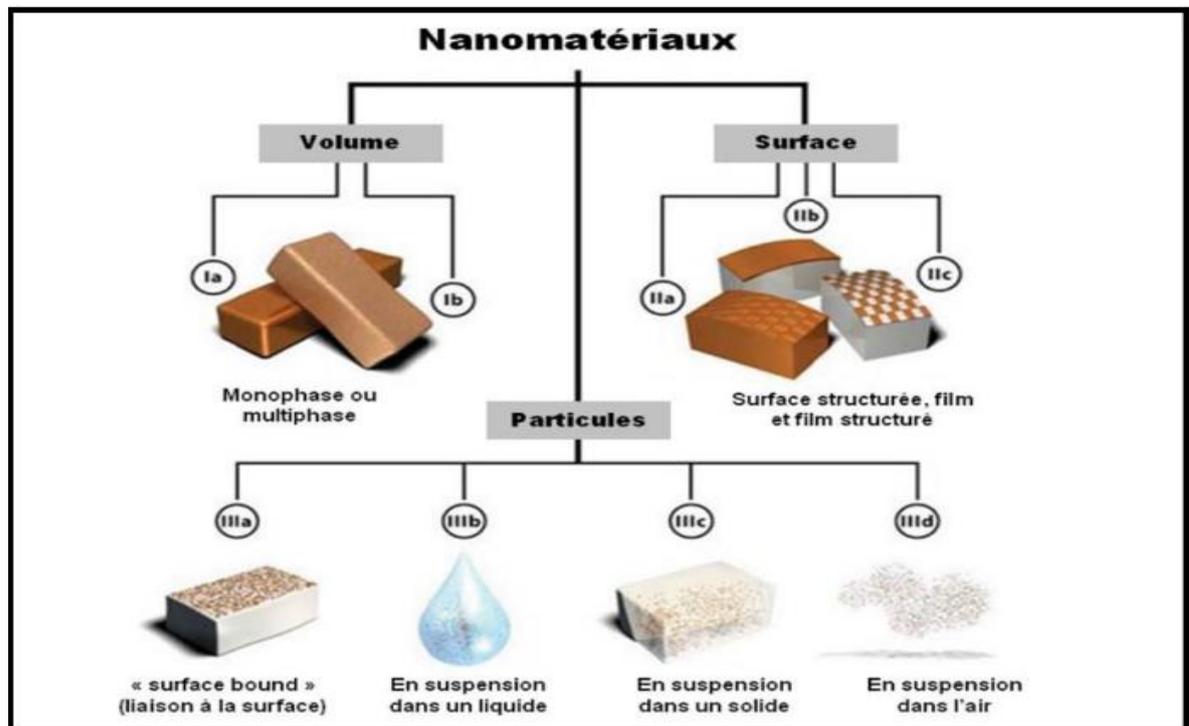
✓ **Matériaux de dimension 3 :**

Matériaux sous forme compacte comme dans les céramiques et les métaux nanostructures (A. De l'Afset, R.d.E.2010).



**Figure N°03 :** Types des nanoparticules selon leurs dimensions (E.-A. Moustafa, A. Noah, K. Beshay, L. Sultan, M. Essam, O. Nouh,2015)

**I.4.2) Classification des nanomatériaux selon leur localisation au sein du composant /objet /produit considéré :**



**Figure N°04 :** Classification des nanomatériaux selon leur localisation au sein du composant/ objet /produit considéré (S. Foss Hansen, B.H. Larsen, S.I. Olsen, A. Baun,2007).

**I.4.3) Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique :****Tableau N°01 : Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique (EPA-Nanotechnology-White-Paper,2007)**

	<b>Matériaux à base de carbone</b>	<b>Matériaux à base de métaux</b>	<b>Dendrimères</b>	<b>Matériaux composites</b>
<b>Definition</b>	Matériaux à base de carbone qui ont soit une forme sphérique ou tubulaire.	Matériaux ayant un élément chimique métallique	Polymères assemblés de façon ramifiée et aux cavités intérieures vides.	Matériaux résultant d'une combinaison entre des NP et un autre matériau à la nano-échelle.
<b>Exemples parmi les plus connus</b>	-Fullerenes -Nanotubes de carbone à simple paroi -Nanotubes de carbone à parois multiples	-Points quantiques -NP d'or / d'argent -NP de type "oxyde-métal" (dioxyde de zinc ou cérium ou titane)	-On trouvera des dendrimères dont le nombre de générations varie en fonction des couches d'unités répétées. -Chaque dendrimère peut-être couplé à des molécules de surface lui donnant ainsi de nouvelles propriétés	-NP de silice mésoporeuses jumelées à du Gadolinium ou Manganèse (pour application liée à imagerie à résonance magnétique). -NP de PLGA ( (poly (dl-lactide-co-glycolide)) couplées à des agents thérapeutiques pour être utilisées dans le traitement contre le VIH

#### I.4.4) Classification de nanoparticules en fonction de leurs sources :

##### I.4.4.1) Origine naturelle :

###### ✓ Biologique :

Dont l'ADN - diamètre de l'ordre de 2,5 nm, plusieurs bactéries - 30nm à 10 mm, plusieurs virus 10 à 60 nm).

###### ✓ Minérale ou environnementale :

(La fraction fine du sable de désert, les fumées originaires d'activité volcanique ou de feux de forêt et certaines poussières atmosphériques).

###### ✓ Origine humaine :

Les « engineered nanoparticules », ou nanoparticules manufacturées, qui sont les nanomatériaux fabriqués dans un but d'application technologique., comme les particules ultrafines d'oxyde de titane et des métaux ultrafins, les pigments de peinture, etc. Les « bulk nanoparticules » : le noir de carbone, la fumée de silice, la fumée d'huile, le « smog » et les particules diesel...etc. (F. Prosie, F.-X. Lesage, F. Deschamps 2008).

#### I.5) Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités :

Les différentes nanoparticules sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau N°02 : Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités (Elkaiem, constantine, 2005)**

Nanomatériaux	Applications	Propriétés, fonctionnalités
Argen	Déodorants, dentifrices. Agents de dépollution des eaux et des sols. Encre. Habillement.	Antibactérien. Dégradation/adsorption de contaminants. Conductivité microélectronique. Antibactérien, pigment. Teignabilité.
Dioxyde de titane	Béton, ciment. Crème de soin, crème solaire Agents de dépollution des eaux et des sols. Peintures. Habillement	Autonettoyant, dépollution. Absorbeur UV. Dégradation/adsorption de contaminants. Autonettoyant, dépollution. Résistance aux UV et aux rayures. Résistance aux UV. Autonettoyant, retardateur de flamme.
Noir de carbone	Maquillage. Batterie. Peinture. Habillement.	Pigment. Conductivité. Pigment, pouvoir couvrant. Conductivité thermique et électrique.

Nanotube de carbone (NTC)	Cellule photovoltaïque. Batterie. Peinture. Habillement.	Rendement conductivité. Résistance mécanique. Conductivité électrique. Résistance à l'abrasion. Retardateur de flamme. Résistance mécanique. Conductivités thermique et électrique.
Fullerènes	Crème de soin. Vectorisation de médicaments, de protéines, de gènes Pneumatique.	Antioxydant. Encapsulation et transport dans l'organisme. Résistance mécanique.
Oxyde de zinc	Conditionnement et emballage plastique. Crème de soin. Cellule photovoltaïque. Peinture.	Antibactérien. Cicatrisant, adsorbeur UV. Rendement. Matité, autonettoyant, dépollution. résistance aux UV.
Silice amorphe	Béton. Dentifrice Peinture. Habillement.	Fluidifiant, résistance mécanique, protection thermique. Abrasif, épaississant. Matité, résistance aux rayures et à l'abrasion. Retardateur de flamme, hydrophobie, anti-tache, antiadhésif.
Argile	Conditionnement et emballage plastique. Béton. Crème de soin, maquillage. Habillement.	Résistance mécanique, conservation Résistance au feu. Matité. Teignabilité, résistance mécanique, retardateur de flamme.
Oxyde ferrique	Maquillage Agents de dépollution des eaux et des sols. Peinture. Détection, marquage et imagerie biologique	Pigment. Dégradation/adsorption de contaminants. Pigment. Magnétisme.
Dioxyde de Cérium	Pot catalytique. Verre. Peinture.	Catalyseur d'oxydation du monoxyde de carbone. Résistance aux UV. Résistance aux UV, anti-graffitis.
Oxyde d'aluminium	Conditionnement et emballage plastique Maquillage. Eclairage. Pneumatique. Habillement.	Conservation. Pigment. Rendu de l'éclairage. Résistance mécanique.
Terres rares	Radiothérapie et thermothérapie. Détection, marquage et imagerie biologique. Batterie.	Traçabilité, anti-contrefaçon Transports d'agents thérapeutiques Luminescence. Substitution des métaux lourds.

### I.6) Les générations des nanoparticules :

Nanostructures Actives	Nanostructures Passives	Système de nanosystème	Nanosystèmes Moléculaires
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nanoparticules</li> <li>➤ Nanotubes</li> <li>➤ Nanocomposites</li> <li>➤ Nanorevêtements</li> <li>➤ Matériaux nanostructurés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Électronique</li> <li>➤ Capteurs</li> <li>➤ Médicaments vectorisés</li> <li>➤ Structures adaptative</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Assemblage moléculaire</li> <li>➤ Structuration en 3D</li> <li>➤ Robotique</li> <li>➤ Supra-molécules</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Molécules à façon</li> <li>➤ Fonctions hiérarchisées</li> <li>➤ Système évolutifs</li> </ul>
<i>1<sup>er</sup> Génération</i>	<i>2<sup>ème</sup> Génération</i>	<i>3<sup>ème</sup> Génération</i>	<i>4<sup>ème</sup> Génération</i>

**Figure N°05 :** Développement des nanotechnologies - Les 4 générations de (nanostructures /nanosystèmes) (E. Gaffet, 2008)

### I.7) Procédés de fabrication de nano-objets et de nanomatériaux :

Les nanoparticules peuvent être synthétisées selon deux approches différentes. La première méthode dite « ascendante » (en anglais bottom-up) et la deuxième dite « descendante » (top-down). L'approche ascendante issue de l'ingénierie chimique se résume à ordonner la matière atome par atome, ou molécule par molécule pour construire des nano-objets avec des propriétés contrôlées, ce processus est similaire à celui observé dans la nature, le monde du vivant c'est formé par l'autoassemblage de composés élémentaires.

Tout à fait complémentaire, l'approche descendante (top-down) issue de l'industrie de la microélectronique, est utilisée dans la fabrication des objets de petite taille pour intégrer un maximum de composants dans une surface donnée. Parmi les méthodes couramment utilisées, citons les micro-nano-lithographies (optiques, RX, électroniques), ou les micro-nano-gravures par faisceaux d'ions.

La différence entre les deux processus repose sur les caractéristiques suivantes : l'approche « bottom-up » permet de synthétiser une large gamme de matériaux avec une taille et une morphologie bien contrôlée, mais en parallèle nécessite l'utilisation de procédés physiques et chimiques.

L'approche « top-down », quant à elle, se limite à des procédés mécaniques, elle permet d'obtenir une quantité importante de matière avec un control amoindri (A.A. Ayachi. CONSTANTINE, 2015).

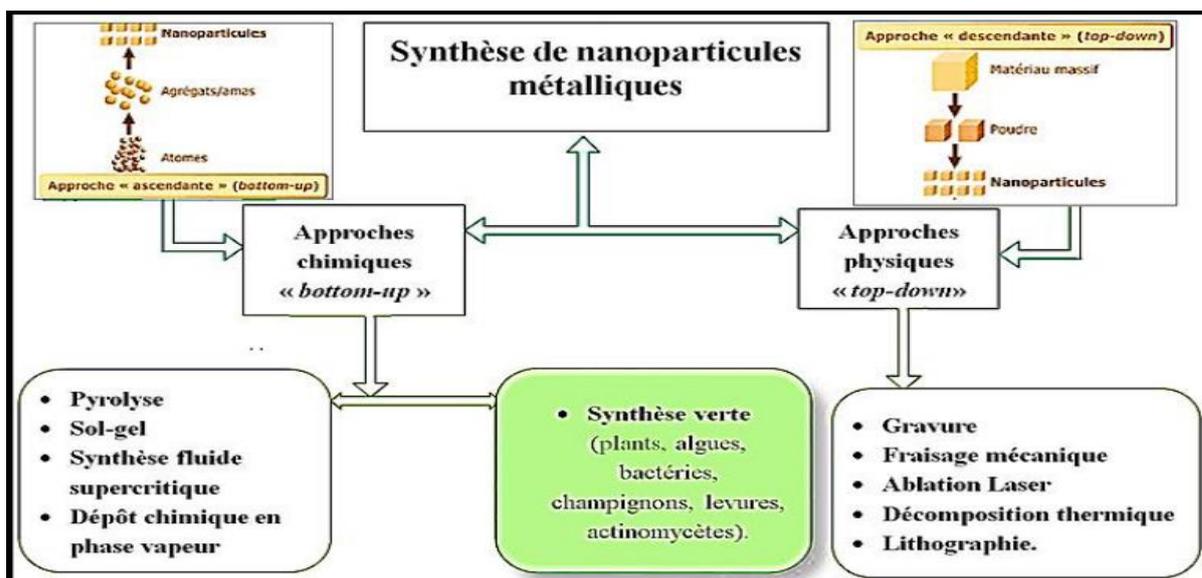


Figure N°06 : Schéma illustrant les différentes techniques de synthèse des nanoparticules (M. Ricaud, O. Witschger,2012)

**I.8) Propriétés des nanoparticules :**

Les nanoparticules présentent des propriétés qui sont en fonction de leur composition, leur structure, et de la surface exposée ainsi que de leur procédé de synthèse. Cependant, quelle que soit leur origine, les nanoparticules possèdent des propriétés physiques communes qui découlent notamment de leur dimension (tableau 1) (Guitou, Marie-Anne. 2014).

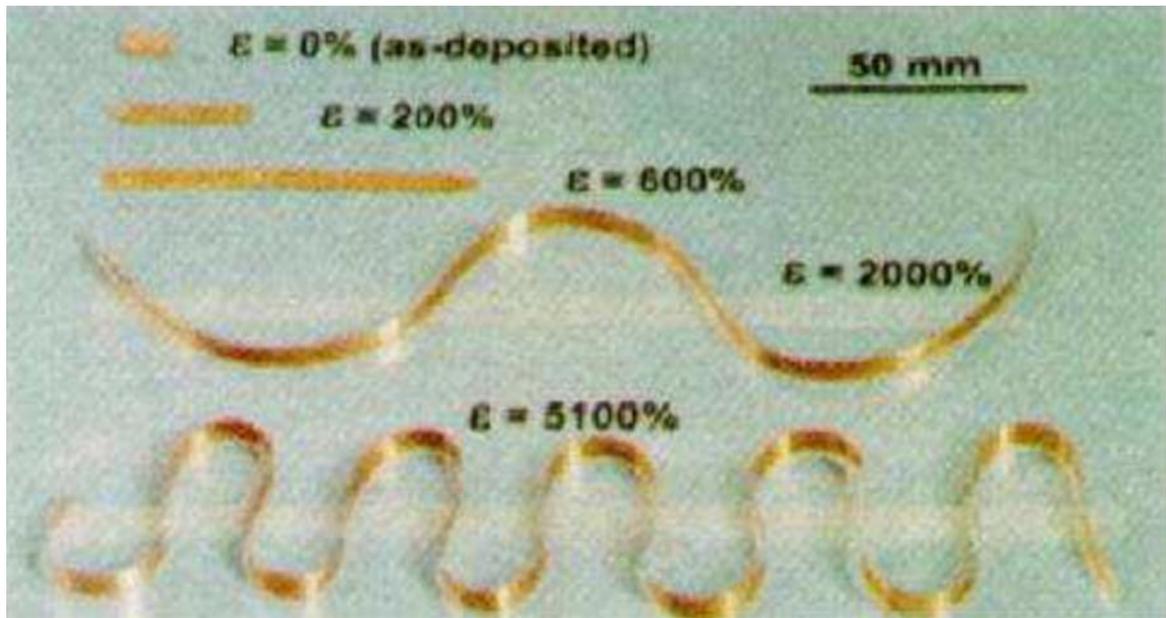
Tableau N°03 : Evolution des propriétés des particules à l'échelle nanométrique

Propriétés	Exemple
Catalytique	Efficacité catalytique élevée due au rapport surface/volume élevé.
Electrique	Augmentation de la conductivité électrique des céramiques et des nano composites magnétiques. Augmentation de la résistance électrique des métaux.
Magnétique	Augmentation de la coercivité magnétique, comportement super paramagnétique.
Mécanique	Augmentation de la dureté et de la solidité des métaux et des alliages, de la ductilité et de la Super élasticité des céramiques.
Optique	Changement spectral de l'absorption optique et des propriétés fluorescentes, augmentation de l'efficacité quantique des cristaux semi-conducteurs.
Stérique	Augmentation de la sélectivité Sphères creuses pour un transport spécifique de médicaments et une distribution contrôlée.
Biologique	Augmentation de la perméabilité vis-à-vis des barrières biologiques (membrane, barrière épithéliale), augmentation de la biocompatibilité.

### I.8.1) Propriétés mécaniques :

L'effet de la nanostructure se traduit par un phénomène de superplasticité. L'exemple ci-dessous présente un allongement extrêmement important (de plus de 5.000 %) pour un matériau de cuivre nanocristallin obtenu par laminage à froid.

Des nanocéramiques nanostructurées peuvent également être mises en forme par déformation superplastique (**Avis de l'AFSSET et rapport du groupe d'experts, 2006**).



**Figure N°07 :** Déformation superplastique d'un nanomatériau massif à base de Cu

### I.8.2) Propriétés électriques:

L'introduction de nanoparticules et/ou de nanotubes peut modifier de façon drastique la conductivité électrique de matériaux réputés isolants. Dans l'exemple ci-dessous, la conductivité électrique atteint 3345 S/m pour un ajout de 15 % vol. De nanotubes de carbone de type mono feuillet dans une matrice d'alumine, correspondant à une modification de 13 ordres de grandeur de la valeur initiale (**Avis de l'AFSSET et rapport du groupe d'experts, 2006**).

### I.8.3) Propriétés optiques :

La réduction de la taille d'un objet semi-conducteur ou métallique à l'échelle nanométrique conduit à de fortes modifications de sa réponse dans le domaine optique, comparée à celle du massif. Les nanoparticules métalliques exhibent une résonance plasmon de surface. Les caractéristiques (position spectrale, amplitude et largeur spectrale) de cette

dernière dépendent de la taille, de la forme et de l'environnement des nanoparticules (Andrieux - Ledier, Amandine. 2013).

#### **I.8.4) Propriétés magnétiques :**

Les matériaux ferromagnétiques se caractérisent par un alignement spontané des moments magnétiques de chaque entité élémentaire dans la même direction, contrairement aux matériaux paramagnétiques pour lesquels l'orientation est aléatoire. A haute température, les matériaux ferromagnétiques subissent une transition vers un état paramagnétique. En effet, l'énergie thermique désorganise le système et vient contre l'alignement, laissant une orientation aléatoire des moments magnétiques. La température de transition est appelée température de Curie. Celle-ci décroît avec la taille du matériau étudié. Au-dessous d'une certaine taille, le système se comporte comme un matériau paramagnétique du point de vue de sa courbe d'aimantation, même en-dessous de sa température de Curie, alors qu'il devrait être ferromagnétique. C'est le super paramagnétisme (Andrieux - Ledier, Amandine. 2013).

#### **I.8.5) Propriétés de barrière :**

Dans les nano composites à matrice polymère, l'incorporation d'argile augmente les propriétés de barrière vis-à-vis de l'eau et des gaz du fait de l'augmentation de la distance à parcourir pour les molécules qui diffusent. Les lamelles de silicate sont imperméables à l'eau et aux gaz (Avis de l'AFSSET et rapport du groupe d'experts. 2006).

#### **I.8.6) Propriétés thermiques :**

Il est bien connu que les métaux NPs ont des conductivités thermiques plus élevées que celles des fluides sous forme solide. Par exemple, la conductivité thermique du cuivre à température ambiante est environ 700 fois supérieure à celle de l'eau et environ 3000 fois supérieure à celle de l'huile motrice. Même les oxydes comme l'alumine ( $Al_2O_3$ ) ont une conductivité thermique supérieure à celle de l'eau. Par conséquent, les fluides contenant des particules solides en suspension devraient présenter des conductivités thermiques significativement améliorées par rapport à celles des fluides conventionnels de transfert de chaleur (Khan, Ibrahim, Saeed, Khalid et Khan, Idrees 2017).

#### **I.8.7) Inflammabilité :**

L'introduction de lamelles d'argile de taille nanométrique dans une matrice polymère retarde sa dégradation et permet la formation d'une couche superficielle carbonisée qui ne se fracture pas mais forme une nanostructure multicouche de silicate améliorant les

propriétés de barrière et de résistance, jouant le rôle d'un isolant et réduisant les émissions de produits volatils issus de la combustion (**Andrieux - Ledier, Amandine 2013**).

### **I.8.8) Propriétés catalytiques :**

La diminution de la taille des nanoparticules entraîne un rapport surface sur volume important qui joue un rôle prédominant dans les propriétés mettant en jeu des échanges à l'interface entre l'objet considéré et son environnement. Ce large pourcentage d'atomes de surface rend les matériaux plus réactifs d'un point de vue chimique, ce qui en fait des candidats potentiels très prometteurs pour les applications en catalyse hétérogène (**Andrieux - Ledier, Amandine 2013**).

### **I.9) Applications médicales des nanoparticules :**

De nombreux domaines d'activité utilisent déjà des nanoparticules pour améliorer leurs applications. Entre autres, l'industrie automobile, l'industrie chimique, l'industrie électronique, la cosmétologie, la santé, la recherche, l'habitation Les avantages et applications que procurent les nanoparticules sur le plan médical, environnemental et commercial intéressent les professionnels de la santé, les industriels et les consommateurs Les nanoparticules permettent d'accroître les performances de nombreux produits. Les performances particulièrement recherchées sont l'absorption des rayons ultra-violet, l'amélioration des qualités textiles, l'effet antimicrobien, l'apport d'une fonction autonettoyante ou antiadhésive de surface, l'augmentation de la dureté ou encore l'apport d'une fonction antiagglomérant ou fluidifiante (**Guitou, Marie-Anne.23 juin 2014**).

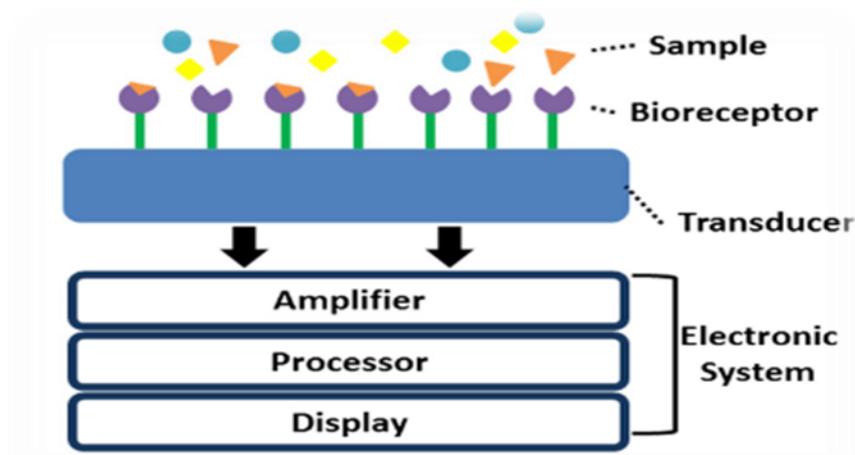
#### **I.9.1) Biocapteurs :**

Un biocapteur est un dispositif analytique utilisé pour analyser des échantillons biologiques. Il convertit une réponse chimique, biologique ou biochimique en signal électrique. Un biocapteur contient trois composants essentiels :

-Bioélément ou biorécepteur.

-Le transducteur.

-L'unité électronique qui contient l'amplificateur, le processeur et l'écran (figure 11).



**Figure N°08** : Schéma d'un biocapteur typique (McNamara, Karrina et A. M. Tofail, Syed. 2016).

### **I.9.2) Hyperthermie magnétique :**

Le principe de l'hyperthermie est de cibler les cellules cancéreuses avec des nanoparticules magnétiques fonctionnalisées. Une fois les nanoparticules attachées aux cellules cancéreuses via des ligands, l'application d'un champ magnétique alternatif externe à haute fréquence permet d'engendrer une élévation très localisée de la température (par un échauffement des nanoparticules en précession, en réponse à la rapide variation du champ magnétique). Cette élévation de température permet de détruire ou d'endommager uniquement les cellules cibles ou tumorales (Fodil, Kamel.2015).

### **I.9.3) Bioimagerie :**

Il existe différentes techniques de bioimagerie telles que l'IRM, la tomodensitométrie (CT), la tomographie par émission de positrons (TEP) et l'échographie qui sont utilisées pour la détection et le diagnostic des maladies. Afin d'améliorer le temps d'imagerie et d'augmenter la biocompatibilité des agents de contraste, différents composés tels que les nanoparticules noyau-coquille ont été étudiés comme agents de contraste possibles (McNamara, Karrina et A. M. Tofail, Syed. 2016).

### **I.9.4) Délivrance ciblée des médicaments :**

Dans le cas de nanoparticules, pour qu'elles puissent effectivement transporter le principe actif jusqu'au tissu ciblé, elles doivent pouvoir rester dans la circulation pendant longtemps sans être éliminées afin d'améliorer l'efficacité du traitement grâce à

l'augmentation de la concentration du médicament dans la cible (**Jordanovska, Svetlana. 2015**).

