

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR  
- ANNABA-



جامعة باجي مختار - عنابة

Année / 2017

Faculté des sciences  
Département de chimie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en chimie

**Option** : Sciences des matériaux et corrosion

THÈME

**Contribution à la connaissance de l'effet  
bactéricide et la cytotoxicité des oxydes  
nanocristallins**

**Présentée par :**

**Mr. Bouarroudj Tayeb**

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M. BOUHEDJA Yacine	Prof, Université d'Annaba.
<b>Directeur :</b>	M. BEN LOUCIF Mohamed Rida	Prof, Université d'Annaba.
<b>Co-Directeur :</b>	M. MEKKI Djamel Eddine	Prof, Université d'Annaba.
<b>Examinatrice :</b>	M <sup>me</sup> .GRARA Nedjoud	MCA, Université de Guelma.
<b>Examinatrice :</b>	M <sup>me</sup> .BOUCHELAGHEM Wahiba	MCA, Université d'Annaba.
<b>Membre invité :</b>	M <sup>me</sup> . BERREBEH Houria	prof, Université d'Annaba.

## ***Remerciements***

Je tiens à remercier mon directeur de thèse **Mr BENLOUCIF Mohamed Rida**, Professeur à l'université d'Annaba, pour m'avoir accompagné dans la réalisation de cette thèse. Son aide, ses conseils, son attention et sa disponibilité m'ont été plus que bénéfiques, je le remercie vivement.

Je tiens à remercier tout particulièrement **Mr MEKKI Djamel Eddine**, Professeur à l'université d'Annaba, non seulement pour m'avoir fait l'honneur de son co-encadrement, mais également pour ses précieux conseils et orientations sa disponibilité et son dévouement. Qu'il sache combien ses encouragements m'ont été d'une grande utilité.

J'exprime toute ma gratitude à **Mr BOUHADJA Yacine** Professeur à l'Université d'Annaba, d'avoir accepté de présider ce jury.

J'exprime également toute ma reconnaissance à **Mme BERREBBAH Houria**, Professeur à l'Université d'Annaba, pour l'intérêt et l'attention qu'elle a accordé à ce travail de thèse en m'acceptant temporairement dans son groupe de travail et pour avoir accepté de l'examiner.

**Mme BOUCHELAGHEM Wahiba** Maitre de conférences à l'Université d'Annaba, a bien voulu examiner ce travail , qu'elle en soit chaleureusement remerciée.

Mes remerciements s'adressent aussi à **Mme GRARA Nedjoud** Maitre de conférences à l'Université de Guelma, d'avoir bien voulu juger cette thèse. Qu'elle puisse trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie **Mr DJAHOUDI Abdelghani** professeur à l'université d'Annaba, pour l'accueil au sein de son laboratoire de Microbiologie Générale, Faculté de Médecine. Sa disponibilité et son souci constant pour que cette thèse se passe dans les meilleures conditions possibles.

Je remercie particulièrement **Mme Farida MEKKI** docteur à l'université d'Annaba, pour son soutien, sa gentillesse, sa patience, pour ses encouragements, ses orientations et tous les efforts qu'elle a pu apporter pour la réalisation de mon travail de doctorat.

**Mr DJEBAR Mohamed Réda** professeur à l'université d'Annaba, m'a très gentiment accueilli au sein de son laboratoire de toxicologie cellulaire (LTC). Sa disponibilité et son souci constant pour que cette thèse se passe dans les meilleures conditions possibles m'ont fortement stimulés, je lui en suis reconnaissant.

Enfin je remercie vivement ma famille, mes amis, mes collègues et les membres du laboratoire de chimie des matériaux inorganiques qui m'ont aidé durant mon parcours et qui ont contribué à l'aboutissement de cette thèse.

.

## **Résumé**

Dans cette étude , nous nous sommes d'abord intéressés à obtenir des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, pure et dopé (Fe et Ag), en adoptant deux démarches différentes. La première a consisté à broyer mécaniquement et à haute énergie , une poudre commerciale de départ et ce, en fonction du temps. Parallèlement à cela , une procédure classique de la synthèse chimique a été suivie , pour élaborer des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pure et dopé (Fe et Ag).

Les nanoparticules obtenues avec différentes tailles, ont fait ensuite l'objet de caractérisation diverses et variées, structurale par DRX, morphologique par MEB et optique par spectrométrie UV-Visible et infrarouge.

La seconde partie de ce travail a consisté à étudier l'activité bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> vis-à-vis de bactéries existantes dans nos hôpitaux et supposées responsables de maladies nosocomiales. Cette étude importante a permis d'apprécier un paramètre pertinent, la concentration minimale d'inhibition (CMI) en l'occurrence, qui matérialise l'action de ces nanoparticules sur les bactéries choisies. Les résultats obtenus montrent que l'activité bactéricide de NPs SnO<sub>2</sub> est conséquente sur des bactéries à Gram positif, au contraire des bactéries à Gram négatif qui elles, sont très faiblement affectées.

La dernière partie de notre travail a concerné l'étude de la cytotoxicité des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> vis-à-vis d'un micro-organisme unicellulaire, la paramécie qui est partie prenante de la chaîne alimentaire humaine.