#### **I.10) Autres domaines d'applications des nanoparticules :**

**Tableau N°04 :** Exemples des domaines d'application des (nanoparticules Kurtz-Chalot, Andréa. 2014).

Secteur d'activité	Exemple d'applications actuelles et potentielles
Automobile, aéronautique et aérospatial	Matériaux renforcés et plus légers, peintures extérieures avec effet de couleur plus brillantes, anti-rayures, anti-corrosion et anti-salissures. Capteurs optimisant les performances des moteurs, détecteurs de glace sur les ailes d'avion, pneumatiques plus durables et <i>recyclables</i> . <i>Additifs pour diesel</i> permettant une meilleure combustion...
Electronique et communication	Mémoire à haute densité et processeurs miniaturisés, cellules solaires, bibliothèque électronique de poche, ordinateurs ultra-rapides, technologie sans fil, écrans plats et souples...
Agroalimentaire	Emballages actifs, additifs tels que les colorants, anti-agglomérants et émulsifiant innovants..
Chimie et matériaux	Pigments, charges, inhibiteurs de corrosion, catalyseurs multifonctionnels, revêtements antibactériens et ultra résistants..
Construction	Ciments autonettoyants et antipollution, vitrage antisalissure, Peintures, vernis et colles innovants...
Pharmacie et santé	Médicaments et agents actifs, surfaces adhésives médicales anti-allergènes, médicaments sur mesure délivrés spécifiquement, surfaces biocompatibles pour implants. Vaccins et imagerie innovants...
Cosmétique	Crèmes solaires transparentes, pâte à dentifrice abrasive, maquillage de meilleure tenue...
Environnement et écologie	Diminution des émissions de dioxyde de carbone, production d'eau ultra pure à partir d'eau de mers, pesticides et fertilisants plus efficaces et moins dommageables...

## *Chapitre II*

### *Présentation de plante utilisée*

## II.1) Aspect botanique :

### II.1.1) La famille Apocynaceae :

La famille des Apocynaceae ou Apocynacées est une famille de dicotylédones de l'ordre des Gentianales, se sont pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes, des régions tempérées à tropicales (**Judde et al., 2002**).

La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale (**Bruneton, 2001; Shriff et al., 2006**) répartis en 4 sous-familles (**Gausсен et al., 1982**)

### II.1.2) Genre Nerium :

Le genre Nerium regroupe dans le monde deux espèces (**Popenoe, 1975 ; Yamauchi et al., 1983**):

- **Nerium oleander L.**
- **Nerium indicum Mill.**

Originaire de l'Asie du sud-est, l'espèce Nerium indicum Mill. (Syn: Nerium odorum Sol.), est une espèce d'Iran, de l'Inde, répandue de l'Arabie au Pakistan et à la Chine (**Paris et al., 1971**). Elle est aussi signalée au Japon. Introduite en Europe au XVIIe siècle, on la cultive souvent sur la côte atlantique, au sud de la Loire. Ses pétales ont un appendice divisé presque jusqu'à la base en franges filiformes (**Bruneto, 2001**).

### II.1.3) Espèce *Nerium oleander* :

Le N. oleander ou laurier-rose (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae. Le nom latin Nerium vient du grec nerion signifiant «humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (**Paris et al., 1971**) .

Le nom latin Nerium vient du grec **nerion** signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides. Nom spécifique oleander vient de l'italien de « oleandro» qui vient du latin « olea » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages (**Langford, 1996**).

**II.1.3.1) Noms communs :**✓ **Nom botanique (Nom latin) :**

*Nerium oleander* L., *Nerium rhododendrum* Dod., *Nerium grandiflorum* Desf  
(Mahmoudi, 2013).

✓ **Nom anglais :**

Rose-bay common pink oleander (Bealev et Poppenga, 1999).

✓ **Nom vernaculaire :**

Defla, Elel, Alili, Talilit, Anidj, Anin, Ariri, Alidji, nommé aussi au Maroc « *Asa Musa* » (Lelong, 2008 ; Delille, 2007 ; Lorgue et al., 1987 ; Bonnier, 2001)

**II.1.3.2) Synonymes :**

*Laurose, nerion, Rosage, Oléandre, Rhododaphné, Rhododendron de pline, laurelle, Nérier, Nérier à feuilles de laurier* L., *canne de saint-Joseph, Belladona* (Mahmoudi, 2013).

**II.1.3.3) Taxonomie :**

Selon la flore de l'Europe, le *Nerium oleander* est classé comme suit (Stursa, 2001).

**Règne:** Plantae

**Division :** Angiospermae

**Classe :** Dicotyledoneae

**Ordre :** Gentianales

**Famille :** Apocynaceae

**Genre :** Nerium

**Espèce :** Nerium oleander L.

**II.1.3.4) Distribution géographique :**

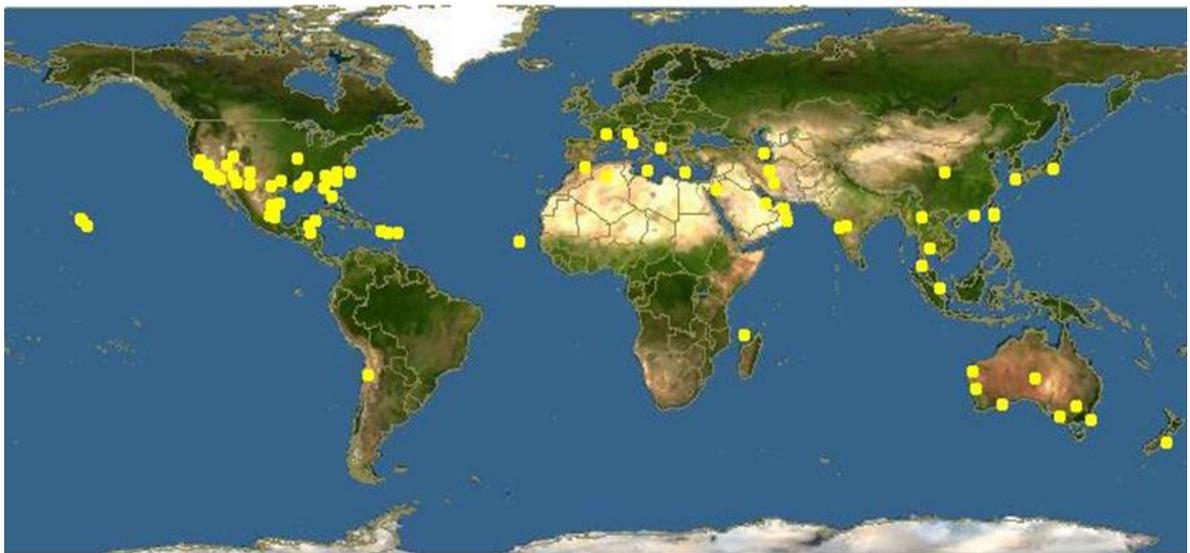
Le N. oleander se développe notamment aux pays du pourtour du bassin méditerranéen. Il serait originaire du Proche-Orient (Paris et al., 1971).

L'espèce croît spontanément sur les berges rocailleuses des rivières, par fois même dans les zones littorales, habituellement dévolues aux espèces halophiles. Adaptée à la sécheresse, le N. oleander est très décoratif pour la beauté de ses fleurs (Paris et al., 1971; Bruneton, 2001).

En Afrique du Nord, le *N. oleander* est assez commun dans la zone steppique. En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocaillieux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra et al., 1971**).

Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...) (**Ridings , 1976 ; Siddiqui et al., 1987; Siddiqui et al., 1989 ; Begum et al., 1997 ; Begum et al., 1999 ; Banon et al., 2006**).

Elle est fréquemment cultivée comme ornemental (**Ridings, 1976; Barbosa et al., 2008; Delille, 2007**).



**Figure N°09** : carte géographique de plante *Nerium Oleander* dans le monde  
([https://www.discoverlife.org/nh/maps/Plantae/Dicotyledoneae/Apocynaceae/Nerium/map\\_of\\_Nerium.jpg](https://www.discoverlife.org/nh/maps/Plantae/Dicotyledoneae/Apocynaceae/Nerium/map_of_Nerium.jpg))

#### II.1.3.5) Description botanique:

La plante est constituée par les organes suivants :

✓ **Écorce :**

Brun grisâtre, relativement lisse (**Stursa, 2001**). Portant de longs rameaux dressés contenant un suc laiteux (**Maaoui, 2014**).

✓ **Branche :**

Longues, minces, érigées, densément feuillues dans la partie supérieure (**Sturs, 2001**).

✓ **Feuille :**

Linéaires à lancéolées (jusqu'à 15 cm), entières, coriaces, vert foncé terne, généralement ordonnées en verticilles de 3 à 4. Persistant (**Stursa, 2001**). Glabres, a pétiole

très court, réunies par trois ; nervure principale forte, nervures secondaires, très nombreuses, fines, parallèles et par paires (**Hammiche et al., 2013**).

✓ **Fleurs :**

Cymes Comprenant généralement 5 grandes fleurs tubulaires aux pétales étalés disposés comme les pales d'une hélice ; à l'intérieur de la corolle se trouvent 5 stipules modifiées en écailles et formant une couronne ; coloration variable : blanc, rose, pourpre foncé, orange ou jaune (**Stursa, 2001**). Floraison mai à octobre (**Maaoui, 2014**).

✓ **Fruits :**

Fruit Brun fauve, de 10 à 12 cm, mince et presque cylindrique, forme de deux parties qui, amaturité, se séparent et s'enroulent tout en restant réunies par la base; les fruits sont très utilisés dans les bouquets Sées (photo 34). Graines nombreuses, petites, couvertes de poils roux formant

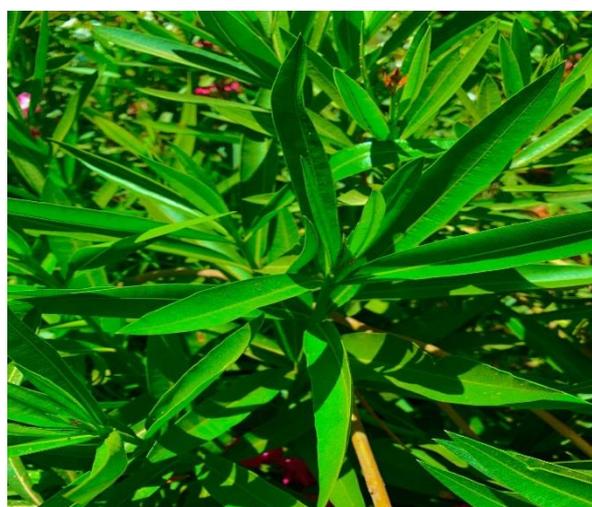
une aigrette a la partie supérieure (**Hammiche, 2013**).

✓ **Forme et hauteur :**

Arbrisseau très ramifié dans sa partie supérieure ; 1 à 4 m de haut (**Baba Aissa, 1990**)



**Figure N°11 :** arbuste de *Nerium Oleander* (El Oued 2023)



**Figure N°10 :** feuilles de *Nerium Oleander* (El Oued 2023)



**Figure N°12 :** Fleurs de *Nerium oleander*  
(El Oued 2023)



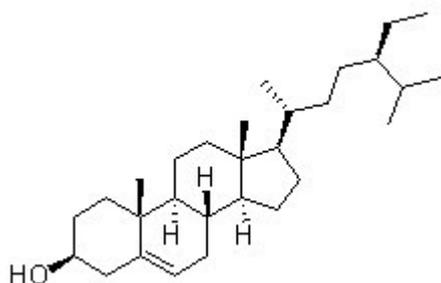
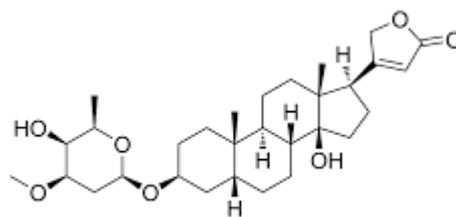
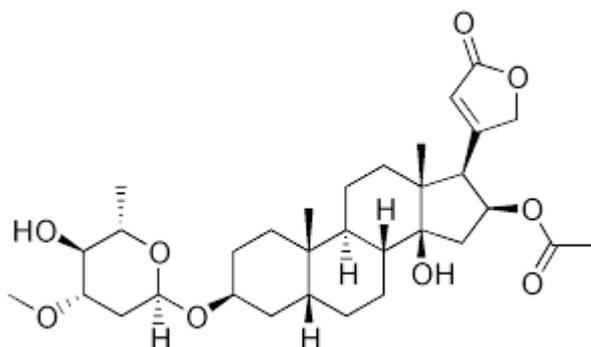
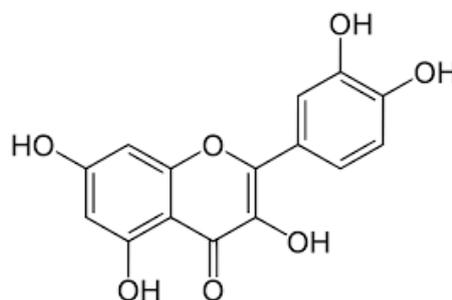
**Figure N°13:** Fruits de *Nerium oleander*  
(<http://sureaux.blogspirit.com/media/02/01/476747625.jpg>)

## II.2) Aspect chimique :

Les études phytochimiques effectuées sur le *N. oleander* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les cardénolides, tritèrènes, prégnanes, flavonoïdes, coumarines et des dérivés stéroïdiques (**Hanson, 1985**). Une trentaine de cardénolides ont été séparés ou caractérisés, majoritairement représentés par l'oléandrine, les odorosides A-M et l'adigoside (**Paris et al., 1971**).

La plante accumule les hétérosides cardénolides dans tous les organes. Les feuilles renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.1% d'oléandrine ou 3-o- $\alpha$ -Loléadrosyl-16-acétylgitoxigénine. Ces concentrations varient selon des considérations génétiques et environnementales. L'oléandrine est accompagné d'analogues stéroïdiques tels que : la gitoxigénine, adynérigénine, l'uzarigénine... (**Bruneton, 1999**). Les graines renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside, etc. (**Bruneton, 2001**). Toute la plante est dangereuse, ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides.

Les mécanismes responsables de la toxicité sont à superposer à ceux des hétérosides digitaliques classiques agissant principalement sur l'inhibition de l'ATpase Na-K membranaire et par l'élévation du calcium intracellulaire (**Bruneton, 1999**).

**B – sitostérol****Odorose A****Oleandrin****Quercetine****Figure N°14** : Quelques métabolites secondaires de *Nerium oleander***II.3) Aspects pharmacologiques :**

Malgré sa toxicité établie, l'espèce *N. oleander* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées populaires (Adom et al., 2003).

**II.3.1) Propriété pharmacologique du genre *Nerium* :**

Les espèces de *Nerium*, *Nerium indicum* et *Nerium oleander*, sont des plantes toxiques, à ce titre leur utilisation en phytothérapie est limitée à l'usage externe. *Nerium indicum* est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide (Shan et al., 2004). Les écorces de *N. indicum* ont

été signalées comme douées d'une activité molluscicide contre *Lymnaea acuminata* (Singh et al., 1998) in (Anonyme, 2009).

D'après la littérature, les diverses parties du *N. oleander* ont exhibé in-vitro et in-vivo une série d'activités biologiques et pharmacologiques (Tableau 01).

**Tableau N°05 : Propriétés pharmacologiques de *Nerium oleander*.**

Parties utilisées	Propriétés pharmacologiques et utilisation / (références)
Feuilles	Cardiotoniques, antibactériens. (Hussain et al., 2004; Delille, 2007), inhibition du système nerveux central (CNS) chez les souris. (Hanson, 1985; Huq et al., 1999), anticancéreux (Hanson, 1985; Bor et al., 1988; Begum et al., 1999).
Racines	Anticancéreux, antiléproux, anti-ulcèreux, antibactériens, cardiotoniques. (Hanson, 1985; Siddiqui et al., 1989; Huq et al., 1999).
Différentes parties	Antimalaria, antivirale, anti-ulcèreux, anticancéreux, antidote (Ibrahim et al., 2007) et comme insecticide (Adom et al., 2003). Emménagogue, comme Abortif, antispasmodique et dans le traitement d'angine de poitrine... (Al-yahya et al., 2000; Aouinty et al., 2006), antiparasitaires... (Siddiqui et al., 1987; Siddiqui et al., 1989; Adom et al., 2003; Ibrahim et al., 2007).

#### II.4) Utilisations traditionnelles dans le monde :

Le *Nerium oleander* est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (Almahy et al., 2006). Les usages traditionnels des différents organes de *Nerium oleander* selon les pays sont décrits dans le (Tableau 02).

**Tableau N°06 : Principales utilisations de *Nerium. oleander* en médecine traditionnelle selon les pays. (Adom et al., 2003).**

Parties utilisées	Pays	Indications	Mode d'emploi
Feuilles fraîches ou séchées	Afrique du sud	Abortif	*
	Algérie	Nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires	Décoction
	Iran	cardiotonique et diurétique	Infusion
	Maroc	Antidiabétique, abortif, démangeaison, mal de tête, antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma	Décoction, infusion, macération
	Tanzanie et Turquie	Antibactérien	Décoction
Différents organes	Cuba	Médecine de folklore	*
	Inde et	Antibactérien	*

---

	Bangladesh		
--	------------	--	--

### II.5) Toxicité :

Nerium est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études (**Almahy et al., 2006**). Neruim étant plus souvent associé à des intoxications accidentelles chez les enfants ou même chez les animaux domestiques (**Bruneton, 2001**).

Toutefois, des tentatives de suicide au Nerium sont régulièrement colligées par les toxicologues dans différentes parties du globe, et un cas d'utilisation à visée criminelle (**Bourgeois et al., 2005**).

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée qui peut s'avérer mortelle pour un adulte. Les premiers signes de l'intoxication : inconscience, irritation de muqueuses, nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, polypnée, troubles cardiaques graves, brûlure de la peau parfois signalée chez les sujets sensibles. Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72h) après l'ingestion d'une quantité toxique (**Adom et al., 2003**). Les hétérosides cardiotoniques principaux constituants de Nerium les toxiques sont reconnus à cette espèce (**Bruneton, 2001**).

### II.6) Utilisations thérapeutiques et activités biologiques :

Quelques préparations (poudre, extrait) ainsi que l'oleandrine ont figure dans certaines pharmacopées mais sont, actuellement, abandonnées; en revanche, les usages traditionnels demeurent. Quelques travaux ont mis en évidence une activité antibactérienne des extraits de feuilles vis-à-vis de Pseudomonas (**Ahmed, 1993**). Des études récentes ont attribue a l'extrait de la plante, une activité effective contre certains types de cancers (**Rashan, 2011**).

*Chapitre III*  
*Généralités sur les minéraux*

### III.1) Sélénium :

Le sélénium est un métalloïde de la même famille que l'oxygène ou le soufre. Il appartient au groupe VI de la classification des éléments périodique de Mendeleïev. Sa masse atomique est de 78,96 et de numéro atomique 34. (TEBANI, 2014).

#### III.1.1) Les propriétés physico-chimiques :

Du fait de l'identité de la couche électronique externe, les éléments de la colonne VI ont un grand nombre de propriétés physicochimiques communes. Toutefois, ils se différencient, notamment en ce qui concerne le soufre et le sélénium, par le fait qu'à pH physiologique, les groupements sélénohydriyls sont fortement dissociés (R-Se-) contrairement aux groupements sulfhydriyls généralement protonés (R-SH). Cela rend compte de l'intérêt particulier du Se au niveau du site actif des enzymes séléniées comme échangeur d'électron (Duffield-Lillico, 2003).

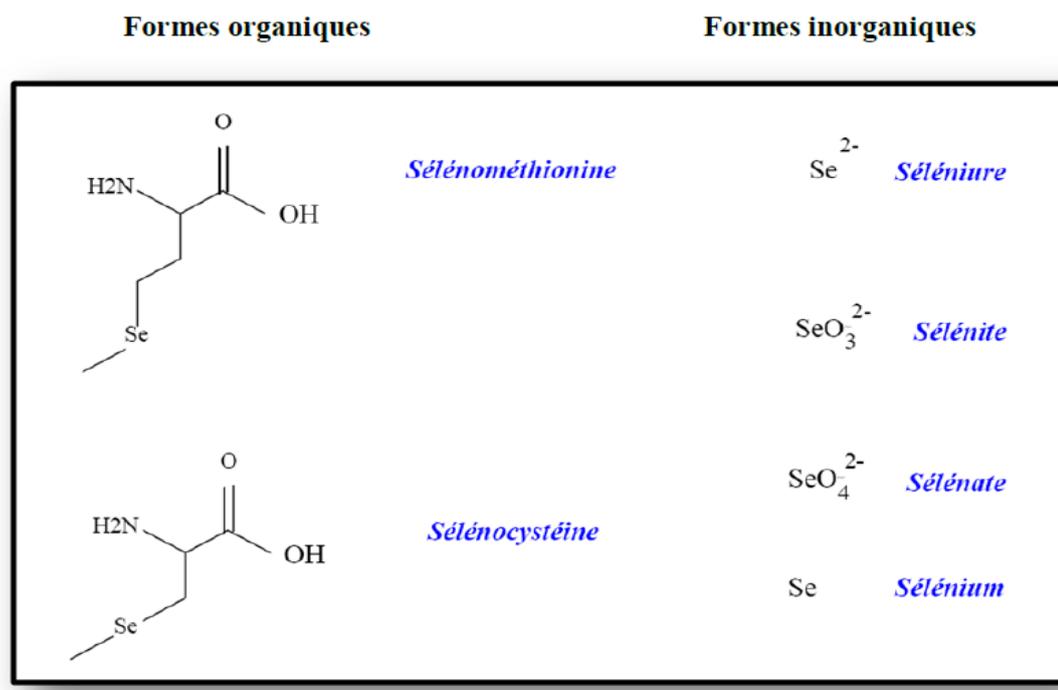
Le sélénium présente de nombreux états d'oxydation (2, 0, + 2, + 4, + 6), sous forme de séléniure, sélénium élémentaire, sélénite, sélénite (Läuchli, 1993) et est capable de réagir avec de nombreux éléments pour donner des composés semblables à ceux obtenus avec le soufre (liaison Se-Se).

Ce sélénium est alors un cofacteur de plusieurs protéines, incorporé lors de leur synthèse sous forme d'un acide aminé, la sélénocystéine. (Therond *et al.*, 1997).

#### Différentes formes de sélénium :

Le sélénium est présent dans la nature et les organismes animaux et végétaux sous des formes organiques et inorganiques. (Graham, 1991).

- ✓ **Les formes organiques sont :** la sélénométhionine et la sélénocystéine .
- ✓ **Les formes inorganiques sont :** sélénite, séléniure, sélénite et l'élément sélénium (figure).



**Figure N°15 :** Représente les formes organiques et inorganiques du sélénium (**Graham, 1991**).

### III.1.2) Source et dose recommandée en sélénium :

Dans l'écorce terrestre, le sélénium se trouve à un taux moyen de 0,2µg/g. Toutefois, sa répartition dans les sols est extrêmement variable. A partir du sol, l'élément peut être extrait par les plantes qui le transforment en composés organiques, telle la séénométhionine. La teneur en Se des aliments varie beaucoup selon le type d'aliment et la concentration en Se des sols utilisés pour la culture, la cuisson ou la transformation n'a que peu d'effet sur la concentration en Se des aliments (**Maggee et James 1996 ; Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008**).

Le sélénium se trouve généralement dans la fraction protéique des aliments, ce sont ceux qui sont riches en protéines qui auront les teneurs les plus élevées. C'est le cas de la viande, des poissons et des céréales, par exemple, le thon peut contenir jusqu'à 6,2 mg Se/kg de matière sèche, le saumon et le hareng possèdent jusqu'à une concentration moyenne de 1,9 mg/kg de matière sèche. Les fruits et les légumes verts, de même que le lait et les produits laitiers ne contiennent que des quantités infimes de Se (**Pedrero et Madrid, 2009; Rezanka et Sigler, 2008**).

Selon le tableau la dose journalière de sélénium recommandée a été fixée par le *Nutrition Board* américain à 70µg pour l'homme et à 55 µg pour la femme en dehors de la

grossesse (65 µg) ou de l'allaitement (75 µg) avec un maximum de 500 µg. Le tableau résume ces données en fonction de l'âge et du sexe. (**Simonoff et Simonoff, 1991**).

Les symptômes d'intoxication chronique apparaissent entre 2 400 et 3 000 µg, et une ingestion de 500 à 1 000 µg par jour est sans danger. La dose létale pour l'homme est estimée entre 0,5 et 1 g par jour sous forme de sélénite ou de sélénate de sodium selon les données obtenues chez l'animal. (**Baruthio 1991**).

**Tableau N°07 :** Représente l'apports quotidiens en sélénium recommandés par le Nutrition Board américain (**Therond et al., 1997**).

Catégories	Agés	Apports recommandés (µg)
Enfant	0 à 6 mois	10
	6 mois à 1 an	15
	1 an à 6 ans	20
	7 ans à 10 ans	30
	11 ans à 14 ans :	
	Garçons	40
Filles	45	
	15 ans	50
Homme	16 ans à 18 ans	50
	Plus de 19 ans	70
femme	16 ans à 18 ans	50
	Plus de 19 ans	55
	Enceinte	65
	allaitante	75

### III.1.3) Métabolisme du sélénium dans l'organisme :

#### III.1.3.1) Voies de penetration:

La principale voie de pénétration du sélénium dans l'organisme est la voie orale. Les autres voies peuvent être transcutanées, cutané et pulmonaire.