Les résultats obtenus ont montré que les nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, en faible concentration, ont un effet bénéfique sur la cinétique de croissance des paramécies ; d'autre part, l'impact des NPs de SnO<sub>2</sub> sur la paramécie a été évalué sur certains biomarqueurs du système antioxydant de stress oxydatif, l'activité Catalase (CAT), l'activité Glutathion-S-Transférase (GST) et le taux du Glutathion (GSH).

**Mots clés** : toxicité, paramécie, effet bactéricide, nanoparticules, SnO<sub>2</sub>, taille de grain

## **Abstract**

In this study, firstly, we interested in obtaining SnO<sub>2</sub> nanoparticles, pure and doped (Fe and Ag), by adopting two different approaches. The first one consisted of mechanically grinding at high-energy of a commercial starting powder, depending on time. For the second approaches, a conventional process of chemical synthesis was used to develop nanoparticles of SnO<sub>2</sub> pure and doped (Fe and Ag). The Obtained nanoparticles with different sizes, were then subjected to various characterization; structural by DRX, morphological by SEM, optical by UV-Visible and infrared spectrometry.

The second part of this work aims to study the bactericidal activity of SnO<sub>2</sub> nanoparticles on bacteria existing in our hospitals and assumed responsible for nosocomial diseases. This study allowed us to appreciate a relevant parameter; the minimum inhibition concentration (MIC), which materializes the action of these nanoparticles on selected bacteria. The obtained results show that the bactericidal activity of NPs SnO<sub>2</sub> is consequent on Gram-positive bacteria, contrary to the Gram-negative bacteria which are very weakly affected.

The last part of our work concerned the study of the cytotoxicity of nanoparticles of SnO<sub>2</sub> towards a single-celled microorganism, Paramecium, which is part of the human food chain. The obtained results showed that nanoparticles of SnO<sub>2</sub>, in low concentration, have a beneficial effect on the growth kinetics of the paramecia; on the other hand, the impact of the SnO<sub>2</sub> NPs on Paramecium has been evaluated on some biomarkers of the antioxidant system of oxidative stress, the activity of Catalase (CAT), activity glutathione-S-Transferase (GST) and the rate of glutathione (GSH).

**Key words:** toxicity, Paramecium, bactericidal, effect nanoparticles, SnO<sub>2</sub>, grain size

## ملخص

في هذه الدراسة اهتمنا اولا بالحصول على جسيمات نانومترية من  $\text{SnO}_2$  حيث استخدمنا الطحن الميكانيكي بدلالة الزمن . بالإضافة إلى ذلك، و من أجل الحصول على جسيمات نانومترية من  $\text{SnO}_2$  النقية والمنشطة (Fe و Ag)، قمنا بإجراء التصنيع الكيميائي الكلاسيكي.

الجسيمات النانوية التي تم الحصول عليها وبأحجام مختلفة الكريستاليت، تم إخضاعها فيما بعد إلى مختلف أنواع التوصيف، بنيوي عن طريق الأشعة السينية، مورفولوجي بالمجهر الإلكتروني الماسح، بصري بواسطة مطياف الأشعة فوق البنفسجية و الأشعة تحت الحمراء. الجزء الثاني من هذا العمل يتمحور حول النشاط المبيد للجراثيم للجسيمات النانومترية من  $\text{SnO}_2$  إزاء البكتيريا الموجودة في مستشفياتنا والمفترض أنها المسؤولة عن عدوى المستشفيات.

هذه الدراسة الهامة سمحت بتقييم عامل ذات صلة؛ في هذه الحالة الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC)، و تجسيد عمل الجسيمات النانوية على البكتيريا المختارة. وتظهر النتائج المحصلة إلى أن النشاط المبيد للجراثيم للجسيمات النانومترية من  $\text{SnO}_2$  كان كبيرا على البكتيريا إيجابية الجرام، وعلى النقيض من ذلك الجراثيم سلبية الغرام تأثرت بشكل طفيف جدا.

الجزء الأخير من عملنا تعلق بدراسة سُمِّية الجسيمات النانومترية من  $\text{SnO}_2$  إزاء كائن مجهري وحيد الخلية، البراميسيوم (المتناغلة)، الذي يشارك في السلسلة الغذائية للإنسان.

أشارت النتائج المتوصل إليها إلى أن الجسيمات النانومترية من  $\text{SnO}_2$ ، وفي تركيز منخفض، كان لها تأثير مفيد على حركية النمو للبراميسيوم ( المتناغلة)، و من ناحية أخرى، تم تقييم تأثير الجسيمات النانومترية من  $\text{SnO}_2$  على البراميسيوم بدراسة بعض المؤشرات الحيوية للنظام المضاد للأكسدة من الإجهاد المؤكسد، نشاط الكاتالاز (CAT)، نشاط جلوتاثيون أس-ترانسفيراز (GST) ونسبة الجلوتاثيون (GSH).