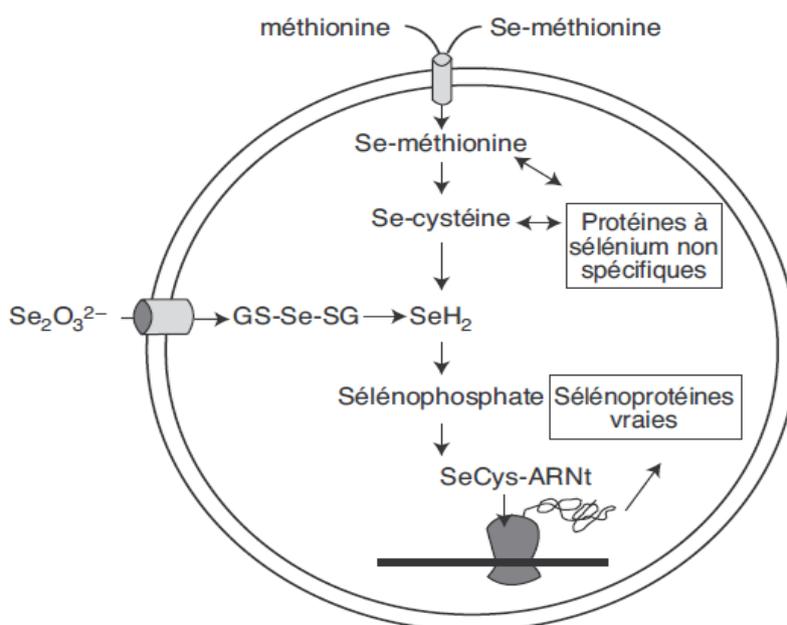
Les voies transcutanée et cutanée représentent le mode de pénétration du Se sous forme de sulfure de Se qui est présent dans certains shampoings antipelliculaires et qui est plus facilement absorbé par un épithélium enflammé ou endommagé.

Quant à la voie pulmonaire, ce sont le Se élémentaire et le sélénure d'hydrogène ( $H_2Se$ ) qui se forme par décomposition des sélénures en milieu acide ou aqueux, qui sont surtout absorbés (Tinggi, 2003; Favier *et al.*, 1984).

### III.1.3.2) Absorption:

L'efficacité d'absorption intestinale du sélénium est élevée (50 à 95 %). Elle dépend de la forme d'apport du sélénium, du statut adéquat ou non en sélénium et de la présence ou non d'autres aliments. Certaines formes sont préférentiellement incorporés dans les sélénoprotéines (protéines qui nécessite Se pour l'activité catalytique), d'autres ne sont pas spécifiquement incorporé dans les protéines, tandis que d'autres sont excrétés (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008 ; Pedrero et Madrid, 2009 ; Zeng *et al.*, 2008).

La sélénométhionine, mieux absorbée que le sélénite, elle est majoritairement absorbée au niveau du duodénum par un transport actif, alors que le sélénite est absorbé par simple diffusion. Le sélénate est absorbé par un mécanisme de transport actif. L'ensemble des formes organiques et inorganiques du sélénium peuvent être utilisées par l'organisme mais leur métabolisme est différent (Figure). (Ducros et Favier, 2004 ; Underwood et Suttle, 2004 ; Lebreton *et al.*, 1998).



**Figure N°16 :** Représente le métabolisme cellulaire du sélénium selon Ducros et Favier, 2004.

### III.1.3.3) Transport :

Les formes solubles du sélénium sont redistribuées dans tout l'organisme à partir du duodénum (**Graham, 1991**).

Le sélénium est lié à des protéines plasmatiques identifiées comme étant des protéines de transport. Actuellement, on distingue trois entités : la glutathion peroxydase qui représente 12 à 15 % du sélénium plasmatique chez l'homme, la sélénoprotéine- P qui en représente plus de la moitié dont sa concentration varie directement avec la concentration alimentaire en sélénium lorsque celle-ci est supérieure à 0,1 mg/kg d'aliment (**Saito et al., 1999 ; Underwood et Suttle, 2004**) et les sélénoprotéines non spécifiques où le sélénium est incorporé de façon non spécifique qui sont essentiellement assimilées à la séloalbumine car l'albumine est la protéine plasmatique la plus abondante (**Behne et Kyriakopoulos, 2001**).

Les formes organiques du sélénium traverseraient mieux les membranes érythrocytaires que les formes ioniques. Le sélénium se lie aux globulines, albumines et autres protéines non spécifiques (**Lebreton et al., 1998**). Le transfert placentaire du sélénium est corrélé positivement au statut sélénié de la mère. La concentration hépatique est plus élevée chez le fœtus que chez la mère tout au long de la grossesse. Le sélénium serait alors transféré par voie transplacentaire, essentiellement en fin de grossesse (**Rowntree et al., 2004**).

La concentration en sélénium des différents organes est variable. Deux organes sont riches en sélénium : le foie et le rein. Le rein, principal lieu de synthèse de la glutathion peroxydase plasmatique a la plus haute teneur en sélénium par unité de poids. Le muscle squelettique semble fonctionner comme un organe de stockage du sélénium, il représente 45 % du sélénium corporel total (**Avissar et al., 1989; Whitin et al., 2002**).

#### **III.1.3.4 Métabolisme du selenium:**

On sait que plusieurs espèces de Se présents dans les aliments sont généralement bien absorbés dans l'intestin des êtres humains. L'effet physiologique de la consommation du Se dépend de sa forme chimique. Le métabolisme du sélénium n'est pas totalement élucidé mais le foie joue un rôle central (**Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008**). En général, le corps humain métabolise les formes diverses comme sélénite en séléniure d'hydrogène  $H_2Se^-$ . Ce dernier joue un rôle central dans le métabolisme du Se, car il est rapidement conjugué au glutathion sous forme de sélénodiglutathion au niveau de cellulaire (**Pedrero et Madrid, 2009**).

Entre autre, le Se de SeMet, consommé sous forme de protéines alimentaires et/ou compléments alimentaires, est ainsi transférée afin de former forme biologique du sélénium qui est l'acide aminé sélénocystéine (SeCys) qui va être utilisée pour produire des sélénoprotéines (**Zeng *et al.*, 2008 ; Ducros et Favier, 2004**).

#### **III.1.3.5) Elimination:**

L'excrétion du sélénium absorbé se fait sous forme de dérivés méthylés, mais l'importance relative des voies d'élimination ou d'excrétion dépend de la nature des composés sélénés ou ingérés, de la quantité absorbée et de la durée de l'exposition.

##### **✓ Les poumons :**

Constituent une voie d'élimination mineure sous forme de diméthylséléniure qui n'intervient qu'en cas de forte absorption.

##### **✓ L'élimination urinaire :**

Est la voie d'excrétion majoritaire. D'après Lebreton *et al.*, 1998 elle représente 60% de l'excrétion lors d'apport satisfaisant en sélénium. Le taux d'excrétion urinaire est régulé par les apports : il y a conservation du sélénium qui sera dirigé vers des organes prioritaires (cerveau, glandes endocrines...) en cas d'apports faibles (**Hatfield et Gladyshev, 2002**).

##### **✓ L'élimination fécale est :**

Causée par les transformations du sélénium sous forme insoluble, tandis que la quantité de sélénium excrétée est corrélée à la quantité de sélénium ingérée (**Underwood et Suttle, 2004**).

#### **III.1.4) Usages du selenium :**

##### **III.1.4.1) Utilisation du sélénium dans l'industrie :**

Les usages de sélénium et de ses composés peuvent être divisés en diverses catégories : applications électriques (25%), fabrication des pigments (10 %), industrie de verre (40%), métallurgie (10%), applications agricole et biologique (5%), autres usages comme vulcanisation de caoutchouc ou oxydation de catalyseur (10%) (**Simonoff et Simonoff, 1991**).

##### **III.1.4.2) Utilisations médicales du sélénium :**

Le Se sous forme de sélénite, séléniate et Se-méthionine est utilisé pour le diagnostic de certains cancers. Le Se-sélénométhionine est utilisé, pour calculer la demie-vie des plaquettes et du fibrinogène et le turn-over des protéines. Le sélénoguanine et le sélénoguanosine ont une activité antitumorale ainsi que leurs dérivés méthylés. Le sulfure de sélénium est utilisé dans le traitement des pellicules, de l'acné, de l'eczéma, de la dermatite séborrhéique et d'autres maladies de peau (**Dubois et Belleville 1988**).

### III.1.5) Les fonctions du sélénium dans l'organisme :

#### III.1.5.1) Le rôle des formes actives du sélénium :

Le sélénium n'est pas actif en tant qu'élément simple mais au sein du site actif de certaines enzymes. Il y est toujours incorporé à partir de la sélénocystéine, via un transfert spécifique d'ARN. L'enzyme la plus connue, est la glutathion peroxydase, découverte en 1957 par Gordon C. Mills. Les autres enzymes sont des sélénoprotéines (Tableau).

Nomenclature	Sélénoprotéine	Principales localisations	Fonction
GPX1	GSH peroxydase cytosolique (GPX)	Cytosol, érythrocytes	Stockage, antioxydant
GPX2	GPX plasmatique	Plasma, reins, poumons	Antioxydant extracellulaire
GPX3	GPX phospholipidique	Membranes intracellulaires	Antioxydant intracellulaire
GPX4	GPX gastrointestinal	Muqueuses intestinal	Antioxydant des muqueuses
ID1	Iodothyronine 5'-deiodinase type I		Conversion de T4 en T3
ID2	Iodothyronine 5'-deiodinase type II		
ID3	Iodothyronine 5'-deiodinase type III	Placenta	
TRR	Thioredoxine reductase	Cytosol	Redox/ antioxydant
Sel P	Sélénoprotéine P	Plasma	Transport, antioxydant, stockage, détoxifiant des métaux lourds
Sel W	Sélénoprotéine W Sélénoprotéine des testicules	Muscle Testicules	Antioxydant? Structural?

**Figure N°17** : Représente un récapitulatif des rôles du sélénium (**Underwood et Suttle, 2004**).

#### III.1.5.1.1) Glutathion peroxydase :

Est une sélénoprotéine ubiquitaire ou le sélénium est le centre actif de cette protéine tétramérique. Chaque sous unité possède un atome de sélénium sous la forme d'un résidu sélénocystéine. C'est une enzyme antioxydante, constitue une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène (**Stoytcheva et Berry, 2009 ; Valko et al., 2006**).

#### **III.1.5.1.2) Sélénoprotéine désiodinase :**

La sélénoprotéine désiodinase est une enzyme monomérique qui possède un atome de sélénium par mole de protéine. Il existe une interrelation très étroite entre le métabolisme du sélénium et celui de l'iode. Ce qui permet d'expliquer pourquoi le sélénium est essentiel dans l'action des hormones thyroïdiennes (**Arthur et al., 1990 ; Vanderpas et al., 1990**).

#### **III.1.5.1.3) Thioredoxine réductase :**

Sélénoprotéine dimérique récemment découverte, elle est située dans le cytoplasme des cellules humaines. Le système thiorédoxine est classiquement composé de la thiorédoxine réductase (TrxR) et de son substrat, la thiorédoxine (Trx) (**Gromer et Coll., 2003 ; Gromer et Coll., 2004**).

La réduction de la thiorédoxine par la thiorédoxine réductase serait un mécanisme important de régulation de la croissance cellulaire normale ou tumorale, mais aussi de la mort cellulaire programmée et, par conséquent ferait de la carence en sélénium un facteur de risque de développement tumoral (**Didier et al., 2001**).

#### **III.1.5.1.4) Sélénoprotéine P :**

La sélénoprotéine P n'est pas seulement la sélénoprotéine la plus abondante dans le plasma, mais c'est également elle qui constitue plus de 50% des réserves de sélénium plasmatique. Cette nouvelle molécule contient plus de dix résidus sélénium (**Mostert, 2000 ; Burk et Hill, 2005**).

Il a été proposé que sa fonction primaire soit le stockage et le transport de sélénium dans l'organisme (**Saito et Takahashi, 2002**). Par ailleurs, Ses propriétés rédox ainsi que la capacité du sélénium à se lier aux métaux lourds suggèrent également un rôle antioxydant extracellulaire.

La sélénoprotéine-P posséderait également une activité peroxydase spécifique des phospholipides (**Saito et al., 2000 ; Tujebajeva et al., 2000 ; Rayman, 2009**).

**III.1.5.1.5) Sélénoprotéine W :**

La sélénoprotéine W a d'abord été isolée à partir du cœur et des muscles et contient 1 gramme d'atome de sélénium par mole. Des fonctions antioxydants ont été suggérées pour cette protéine capable de lier le glutathion (**Underwood et Suttle, 2004 ; Ducros et Favier, 2004**).

**III.1.5.2) Rôle immunomodulateur :**

Le sélénium présent en quantité importante dans les tissus à vocation immunitaire comme le foie, la rate, et les ganglions lymphatiques. Son rôle de modulateur de la réponse inflammatoire et immunitaire passe par son action sur la phagocytose aussi bien que par l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes contrôlant ainsi l'expression des gènes lors de la réponse immunitaire. Les sélénoenzymes pourraient prévenir l'apoptose, en protégeant les membranes (par les GPx phospholipidiques) et les fragmentations de l'ADN par les peroxydes cytosoliques (**Kayanoki et al., 1996 ; Forceville et Van Antwerpen, 2008**).

**III.1.5.3) Sélénium et cancer :**

Le Se pourrait inhiber la carcinogénèse, par augmentation de la réponse immunitaire primaire, en protégeant les cellules contre les oxydations aberrantes, et en diminuant la formation de métabolites cancérigènes. Il a un rôle comme inhibiteur de la croissance tumorale et comme toxique spécifique vis-à-vis des cellules tumorales (**Simonoff et Simonoff, 1991**).

**III.1.5.4) Sélénium et fertilité :**

Le sélénium est essentiel pour la fertilité masculine; nécessaire à la biosynthèse de la testostérone et à la spermatogénèse et il a été également constaté que des taux plasmatiques de sélénium particulièrement faibles avaient été observés chez des femmes ayant subi plusieurs interruptions naturelles de grossesse. Une première explication moléculaire a été apportée concernant les problèmes d'infertilité masculine, et correspond au rôle structural que peut avoir la GPx4 dans la spermatogénèse (**Behne et Kyriakopoulos, 2001; Oldereid et al., 1998**).

**III.1.5.5) Fonctionnement de la thyroïde :**

Le sélénium intervient dans la régulation de la fonction thyroïdienne, et permet la maturation et la dégradation des hormones thyroïdiennes, car les désiodases essentielles pour la régulation des taux de T3, sont des sélénoprotéines (**Bianco *et al.*, 2002**).

En cas de déficit alimentaire en sélénium dans la thyroïde, comme dans le cerveau. Une interaction du sélénium avec l'iode est également décrite, la carence séléniée aggravant le déficit iodé et ses conséquences (**Kohrle, 2005**).

#### **III.1.5.6) Le sélénium dans le cerveau humain :**

Le cerveau représente un organe privilégié pour fournir le sélénium. Il contient de grandes quantités de cet oligo-élément essentiel, qui est conservé de manière efficace même dans des conditions de carence en sélénium. Toutes les parties du cerveau et du système nerveux contiennent sélénium dépendant de la GSH-Px (**Christopher Newland *et al.*, 2006; Naziroğlu, 2009**).

#### **III.1.5.7) Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds :**

Les rôles essentiels précédemment décrits sont complétés par d'autres fonctions essentielles du sélénium, telles que son rôle de détoxification des métaux lourds (cadmium, mercure, plomb) ou son effet activateur de la métabolisation des xénobiotiques organiques (**Roussel et Hininger-Favier, 2009**).

#### **III.1.5.8) Modulation de l'inflammation :**

D'autres situations de stress oxydant et d'inflammation ont été associées au statut en sélénium. En plus de ses effets antioxydants. Lors de traumatisme vasculaire ou de stress oxydatif, c'est-à-dire lorsque la quantité d'hydroperoxydes d'acides gras est trop importante, la cellule s'active par une production accrue de produits proagrégants et pro-inflammatoires. Entre autre le sélénium exhibe des propriétés anti-inflammatoires par la régulation de la concentration en peroxydes au site inflammatoire.

Le sélénium intervient dans la synthèse de l'hémoglobine par son effet réducteur puissant sur les enzymes du métabolisme de l'hème oxygénase (**Rayman, 2000 ; Vitoux, 1996**).

#### **III.1.6) Carence, apport supplémentaire et toxicité :**

Les carences vraies en sélénium se rencontrent lorsque les apports alimentaires quotidiens sont très faibles, en particulier pour des raisons géographiques (sols pauvres en sélénium). Deux maladies ont été associées à une carence endémique sévère en sélénium : la maladie de Keshan et la maladie de Kaschin-Beck.

Une supplémentation à dose supranutritionnelle est souvent préconisée dans les stratégies de prévention des pathologies associées aux déficits séléniés, cancers de la prostate en particulier, mais le risque de toxicité doit également être évalué pour ces doses élevées potentiellement pro-oxydantes. Les intoxications chroniques ou aiguës par le Se du fait de l'alimentation sont rares chez l'homme. La dose létale (DL50) est fixée chez l'homme entre 500 mg et 1 g de sélénium sous forme minérale (sélénite ou sélénate de sodium) (**Roussel et Hininger-Favier, 2009**).

Des signes évidents de sélénose ont été rapportés par **Yang et al., 1983** chez un homme de 62 ans ayant ingéré quotidiennement 1 mg de sélénium sous forme de sélénite de sodium pendant une période de deux ans. Des signes d'intoxication ont été rapportés (perte de cheveux, des irritations bronchiques et dermiques, et fragilité des ongles...), entraînant la mort dans certains cas (**Combs, 1994; Ducros et Favier, 2004**).

### **III.2) Zinc :**

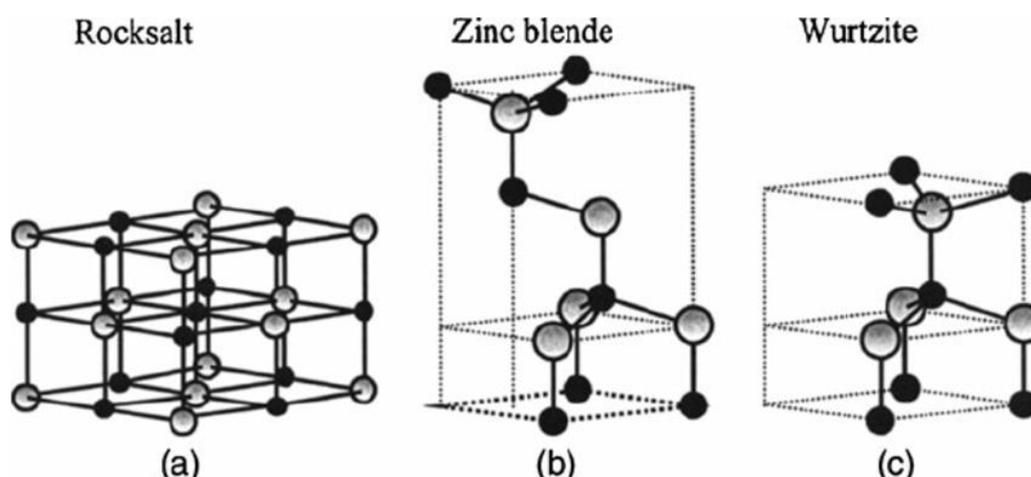
Pendant des nombreuses années, les principales applications de l'oxyde de zinc (ZnO) se sont situées dans les domaines de l'industrie chimique et pharmaceutique. Le ZnO présente un ensemble des propriétés permettant son utilisation dans un certain nombre d'applications comme, par exemple : Cellules photovoltaïques, capteur piézoélectrique, capteurs de gaz, domaine pharmaceutique...etc.

A l'état nanométrique (le matériau est composé de quelques centaines d'atomes), ces propriétés sont beaucoup plus intéressantes que celles du massif. En effet, lorsqu'on diminue la taille d'un objet pour atteindre une taille nanométrique, les propriétés physiques de ces objets s'en trouvent modifiées. La synthèse de nano systèmes est également un enjeu majeur au niveau industriel (**Özgür, 2005**).

#### **III.2.1) Propriétés de ZnO :**

##### **III.2.1.1) Propriétés cristallographiques :**

L'oxyde de zinc peut exister dans la nature sous forme de poudre ou de cristal massif. Du point de vue cristallographique l'oxyde de zinc peut cristalliser suivant trois formes selon les conditions d'élaboration, la structure Würtzite hexagonale, la structure zinc blende et la structure Rock Salt cubique (NaCl) (figure ). La première est la structure hexagonale stable dans les conditions normales, la seconde est la structure cubique, qui est instable et qui apparaît sous des pressions élevées, la troisième c'est la structure Rock Salt qui apparaît sous des pressions très élevées c'est pour ces raisons que nous allons nous intéresser aux deux premières structures seulement, car elles possèdent des énergies de formation très voisines. Le tableau ( ) illustre la différence entre ces deux structures (Byrappa, 2006).



**Figure N°18** : Structures cristallines du ZnO : (a) rock Salt cubique, (b) zinc blende, (c) hexagonale würtzite. Atomes de zinc en gris et oxygène en noir (Byrappa, 2006).

**Tableau N°08** : Caractéristiques cristallographiques principales du ZnO (Byrappa, 2006).

Réseau	Hexagonale Würtzite
Paramètres de maille	$a=3.2499\text{Å}$ $c=5.2060\text{Å}$ $c/a=1.6019$
Distance entre $O^{2-}$ et $Zn^{+2}$	Suivant l'axe $cd=1.96\text{Å}$
Rayon ionique	Pour les autres voisins $d=1.98\text{Å}$
Rayon atomique	$Zn^{+2} = 0.60\text{Å}$ $O^{2-} = 1.38\text{Å}$

### III.2.1.2) Propriétés électromécaniques du cristal de ZnO :

Sous l'effet d'une tension mécanique, le cristal ZnO se polarise (effet direct) et que, à l'inverse, l'application d'un champ électrique conduit à une déformation du cristal (effet inverse). Du fait de l'anisotropie, ses constantes de piézoélectricité sont différentes selon son orientation (**Taabouche, 2017**).

### III.2.1.3) Propriétés optiques :

Le ZnO fait partie de la famille des oxydes semi-conducteurs transparents dans le domaine du visible grâce à son énergie de gap, ce qui lui permet d'être classé parmi les oxydes transparents conducteurs TCO (*transparent conductive oxide*) lorsqu'il est dopé. Il présente une forte absorption et diffusion des rayonnements ultraviolets. L'oxyde de zinc est un matériau transparent dont l'indice de réfraction est égal à 2. Sous forme de couche mince, l'indice de réfraction et le coefficient d'absorption varient en fonction des conditions d'élaboration. L'indice de réfraction du ZnO en couche mince varie entre 1.90 et 2.20. Sous l'action d'un faisceau lumineux de haute énergie ( $E > 3.4$  eV) ou d'un bombardement d'électrons, l'oxyde de zinc émet des photons.

Les propriétés optiques des couches minces de ZnO dépendent fortement de la méthode d'élaboration, la qualité des couches, le traitement thermique appliqué, le type et la concentration du dopant (**Ghomri, 2017**).

### III.2.1.4) Propriétés électriques :

Les propriétés électriques de ZnO peuvent être largement modifiées par traitement thermique sous hydrogène, ou par dopage approprié, en particulier par substitution cationique. Dans ce dernier cas, des atomes de zinc sont substitués par des atomes trivalents si l'on veut augmenter la conductivité, ou par des atomes monovalents si l'on veut la réduire. Ceci modifie également les propriétés optiques du matériau. Le principal paramètre qui fait l'objet de l'étude des propriétés électriques des couches minces de ZnO est la résistivité qui peut être contrôlée sur une large gamme allant de  $10^{-12}$  à  $10^{-4} \Omega.cm$  par effet de la stœchiométrie et du dopage (**Benelmadjat, 2017**).

### III.2.1.5) Propriétés chimiques et catalytiques :

La capacité d'une substance d'être un catalyseur dans un système spécifique dépend de sa nature chimique et de ses propriétés de surface. L'efficacité de l'oxyde de zinc dépend de son mode de préparation. Elle est essentiellement due au degré de perfection du réseau cristallin, et aux propriétés semi-conductrices.

L'oxyde de zinc est utilisé en tant que piège et capteur chimique de gaz ( $H_2S$ ,  $CO_2$ ,  $H_2$ ,  $CH_4$ ). En suspension dans l'eau, il peut jouer le rôle de catalyseur photochimique pour un certain nombre de réactions comme l'oxydation de l'oxygène en ozone, l'oxydation de l'ammoniaque en nitrate, la réduction du bleu de méthylène, la synthèse du peroxyde d'hydrogène, ou encore l'oxydation des phénols. Les couches minces de ZnO ont été aussi utilisées pour catalyser la réaction de dépôt de cuivre (**Benramache, 2017**).

### **III.2.2) Méthodes de synthèse de ZnO :**

#### **III.2.2.1) Méthodes physiques :**

Beaucoup de travaux sur la synthèse de l'oxyde de zinc par voie physique ont été publiés. Ces méthodes nécessitent l'emploi de haute température et la mise en œuvre de lourdes infrastructures. Parmi ces méthodes on cite : La condensation de vapeur, les méthodes laser et la méthode de pyrolyse par jet (**Sun, 2004**).

#### La condensation de vapeur

Dans un premier temps, une poudre métallique est condensée sous gaz inerte après qu'une sursaturation d'une vapeur en métal concerné soit obtenue au sein de la chambre de préparation. Ensuite, dans un second temps, la poudre est oxydée en introduisant de l'oxygène à l'intérieur de la chambre réactionnelle. Il s'agit d'une réaction fortement exothermique qui peut atteindre environ  $1000^\circ C$ . Une étape conséquente de recuit à plus haute température est souvent nécessaire pour achever l'oxydation. Après refroidissement, les nanostructures se sont formées sur la paroi du four (**Hu, 2002**).

#### ✓ **Les méthodes laser:**

L'évaporation par laser est obtenue par la mise au point d'un laser pulsé à haute énergie sur un barreau du métal souhaité. La température au point de focus peut excéder  $10000K$  et peut vaporiser toute substance. Des atomes métalliques chauds sont alors obtenus et peuvent réagir avec l'oxygène pour former une phase vapeur d'oxyde métallique (**Zhao, 1994**).

#### ✓ **La méthode de pyrolyse par jet:**

Le dépôt par pyrolyse d'aérosol, encore appelé « spray pyrolysis », part de solutions aqueuses ou alcooliques d'un sel de zinc et les vaporisent sous pression atmosphérique pour déposer des couches de ZnO. Les matériaux de départ sont des précurseurs chimiques, généralement des sels, en solution. Le procédé nécessite de générer un aérosol constitué de gouttes par « atomisation » de la solution de départ. Les gouttes subissent une évaporation suivie d'une condensation, d'un séchage, d'une thermolyse des particules précipitées à haute température pour former des particules microporeuses, et finalement, une étape de recuit est nécessaire pour obtenir les particules denses (**Huang, 2001**).

### **III.2.2.2) Méthodes Chimiques :**

Les méthodes chimiques ont l'avantage d'être plus simple à mettre en œuvre, moins coûteuses et elles permettent généralement un bon contrôle de la morphologie. Les méthodes les plus pertinentes et les plus rencontrées dans la littérature sont : La méthode sol-gel, la méthode Solvothermale /hydrothermale, électrodéposition et la méthode de précipitation (**Pillai, 2003**).

#### **✓ La méthode sol-gel :**

La méthode sol-gel est la méthode la plus utilisée pour obtenir des oxydes métalliques nanostructurés. Le terme sol-gel signifie « solution gélification », La littérature fournit un grand nombre de publications mettant en jeu cette méthode de synthèse. La synthèse des nanoparticules d'oxyde par sol-gel consiste à préparer une solution homogène de précurseurs métalliques puis un traitement thermique de ce dernier pour obtenir l'oxyde et la formation du cristal. Les nanoparticules de ZnO synthétisé par le mélange de l'acétate de zinc et l'acide oxalique dans l'éthanol. Le principe de cette réaction est basé sur la substitution des ions acétates par les ions oxalate afin d'obtenir un gel. Ce gel est ensuite séché à une température de 500°C pour obtenir des poudres nanostructurées (**Rodríguez-Moreno , 2013**).

#### **✓ La méthode Solvothermale /hydrothermale :**

La synthèse de nanoparticules par voie solvothermale se déroule en présence de solvants aqueux tels que la triméthylamine ou le diméthylformamide à une température supérieure à leur température d'ébullition. Les nanoparticules obtenues par cette méthode sont séparées du solvant par décantation (**Marai, 2015** et **Ungula, 2016**). Les synthèses réalisées par voie solvothermale assurent un meilleur contrôle de la morphologie, de la cristallinité et de la mono dispersité des nanoparticules que par la voie hydrothermale (**Vauriot, 2012**).

La méthode hydrothermale est une technique simple qui n'implique aucun traitement supplémentaire ni utilisation de solvants organiques. La synthèse a lieu dans un autoclave où le mélange de réactifs est chauffé progressivement à une température comprise entre 100 et 300 ° C et laissé pendant plusieurs jours. Les graines cristallines sont façonnées puis se croissent à la suite du refroidissement. Cette méthode de synthèse basée sur l'utilisation de solutions aqueuses pour dissoudre, à haute température et à haute pression, des substances (sulfures ou oxydes) pratiquement insolubles dans des conditions normales. Le produit synthétisé possède un haut degré de cristallinité et le produit obtenue est pure (**Djurisic, 2012** et **Tsuzuki, 2012**).

#### ✓ La méthode de précipitation :

Ce procédé est parmi les méthodes les plus conventionnelles pour la préparation de nanoparticules d'oxydes métalliques. Celle-ci met en jeu d'une réaction de précipitation par ajout d'une base à une solution d'un sel de zinc. Les oxydes métalliques se forment et précipitent généralement dans l'eau en ajoutant une solution basique telle qu'une solution d'hydroxyde d'ammonium ou d'hydroxyde de sodium. Après un lavage et une filtration, les sels chlorés résiduels (NaCl ou NH<sub>4</sub>Cl) sont nettoyés et séparés et l'hydroxyde de métal est calciné pour obtenir la poudre finale (**Guo, 2002**). L'acétate de zinc a pu ainsi être préparé par ajout de KOH à une solution aqueuse d'acétate de zinc (**Kołodziejczak-Radzimska, 2010**).

L'un des moyens utilisés pour empêcher la croissance de cristallites est l'utilisation d'agents tensioactifs dans les procédés de synthèse de nanoparticules par précipitation. La présence de ces composés affecte non seulement la nucléation et la croissance des particules, mais également leur coagulation et leur floculation (**Wang, 2007**).

#### III.2.2.3) Synthèse verte :

La synthèse des nanoparticules de ZnO est dominée par diverses méthodes physiques et chimiques qui nécessitent de haute pression et température, En général, les méthodes physiques consomment de l'énergie supplémentaire et le vide poussé obligatoire (**Chen, 2016** et **Ameen, 2015**). Alors que les méthodes chimiques sont des méthodes de production de masse coûteuses et nuisibles (**Fan, 2015** et **Parashar, 2009**). Ainsi, Les méthodes de synthèse chimique conduisent souvent à la présence de certaines espèces chimiques toxiques adsorbées sur la surface qui peuvent avoir des effets indésirables dans les applications médicales (**Mohanpuria, 2008**).

Le besoin de biosynthèse de nanoparticules a augmenté étant donné que les processus physiques et chimiques étaient coûteux. Pour réduire les coûts, les chercheurs ont utilisé des extraits de plantes et des microorganismes pour la synthèse de nanoparticules. Les méthodes

Vertes encouragent les scientifiques à minimiser l'utilisation de produits chimiques toxiques et à réduire la production de déchets en effectuant des opérations en milieu aqueux. La synthèse verte est une nouvelle approche pour lutter contre la pollution en prévenant les problèmes environnementaux.

La synthèse verte des nanoparticules devance les autres méthodes car elle est simple, rentable et relativement reproductible et se traduit souvent par des matériaux plus stables. Les matériaux à base de plantes semblent être les meilleurs candidats. Ce sont des nanoparticules de production à grande échelle et des alternatives respectueuses de l'environnement aux méthodes physiques et chimiques.

Des techniques pourraient être envisagées pour la synthèse de nanoparticules de métal d'origine naturelle à l'aide de réactifs tels que des plantes (feuilles, racines, latex, graines et tiges) et des microorganismes.

La synthèse verte de nanoparticules est un type d'approche ascendante dans laquelle la réaction principale est la réduction / oxydation. Les phytochimiques végétaux antioxydants ou les enzymes microbiennes sont généralement responsables de la réduction des composés métalliques dans leurs propres nanoparticules. L'agent actif primordial dans certaines de ces synthèses est les composés phénoliques.

De nos jours, on s'intéresse de plus en plus à l'utilisation de précurseurs non toxiques et respectueux de l'environnement, l'abaissement de la température de réaction, l'absence de rejets de sous-produits non désirés et la pollution sont les principaux problèmes qui méritent une attention particulière dans une stratégie de synthèse verte (**Mohanpuria, 2008**).

### **III.2.3) Applications de ZnO :**

#### **III.2.3.1) Cellules photovoltaïques :**

Par définition, l'effet photovoltaïque est la transformation directe d'une énergie électromagnétique en énergie électrique. La conversion photovoltaïque nécessite l'utilisation d'une couche photoconductrice, dite couche absorbante, qui transforme le rayonnement lumineux en paires électrons/trous. Par la suite, ces porteurs créés sont collectés en réalisons

une jonction à la surface de cette couche absorbante. Cette jonction peut être soit une homojonction, soit une hétérojonction. L'oxyde de zinc est envisagé comme matériau support dans les cellules solaires. Une des solutions pour augmenter le rendement des cellules photovoltaïques est l'intégration des nano fils de ZnO comme semi-conducteur de type  $n$  dans celles-ci, afin d'agrandir la surface effective de l'interaction avec la lumière. Par ailleurs, l'hybridation de ces nano fils avec des colorants, pourrait élargir leurs spectres d'absorption, ce qui augmenterait aussi le rendement de ces cellules (**Bozetine, 2017**).

### **III.2.3.2) Vitrages intelligents et couches de revêtements anti UV :**

Le ZnO possède la particularité d'absorber le rayonnement ultraviolet tout en étant transparent à la lumière visible, d'où son application comme couche de protection anti UV. De plus, il a été montré que les couches minces de ZnO présentent des propriétés électrochromes : elles ont la faculté de changer de couleur de manière réversible sous l'application d'une tension électrique; ce changement de couleur a pour effet de modifier les propriétés de transmission de la lumière du ZnO. Ceci permet d'envisager son utilisation dans l'élaboration de vitrages intelligents qui moduleraient la lumière transmise en fonction de son intensité. Ainsi on pourrait contrôler l'éclairage à l'intérieur d'une pièce équipée avec ce type de fenêtres (**Bozetine, 2017**).

### **III.2.3.3) Capteur piézoélectrique :**

En raison de leurs propriétés piézo-électriques, les couches minces de ZnO sont utilisées comme détecteur de pression. La piézoélectricité est un processus physique réversible et on distingue : L'effet piézoélectrique direct où, sous l'action d'une déformation mécanique le matériau voit sa polarisation électrique variée. Ceci, permet de mesurer des grandeurs physiques telles que : l'accélération, la pression...etc. On a alors un capteur piézoélectrique. L'effet piézoélectrique inverse est obtenu lorsqu'on applique un champ électrique sur le solide celui-ci se déforme (**BOUCHIKHI, 2019**).

### **III.2.3.4) Protection UV :**

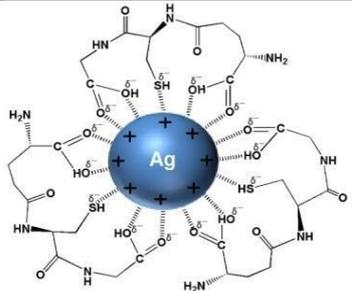
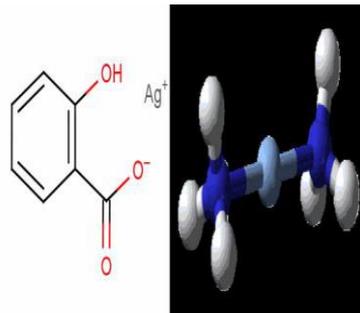
L'absorption de la lumière UV fait de l'oxyde de zinc un candidat de choix pour les crèmes solaires, beaucoup de matériaux de type oxyde métallique sont employés dans la

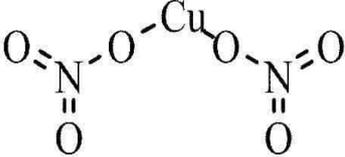
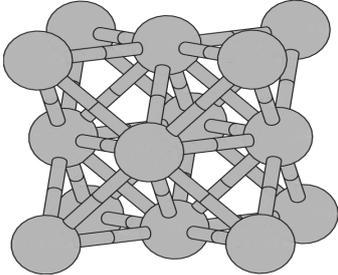
formulation de produits à usage cosmétique (crème, fond de teint, vernis à ongle...), curatif (produits hygiène et soin) ou préventif (crème solaire). Le ZnO agit comme un obstacle invisible qui dissipe le rayonnement ultraviolet de la peau plutôt que de permettre à son énergie destructive d'être absorbée (BARANI, 2020).

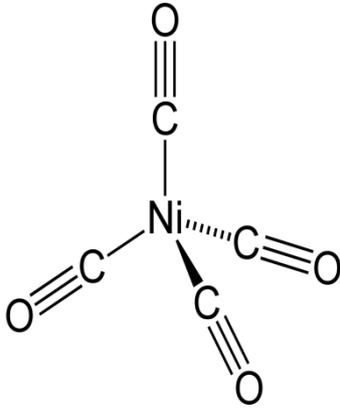
### III.2.3.5) Capteurs de gaz :

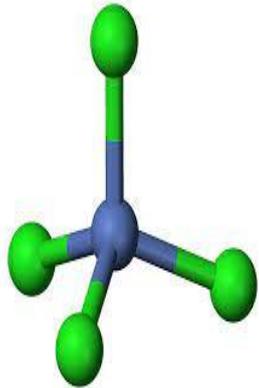
Les oxydes métalliques et le ZnO sont des semi-conducteurs à grand gap, dont la conductivité dépend fortement de la nature du gaz environnant. Ainsi la présence d'un gaz réducteur (CO, hydrocarbures, H<sub>2</sub>...) va entraîner une augmentation de la conductivité de l'oxyde métallique, alors que la présence d'un gaz oxydant se traduira par un comportement inverse. Le seuil de détection, la reproductibilité, la stabilité dans le temps sont étroitement liés aux matériaux employés, qu'il s'agisse de leur composition, de leur morphologie ou de leur état de surface (Amara, 2018).

Tableau N°09: Aperçu des autres minéraux

les minéraux	Définition	Structure chimique	Sources
L'argent	<p>L'argent est un métal précieux naturel, principalement comme minerai en association avec d'autres éléments (More et al., 2018). C'est un élément de transition métallique qui a un aspect brillant et blanc (Martins et al., 2018). Il est présent dans différentes formes dans l'environnement en particulier dans les organismes vivants (Ranganayaki et al., 2017).</p>	  <p>(Ranganayakiet al., 2017)</p>	<p>L'argent est un élément assez rare à la surface de la Terre. Son clarke est à 0,1 g par tonne. Il est présent à l'état naturel dans les sols des pays suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>.Pérou</li> <li>.Mexique</li> <li>.Saxe</li> <li>.Norvège</li> </ul> <p>On le trouve sous la forme de fils, parfois en veines dans d'autres matériaux mais aussi quelques fois sous la forme de</p>

			cristaux ou pépites, isolés ou non (SUPERPROF. FR., 2023)
<p><b>Cuivre</b></p>	<p>Le cuivre est un oligo-élément, présent dans l'organisme à faible concentration (1.5 à 3 mg/kg/jour apport quotidien) et il est nécessaire au bon fonctionnement de certains enzymes ainsi que la stimulation du système immunitaire contre les infections et un élément essentiel pour maintenir l'homéostasie.</p> <p>Cependant, Il joue un rôle bénéfique pour les organismes supérieurs (animaux) et non pour les organismes inférieurs (virus et bactéries). Donc sa présence à l'intérieur de la cellule bactérienne est considérée comme étrangère donc il est connu toxique envers les microorganismes (Ruparelia, Jayesh P., et al., 2008)</p>	  <p>(Trinité, Virginie. 2006).</p>	<p>Le cuivre est présent naturellement dans la croûte terrestre et dans les océans, les lacs, les rivières sous différentes formes et concentrations. C'est un des métaux existant à l'état natif, cependant il est majoritairement présent sous la forme de minerais. La teneur moyenne en cuivre de l'écorce terrestre est de 55 ppm<sup>18</sup>. La concentration moyenne en cuivre varie entre 13 et 24 mg/kg dans les sols.</p> <p>Les principales sources de cuivre dans l'alimentation sont les fruits de mer, les abats (notamment foie), les céréales à grains entiers,</p>

			<p>les noix, le raisin, les légumes et le chocolat (Centre d'Information du Cuivre, 2010). Les eaux minérales peuvent également être une bonne source de cuivre (INERIS., 2015). Le cuivre est raffiné à partir de minerais présents en de nombreux endroits de la surface du globe. Les cinq plus grands pays extracteurs sont le Chili, les Etats-Unis, le Pérou, l'Australie et la Russie (Centre d'Information du Cuivre, 20</p>
<p><b>Nickel</b></p>	<p>Le mot nickel vient de l'allemand, il se décompose en fait en deux termes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nickel qui se rapporte directement au métal et kuffer dont la traduction littérale est petitemain de légende. Le nickel a reçu cette dénomination des mineurs saxons qui le découvrirent.</li> <li>- Il fut qualifié de cuivre du diable car ces mineurs ne parvinrent pas à le traiter. Le</li> </ul>		<p>Le nickel est largement distribué dans la nature, formant environ 0,008% de la croûte terrestre. Le noyau de la terre contient 8,5 % de nickel, les nodules profonds 1,5 %; les météorites contiennent de</p>

	<p>confondant avec l'oxyde de cuivre qui lui ressemble beaucoup.(HAMID, 2010).</p>	 <p>Jimmy Wales et Larry Sanger le(15 janvier 2001).</p>	<p>5 à 50 %. Nickel (5). Les concentrations naturelles de nickel dans l'eau sont relativement faibles, soit 0,228– 0,693 µg/litre, dans les réseaux d'eau douce en général moins de 2. Les sols agricoles contiennent du nickel à des concentrations de 3 à 1 000 mg/kg; dans 78 échantillons de sols forestiers du nord-est. Aux États-Unis, des concentrations de 8,5 à 15 mg/kg ont été signalées (6). La teneur en nickel est enrichie en charbon et en pétrole brut. Le nickel dans les charbons varie jusqu'à 300 mg/kg; la plupart des échantillons contiennent moins de 100 mg/kg, mais il y a une grande variation par région (SWAINE et al., 1980). La teneur en nickel de pétrole brut se</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

---

			situe entre 1 et 80. (HAMID, 2010)
--	--	--	------------------------------------

*Chapitre IV :*  
*Les activités biologiques*

#### **IV.1) Activité antioxydante :**

De nombreux modèles *in vitro* différents ont été introduits pour évaluer les activités antioxydantes afin d'évaluer un antioxydant qui serait utile pour le système alimentaire et biologique (Sanchez., 2002). Généralement, les méthodes de détermination des activités antioxydantes peuvent être classées en deux groupes principaux : les méthodes basées sur le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) et les méthodes basées sur le transfert d'électrons uniques (SET) en fonction de leurs mécanismes de réaction (Tan., 2015).

Les méthodes basées sur HAT mesurent généralement la capacité d'extinction des radicaux libres par le don d'hydrogène, c'est-à-dire la capacité d'absorption des radicaux oxygène (ORAC), le paramètre antioxydant total de piégeage des radicaux (TRAP), l'inhibition de l'oxydation induite des lipoprotéines de basse densité (LDL), le total essai de capacité de piégeage des oxyradicaux, et ainsi de suite. D'autre part, les méthodes basées sur SET détectent la capacité de transférer un électron pour réduire n'importe quel composé, y compris les métaux, les carbonyles et les radicaux, et entraînent un changement de couleur lorsque ce composé est réduit, comme la capacité antioxydante d'équivalence Trolox (TEAC) dosage du pouvoir antioxydant réducteur d'ions ferriques (FRAP) et piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). D'autres dosages, par exemple, le piégeage des radicaux superoxydes, le piégeage du peroxyde d'hydrogène et la trempe à l'oxygène singulet, évaluent la capacité de piégeage des oxydants. Récemment, les matériaux naturels se sont révélés être une source très prometteuse d'antioxydants, car un large éventail de constituants bioactifs qui en sont dérivés, tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les stérols, les peptides (Sun., 2004).

#### **IV.2) Activité anti-inflammatoire :**

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (Ndiaye et al., 2006).

#### **IV.3) Activité antibactérienne :**

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et

prévenir les infections (CCE., 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries. En général, bactérie GRAM - sont plus résistantes que les GRAM + grâce a la structure de leur membrane interne (OUIS., 2015).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries (JURGEN et al., 2009).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang Et al., 2008).

#### **IV.4) Activité anti hémolytique :**

Les érythrocytes sont les cellules les plus abondantes dans le corps humain, possèdent des caractéristiques physiologiques et morphologiques souhaitables. Les dommages oxydatifs de la membrane érythrocytaire (lipides/protéines) peuvent être impliqués dans l'hémolyse (Jams Et Al., 2014).

La consommation d'extrait d'ail vieilli améliore significativement la déformabilité des érythrocytes chez le rat dans des conditions osmotiques élevées. Ce résultat suggère que cet extrait protège et augmente la stabilisation des membranes érythrocytaires, donc préserve la structure et la fonction des érythrocytes et améliore la microcirculation et les propriétés rhéologiques du sang. L'extrait d'ail vieilli peut être utile pour prévenir plusieurs maladies vasculaires périphériques telles que la drépanocytose, l'artériosclérose et l'hyperlipidémie (Moriguchi et al., 2001). De plus l'extrait d'ail fourni la plus haute protection contre l'hémolyse due à la lyse des globules rouges induite par les radicaux (Azantsa et al., 2019).

*Partie expérimentale*

*Chapitre I :*  
*Matériels et méthodes*

Ce chapitre est consacré à la description des différents matériaux et produits chimiques expérimentales utilisés, détaillent les méthodes et techniques expérimentales employés tout au long de ce travail.

### I.1.Objectif :

L'objectif de cette étude biosynthèse des nouvelles nanoparticules à base des extraits des feuilles du *Nerium Oleander* et la caractérisation de leurs activités biologiques.

### I.1. Matériel d'étude

Le matériel d'étude est composé de matériel non biologique et de matériel biologique.

#### I.1.1. Matériel non biologique

Le matériel utilisé en laboratoire est composé des appareils, des produits chimiques, et des matériels.

##### I.1.1.1. Les Appareilles et les produits :

**Tableau N°10** : matériels des laboratoires utilisés.

Les Produits Chimiques	Les appareille	Les moyens
Ethanol	Bain marie	Bécher
Méthanol	Centrifugeuse	Erlenmeyer
Dpph	Spectrophotomètre	Entonnoir
Chlorure de fer	L'étuve	Eprouvette graduée
Ferricyanure de potassium	Plaque-chauffant	Burette
Acide Ascorbique	Agitature manétique	Cristallissoir
Glucose	Blqnce de précision	Tubes a essais
Chloroforme	Bain à ultrasons	Barreau magnétique
Phosphate	Four d'incinération	Papier filter
Acide trichloroacitique	un broyeur électrique	Thermometeter
phosphate solution saline (PBS, pH 6,4)	un diffractomètre de type (PROTO)	Mortier et pilon
Acide linoléique		spatule
Aqca		pissette
Nacl		pipette
PBS iso-saline (pH=7.4)		
H2o2		
β-carotène		
CaCl		

## I.1.2. Matériel biologique

### I.1.2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles de *Nerium Oleander* de la région d'Oued Souf (**Le jardin botanique d'Al-Shatt**).

Le présent travail consiste à étudier l'activité biologique des nanoparticules préparées à base d'extrait de *Nerium Oleander*



**Figure :** Les feuilles et poudre de *Nerium Oleander* (laurier-rose)

### I.1.2.2. Les souches bactériennes :

Nous avons utilisé une souche de référence de levure *Candida albicans* ATCC 14053 et quatre souches des bactéries dont trois à Gram négatif à savoir *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922, et une souche à Gram positif à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Tableau N°11 :** liste des souches testées

Souche	Gram
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif
<i>Escherichia coli</i>	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif

### **I.1.2.3. Le sang :**

Le sang est prélevé à partir des volontaires sains, le jour même de son utilisation au niveau du laboratoire EHS El-Oued. L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH et d'anticorps anti-VHC est vérifiée.

## **I. Méthodes :**

### **I.1. Préparation de la plante :**

#### **I.1.1. Séchage et broyage :**

Nous avons utilisé la partie aérienne de la plante fraîchement récoltée, puis les feuilles ont été lavées et séchées au l'étuv à une température de 60C° pendant 3 jours (la préparation se faisait en hiver, alors qu'en le reste des saisons on peut le laisser sécher à l'ombre et à température ambiante pendant une durée de 4 jours à une semaine)

Après le séchage, le matériel végétal a été broyé, à l'aide d'un broyeur électrique, en une poudre fine pour permettre une meilleure extraction, cette dernière a été ensuite conservée dans des bocaux en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

#### **I.1.2 Macération :**

Nous mettons dans un bécher 15 g de poudre des feuilles avec 500 ml d'eau distillée et chauffons le mélange à 80°C en agitant pendant 45 minutes de le retourner sur plaque-chauffant, Ensuite, le mélange a été filtré à l'aide de papier filtre pendant 24h à l'abri de la lumière pour obtenir des solutions transparentes.