**كلمات البحث:** سمية، متناغلة، جراثيم، الجسيمات النانوية،  $\text{SnO}_2$ ، حجم الحبيبات

# SOMMAIRE

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Acronymes

Introduction générale

## **Chapitre I. Revue bibliographique**

I.les materiaux nanostructurés	01
I.1. Definition	01
I.2. Classement des nanomatériaux	01
I.3. Origine de nouvelles propriétés	02
I.4. Quelques propriétés des nanomatériaux	06
I.4.1 Propriétés mécaniques	06
I.4.2. Propriétés électriques	07
I.4.3 Propriétés optiques	08
I.5. Applications des nanomatériaux	11
I.6.Effets des nanoparticules sur l'environnement	13
I.7 Effet des nanoparticules sur la santé humaine	15
I.8. Effet des nanoparticules sur les bactéries	17
I.9.Présentation du matériau d'étude	18
I.9.1. Définition de l'oxyde d'étain	18
I.9.2. Propriétés de l'oxyde d'étain (SnO <sub>2</sub> )	18

I.9.2.1. Propriétés cristallographiques	18
I.9.2.2. Propriétés électriques	19
I.9.2.3. Propriétés optiques	21
I.9.3. Applications	24
I.9.3. 1. Détection de gaz	24
I.9.3.2. La photocatalyse	26
I.9.3.3. Piles au lithium	27
I.9.3.4. Électrodes	28
I.9.3.5. Photovoltaïques	29
I.10. Modèles biologiques utilisés	30
I.10.1. Bactéries	30
I.10.1.1. Définition	30
I.10.1.2. Structure des bactéries	30
I.10.1.3. Différents types de bactéries	31
a. Bactéries à Gram négatif	31
b. Bactéries à Gram positif	32
I.10.2. Caractéristiques des souches bactériennes étudiées	33
I.10.2.1. Le genre Pseudomonas	33
I.10.2.2. Le genre Staphylococcus	33
I.10.2.3. Le genre Acinetobacter	34
I.10.2.5. Les Entérobactéries	35
I.10.2.6. Le genre Enterococcus	36
I.10.2.7. Le genre Bacillus	36
I.10.3. La paramécie	37
I.10.2.1. Généralité	37
I.10.2.2. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif	38
Références bibliographiques	



## **Chapitre II. Synthèse et Caractérisation des Nanoparticules de SnO<sub>2</sub>**

II.1. Obtention des nanoparticules de SnO <sub>2</sub>	40
II.1.1. Broyage mécanique	40
II.1.1.1. Préparation des échantillons	40
II.1.1.2 Description du broyeur planétaire P7	42
II.1.2. Élaboration des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> par voie chimique	43
II.1.2.1. Élaboration des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> pur	43
II.1.2.2. Élaboration des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> dopé	43
II.2. Techniques de caractérisation	44
II.2.1. Diffraction des rayons X (DRX)	44
II.2.2. Détermination de la taille des grains	45
II.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)	46
II.2.3.1. Les électrons secondaires	49
II.2.3.2. Les électrons rétrodiffusés	49
II.2.4. La spectroscopie Infrarouge (IR)	50
II.2.4.1. Principe de la spectroscopie Infrarouge (IR)	50
II.2.4.2. Mode opératoire	51
II.2.5. La spectroscopie UV-Visible	51
II.2.5.1. Principe	52
II.3. Résultats et discussions	55
II.3.1. Analyse par la diffraction de rayon X (DRX)	55
II.3.2. Analyse par la spectrométrie infrarouge (IR)	58
II.3.3. Analyse par La spectroscopie UV-Visible	60
II.3.4. Analyse par la microscopie électronique à balayage (MEB)	69
Références bibliographiques	

## **Chapitre III. Effet bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>**

III.1. Introduction	72
III.2. Matériel biologique	72
III.3. Matériel chimique	73
III.4. Protocole expérimental	74
a. Repiquage des souches à tester	74
b. Préparation de la gamme de dilution des NPs	74
c. Préparation des boîtes de dilution	75
d. Préparation de l'inoculum bactérien	75
e. Ensemencement	76
f. Lecture de la CMI	76
III.5. Résultats de CMI	76
III.5.1. Effet du SnO <sub>2</sub> purs et dopées sur les Cocci à Gram positif	76
III.5.2. Effet du SnO <sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram positif	78
III.5.3. Effet de SnO <sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram négatif entérobactéries	79
III.5.4. Effet de SnO <sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram négatif non entérobactéries	80
III.6. Discussion	81
Références bibliographiques	

# **Chapitre IV. Évaluation de la Toxicité des Nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, Sur un Modèle Unicellulaire : *Paramecium Tetraurelia*.**

IV.1. Introduction	84
IV.2. Matériel et méthodes	84
IV.3. Culture du microorganisme <i>Paramecium Tetraurelia</i>	85
IV.4. Cinétique de croissance cellulaire	86
IV.5. Calcul du pourcentage de réponse	86
IV.6. Dosages biochimiques	87
IV.6.1 Dosage du taux de glutathion (GSH)	87
IV.6.2. Mesure de l'activité GST (glutathion S-transférase)	88
IV.6.3. Mesure de l'activité Catalase (CAT)	89
IV.7. Caractérisation des malformations	89
IV.8. Étude du métabolisme respiratoire	89
IV.9. Résultats et discussions	92
IV.9 .1. Effets des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur la croissance des paramécies	92
IV.9.2. Effet des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur l'évolution du Pourcentage de réponse	99
IV.9.3. Effet des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur le taux de GSH	102
IV.9.4. Effet des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur l'activité GST	104
IV.9.5. Effet des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur l'activité catalase (CAT)	107
IV.9.6. Effet des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur l'activité respiratoire	110
IV.9.7. Atteintes membranaires et structurales	113
Conclusion générale	
Perspectives	