### **I.2. Détermination des rendements d'extraction**

Le rendement d'extraction dépend du solvant et de la méthode d'extraction, du temps de macération et du volume du solvant (Eloff, 1998 ; Hayouni and others., 2007). Le rendement est le rapport de la quantité de composés phénoliques recueillie après extraction par les solvants sur la quantité de la biomasse. Il est déterminé selon (Owen et Johns.1999) par la formule suivante :

$$\text{Rd (\%)} = \left[ \frac{\text{P1}}{\text{P2}} \right] \times 100$$

**Rd** : Rendement.

**P1** : Poids d'Zn\_SeNPs (g).

**P2** : Poids totale de la matière végétale (g).

### **I.3. Biosynthèse vert du d'Zn<sub>2</sub>SeNPs :**

Nous avons opté pour la synthèse des nanoparticules ont utilisent une méthode biologique en suivant le protocole de (**Majhenic L., Kerget M.S., Et Knez Z.2007** )

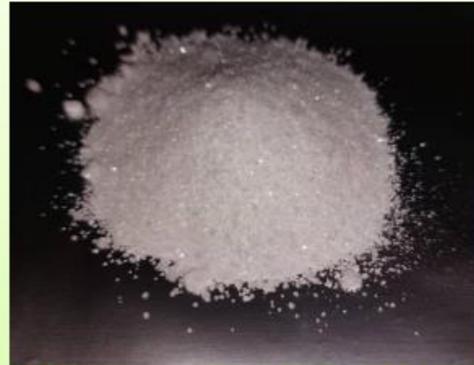
Nous pesons trois quantités différentes d'oxyde sélénium (**14,8 \_7,4\_3,7**) **mg** avec 100 ml d'eau distillée, puis nous pesons 2g d'acétate de zinc avec 100ml d'eau distillée, mélangez-les ensemble pour obtenir solution aqueuse contenant deux minéraux (oxyde sélénium et acétate de zinc) nous l'ajoutons à l'extrait aqueuse des feuilles goutte à goutte par une burette a une température de **60°C** , la couleur de la solution est changée du vert clair au vert foncé indiquant la formation d'Zn-SeNPs , sous agitation continue pendant une heure sur une plaque chauffant , après la synthèse des Zn-SeNPs nous mettons au l'étuv a une température de **80°C** pendant 4 jours pour obtenir un extrait sec contenant des nanoparticules a été centrifugée a (**3900 xg ,20 min**) dans une centrifugeuse nous répétons le processus 3 fois pour laver et éliminer les matières organiques,et nous le mettons au l'étuve à **80 °C**.

Après obtention de l'extrait sec, nous le brûlons au four d'incinération à **550°C** pendant 4h, après la combustion, nous broyons bien la poudre avec mortier et pilon pour obtenir une poudre fine.

**Préparation du plante (Les feuilles de *Nerium Oleander*)****1. Les feuilles de la plante sont séchées****2. Broyage à l'aide du moulin électronique****3. Poudre fine****4. Nous pesons 15 grammes de poudre de feuilles****5. Macération : 15 g de poudre de feuilles + 500 ml d'eau distillée****6. Mélanger sous agitation magnétique pendant 45 min à une température 80°C****7. Filtration pendant 24 h**

**Biosynthèse vert du d'Zn-SeNPs**

1. Nous pesons (14.8 -7.4- 3.7) mg d'Oxyde Sélénium avec 100 ml d'eau distillée



2. Nous pesons 2g d'Acétate de Zinc avec 100 ml d'eau distillée



3. Mélanger Solution aqueuse d'Zn\_Se et extrait aqueuse de feuille sous agitation magnétique pendant 1h à une température de 60°C la couleur de la solution est changée du vert clair



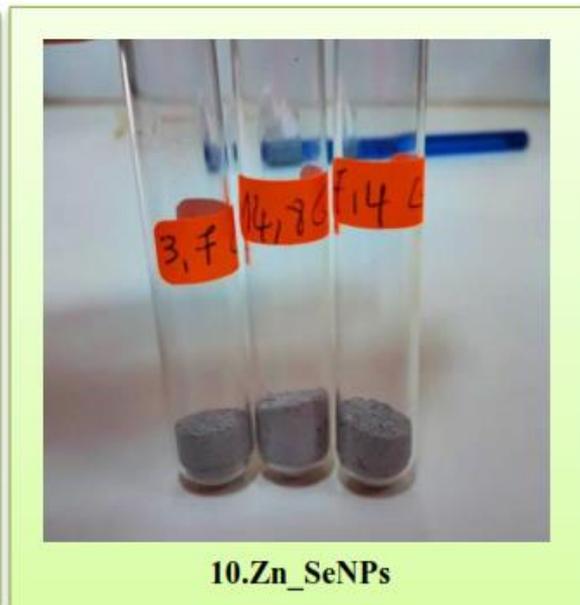
4. Après séchage à l'étuv à une température de 80°C pendant 4 jours



5. Extrait sec



6. Centrifugation



#### I.4) Techniques de caractérisation de nanopoudres de Zn-Se :

##### I.4.1) Caractérisation des propriétés structurales diffraction des rayons X :

La diffraction des rayons X est une méthode très utilisée pour caractériser la structure, la taille et la forme d'une NP. Elle s'applique à des milieux cristallins possédant un arrangement périodique ordonné. Elle permet d'identifier facilement les phases cristallisées. Aussi elle permet de déterminer plusieurs paramètres structuraux tels que les paramètres de maille, les positions cristallographiques des atomes, la taille et l'orientation des cristallites constituant le matériau (Benyahia,2012).

##### I.4.1.1) Principe de la diffraction des rayons X :

Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques de longueur d'onde comprise entre 0.01 et 10 Å. Mais le domaine utilisé pour la caractérisation des matériaux est 0.1-10Å. La diffraction des rayons X est un phénomène de diffusion cohérente qui se produit lorsqu'ils interagissent avec la matière organisée. L'onde diffractée résulte de l'interférence des ondes diffusées par chaque atome. Elle dépend donc de la structure cristallographique. Lorsqu'un faisceau incident de rayons X monochromatiques est focalisé sur l'échantillon à caractériser, il interagit avec le nuage électronique des atomes. Si l'échantillon présente une structure cristalline, il peut y avoir un phénomène de diffraction selon la condition de Bragg :

$$2 dhkl \sin\theta = n\lambda \quad (1)$$

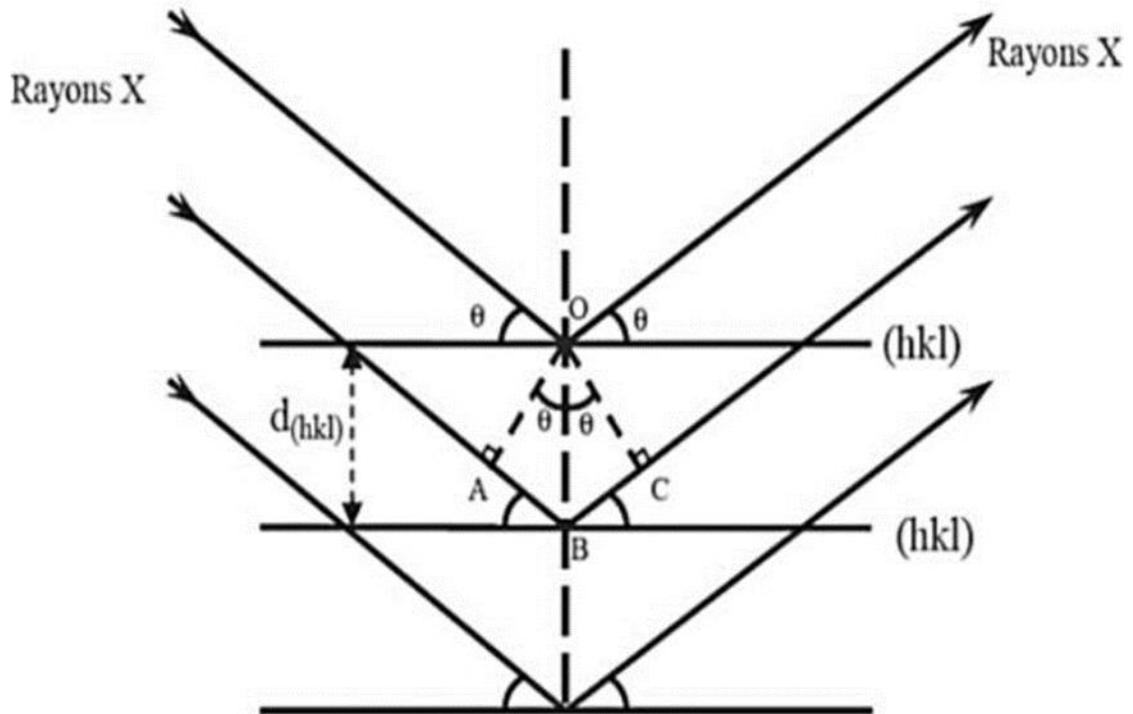
Où  $dhkl$  représente la distance inter-réticulaire du réseau cristallin.

$\lambda$ : est la longueur d'onde du faisceau incident.

$n$ : est un entier qui représente l'ordre de la diffraction.

$\theta$ : représente l'angle d'incidence des RX par rapport à la surface de l'échantillon.

Cette condition dépend de la distance entre les plans réticulaires du réseau cristallin, ainsi chaque famille de plans de distance inter-réticulaire,  $dhkl$  est à l'origine d'un faisceau diffracte sous un angle d'incidence  $\theta$  (Benyahia,2012).



**Figure N°19 :** Schéma représentant le principe de la diffraction des rayons X par les plans réticulaires d'indices h, k et l (A et R.d.E,2010).

#### I.4.1.2) Détermination des distances inter-réticulaires et des paramètres de maille :

Les distances inter-réticulaires des différentes familles de plans dhkl sont calculées au moyen de la loi de Bragg (équation 1). La relation reliant les distances inter-réticulaires des plans (hkl) aux paramètres cristallographiques est la suivante :

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

Cette équation nous permet de calculer les paramètres de maille a, b et c expérimentales et de faire une comparaison avec les valeurs théoriques répertoriées dans la base de données ASTM (A & R.d.E,2010).

#### I.4.1.3) Détermination de la taille des grains :

La largeur à mi-hauteur des pics dans un spectre permet de calculer la taille des grains  $\Phi$  en utilisant la formule de Scherrer :

$$\Phi(nm) = \frac{k \lambda (nm)}{\delta (rd) \cos \theta} \quad (2)$$

$\Phi$  : la taille des grains. (nm)

$\lambda$ : la longueur d'onde des rayons X utilisés. ( $\lambda=0.154178$  nm)

$K$  : constante sans dimension, voisine de l'unité, qui dépend de la forme des cristallites et porte le nom de constante Scherrer.

$\delta$ : la largeur à mi-hauteur mesurée pour chaque pic de diffraction. (rad)

$\theta$ : l'angle de diffraction de Bragg de chaque pic de diffraction. (rad) (**A et R.d.E,2010**).

Dans ce travail, nous n'avons pas pris en compte, la correction due à l'élargissement instrumental car elle est difficile à obtenir. Seule l'évolution qualitative de la taille des domaines cohérents a été examinée en fonction des conditions d'élaboration.

#### **I.4.1.3) Principe de fonctionnement du diffractomètre :**

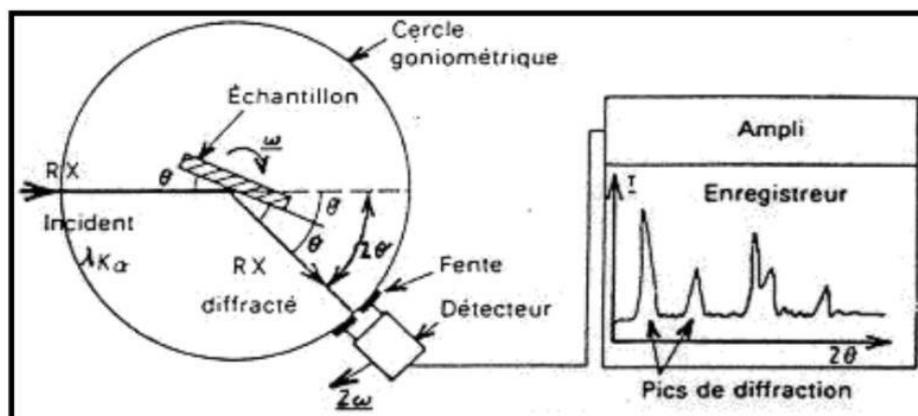
Comme tous les appareils utilisant les rayonnements corpusculaires ou photoniques le diffractomètre est constitué de trois éléments fondamentaux : La source du rayonnement (tube à rayons X), le porte échantillon (goniomètre) et le système de détection. La Figure II.5 représente un diffractomètre PROTO.

Dans ce type de diffractomètre, la source des rayons X est fixée alors que le détecteur est déplacé d'un mouvement de rotation de vitesse :

$$2\omega = 2d\theta/dt \dots \dots \dots (3)$$

Le détecteur donc tourne d'un angle  $2\theta$  tandis que le goniomètre qui porte l'échantillon tourne d'un angle  $\theta$ . Un balayage des angles est alors effectué. Lorsqu'un angle  $\theta$  correspondant à une famille de plans (hkl) où la relation de Bragg est satisfaite, le détecteur enregistre une augmentation de l'intensité diffractée. Après la détection des photons, le compteur les transforme en charge électrique, ensuite ils sont amplifiés par un système électronique. Le signal électrique est envoyé vers un ordinateur qui donne l'allure du spectre avec les différents pics de diffraction.

La procédure d'identification du réseau cristallin est basée sur la méthode des poudres dans laquelle on suppose que la probabilité de trouver une famille de plans (hkl) en position de Bragg est identique à toute autre famille (hkl) ce qui est le cas dans un assemblage de cristaux fins ou dans un échantillon poly-cristallin (**Barrett et Massalski,1980**).



**Figure N°20 :** Schéma de principe du montage d'un diffractomètre RX ([http://apelh.free.fr/Cristaux/diffractionpoudre\\_fichiers/image001.gif](http://apelh.free.fr/Cristaux/diffractionpoudre_fichiers/image001.gif))

## I.5. Les activités biologiques :

### I.5.1. Activité antioxydant :

#### I.5.1.1 Evaluation de pouvoir antioxydant :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits des plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisés différents tests chimiques à savoir ,le test Ferric Reducing /Antioxydant Power assay (FRAP) qui permet de mesurer le pouvoir de la réduction des ions de fer, et l'effet scavenger sur le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

##### I.5.1.1.1. Effet scavenger du radical DPPH :

Parmi les tests qui mesurent la capacité de balayage radicalaire, le test (2,2diphényl-1-picrylhydrazyle) le DPPH (**Brand-Williams et al., 1995**). Est l'un des plus anciens et le plus utilisés. Il est rapide, sensible et économique (**Musa et al., 2016**). Le test DPPH est utilisés pour la détermination de l'activité antioxydant de extraits alimentaires et composés simples (**Fadda et al., 2014**).

##### ✓ Principe :

La méthode de piégeage du radical libre DPPH est largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux. Les antioxydants réduisent le radical DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyle) ayant une couleur violette en un composé jaun (2,2diphényl-1-picrylhydrazine)

Dans cette technique, l'effet antioxydant peut être facilement évalué en suivant la diminution de l'absorption de DPPH et la réaction est contrôlée à 517 nm.

**(Brand Williams et al., 1995 ; Musa et al., 2016 ; Krimat et al., 2017).**

✓ **Mode opératoire La solution de DPPH :**

Est préparée par l'ajout de 25 mg de radical DPPH• dans 80ml de méthanol à 90%. Le volume est ajusté à 100ml. La solution est préparée à l'avance, au moins 1 à 2 heures car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 4 à 5 jours à - 5°C et à l'obscurité **(Afshari et al., 2015).**

La solution mère de DPPH concentré est diluée dans le méthanol jusqu'à l'obtention d'une densité optique proche de 1 à nm 515 **(Schaich et al., 2015).**

• **Les extraits à tester :**

Un volume de 100µl de la solution à tester à 0,1% est mélangé avec 3,9ml de la solution du DPPH• dans des tubes à essai et à l'obscurité et à la température ambiante **(POPOVICI et al., 2009)**. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la densité optique est lue à 517nm **(Thaipong et al., 2006).**

• **Courbe d'étalonnage :**

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard l'ascorbate ou vitamine C. C'est un antioxydant hydrosoluble majeur, réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène. Elle est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes **(Pourrut, 2008)**

On mélange 100µl des extraits Zn-SeNPs ou contrôle positif avec 3,9 ml de solution DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) puis agité vigoureusement. Après l'incubation à l'obscurité pendant min, la densité optique est mesurée à 515 nm. Le méthanol est utilisé comme un blanc **(Afshari et al., 2015).**

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%)

$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$  **(Schaich et al., 2015).**

### **I.5.1.1.2. Test de réduction du fer (FRAP: Ferric reducing antioxidant power):**

#### **✓ Principe**

La réduction du fer des extraits a été déterminée selon la méthode de **Oyaizu (1986)**. La méthode est basée sur le changement de couleur de l'échantillon du vert au bleu selon la puissance de réduction de chaque composé. La présence des réducteurs (antioxydants) provoque la réduction du complexe Fe<sup>3+</sup>/ferricyanure (forme ferrique) en forme ferreux. L'absorbance est mesurée à 700 nm (**Ferreira et al., 2007**).

#### **✓ Mode opératoire :**

Un (1) ml de l'extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1% dans l'eau). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10%) sont ajoutés. Le mélange est centrifugé à 650 tpm pendant 10 minutes. 2,5 ml de surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de fer (0,1%). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 700 nm (**Ouchemoukh et al., 2012 ; Nabavi et al., 2012**). L'acide ascorbique est utilisé comme étalon et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide ascorbique/100g d'extrait des feuilles.

### **I.5.1.1.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :**

#### **✓ Principe :**

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence

d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène. Dans ce test la capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (**Laguerre et al., 2007**).

#### **✓ Mode opératoire :**

Une quantité de 2 mg de  $\beta$ -carotène est solubilisée dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans un bécher contenant préalablement 200 mg de Tween 40 et 20 mg d'acide linoléique. Après évaporation, un volume de 50 ml d'eau saturée en oxygène

est ajouté. Dans des tubes, 4ml de l'émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique sont additionnée à 100  $\mu$ l de la solution de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHT à différentes concentrations. Les tubes sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à t = 120 min. Le control négatif est constitué par 100  $\mu$ l d'éthanol au lieu de l'extrait où de l'antioxydant de synthèse. Tous les essais sont répétés trois fois (**Koleva et al., 2002**).

L'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à t = 0 min contre le blanc contenant l'émulsion sans  $\beta$ -carotène seulement pour le contrôle négatif. L'activité antioxydant (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de  $\beta$ -carotène en employant la formule suivante :

$$\% = ((AA (120) - Ac (120)) / (Ac (0) - A (120))) \times 100$$

**AA (120)** : représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

**AC (0)**: représente l'absorbance du contrôle à 120 min.

**AC (120)** : représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

### **I.5.2. Activité anticoagulante :**

#### **I.5.2.1. Evaluation in vitro de l'activité anticoagulante :**

##### **I.5.2.1.1. Temps de céphaline kaolin activé (TCK) :**

###### **✓ Principe :**

L'activité anticoagulante issus d'Zn-SeNPs à base des feuilles *Nerium Oleander* est évaluée in vitro vis-à-vis de la voie endogène sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de test global chromométrique le temps du céphaline-kaolin activé (TCK).

Le pool plasmatique pauvre en plaquette est un mélange de plasmas de 10jeunes adultes comme volontaires sains non traités, dont les TCK sont normaux et comparables. Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang.

Le sang est ensuite centrifugé pendant 10mn à 3000rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma standard obtenu est conservé à basse température (-10 C°) jusqu'à son utilisation (**Athukorala et al.,2006**).

**✓ Mode opératoire :**

Laisse le mélange mn suivi d'une addition de 100 µl de CaCl pour une recalcification du plasma Ainsi le temps d'incubation est mesuré à l'aide d'un coagulomètre de type biomérieux, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (**Athukorala et al.,2006**)

**I.5.3. Activité anti-inflammatoire :**

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est réalisée en deux parties, soit in vitro et in vivo.

**I.5.3.1. Activité anti-inflammatoire in vitro :**

L'activité anti-inflammatoire in vitro d'extrait d'Zn-SeNPs est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (**CHANDRA et al., 2012**).

**✓ Principe :**

Le principe de cette technique est basé sur la capacité d'extrait à empêcher la dénaturation Thermique de protéine (**CHANDRA et al., 2012**).

**✓ Mode Opératoire :**

Le mélange réactionnel (5 ml) consistait en 0,2 ml d'œuf albumine (d'œuf de poule frais), 2,8 ml de tampon phosphate solution saline (PBS, pH 6,4) et 2 ml de concentrations variables de AQCA pour que les concentrations finales deviennent 31,25, 62,5, 125, 250, 500, 1 000 µg/ml. Volume similaire de double distillation

l'eau a servi de témoin. Ensuite, les mélanges ont été incubés à 37°C dans un incubateur BOD (Labline Technologies) pendant 15 min puis chauffé à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, leur l'absorbance a été mesurée à 660 nm (SHIMADZU, UV 1800) en utilisant le véhicule comme blanc et leur viscosité a été déterminée à l'aide du viscosimètre d'Ostwald. Diclofénac sodique à la finale concentration de (78,125, 156,25, 312,5, 625, 1250, 2 500 µg/ml) a été utilisé comme médicament de référence et traité de la même façon pour détermination de l'absorbance et de la viscosité. Le pourcentage l'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times (Vt / Vc - 1)$$

**Vt** : absorbance de l'échantillon d'essai.

**Vc** : absorbance de contrôle.

#### **I.4.4. Activité anti-hémolytique :**

##### **I.4.4.1. Evaluation de l'activité anti-hémolytique :**

###### **✓ Principe :**

L'effet anti-hémolytique d'extraits d'Zn-SeNPs est évalué in vitro par l'utilisation de modèle érythrocytaire. Ce dernier est facile à isoler du sang et sa membrane présente des similitudes avec d'autres membranes cellulaires (Shobana et Vidhya, 2016).

###### **✓ Mode opératoire :**

###### **1.Préparation de la suspension érythrocytaire :**

Le sang utilisé pour préparer les suspensions d'érythrocytes a été prélevé sur des sujets sains et placé dans des tubes remplis d'héparine sur lesquels des analyses sérologiques ont été effectuées, afin d'exclure tout risque de contamination par d'éventuelles maladies.

Après centrifugation du sang à 3000 rpm/5 min, le culot récupéré a été lavé 3 fois avec du PBS iso-tampon salin composé de tampon phosphate de potassium 10 mM, pH = 7,4 et 154 mM NaCl. Chaque lavage consistait à mettre les cellules en suspension dans du PBS Iso-saline et à centrifuger à 3 000 tr/min/5 min. Après la dernière centrifugation, le culot est remis en suspension dans du PBS isotonique à raison de 1 volume de culot et 9 volumes de PBS, ce qui permet d'obtenir un hématocrite de 10%. (Rani et al., 2014).

###### **2.Induction hypotonique :**

Afin de déterminer la concentration de Na Cl qui provoque la lyse des globules rouges, on a additionné 100µl de la suspension érythrocytaire (10%) à 5ml de Na Cl à différentes concentrations (2,5-7mg/ml), ainsi qu'un témoin négatif (Na Cl isotonique 9mg/ml) et un témoin positif (l'eau distillée). Après incubation pendant 30min à température ambiante, le mélange a été centrifugé 10 min à une vitesse de 3000rpm, à la fin on a effectué une lecture des densités optiques à 540 nm (Louerrad et al., 2016).

###### **3.Effet sur l'hémolyse induite par la solution hypotonique (Na Cl) :**

100 µl de l'extrait d'Zn-SeNPs à différentes concentrations (0,1-1mg/ml), ont été mélangés avec 100µl de la suspension érythrocytaire, après une incubation de 10min à température ambiante, 5ml du NaCl à une concentration de 3.5mg/ml ont été ajoutés. Le mélange est laissé incubé à 37°C pendant 30 min puis centrifugé à 3000rpm/ 10 min. L'absorbance du surnageant a été lue à 540 nm, de même Un contrôle en absence d'extrait et un standard (quercétine) ont été réalisés (Louerrad et al., 2016).

#### 4. Induction par le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

500µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à différentes dilutions (1/10,1/30,1/60,1/100) ont été mélangés avec un volume de 250µl de la suspension de globules rouges, après une durée de 3h d'incubation à 37°C, on a ajusté par le PBS jusqu'à 4,500ml puis le mélange a été soumis à une centrifugation pendant 10 min avec une vitesse de 3000 rpm. L'absorbance des surnageant a été lue à 540 nm. Les contrôles ont été préparé en remplaçant l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par l'eau distillée pour le contrôle positif et par la solution PBS pour le contrôle négatif (James et Alewo, 2014).

#### 5. Effet sur l'hémolyse induite par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

250µl de la suspension érythrocytaire et 500µl d'extrait à différentes concentrations (0.1- 1mg/ml) ont été incubés pendant 30 min à température ambiante puis on a ajouté 500µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1/30), et après une incubation pendant 3h à 37°C, on a ajusté le volume final à 4500µl par le PBS, à la fin une centrifugation et une lecture des DO à 540 nm et de même façon on a réalisé le test standard en utilisant la quercétine comme molécule de référence. Le contrôle a été réalisé en absence d'extrait et en présence de l'eau distillée. (James et Alewo, 2014).

#### 6. Calcule des taux d'hémolyse :

Le pourcentage d'hémolyse pour tous les teste a été calculé en suivant la formule suivant (Shobana et Vidhya, 2016) :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (\text{Abs du test} / \text{Abs du contrôle}) \times 100$$

#### I.5.5. Activité antibactérienne:

##### ✓ Principe du test :

Les bactéries en culture sont mises en présence d'un ou plusieurs antibiotiques Les conséquences de la présence d'une molécule active sur le développement bactérien sont directement observables via la formation d'halos d'inhibition autour du dépôt de l'échantillon testé Ces halos indiquent la présence de molécules actives dans l'extrait étudié, parfois grâce à la présence d'une molécule antibiotique. Un antibiotique est une substance organique ayant pour action spécifique de détruire (activité bactéricide) ou fortement inhiber la croissance de microorganismes (activité bactériostatique). Ces molécules sont soit d'origine naturelle (spécifiquement élaborées par des microorganismes ou présentes dans des organismes végétaux), soit synthétisées ou hémi synthétisées (la majorité des antibiotiques actuels) (Pierre, 2010).

**✓ Mode Opérateur :**

Le test antibactérien du composé a été déterminé par la méthode de diffusion de puits (WD) contre quatre bactéries, à savoir *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et *Escherichia coli* ATCC 25922. L'échantillon a été préparé pour être (100, 50, 25 et 12,5 mg/mL) dans du DMSO. Le milieu utilisé était la gélose Mueller Hinton. Les bactéries ont été cultivées sur milieu gélosé et incubées pendant 24 heures à 37°C. Les cultures bactériennes ont été mélangées avec une solution de NaCl à 9% et une turbidité par rapport à McFarland Norme de turbidité 0,5 ( $10^8$  UFC/mL). Ensuite, l'agar à verser sur les boîtes de Petri et la suspension bactérienne a été écouvillonnée sur l'agar. Jusqu'à 60 µL du composé ont été incorporés dans des puits de 6 mm de diamètre, qui ont été placés dans de la géloseensemencé avec souche bactérienne. Ensuite, les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Le test a été fait en

triplicata. La zone d'inhibition représente l'action antibactérienne.

*Candida albicans* ATCC 14053 a été utilisé pour étudier les propriétés antibactériennes et antifongiques activités des échantillons étudiés, il a été préparé en gélose Sabouraud Dextrose pour leur test d'activité antifongique avec la même procédure que l'activité antibactérienne. (Kiehlbauch et al,2000).

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien. Des boites de Pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose agar additionné de 2% de glucose (pour les levures) et Mueller Hinton agar (pour les bactéries) sontensemencées aseptiquement par une suspension de  $10^6$  cellules/mL qui provient d'une culture jeune de levures ou de bactéries respectivement. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boites, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution aqueuse de la cendre à une concentration de (100, 50, 25 and 12.5 mg/mL) (environ 60 µL par puits).

Les boites sont mises à incubées dans une étuve à 37°C pendant 48h pour les levures, et à 37°C pendant 24h pour les bactéries. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6mm. (Ela , M.A., El-Shaer et Ghanem,1996).

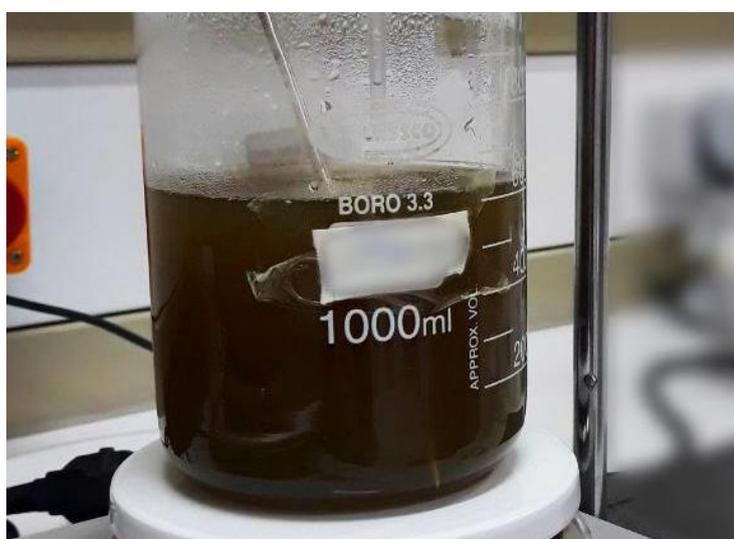
*Chapitre II :*  
*Résultats et discussion*

### II.1) La biosynthèse des nanoparticules d'Zn-Se :

Dans la présente étude, la biosynthèse de nanoparticules à partir dopage (Zn-Se) a été réalisée avec succès en utilisant les extraits aqueux des parties aériennes de *Nerium Oleander* . Une couleur vert claire (Figure N°21) . Qui a changé en vert très foncé (Figure N°22), a été observée après addition 100 mL la solution d'Zn\_Se on a pris trois concentration différents diluée de cette solution mélangé ( Zn-SeNPs 0,5%, Zn-SeNPs 1%, Zn-SeNPs 2% ) et sous agitation continue . Le développement de cette coloration est un indice de la capacité des extraits aqueux de *Nerium Oleander* la synthèse des nanoparticules d'Zn-Se.



**Figure N°21 :** Extraits aqueux de *Nerium Oleander* avant la biosynthèse des nanoparticules.



**Figure N°22 :** Extraits aqueux de *Nerium Oleander* après la biosynthèse des nanoparticules

## II.2) Le rendements :

L'extraction par macération est une procédure importante qui préserve les structures des métabolites d'origine végétale. Par conséquent, elle est largement employée pour l'évaluation de la composition chimique des extraits bruts de plantes, mais aussi pour estimer les teneurs de certains constituants spécifiques solubles dans un solvant particulier (**Benchaachouand others. 2016**).

Les rendements des extraits sont définis comme étant les rapports de poids de l'extrait sec d'Zn-SeNPs des feuilles (g) sur poids totale de la matière végétale (g) , ils sont exprimés en pourcentage (%).

**Tableau N°12 :** rendements massiques d'extraction d'Zn-SeNPs des *Nerium oleander*

Fraction	Poids(g)	Rendements(%)
Zn-SeNPs 0.5%	2	13,33
Zn-SeNPs 1%	0,8	5,33
Zn-SeNPs 2%	0,3	2

## II.2) Caractérisation de la synthèse verte des NPs de Zn-SeNPs:

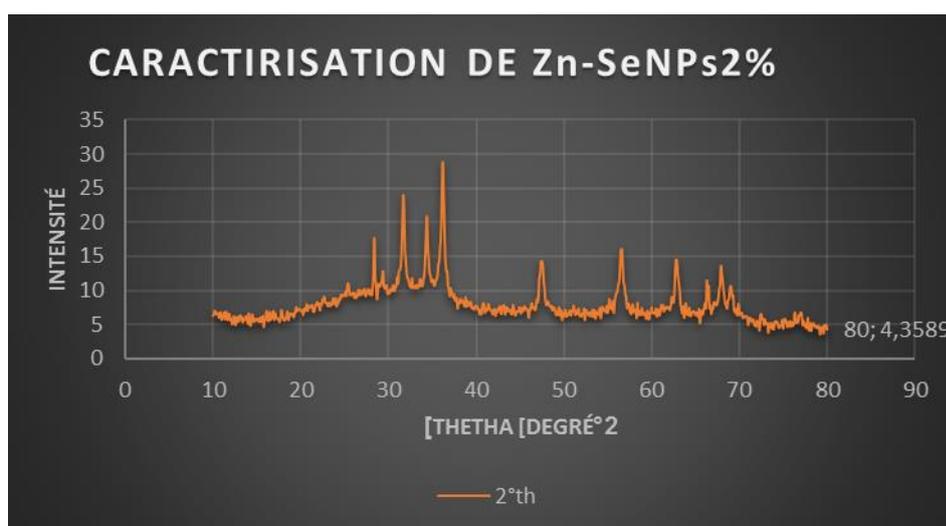
**Tableau N°13 :** Caractirisation des dopages des NPs par le DRX

Name	Size	Volume of the nanoparticles V (nm <sup>3</sup> ) = $(4/3)\pi(D/2)^3$	Volume of the unit cell v (nm <sup>3</sup> ) = $(3\sqrt{3})a^2c/2$	No. of unit cell present n	(distortion parameter) $\mu = (a^2/(3*c^2) + 0.25)$	Bond length L (Å) = $\sqrt{(0.3*a^2 + (0.5-\mu)^2*c^2)}$	DISLOCATION $\xi * 10^{15}$ (line/m <sup>2</sup> )	Internal micro-strain $\epsilon$ (B * cos theta) * $10^{(-3)/4}$	uniform strain $\epsilon$ (c-c0) * $10^{(-3)/c0}$	SEGMA	a=b	C	C0	References
Zn-Se NPs 0.5%	25.07	657.75	0.14388	4,571.39	0.38114	1.8911	1.5921	1.3831	0.888-	0.400	3.2629	5.2020	5.2066	01-079-0206
Zn-Se NPs 1%	19.14	383.62	0.14192	2,703.08	0.37983	1.8825	2.7298	1.8111	2,739-	1.233	3.2425	5.1955	5.2098	01-080-0075
Zn-Se NPs %2	19.31	390.59	0.014192	2,752.13	0.37986	1.8825	2.6811	1.7948	2.240-	1.008	3.2426	5.1952	5.2069	<b>01-089-7102</b>

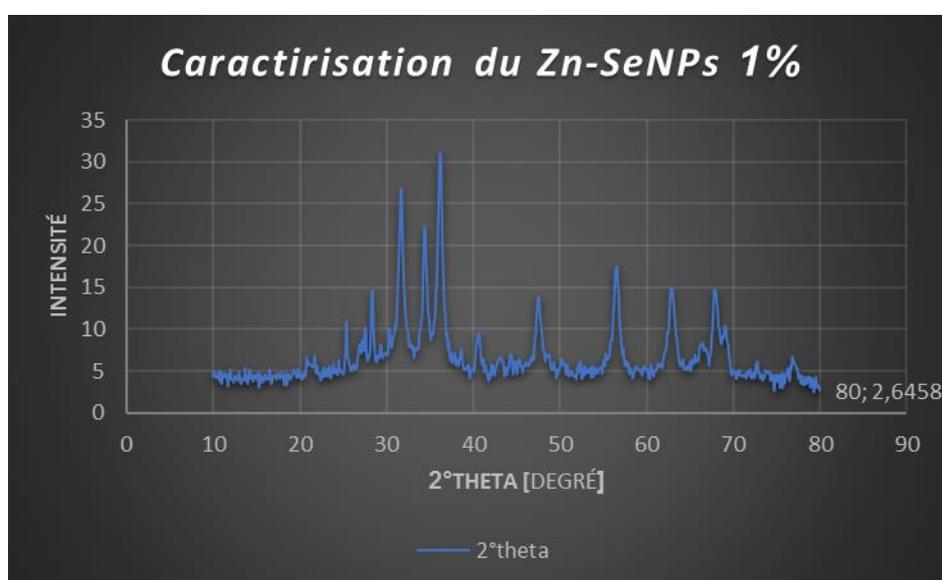
le résultat de dopage (Zn-Se) en présence les extraits des feuilles donnée des nouvelles particules( Zn-O/ Zn-SeO<sub>3</sub>) dans les échantillons Zn-SeNPs 2% et Zn-SeNPs 1% et Zn-SeNPs 0.5%.

En utilisant DRX, nous constatons que la taille de Zn-SeNPs 2% est 19.31nm et Zn-SeNPs 1% présente à taille 19.14nm et Zn-SeNPs 0.5% par taille 25.07nm, Quant aux mesures des nanoparticules dans les particules obtenues dans chaque dopage des Zn-SeNPs est ZnO( $a=3.2499\text{nm}, b=3.2499\text{nm}, c=5.2066\text{nm}/\alpha=90^\circ, \beta=90^\circ, \lambda=120^\circ$ ) et le  $\text{ZnSeO}_3$  possède ( $a=6.2330\text{nm}, b=7.2000\text{nm}, c=11.9870\text{nm}/\alpha=90^\circ, \beta=90^\circ, \lambda=90^\circ$ ).

Nous concluons des résultats obtenus grâce à la technologie DRX, quant que nous changent dans les concentrations d'oxyde de sélénium, les particules restent les mêmes mais avec des tailles différentes, et Lorsque la concentration d'oxyde de sélénium augmente, la taille des nanoparticules diminue.



**Figure N°23 :** Caractirisation de Zn-SeNPs 2% par le DRX



**Figure N°24:** Caractirisation de Zn-SeNPs 1% par le DRX

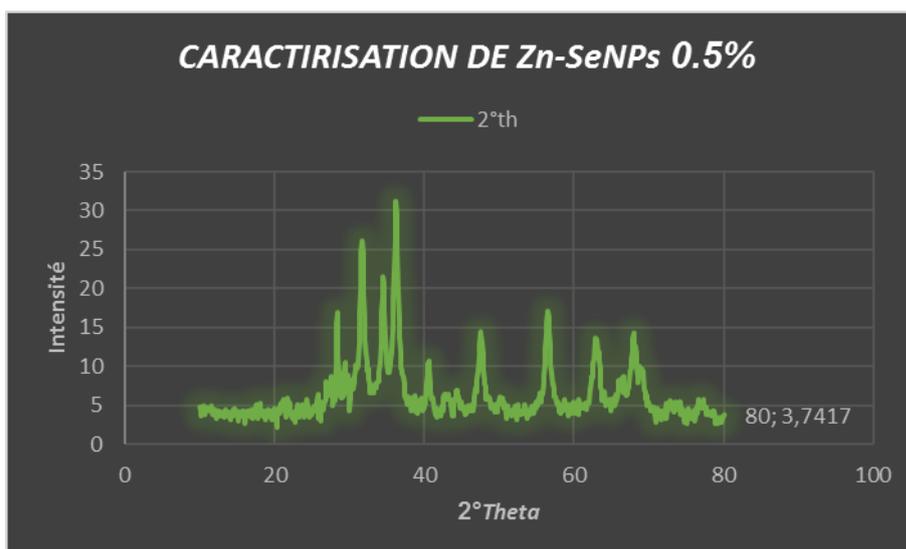


Figure N°25 : Caractirisation de Zn-SeNPs 0,5% par le DRX

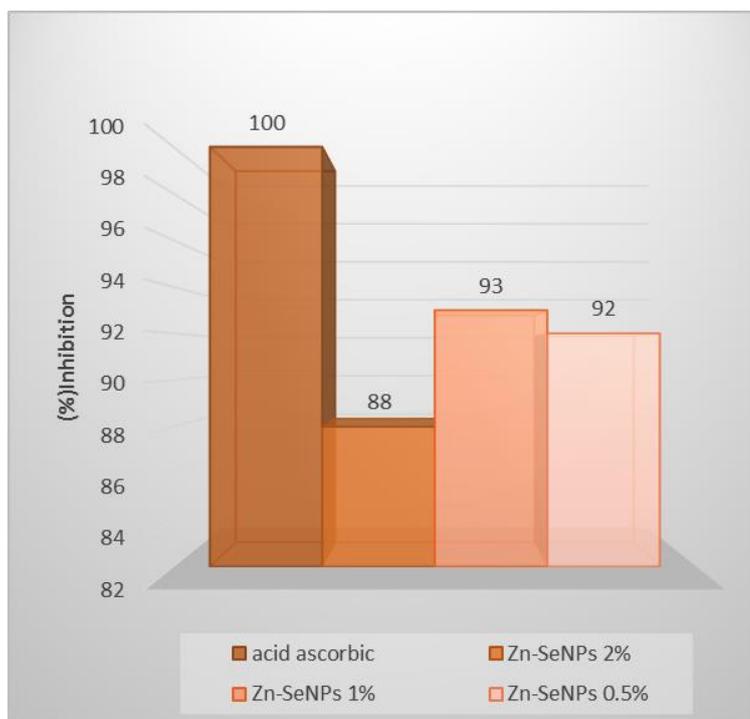
## II.4) Activités biologiques

### II.4.1) Activité Antioxydant :

Dans notre étude trois tests différents ont utilisé pour déterminer le pouvoir antioxydant des nanoparticules de Zn-Se synthèse à base des extraits de plante (les feuilles du *Nerium Oleander*), le test de piégeage du radical DPPH, le test de FRAP (Ferric Reducing Power) et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène.

#### II.4.1.1) Test du piégeage du radical libre DPPH:

Le modèle de piégeage du radical DPPH stable est une méthode largement utilisée pour évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres des composés naturels (HU et al., 2013). En interagissant avec le DPPH, les antioxydants transfèrent soit un électron, soit un atome d'hydrogène vers le radical DPPH en neutralisant son caractère radicalaire (YIN et al., 2010).



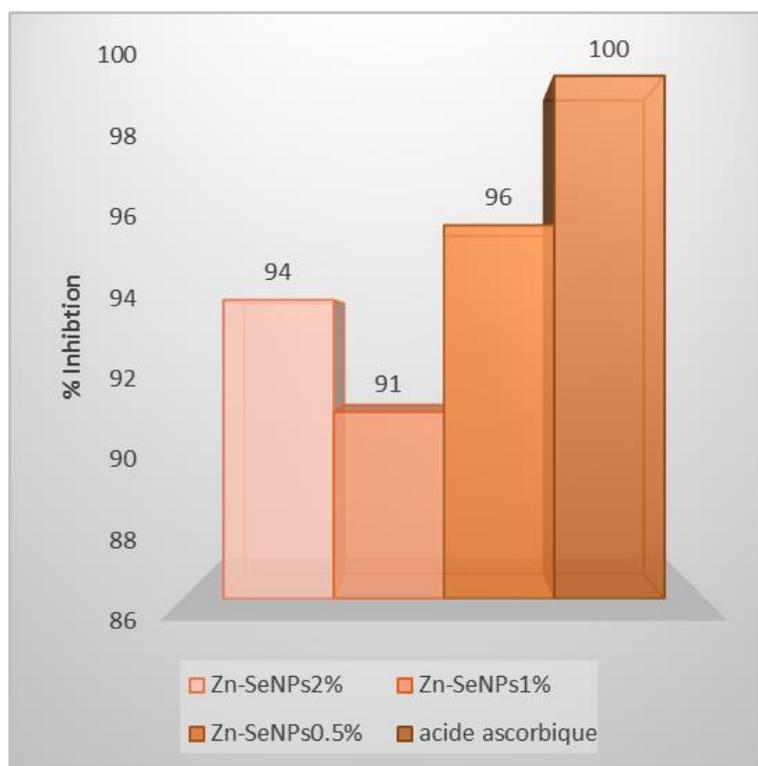
**Figure N°26:** Activité anti-oxydant des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) à la concentration 100 µg/ml par test DPPH.

La figure présente les résultats d'activité antioxydante des trois dopages de Zn-SeNPs comparés à l'acide ascorbique , On remarque que toutes les fractions ont un pouvoir d'inhibition des radicaux libres sont presque égaux .Pour le DPPH ont des pouvoirs d'inhibitions( 93%) pour Zn-SeNPs 1% et ( 92%) Zn-SeNPs 0.5%et ( 88%) et pour Zn-SeNPs 2%.

D' après ces résultats c'est Zn-SeNPs1% à présenté une activité plus élève que celui de les Zn-SeNPs 0.5%et 2% .

Nous concluons des résultats que tous les Zn-SeNPs ont une activité anti-oxydant car ils sont très proches du pourcentage d'acide ascorbique, qui est estimé à 100%.

### II.4.1.2) Test de réduction du fer (FRAP):



**Figure N°27 :** Activité anti-oxydant des dopages NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) à la concentration 100 µg/ml par test FRAP.

La figure présente les résultats d'activité antioxydant FRAP des trois nanoparticules Zn-Se ont trouvé les valeurs: Zn-SeNPs 2% ( 94 % ) , Zn-SeNPs 1% (91%) et Zn-SeNPs 0.5% ( 96%). On remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre les trois pourcentages des Zn-SeNPs par rapport à l'acide ascorbique qui est estimé à 100%.

Nous constatons également que le Zn-SeNPs 0.5% est la valeur la plus élevée et la plus active.

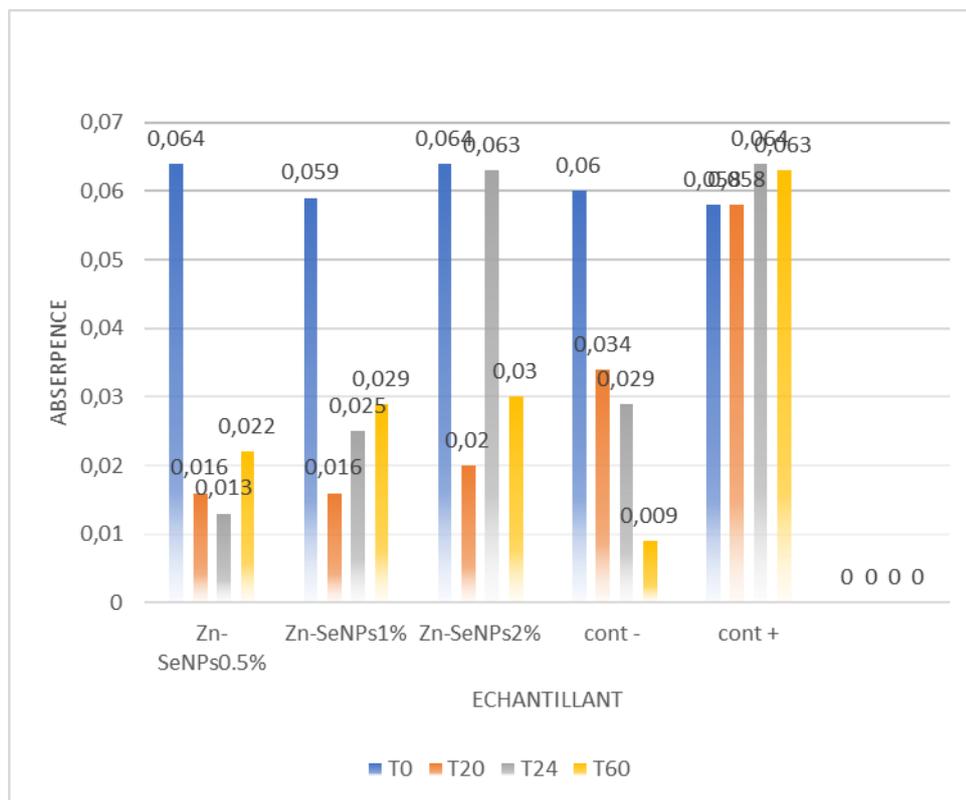
### II.4.1.2) Test de blanchissement du $\beta$ -carotène:

Dans le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres due à l'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des groupes méthylène de l'acide linoléique. Puis le radical libre va oxyder le bêta carotène hautement insaturé. La présence d'un antioxydant dans l'extrait permet de minimiser l'oxydation du bêta carotène par les hydro-péroxyde qui sont neutralisés (Popovici et al., 2009).

La figure ci-dessous rapporte les valeurs moyennes de deux mesures d'AA % (coefficient d'activité antioxydante)  $\pm$  SD calculés à partir de la formule:

$$\% \text{ Activité antioxydante} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Ces valeurs facilitent des comparaisons de l'activité relatives des différents extraits, du témoin positif (BHT).



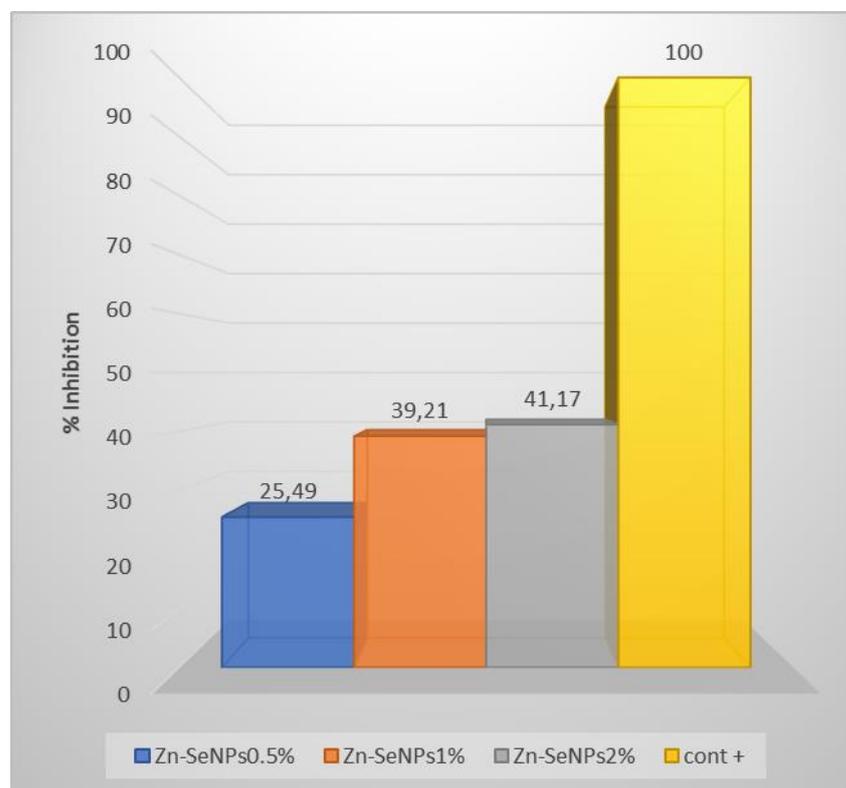
**Figure N°28 :** Activité anti-oxydant des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) par test B-carotène en fonction de temps.

La figure indiquée l'absorption de blanchissement du  $\beta$ -carotène de BHT à quatre moments différents (T<sub>0</sub>-T<sub>20</sub>-T<sub>24</sub>-T<sub>60</sub>) pour trois échantillons (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5%). On observe dans :

**Zn-SeNPS 2%:** L'absorption est élevée et très proche l'une d'autre dans les temps T<sub>0</sub>(0.064) et T<sub>24</sub> (0.063) comparatif du contrôle T<sub>0</sub>(0.58) et T<sub>24</sub>( 0.064) , Quant aux temps de T<sub>20</sub>(0.02) et T<sub>60</sub>(0.03), le taux d'absorption est très faible.

**Zn-SeNPs1%:** l'absorption dans le temps 0 est la plus élevée par rapport au contrôle et aux autres temps qui prennent des valeurs (0.016 , 0.025, 0.029) pour les temps (T<sub>20</sub>, T<sub>24</sub>, T<sub>60</sub>) respectivement.