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure.I.1</b> Classification des nanostructures selon leur dimensionnalité	<b>02</b>
<b>Figure.I-2.</b> Fraction atomique en fonction de la taille de grains (nm)	<b>05</b>
<b>Figure.I.3.</b> Variation de la dureté du cuivre en fonction de la taille des nanocristallines.	<b>07</b>
<b>Figure.I.4.</b> Effet de la taille sur les pics d'adsorption de CeO <sub>2</sub>	<b>09</b>
<b>Figure.I.5.</b> Spectres de transmission pour différentes tailles de grains de TiO <sub>2</sub> nanoparticules en suspension.	<b>10</b>
<b>Figure.I.6.</b> Spectres de transmission de différentes tailles des grains de TiO <sub>2</sub> nanoparticules en couches mince.	<b>10</b>
<b>Figure.I.7.</b> Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement.	<b>13</b>
<b>Figure.I.8.</b> Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine décrit dans la littérature	<b>16</b>
<b>Figure.I.9.</b> Représentation 3D de la maille élémentaire du SnO <sub>2</sub> (structure tétragonale).	<b>19</b>
<b>Figure.I.10.</b> Spectres d'absorption optique des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> dopées par Co.	<b>21</b>
<b>Figure.I.11.</b> Spectres d'absorption optique de nanoparticules et d'un film mince de SnO <sub>2</sub> .	<b>23</b>
<b>Figure.I.12.</b> Exemple de capteur à CO basé sur une couche mince de SnO <sub>2</sub> .	<b>25</b>
<b>Figure.I.13.</b> Vue schématique de la dégradation du photocatalyseur SnO <sub>2</sub> semi-conducteur du colorant à l'orange méthylique.	<b>26</b>
<b>Figure.I.14.</b> Évolution de la charge électrique de différentes couches Sn/LiO <sub>2</sub> , Sn ou SnO <sub>2</sub> .	<b>28</b>
<b>Figure.I.15.</b> Anatomie d'une bactérie.	<b>31</b>
<b>Figure.I.16.</b> Paroi d'une bactérie à Gram négatif.	<b>32</b>
<b>Figure.I.17.</b> Paroi d'une bactérie à Gram positif.	<b>32</b>
<b>Figure.I.18.</b> Représentation de la structure d'une paramécie	<b>38</b>

<b>Figure.II.1</b> : Exemple de boîte à gants	<b>41</b>
<b>Figure.II.2.</b> Image d'un broyeur planétaire (Fritish Pulverisette 7), P7.	<b>42</b>
<b>Figure.II.3.</b> Représentation des conditions de Bragg dans un cristal	<b>44</b>
<b>Figure.II.4.</b> Illustration montrant la définition de $\beta$ à partir du pic de diffraction des rayons X.	<b>46</b>
<b>Figure.II.5.</b> Différents types de particules émises par l'interaction entre les électrons incidents et l'échantillon.	<b>47</b>
<b>Figure.II.6.</b> Poire de diffusion.	<b>48</b>
<b>Figure.II.7.</b> Spectromètre Infrarouge.	<b>50</b>
<b>Figure.II.8.</b> Diagramme d'un spectrophotomètre UV-visible.	<b>53</b>
<b>Figure.II.9.</b> Diagramme de diffractions des rayons X des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique (0h/36 nm, 1h/28 nm et 3h/19 nm).	<b>55</b>
<b>Figure.II.10.</b> Diagramme de diffractions des rayons X des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> 2 pures et dopées obtenues par voie chimique.	<b>56</b>
<b>Figure.II.11.</b> Évolution de la taille des grains de SnO <sub>2</sub> en fonction du temps de broyage.	<b>57</b>
<b>Figure.II.12.</b> Diagramme de l'infrarouge des poudres de SnO <sub>2</sub> pour différents temps de broyage (0 .1 et 3 h).	<b>58</b>
<b>Figure.II.13.</b> Diagramme de l'infrarouge des nanopoudres de SnO <sub>2</sub> pures et dopées obtenues par voie chimique.	<b>59</b>
<b>Figure.II.14.</b> Absorbance optique des nanopoudres de SnO <sub>2</sub> , obtenues par broyage mécanique, en fonction de la longueur d'onde, pour différentes tailles de grains (36, 28 et 19 nm).	<b>60</b>
<b>Figure.II.15.</b> Absorbance optique de nanopoudres de SnO <sub>2</sub> pures et dopées (Fe, Ag), obtenues par voie chimique, en fonction de la longueur d'onde.	<b>62</b>
<b>Figure.II.16.</b> Gap optique des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique.	<b>63</b>
	<b>64</b>