**Zn-SeNPs0.5%:** L'absorption la plus élevée dans cette échantillon est le  $T_0(0.064)$ , et très faible à d'autres moments  $T_{24}(0.013), T_{20}(0.016), T_{60}(0.022)$  à comaratif des valeurs du contrôle  $T_{24}(0.064), T_{20}(0.058), T_{60}(0.063)$ .

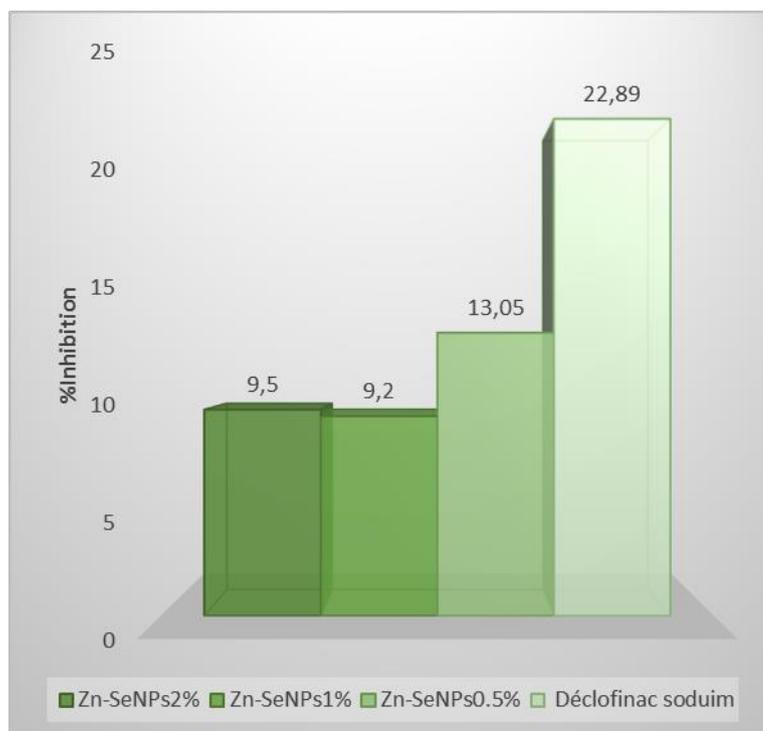


**Figure N°29 :** Diagramme d'activité antioxydante des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) à la concentration 100  $\mu\text{g/ml}$  par teste de blanchissement du  $\beta$ -carotène.

D'après analyse des résultats, nous concluons que la Zn-SeNPs 2% et la plus taux d'inhibition e blanchissement du  $\beta$ -carotène (41.14%) par rapport les Zn-SeNPs 1% (39.21%) et Zn-SeNPs0.5% (25.49 %). activité antioxydante des différentes Zn-SeNPs par teste de blanchissement du  $\beta$ -carotène de BHT à concentration 100  $\mu\text{g/ml}$  faible.

#### II.4.2) Activité anti-inflammatoire:

Les résultats de l'effet inhibiteur de la dénaturation d'albumine de l'œuf en fonction des différentes dopages des Zn-SeNPs sont résumés dans la figure suivant :



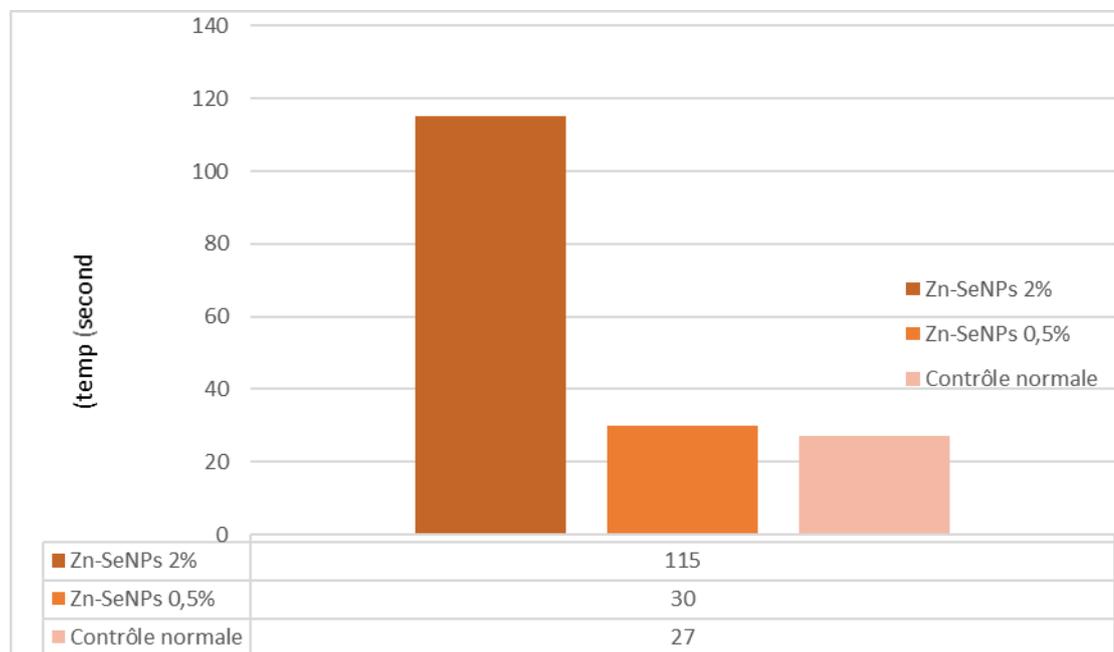
**Figure N°30 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) et du diclofénac de sodium (22,89 µg/ml).

Ces résultats comparés à ceux de la diclofénac de sodium qui est un anti-inflammatoire révèlent que l'effet inhibiteur des trois dopages des Zn-SeNPs. La capacité d'inhibition de la dénaturation protéique des Zn-SeNPs est proche l'une de l'autre dans pourcentage suivant : Zn-SeNPs 2% (9.5%) , Zn-SeNPs 1% (9.2%) et Zn-SeNPs 0.5% (13.05 %) est très proche à la diclofinac soduim (22.89%) dans concentration 1000 µg/ml.

Cette résultats explique que le Zn-SeNPs 0.5% possède une activité anti-inflammatoire élevée contrairement aux les Zn-SeNPs 2% et Zn-SeNPs 1% qui ont une activité faible. Statistiquement l'activité anti-inflammatoire à une corrélation positive avec les oses acides, les oses neutres, les protines et les lipides.

### II.4.3) Activité anticoagulante:

La figure (31) présente l'évaluation de la capacité anticoagulante des deux dopages des Zn-SeNPs comparée au contrôle positif (héparine) avec le test de temps de céphaline-Kaolin activé (TCK).



**Figure N°31 :** Temps de Cèphaline-Kaolin active( tck) des dopages des NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPS 1% / Zn-SeNPs0.5% ) à une concentration d'On 10ug/ul.

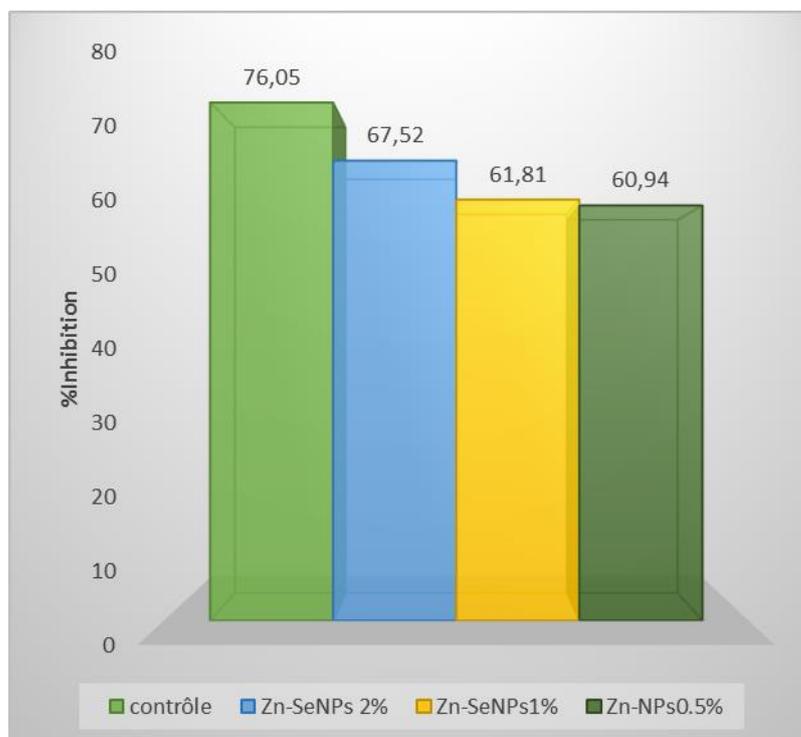
On remarque que le Zn-SeNPs 0.5 possède un temps de céphaline-Kaolin activé plus proche (30s) à celui du contrôle normal qui est de 27 s, quant le Zn-SeNPs 2% a pris plus de temps qui est estimé à (115s).

D'après les résultats obtenus, on dit que le Zn-SeNPs 2% possède un peu activité anticoagulante . Plus le temps de coagulation est long, l'augmentation d'activité anticoagulante

### II.4.4) Activité anti-hémolytique:

#### II.4.4.1) Activité anti-hémolyse hypotonique (NaCl) :

Les résultats de l'hémolyse *in vitro* réalisé sur les globules rouges humains par la solution hypotonique du NaCl (**Figure 32**) montrent que le maximum d'hémolyse a été trouvé à la concentration entre 2,5 et 3 avec un pourcentage de  $91 \pm 0.05\%$ .



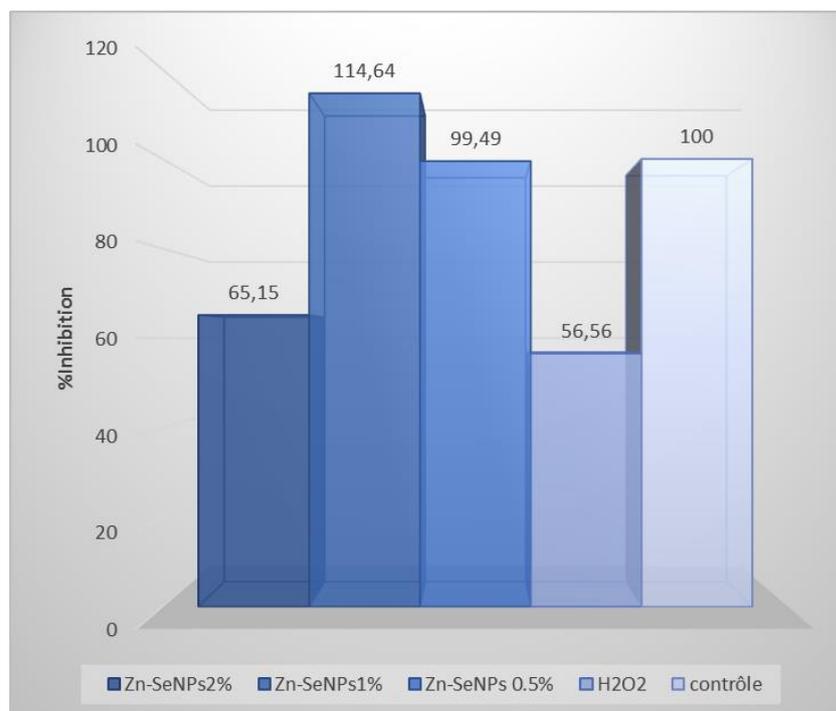
**Figure N°32 :** Effets des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs 0.5% ) sur l' hémolyse hypotonique (NaCl).

Les résultats obtenus montrent que toutes les dopages de Zn-SeNPs ont des taux d'hémolyse presque égaux et proches de celui du contrôle : Zn-SeNPs 2% qui présente une hémolyse (67.52%) et Zn-SeNPs 1% (61.81%), Zn-SeNPs 0.5% (60.94%) et le contrôle (76.05%).

Ainsi, à partir de (le figure 30 ) nous concluons que le taux d'activité anti-hémolytique des fractions Zn-SeNPs 2% et Zn-SeNPs 1% et Zn-SeNPs 0.5% est élève par rapport à le taux de contrôle on dit donc que l'absorption de NaCl très haut .

#### **II.4.4.2) Activité anti-hémolyse induite par le radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:**

L'étude de pouvoir hémolytique du peroxyde d'hydrogène a été réalisée à différentes concentrations (dilutions) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, une étape indispensable pour fixer la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui provoque une hémolyse optimale.



**Figure N°33 :** Effets des dopages de NPs(Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% ) sur l'hémolyse induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Nous pouvons voir sur la figure que tous les pourcentages des dopages de Zn-SeNPs sont élevés par rapport le contrôle .observe que le Zn-SeNPs 2%possède à pourcentage (65.15%) et Zn-SeNPs 1% (114.64%) et Zn-SeNPs 0.5% (99.49%) comparatif à contrôle (100%).

Les résultats expliquent que la Zn-SeNPs 1% et la Zn-SeNPs 0.5 % présentent les pourcentage plus élève par rapport le contrôle et les autres Zn-SeNPs, et par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est estimé à ( 56.56%) , Nous concluons que tous les dopages de Zn-SeNPs ont une absorption élevée de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (activité anti-hémolytique).

#### II.4.5) Activité antibactérienne :

**Tableau N°14 :** Résumé d'activité antibactérienne des dopages de NPs (Zn-SeNPs 2% / Zn-SeNPs 1% / Zn-SeNPs0.5% )

Souches testées	Zn-SeNPs 2%	Zn-SeNPs 1%	Zn-SeNPs 0.5%	Références
<i>Escherichia coli</i>	NA	11,3	10,6	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NA	11	7,7	ATCC 13883
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NA	NA	NA	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	NA	12	9,7	ATCC 25932

**L'activité pour l'échantillon I (Zn-SeNPs 2%):** A travers le tableau présenté pour les résultats d'activité bactérienne, on constate qu'il n'y a pas d'effete sur ces bactéries *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

**L'Activité pour l'échantillon H (Zn-SeNPs 1%) :** On remarque qu'il y a peu d'activité dans *Escherichia coli* (11.3mm) , *Klebsiella pneumoniae* (11.0mm) *Staphylococcus aureus* (12mm), *Pseudomonas aeruginosa* ils n'ont aucun effet sur ces bactéries .

**L'activité pour l'échantillon A (Zn-SeNPs 0.5%):** on observe que possède un peu d'activité *Escherichia coli* , (10.6mm) , *Klebsiella pneumoniae* (7.7mm) *Staphylococcus aureus* , (9.7mm) *Pseudomonas aeruginosa* ils n'ont aucun effet sur ces bactéries.

**Tableau N°15 :** Résumé d'activité anti-candidose

Souches testées	(Zn-SeNPs 2%)	(Zn-SeNPs 1%)	(Zn-SeNPs 0.5%)	Référence
<i>Candida albicans</i>	NA	NA	NA	ATCC 14053

A travers le tableau présenté pour les résultats d'activité anti-candidose , on constate qu'il n'y a pas d'effete dans les trois *Candida albicans*..

*Conclusion générale*

### Conclusion générale

La biosynthèse des nanoparticules a reçu une attention croissante dans le domaine de la nanotechnologie en raison de leurs applications antimicrobiennes et biomédicales. La synthèse verte de nanoparticules métalliques est envisagée comme une alternative rentable et écologique dans le scénario de recherche actuel.

L'objectif de nos travaux est la biosynthèse des nouvelles nanoparticules par dopage (zinc dopé par sélénium Zn-Se) à base d'extraits des feuilles de plante *Nerium Oleander* (**laurier rose**), et étude de caractérisation et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Des nanoparticules de Zn-Se ont été synthétisées par une méthode simple, non coûteuse et facile à mettre en œuvre, respectueuse de l'environnement.

Les conclusions suivantes ont été tirées des résultats obtenus dans la présente étude:

La diffraction des rayons X, qui a montré que les particules obtenues à partir du processus de dopage de nanoparticule (Zn-SeNPs2%, Zn-SeNPs1% / Zn-SeNPs0.5%) par la synthèse verte des feuilles de *Nerium Oleander* sont des particules de taille et d'ordre nanométriques.

Les résultats des activités biologiques des dopages de NPs (Zn-SeNPs2%, Zn-SeNPs1% / Zn-SeNPs0.5%) sont présentés dans les tests DPPH et FRAP et  $\beta$ -carotène de l'activité anti-oxydant et moyen dans l'activité anti-inflammatoire et un peu dans l'activité coagulante et plus élevée dans l'activité anti-hémolytique de NaCl et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et pour l'activité antibactérienne présente un peu d'effet pour quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Il n'y a pas d'effet pour l'activité anti-candidose sur une souche *Candida albicans*.

Les résultats des activités obtenues sont les résultats de l'interaction des dopages des nanoparticules, et cela est indiqué par l'analyse de DRX, car les composés des feuilles des plantes ont été éliminés par combustion dans le four.

Une compréhension approfondie des mécanismes biochimiques impliqués dans la synthèse des NPs à médiation végétale est une condition préalable afin de rendre l'approche économiquement plus compétitive et durable. De nouvelles améliorations des méthodes vertes de synthèse.

## Conclusion générale

---

Expérimentez des différents dopages de minéraux dans la biosynthèse des nanoparticules pour donner des aux particules de nouvelles propriétés chimiques et physiques et des activités biologiques.

## *Références*

Références

1. **Amara, S. A. A. D. (2018).** *Caractérisation optique et structurale des couches minces d'oxydes complexes pour applications photoniques* (Doctoral dissertation).
2. **Ameen, S., Akhtar, M. S., & Shin, H. S. (2015).** Highly dense ZnO nanowhiskers for the low level detection of p-hydroquinone. *Materials Letters*, 155, 82-86.
3. **Arthur J., Nicol F., Hutchinson A. et Beckett G. (1990).** The effects of selenium depletion and repletion on the metabolism of thyroid hormones in the rat. *J. Inorg Chem.* 39: 101-108.
4. **Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z. et al. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. Cell origin and secretion. *J. Biol. Chem.* 264: 15850-15855.
5. **Athukorala Y., Jung W K., Vasanthan T., Jeon Y. J., 2006.-** An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 66: 184-191.
6. **A.de l'Afset, R.d.E.** Collective, *Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement*, La Doc. Fr, 3 (2010) 36-37.
- A. Elkaiem**, Contribution au Développement des Matériaux Nano-Composites à Base de ZnO et Polymère Etude Structural et Optique, Thèse de doctorat, département de physique, Université MENTOURI, CONSTANTINE, 2015, pp. 12-13.
7. **A.A. Ayachi**, Synthèse des nanoparticules d'oxydes métalliques pour des applications photocatalytiques solaires, Thèse de doctorat, Département De Physique, Université MENTOURI, CONSTANTINE, 2015, pp. 9-10
8. **Avis de l'AFSSET et rapport du groupe d'experts. juillet 2006. Les nanomatériaux effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement.** s.l. : Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail, Afsset, pp. 11-14.
9. **Andrieux - Ledier, Amandine.** 29 mai 2013, *Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques.* s.l. : Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, HAL, p. 21.
10. **Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (2003) :** The cardiotoxic effect of the crudeethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated
11. guinea pig hearts. *African health sciences.* Vol. 3, pp. 77-82.
12. **Almahy. H. A et Khalid. H. E. (2006) :**Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander* *International journal of tropical medicine.*, vol. 1, n°. 2, pp. 58-61.
13. **Ahmed B A., Sulayman K D., Aziz A A et al.,1993.** Antibacterial activity of the leaves of *Nerium oleander*. *Fitoterapia LXIV:* 273-4.

- A. de l'Afset, R.d.E.** Collective, Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, La Doc. Fr, 3 (2010) 36-37.
14. **Apelh.** Méthode de diffraction de poudre. [Image en ligne] . <http://apelh.free.fr/Cristaux/Diffractionpoudre.html> . (Consultée le 18 mai 2018).
15. **Bourgeois. B., Incagnoli. P., Hanna. J., Tirard. V. (2005)** : Traitement par anticorps antidigitalique d'une Intoxication volontaire par laurier rose. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation., vol. 24, pp. 640-642.
16. **BARANI, D. (2020).** *Optimisation des conditions opératoires de synthèse verte de nanoparticules de ZnO à l'aide d'extrait des feuilles de Phoenix Dactylifera. L* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
17. **Baruthio F. (1991).** Toxicologie des éléments trace essentiels. In: Chappuis P ed. Lesoligo-Oldments en Médecine et Biologie. Paris: Lavoisier Tec et Doc. 213-310.
18. **Behne D. et Kyriakopoulos A. (2001).** Mammalian selenium-containing proteins. Annu. Rev. Nutr. 21: 453-473.
19. **Baba Aissa F.1990.** Les plantes médicinales en Algérie. Identification, description, principes
20. Actifs, propriétés et usage traditionnel de plantes communes en Algérie. .. pp.93.
21. **Benelmadjat, H., & Boudine, B. (2017).** Elaboration et caractérisation de matériaux cristallins ou amorphes purs et dopés.
22. **Benramache, S. (2012).** *Elaboration et caractérisation des couches minces de ZnO dopées cobalt et indium* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
23. **Bianco, A.C., Salvatore, D., Gereben, B. et al. (2002).** Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Endocr. Rev. 23: 38-89.
24. **BOUCHIKHI, I. (2019).** *Etude numérique des propriétés structurales, électroniques et optiques de l'oxyde du zinc comme un matériau conducteur transparent* (Doctoral dissertation, 12-09-2019).
25. **Bozetine, H. (2017).** *Synthèse des nanostructures de ZnO par la méthode hydrothermale et leurs applications* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
26. **Burk R.F. et Hill K.E. (2005).** Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. Annu. Rev. Nutr. 25: 215-235.

27. **Byrappa, K., Subramani, A. K., Ananda, S., Rai, K. L., Dinesh, R., & Yoshimura, D. M. (2006).** Photocatalytic degradation of rhodamine B dye using hydrothermally synthesized ZnO. *Bulletin of materials science*, 29, 433-438.
28. **Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995.-** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT -Food Science and Technology*, vol.28(1):25–30.
29. **C.S. Barrett, T.B. Massalski,** *Structure of metals: crystallographic methods, principles and data*, 3rd rev. ed, Oxford: Pergamon (1980).
30. **Centre d'Information du Cuivre, Laitons et Alliages. (2010),** Antimicrobial Copper. [En ligne]. [www.antimicrobialcopper.com](http://www.antimicrobialcopper.com)
31. **Chen, Y., & Ma, S. Y. (2016).** Preparation and photoluminescence studies of high-quality AZO thin films grown on ZnO buffered Si substrate. *Materials Letters*, 162, 75-78.
32. **Christopher Newland M., Reed M.N., Le Blanc A. et al. (2006).** Brain and blood mercury and selenium after chronic and developmental exposure to methylmercury. *NeuroToxicology*. 27: 710-
33. 720.
34. **Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012).** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178-S180.
35. **Combs G.F. (1994).** Essentiality and toxicity of selenium: a critique of therecommended dietary allowance and the reference dose. In: Merz W., Abernathy C.O., Olin S.S. editors. *Risk assessment of essential elements*. Washington: Ilsi Press. 167-83
36. **Da Silva Martins, L. H. Rai, M. Neto, J. M., Gomes, P. W. P. et da Silva Martins, J. H. (2018).** Silver: biomedical applications and adverse effects. In *Biomedical Applications of Metals* (pp. 113-127). Springer, Cham.
37. **D.E. Belfennache,** *Elaboration et étude de nanoparticules Au/TiO<sub>2</sub> et Ag/TiO<sub>2</sub>*, Thèse de Doctorat, Département De Physique, Université MENTOURI, Constantine, 2012, pp.5-6.
38. **Deckers, Angélique.** 19 mars 2009, *Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique*. **Simon-** s.l. : Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), , p. 8.
39. **Didier C., Kerblat I., Drouet C., et al. (2001).** Induction of thioredoxin by ultraviolet-A radiation prevents oxidative-mediated cell death in human skin fibroblasts. *Free RadicBiol. Med.* 31: 585-598.