<b>Figure.II.17.</b> Gap optique des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> obtenues par voie chimique.	66
<b>Figure.II.18.</b> Détermination de l'énergie d'Urbach pour des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique.	67
<b>Figure.II.19.</b> Détermination de l'énergie d'Urbach des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> obtenues par voie chimique.	68
<b>Figure.II.20.</b> Énergie Urbach (Eu) en fonction de l'énergie de gap (Eg).	69
<b>Figure.II.21.</b> Image MEB d'une poudre de SnO <sub>2</sub> avec une taille de grains de 36 nm.	70
<b>Figure.II.22.</b> Image MEB d'une poudre de SnO <sub>2</sub> avec une taille de grains de 28 nm.	70
<b>Figure.II.23.</b> Image MEB d'une poudre de SnO <sub>2</sub> avec une taille de grains de 19 nm.	75
<b>Figure.III.1.</b> Montage d'un sonicateur.	82
<b>Figure.III.2.</b> Organisation de la paroi bactérienne des bactéries à Gram positif.	82
<b>Figure.III.3.</b> Organisation de la paroi bactérienne des bactéries à Gram négatif.	90
<b>Figure.IV.1.</b> Image d'une électrode d'oxygène.	92
<b>Figure. IV. 2.</b> Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.	93
<b>Figure. IV. 3.</b> Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 28 nm.	93
<b>Figure. IV. 4.</b> Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.	95
<b>Figure.IV.5.</b> Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO <sub>2</sub> NPs, à une concentration de 50 mg/l.	95
<b>Figure.IV.6.</b> Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO <sub>2</sub> NPs, à une concentration de 100 mg/l.	

<b>Figure.IV.7.</b> Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO <sub>2</sub> NPs, à une concentration de 200 mg/l.	<b>96</b>
<b>Figure.IV.8.</b> Effet de la taille des grains des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur la cinétique de croissance des <i>paramécies</i> , pour différentes valeurs de concentrations à 72 h d'exposition.	<b>97</b>
<b>Figure.IV.9.</b> Effet de la taille des grains des nanoparticules de SnO <sub>2</sub> sur la cinétique de croissance des <i>paramécies</i> , pour différentes valeurs de concentrations à 96 heures d'exposition.	<b>97</b>
<b>Figure.IV.10.</b> Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.	<b>100</b>
<b>Figure.IV.11.</b> Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 28 nm.	<b>100</b>
<b>Figure.IV.12.</b> Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.	<b>101</b>
<b>Figure.IV.13.</b> Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 36 nm.	<b>102</b>
<b>Figure.IV.14.</b> Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d=28 nm.	<b>103</b>
<b>Figure.IV.15.</b> Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 19nm.	<b>103</b>
<b>Figure.IV.16.</b> Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 36 nm.	<b>105</b>
<b>Figure.IV.17.</b> Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 28 nm.	<b>105</b>
<b>Figure.IV.18.</b> Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 19 nm.	<b>106</b>
<b>Figure.IV.19.</b> Évolution de l'activité catalase en fonction des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 36 nm.	<b>107</b>
<b>Figure.IV.20.</b> Évolution de l'activité catalase en fonction de concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d= 28 nm.	<b>108</b>

<b>Figure.IV.21.</b> Évolution de l'activité catalase en fonction des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> , avec d=19 nm.	<b>108</b>
<b>Figure.IV.22.</b> Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.	<b>110</b>
<b>Figure.IV.23.</b> Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d=28 nm.	<b>111</b>
<b>Figure.IV.24.</b> Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.	<b>111</b>
<b>Figure.IV.25.</b> Morphologie d'une cellule de paramécies Tetraurelia Témoin, observée au microscope optique.	<b>113</b>
<b>Figure IV.26.</b> Anomalies morphologiques observées chez des paramécies Tetraurelia, exposées à des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 36nm.	<b>114</b>
<b>Figure.IV.27.</b> Anomalies morphologiques observées chez les paramécies Tetraurelia, exposées à des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 28nm.	<b>115</b>
<b>Figure.IV.28.</b> Anomalies morphologiques observées chez des paramécies Tetraurelia, exposées à des concentrations croissantes de SnO <sub>2</sub> NPs, avec d= 19nm	<b>116</b>



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I-1.</b> Surface spécifique (exprimée en m <sup>2</sup> par g de matière et nombre de particules par g de matière en fonction du diamètre des particules et pour deux densités (2 et 10 g / cm <sup>3</sup> ).	<b>03</b>
<b>Tableau I-2.</b> Évolution du pourcentage d'atomes situés en surface en fraction du nombre d'atomes constituant la nanoparticule	<b>04</b>
<b>Tableau.I.3.</b> Modification de la conductivité électrique de l'Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> suite à des ajouts de nanotubes de carbone	<b>08</b>
<b>Tableau.I.4.</b> Principales applications des nanoparticules dans différents secteurs.	<b>12</b>
<b>Tableau.III.1.</b> Valeurs des CMI des Cocci à Gram positif traités par SnO <sub>2</sub> , pur et dopé.	<b>77</b>
<b>Tableau.III.2.</b> Valeurs de CMI obtenues sur des bacilles à Gram positif, traités par SnO <sub>2</sub> , pur et dopé.	<b>78</b>
<b>Tableau. III. 3.</b> Valeurs des CMI obtenues sur des BGN. E traités par SnO <sub>2</sub> pur et dopé.	<b>79</b>
<b>Tableau.III.4.</b> Valeurs des CMI obtenues sur les Bacilles à Gram - non Entérobactéries traitées par SnO <sub>2</sub> pur et dopé.	<b>80</b>
<b>Tableau. IV.1.</b> Composition du milieu de culture des paramécies.	<b>85</b>

## ACRONYMES

<b>SnO<sub>2</sub></b>	Dioxyde d'étain
<b>NPs</b>	Nanoparticules
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CASFM</b>	Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen species
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>GST</b>	Glutathion-S-Transférase
<b>CAT</b>	Catalase
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>LPS</b>	lipopolysaccharide
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
<b>MH</b>	Gélose Mueller Hinton
<b>SM</b>	Solution mere
<b>KPC</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase

## Introduction générale

Les nanotechnologies constituent un champ de recherches et de développements technologiques impliquant la fabrication de structures, de dispositifs et de systèmes à partir d'objets de taille nanométriques ou nano-objets. En raison de leur taille, les nanomatériaux possèdent des propriétés physicochimiques différentes des mêmes matériaux massifs, ce qui ouvre des perspectives prometteuses en termes d'applications dans divers domaines des sciences et technologies. De nos jours, différents produits utilisent divers types de nanomatériaux avec une variété de structures et de propriétés, dans des domaines divers et variés, tels que les produits cosmétiques, les fongicides dans l'agriculture, l'industrie alimentaire et les dispositifs électroniques..... etc ([Matranga et al., 2012](#), [Martineau et al., 2014](#)).

La nanotechnologie peut donc avoir un grand impact sur les économies grâce aux nouveaux produits de consommation, aux méthodes de fabrication et à l'utilisation des matériaux ([Albrecht et al., 2006](#)). En ce sens, les semi-conducteurs à large bande interdite tels que  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  et  $\text{ZnO}$  sont des matériaux prometteurs. Parmi ces derniers, le dioxyde d'étain ( $\text{SnO}_2$ ) est un important semi-conducteur de type n, possédant une large bande interdite (3.6 eV) et quelques propriétés bien spécifiques, telles qu'une faible résistivité électrique, une grande transmittance optique et une grande réflectivité dans la région infra rouge. Il peut donc être utilisé, entre autres, comme anode dans les batteries à base de lithium, comme électrode conductrice dans les couches minces des cellules photovoltaïques ou encore comme réflecteur de chaleur, aussi bien pour des applications solaires que pour les écrans plats. Il est également l'un des oxydes métalliques les plus utilisés dans le domaine de la surveillance de la pollution atmosphérique et la détection des gaz toxiques ([Boufaa, 2012](#)).

Néanmoins, malgré cet engouement scientifique et industriel, sa toxicité potentielle inquiète. En effet, il existe une incertitude réelle quant aux effets

néfastes de ces nanomatériaux , dont SnO<sub>2</sub> , sur les humains et l'environnement. Les raisons de cette inquiétude scientifique sont basées sur la méconnaissance des interactions existantes entre les nanoparticules et les systèmes biologiques, sachant qu'elles sont la plus récente addition à la diversité des contaminants environnementaux provenant des activités humaines(Ophélie Zeyons,2008) . Les recherches en toxicologie environnementale doivent donc naturellement , c'est une question de santé publique , suivre l'émergence de ces nouveaux contaminants afin de prévenir leurs impacts sur la santé humaine et l'environnement (Delay et Frimmel,2012).

C'est donc en raison de l'intérêt croissant pour SnO<sub>2</sub> que nous avons décidé de nous « plonger » dans ce thème générique des nanomatériaux en étudiant les effets bactéricides et toxicologiques des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pure et dopée.

Le manuscrit s'articule de la façon suivante :

le premier chapitre fait le rappel de quelques bases bibliographiques nécessaires à la compréhension de l'étude. Nous proposons dans un deuxième temps , une brève description des nanomatériaux. Nous donnons ensuite un aperçu sur le matériau d'étude (SnO<sub>2</sub>), ses propriétés principales ainsi que ses diverses applications. Finalement, nous présentons les modèles biologiques de cette étude à savoir les bactéries (Gram positif, Gram négatif) et les paramécies.

Dans le second chapitre, nous présentons les protocoles de préparation des échantillons et nous abordons les différentes techniques utilisées pour la caractérisation de nos poudres , ainsi que les résultats , commentés et analysés, que nous avons obtenus.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude de l'effet bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>. Nous y présentons le matériel et les méthodes utilisés avec les résultats obtenus et leurs discussions.

Le dernier chapitre de cette thèse est relatif à l'étude de l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur les paramécies qui peuvent constituer un segment important dans la chaîne alimentaire humaine.

Une conclusion générale termine ce manuscrit , avec des perspectives pour de futurs développements issus des résultats de ce travail, tant d'un point de vue académique qu'appliqué.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Delay et F.H. Frimmel. 2012. Nanoparticles in aquatic systems. *Anal. Bioanal. Chem.*, vol.402. P. 583-592.

Ophélie Zeyons. 2008. Études des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat de l'université Paris VI - Pierre et Marie Curie.

Albrecht MA, Evans CW, Raston CL. 2006. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chemistry*.8(5):417-32.  
Diallo MS, Savage N. 2005. Nanoparticles and water quality. *J Nanopart Res.* 7(4-5) :25-330.

Boufaa Nassima. 2012. Élaboration et caractérisation des nano poudres d'oxyde d'étain (SnO<sub>2</sub>). Thèse de magister de l'université de Constantine, Algérie.