40. **Djurisic, B. A., Y Chen, X., & H Leung, Y. (2012).** Recent progress in hydrothermal synthesis of zinc oxide nanomaterials. *Recent patents on nanotechnology*, 6(2), 124-134.
41. **Dubois F. et Belleville F. (1988).** Sélénium : Rôle physiologique et intérêt en pathologie humaine. *Pathology Biological*. 36 (8) : 1017-1025.
42. **Ducros V. et Favier A. (2004).** Métabolisme du sélénium. *EMC-Endocrinologie* 1: 19-28.
43. **Duffield-Lillico, A. J., Dalkin, B. L., Reid, M. E., Turnbull, B. W., Slate, E. H., Jacobs, E. T., ... & Nutritional Prevention of Cancer Study Group. (2003).** Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *BJU international*, 91(7), 608-612.
44. **E.-A. Moustafa, A. Noah, K. Beshay, L. Sultan, M. Essam, O. Nouh,** Investigating the Effect of Various Nanomaterials on the Wettability of Sandstone Reservoir, *World Journal of Engineering and Technology*, Vol.03No.03 (2015) 11, p.117.
45. **E. Gaffet,** Nanomatériaux : différentes voies de synthèse, propriétés, applications et marchés, *Actualité et dossier en santé publique*, 64 (2008), p.22.
46. **E.-H. Benyahia.(2012).** Caractérisation structurale et optique de couches minces formées par des agrégats des nanocristaux de ZnO, Thèse de Doctorat, Département de physique, MENTOURI, Constantine, p. 97
47. **Ela, M.A., N. El-Shaer, and N. Ghanem,** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Die Pharmazie*, 1996. 51(12): p. 993-994.
48. **Fodil, Kamel.** 13 janvier 2015, *De la détection à l'imagerie de nanoparticules magnétiques*. s.l. : Electromagnétisme. Université de Caen, HAL, p. 13.
49. **F. Prosie, F.-X. Lesage, F. Deschamps,** Nanoparticules : structures, utilisations et effets sur la santé, *La Presse Medicale*, 37 (2008), p.1432
50. **Fan, F., Feng, Y., Tang, P., & Li, D. (2015).** Facile synthesis and photocatalytic performance of ZnO nanoparticles self-assembled spherical aggregates. *Materials Letters*, 158, 290-294.
51. **Favier A., Arnaud J. et Piedimonte A. (1984).** Données actuelles sur la biochimie des oligo-éléments : le Sélénium. *Lyon Pharm*. 35(6): 343-353
52. **Forceville X. et Van Antwerpen P. (2008).** Composés séléniés et sélénium, quelle place en réanimation ?. *Réanimation*. 17: 442-453

53. **Ghomri, R. (2017).** Étude des propriétés de l'oxyde de zinc non dopé et dopé. Univ. Badji Mokhtar Annaba, 23-19.
54. **Guitou, Marie-Anne.** 23 juin 2014, *Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO2.* s.l. : UNIVERSIT DE BORDEAUX, pp. 34-35.
55. **Graham T.W. (1991).** Trace element deficiencies in Cattle. *Vet. Clin. North. Am.* 7: 153-197.
56. **Gromer S., Johansson L., Bauer H. et al. (2003).** Active sites of thioredoxin reductases: why selenoproteins? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100: 12618-12623.
57. **Gromer S., Urig S. et Becker K. (2004).** The thioredoxin system--from science to clinic. *Med. Res. Rev.* 24: 40-89.
58. **Guo, L., Ji, Y. L., Xu, H., Simon, P., & Wu, Z. (2002).** Regularly shaped, single-crystalline ZnO nanorods with wurtzite structure. *Journal of the American Chemical Society*, 124(50), 14864-14865.
59. **Gloaguen V, krausz P. (2008).** Propriétés anti inflammatoires du polysaccharide
60. capsulaire produit par la cyanobactérie thermophile *mastigocladus laminosus*. *Press Therm Climat.* P: 135-141
61. **HAMID, K. (2010).** Contribution à l'étude électrochimique des dépôts du nickel sur le cuivre (Doctoral dissertation, Université de Béjaia-Abderrahmane Mira).
62. **Hammiche V., Merad, R .,Azzouz M.2013.** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. © Springer-Verlag France, Paris.P :57-60.
63. **Hanson J R., 1985.** The chemistry of natural products, (R. H. Thomson ed.), chapter 4. Blackie USA: Chapman et Hall, New York, pp. 42.
64. **Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014).** Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
65. **Hatfield D.L. et Gladyshev V.N. (2002).** How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol.* 22: 3565-3576
66. **Hu, J. Q., Li, Q., Wong, N. B., Lee, C. S., & Lee, S. T. (2002).** Synthesis of uniform hexagonal prismatic ZnO whiskers. *Chemistry of Materials*, 14(3), 1216-1219.
67. **Huang, M. H., Mao, S., Feick, H., Yan, H., Wu, Y., Kind, H., ... & Yang, P. (2001).** Room-temperature ultraviolet nanowire nanolasers. *Science* , 292(5523), 1897-1899.
68. **INERIS. (2015),** Données technico-économiques sur les [En ligne]chimiques en France.<https://substances.ineris.fr/fr/substance/get Document/3015>.

69. **Jordanovska, Svetlana.** 15 décembre 2015, *Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique: comparaison des méthodes de fabrication.* s.l. : Sciences pharmaceutiques, HAL, p. 23.
70. **James Omale Et Mordecai Alewo Idris. (2014).** In vitro Anti hemolytic Activity
71. of Gymnema Sylvestre Extracts Against Hydrogen Peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Induced Haemolysis in Human Erythrocytes. Department of Biochemistry, Kogi State University, Anyigba, Nigeria, 861-869. *AJPCT*[2][7][2014]861-869.
72. **Jimmy Wales et Larry Sanger le 15 janvier 2001.** Il s'agit d'une œuvre libre, c'est-à-dire que chacun est libre de la rediffuser. Wikipedia.
73. **Kurtz-Chalot, Andréa.** 28 novembre 2014, *Internalisation cellulaire et effets biologiques de nanoparticules fluorescentes de silice. Influence de la taille et de la charge de surface.* s.l. : Génie des procédés. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, HAL, p. 20.
74. **Kiehlbauch, J.A., et al.,** Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories. *Journal of clinical microbiology*, 2000. 38(9): p. 3341-3348.
75. **Khan, Ibrahim, Saeed, Khalid et Khan, Idrees.** 18 mai 2017, *Nanoparticles: Properties, applications and toxicities.* s.l. : Elsevier B.V. on behalf of King Saud University, *Arabian Journal of Chemistry*, p. 909.
76. **Kittel, C., Poumellec, M., Mégy, R., & Dupas, C. (1993).** *Physique de l'état solide.* Dunod.
77. **Kohrle J. (2005).** Selenium and the control of thyroid hormone metabolism. *Thyroid*. 15: 841-53
78. **Kołodziejczak-Radzimska, A., Jesionowski, T., & Krysztafkiewicz, A. (2010).** Obtaining zinc oxide from aqueous solutions of KOH and Zn (CH<sub>3</sub>COO) 2. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 44, 93-102.
79. **Krimat S., Metidji H., Tigrine C., Dahmane D., Nouasri A., Dob T., 2017.-**Analyse chimique, activités antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique d'extrait hydrométhanolique d'*Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. 1-8
80. **Louerred, Y., R, Haddi., M, K, Harche. (2016).** "Etude de la peroxydation lipidique chez une plante médicinale *Haloxylon scoparium* POMEL." *Journal of Bioresources Valorization* 1(1): 28.
81. **Läuchli, A. (1993).** Selenium in plants: uptake, functions, and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106(6), 455-468.

82. **Lebreton P., Salat O. et Nicol J.M. (1998).** Un point sur le sélénium. Bull. Tech. GTV. 5: 35-47.
83. **Lebreton P., Salat O. et Nicol J.M. (1998).** Un point sur le sélénium. Bull. Tech. GTV.5: 35-47.
84. **Langford S D., Boor P J., 1996.** Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic Exposures. Toxicology ; 109 : 13.
85. **Moriguchi, T., Takasugi, N., Et Itakura, Y. (2001).** The Effects of Aged Garlic extract on Lipid Peroxidation and the Deformability of Erythrocytes. The Journal of Nutrition, 131(3), 1016S–1019S. DOI:10.1093/jn/131.3.1016S.
86. **McNamara, Karrina et A. M. Tofail, Syed.** 23 novembre 2016, *Nanoparticles in biomedical applications*. s.l. : Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group, Advances in Physics: X, pp. 61- 67.
87. **M. Ricaud, O. Witschger,** Les nanomatériaux : définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention, ED 6050, INRS(2012), p.07.
88. **Maggee R.J et James B.D. (1996).** **Selenium.** In handbook on metals in clinical and analytical chemistry. Marcel Dekker, Inc; New York.Basel.Hong Kong. 551-562.
89. **Marai, A. B., Djessas, K., Ayadi, Z. B., & Alaya, S. (2015).**Preparation and characterization of CuInSe<sub>2</sub> nanoparticles elaborated by novel solvothermal protocol using DMF as a solvent. *Journal of Alloys and Compounds*, 648, 1038-1042.
90. **Maaoui M. 2014.** Atlas plantes ornementales des Ziban.Edition CRSTRA. P133.
91. **Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008).** Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of nanoparticle research*, 10, 507-517.
92. **Mostert V. (2000).** Selenoprotein P: properties, functions and regulation. Arch Biochem Biophys. 376: 433-438
93. **Navarro-Alarcon M. et Cabrera-Vique C. (2008).**Selenium in food and the human body: A review. Science of the total environment. 400: 115-141.
94. **Ndiaye M, SY Gy, Dièye AM, TOURÉ MT, FAYE B. (2006).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat indit par la carragénine. Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol: 14. P. 179-186.
95. **anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat indit par la carragénine. Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol: 14. P. 179-186.**
96. **Navarro-Alarcon M. et Cabrera-Vique C. (2008).**Selenium in food and the human body: A review. Science of the total environment. 400: 115-141

97. **Naziroğlu, M. (2009).** Role of selenium on calcium signaling and oxidative stress-induced molecular pathways in epilepsy. *Neurochemical research*, 34, 2181-2191.
98. **Oldereid N.B., Thomassen Y. et Purvis K. (1998).** Selenium in human male reproductive organs. *Hum. Reprod.* 13: 2172-2176.
99. **Özgür, Ü., Alivov, Y. I., Liu, C., Teke, A., Reshchikov, M., Doğan, S., ... & Morkoç, A. H. (2005).** A comprehensive review of ZnO materials and devices. *Journal of applied physics*, 98(4), 11.
100. **Parashar, U. K., Saxena, P. S., & Srivastava, A. (2009).** Bioinspired synthesis of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 4(1).
101. **Pedrero Z. et Madrid Y. (2009).** Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica. Chimica. Acta.* 634: 135-152.
102. **Pedrero Z. et Madrid Y. (2009).** Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica. Chimica. Acta.* 634: 135-152
103. **Pillai, S. C., Kelly, J. M., McCormack, D. E., O'Brien, P., & Ramesh, R. (2003).** The effect of processing conditions on varistors prepared from nanocrystalline ZnO. *Journal of Materials Chemistry*, 13(10), 2586-2590.
104. **Ranganayaki, P., Y. Thangam, and M. Rabeeth. (2017).** "Bioassay on Metal Silver and Toxicity Studies in Freshwater Fis "Cyprinus carpio". "
105. **Rayman M.P. (2000).** The importance of selenium to human health. *Lancet.* 356(9225): 233-41.
106. **Rezanka T. et Sigler K. (2008).** Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry.* 69: 585-606
107. **Rodríguez-Moreno, J., Navarrete-Astorga, E., Romero, R., Martín, F., Schrebler, R., Ramos-Barrado, J. R., & Dalchiele, E. A. (2013).** Electrochemically grown vertically aligned ZnO nanorod array/p+-Si (100) heterojunction contact diodes. *Thin Solid Films*, 548, 235-240.
108. **Roussel A.M. et Hininger-Favier I. (2009).** Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie-Nutrition.* 1-13
109. **Rowntree J.E., Hill G.M., Hawkins D.R. et al. (2004).** Effect of selenium on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *J. Anim. Sci.* 82: 2995-3005

110. **Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., & Mukherji, S. (2008).** Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta biomaterialia*, 4(3), 707-716.
111. **Rashan LJ, Franke K, Khinec M M et al., 2011.** Characterization of the anticancer properties of monoglycosidic cardenolides isolated from Nerium oleander and Streptocaulon tomentosum. *J Ethnopharmacol* 134: 781-8
112. **Rani, A, A., S, M, J, Punitha., M, Rema. (2014).** "Anti-inflammatory activity of flower extract of Cassia auriculata-an in vitro study." *Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci.* 4: 57-60.
113. **Saito Y. et Takahashi K. (2000).**Selenoprotein P: its structure and functions. *J. Health Sci.* 46: 409-413.
114. **Stursa J., 2001.** Arbres et Arbustes à feuilles persistantes .Grand.Paris. P118-203.
115. **Saito Y. et Takahashi K. (2002).**Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein. *Eur. J. Biochem.* 269: 5746-5751.
116. **Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016).** Biological synthese of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599
117. **Sahoo, S. K., Parveen, S., & Panda, J. J. (2007).** The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine*, 3(1), 20-31. doi: 10.1016/j.nano.2006.11.008.
118. **Shan Yu. M., Wanilai. S., Funclin. K., Nianfang. J., Hungyuen. W., Chung. R. C. (2004)** Characterization of polysaccharides from the flowers of Nerium indicum and their neuroprotective effects.*International Journal of Molecular Medicine.*, vol. 14, pp. 917-924.
119. **Singh. S et Singh. D.K. (1998)** :Molluscicidal activity of Nerium indicum bark.*Brazilian Journal of Medical and Biological Research.*, vol. 31, pp. 951-954
120. **S. Foss Hansen, B.H. Larsen, S.I. Olsen, A. Baun,** Categorization framework to aid hazard identification of nanomaterials, *Nanotoxicology*, 1 (2007) 243-250. EPA-Nanotechnology-White-Paper, Nanotechnology White Paper. Édit (Epa) USEPAWashington). (2007), p.120.
121. **Saito Y., Hayashi T., Tanaka A. et al. (1999).** Selenoprotein P in human plasma as an extracellular phospholipid hydroperoxide glutathione peroxydase. Isolation and enzymatic characterization of human. *J. Biol. Chem.* 274: 2866-2871.
122. **Simonoff M. et Simonoff G. (1991).** Le Sélénium et la vie. Paris : Masson. 242.

123. **Stoytcheva Z.R. et Berry M.J. (2009).** Transcriptional regulation of mammalian selenoprotein expression. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1790: 1429-1440.
124. **Sun, Y., Fuge, G. M., & Ashfold, M. N. (2004).** Growth of aligned ZnO nanorod arrays by catalyst-free pulsed laser deposition methods. *Chemical Physics Letters*, 396(1-3), 21-26.
125. **SUPERPROF.FR. (2023).** <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/> [En ligne] physique-chimie/toutniveau/tableau-periodique/metal-precieux.html.
126. **Shobana, S et R, Vidhya (2016).** "Evaluation of In Vitro Hemolytic Activity Of Different Parts of *Abutilon indicum* (Linn.)." *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(5): 1182-1196.
127. **Taabouche, A., & Bouabellou, A. (2017).** Etude structurale et optique de films minces ZnO élaborés par voie physique et/ou chimique.
128. **TEBANI, M. (2014).** *L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos* (Doctoral dissertation, Badji Mokhtar University).
129. **Therond P., Malvy D. et Favier A. (1997).** Toxicité du sélénium à doses pharmacologiques par voie orale. *Nutr. Clin. Métabol.* 11: 91-101.
130. **Therond P., Malvy D. et Favier A. (1997).** Toxicité du sélénium à doses pharmacologiques par voie orale. *Nutr. Clin. Métabol.* 11: 91-101.
131. **Tinggi, A. (2003).** Essentiality and toxicity of selenium and its status in australia: a review. *Toxicology Letters*. 137: 103-110.
132. **Trinité, Virginie. (2006).** Etude ab initio et simulation à l'Echelle atomique des transitions de phase du titane.
133. **Tsuzuki, T., He, R., Wang, J., Sun, L., Wang, X., & Hocking, R. (2012).** Reduction of the photocatalytic activity of ZnO nanoparticles for UV protection applications. *International journal of nanotechnology*, 9(10-12), 1017-1029..
134. **Tujebajeva R.M., Harney J.W. et Berry M.J. (2000).** Selenoprotein P expression, purification, and immunochemical characterization. *J. Biol. Chem.* 275: 6288-6294.
135. **Underwood E.J. et Suttle N.F. (2004).** The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. Cambridge : CABI Publishing. 614.
136. **Ungula, J., & Dejene, B. F. (2016).** Effect of solvent medium on the structural, morphological and optical properties of ZnO nanoparticles synthesized by the sol-gel method. *Physica B: Condensed Matter*, 480, 26-30.

137. **Vanderpas J.B., Contempré B., Duale N.L. et al. (1990).** Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 1087-1093.
138. **Vauriot, L. (2012).** *Synthèse microfluide de nanomatériaux multifonctionnels par laser* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université de Bordeaux).
139. **Vitoux D. (1996).** Sélénium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann. Biol. Clin.* 54: 181-187.
140. **Wang, X., Song, J., Liu, J., & Wang, Z. L. (2007).** Direct-current nanogenerator driven by ultrasonic waves. *Science*, 316(5821), 102-105.
141. **Whitin J.C., Bhamre S., Tham D.M. et Cohen H.J. (2002).** Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 281: F20–F28
142. **Yang G.O., Wang S.Z. et Zhou R.H. (1983).** Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr.* 37: 872-81.
143. **Zeng H., Gerald F. et Combs Jr. (2008).** Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 19: 1-7.
144. **Zhao, X. Q., Zheng, F., Liang, Y., Hu, Z. Q., & Xu, Y. B. (1994).** Preparation and characterization of single phase  $\gamma$ -Fe nanopowder from cw CO<sub>2</sub> laser induced pyrolysis of iron pentacarbonyl. *Materials Letters*, 21(3-4), 285-288.
145. <http://sureaux.blogspirit.com/media/02/01/476747625.jpg>
146. [https://www.discoverlife.org/nh/maps/Plantae/Dicotyledoneae/Apocynaceae/Nerium/map\\_of\\_Nerium.jpg](https://www.discoverlife.org/nh/maps/Plantae/Dicotyledoneae/Apocynaceae/Nerium/map_of_Nerium.jpg)
147. [http://apelh.free.fr/Cristaux/diffractionpoudre\\_fichiers/image001.gif](http://apelh.free.fr/Cristaux/diffractionpoudre_fichiers/image001.gif).

## *Annexes*

Annexe 01 :

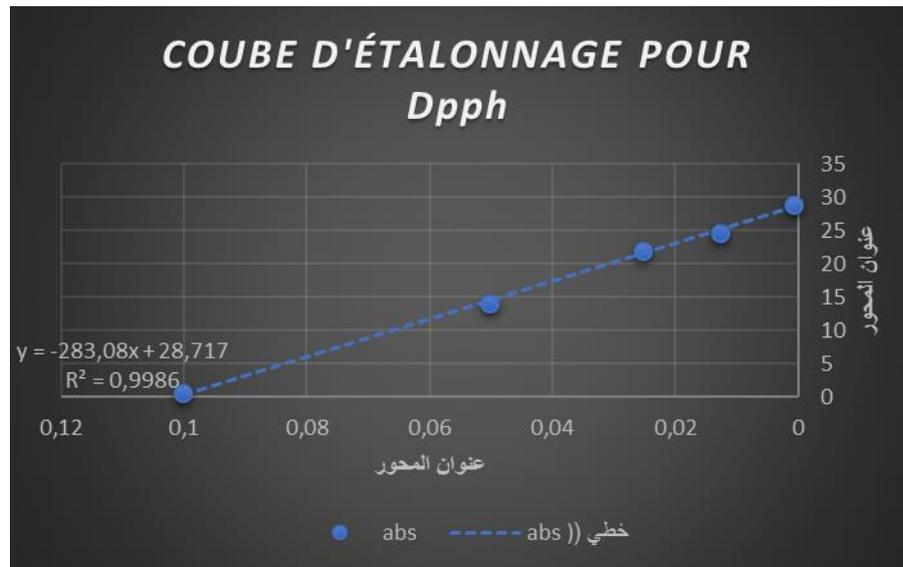


Figure 01 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de DPPH

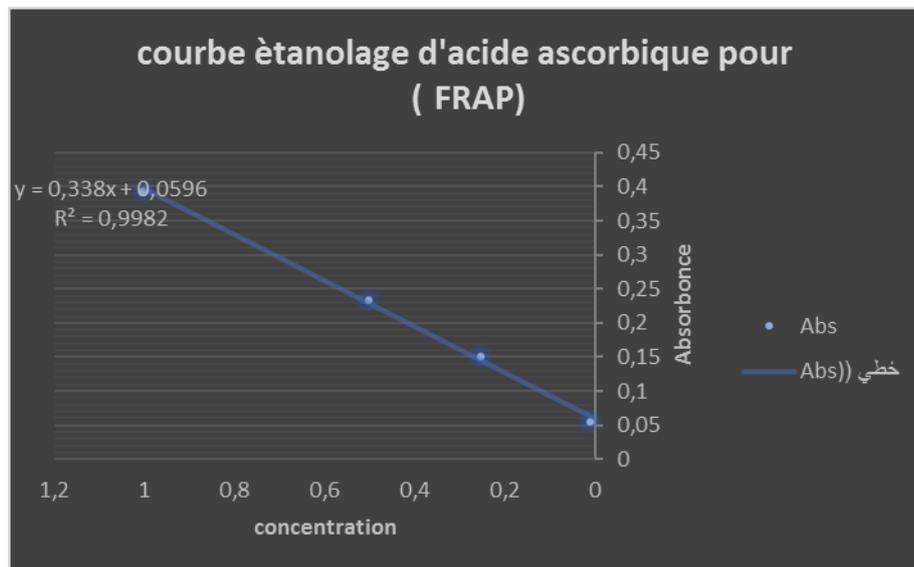
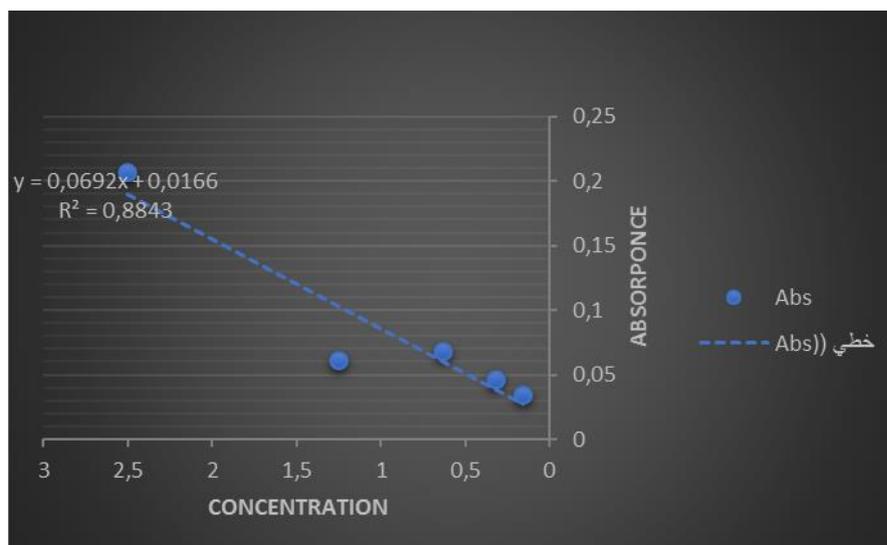
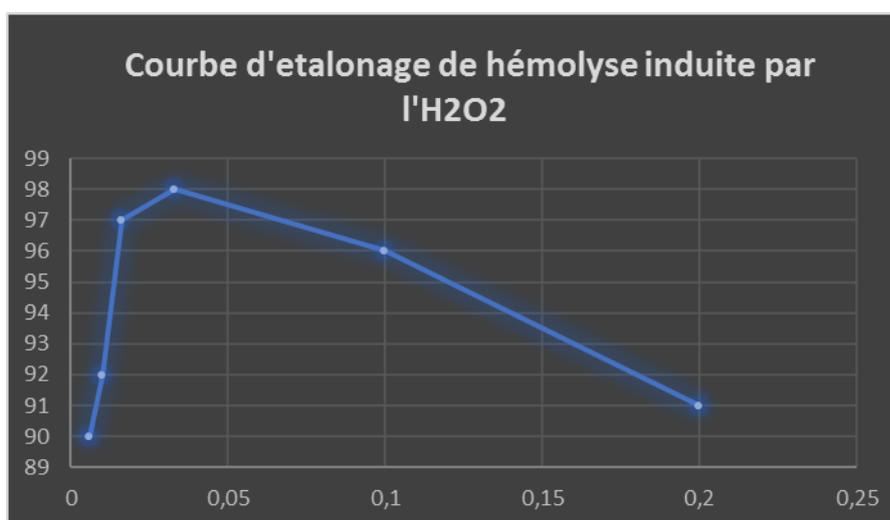


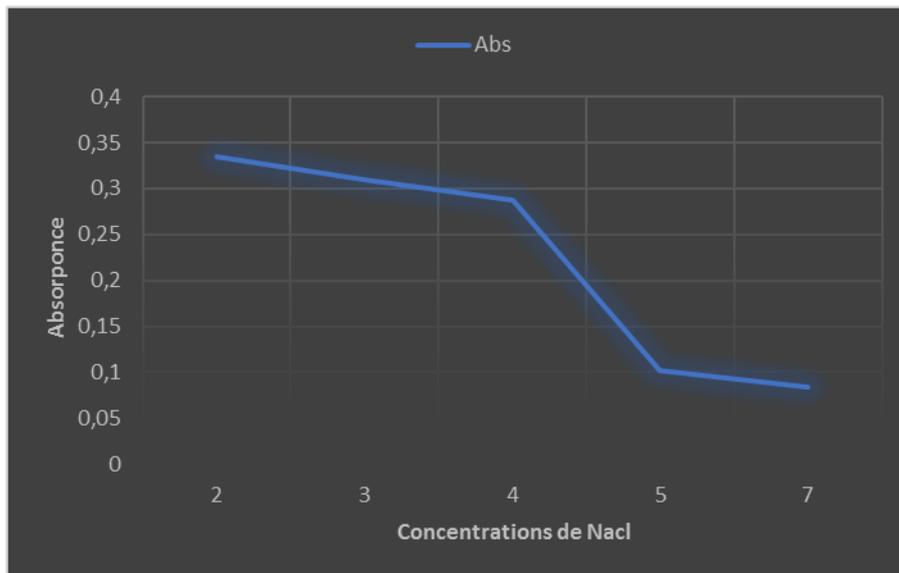
Figure 02 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de FRAP



**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage du diclofénac pour le test anti-inflammatoire



**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage de hémolyse induite par l'H2O2



**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage de hémolyse hypotpnique NaCl