Matranga Valeria, Ilaria Corsi. 2012. Toxic effects of engineered nanoparticles in the marine environment: Model organisms and molecular approaches: *Marine Environmental Research*76;32-4.

Martineau Nicole, Joan E. Mc Lean, Christian O. Dimkpa, David W. Britt, Anne J. Anderson. 2014. Components from wheat roots modify the bioactivity of ZnO and CuO Nanoparticles in a soil bacterium: *Environmental Pollution*187;65-72.

# **Chapitre I. Revue bibliographique**

---

Ce chapitre fait le rappel de quelques bases bibliographiques nécessaires à la compréhension de l'étude. Nous décrivons dans la première partie les nanomatériaux en général. La deuxième partie portera sur l'état de l'art du SnO<sub>2</sub> et ses propriétés principales, ainsi que les diverses applications de ce matériau. Dans la troisième partie, nous présentons les modèles biologiques de cette étude.

---

## **I. Les matériaux nanostructurés**

### **I.1. Définition**

Les nanomatériaux sont constitués de grains contenant au plus quelques dizaines de milliers d'atomes, dont une dimension au moins ne dépasse pas 100 nm. La notion de nanomatériau est apparue lorsque les céramistes et les métallurgistes ont remarqué que l'affinement de la microstructure de leurs matériaux donnait lieu à des propriétés améliorées et différentes de celles des matériaux à grains micrométriques (Marc Depuis,2001).

Il existe trois explications majeures à l'intérêt croissant des industriels pour les nanoparticules et les nanomatériaux :

- 1- La réduction de la taille modifie fortement les propriétés intrinsèques des particules et des matériaux, ouvrant, ainsi, la voie à des composés plus performants ou innovants.
- 2- Plus une particule est petite, plus sa surface est grande par rapport à son volume. De ce fait, toutes les interactions entre la particule et son environnement sont exacerbées. C'est la raison pour laquelle, par exemple, les catalyseurs à base de nanopoudres sont les plus efficaces
- 3- Quand on passe des micros aux nanopoudres, la forme des grains évolue en général, ils peuvent être plus réguliers, voire sphériques, avec une faible dispersion de taille. Les nanopoudres sont, ainsi, intéressantes pour l'élaboration de matériaux.

### **I.2. Classement des nanomatériaux**

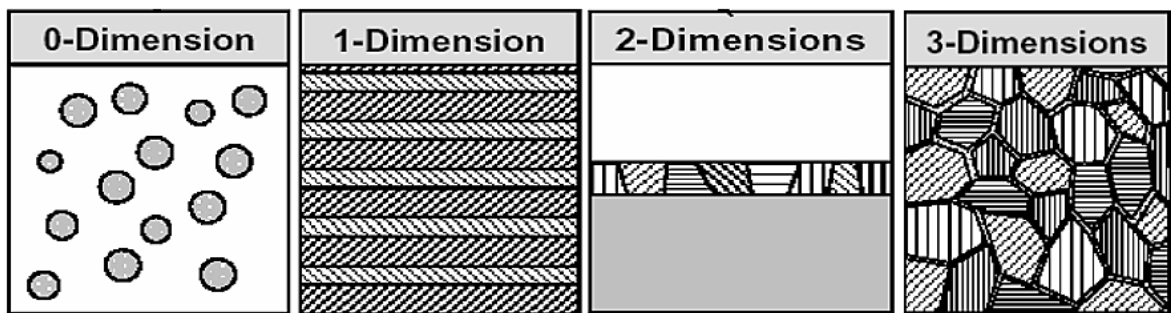
Il est proposé dans la littérature un classement des nanomatériaux en quatre familles, selon leurs formes d'utilisation (McHenry,1999) :

- **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 nanostructurés.

La **Figure I.1** illustre l'ensemble de ces propos.



**Figure I.1 Classification des nanostructures selon leur dimensionnalité, (Herzer,1997).**

### I.3. Origine de nouvelles propriétés





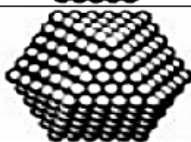
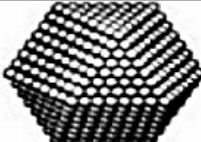
Le développement des nanomatériaux passe aujourd'hui par une recherche de compromis entre les différentes propriétés conduisant à ne pas dégrader les propriétés existantes, tout en améliorant d'autres. Du fait de leur taille, les nanomatériaux présentent des caractéristiques différentes de l'échelle macroscopique. En effet, lorsque la taille d'une particule diminue, le nombre de particules par gramme croît considérablement : ce nombre est multiplié par 1.000.000 lorsque le diamètre d'une particule évolue de 100 nm à 1 nm. Parallèlement, à quantité de matière équivalente (soit un gramme de matière présentant une densité de  $10 \text{ g/cm}^3$ ), la surface des particules est multipliée par un facteur 100 (Tableau I.1).

Diamètre (nm)	Surface / g (m <sup>2</sup> ) Densité = 10g/cm <sup>3</sup>	Surface / g (m <sup>2</sup> ) Densité = 2g/cm <sup>3</sup>	Particules / g Densité = 10 g/cm <sup>3</sup>	Particules / g Densité = 2g/cm <sup>3</sup>
1	600	3000	1,9.10 <sup>20</sup>	9,6.10 <sup>20</sup>
2	300	1500	2,4.10 <sup>19</sup>	1,2.10 <sup>20</sup>
4	150	750	3,0.10 <sup>18</sup>	1,5.10 <sup>19</sup>
6	100	500	8,8.10 <sup>17</sup>	4,4.10 <sup>18</sup>
8	75	375	3,7.10 <sup>17</sup>	1,9.10 <sup>18</sup>
10	60	300	1,9.10 <sup>17</sup>	9,6.10 <sup>17</sup>
12	50	250	1,1.10 <sup>17</sup>	5,5.10 <sup>17</sup>
14	43	214	7,0.10 <sup>16</sup>	3,5.10 <sup>17</sup>
16	38	188	4,7.10 <sup>16</sup>	2,3.10 <sup>17</sup>
18	33	167	3,3.10 <sup>16</sup>	1,6.10 <sup>17</sup>
20	30	150	2,4.10 <sup>16</sup>	1,2.10 <sup>17</sup>
30	20	100	7,2.10 <sup>15</sup>	3,5.10 <sup>16</sup>
40	15	75	3,0.10 <sup>15</sup>	1,5.10 <sup>16</sup>
60	10	50	8,9.10 <sup>14</sup>	4,4.10 <sup>15</sup>
80	8	38	3,8.10 <sup>14</sup>	1,9.10 <sup>15</sup>
100	6	30	1,9.10 <sup>14</sup>	9,6.10 <sup>14</sup>

**Tableau I-1. Surface spécifique (exprimée en m<sup>2</sup> par g de matière et nombre de particules par g de matière en fonction du diamètre des particules et pour deux densités (2 et 10 g / cm<sup>3</sup>).**

D'autre part, la diminution du diamètre des particules conduit à une augmentation de la proportion d'atomes présents en surface (5 % des atomes d'une particule de 30 nm sont en surface, contre 20 % pour une particule de 10 nm et 50 % pour une particule de 3 nm) (Tableau I.2).

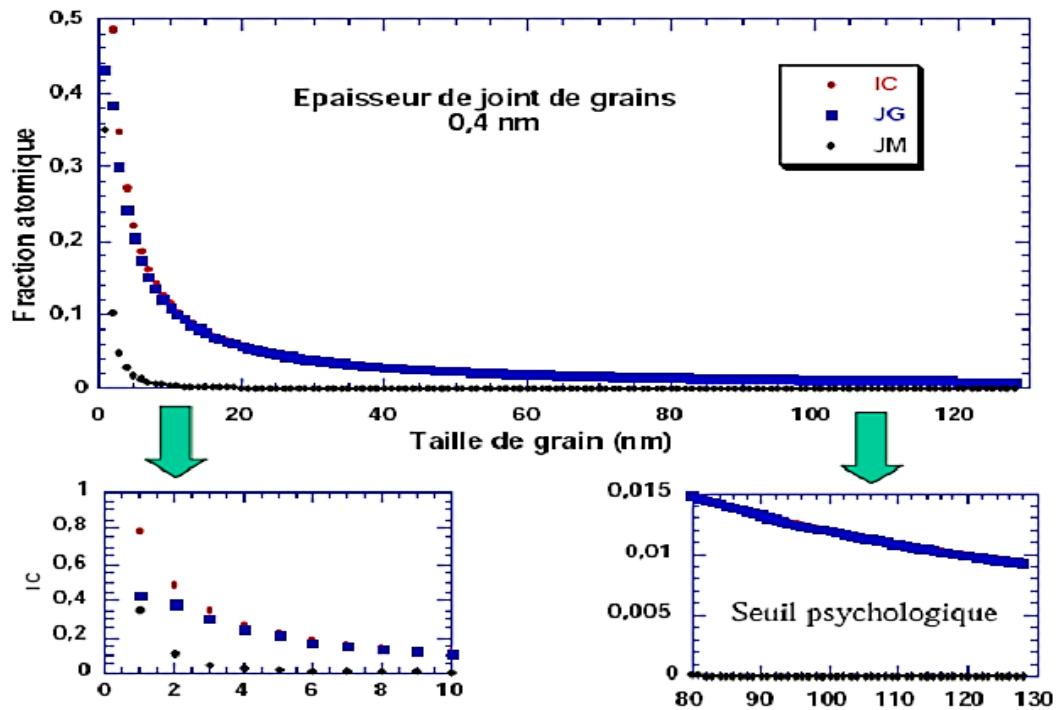
Une masse donnée de nanomatériaux sous forme de nanoparticules sera donc plus réactive que la même masse constituée de particules de plus grande dimension (Afsset ,2006).

		Nombre total d'atomes	Atomes en surface (%)
Un motif		13	92
Deux motifs		55	76
Trois motifs		147	63
Quatre motifs		309	52
Cinq motifs		561	45
Sept motifs		1415	35

**Tableau I-2. Évolution du pourcentage d'atomes situés en surface en fraction du nombre d'atomes constituant la nanoparticule**

(Hirsch,2005)

Les structures nanométriques confèrent aux nouveaux matériaux obtenus, des propriétés mécaniques, électriques, magnétiques, optiques et catalytiques particulières ou des combinaisons de propriétés originales, différant parfois de celles du même matériau à une échelle différente. De plus, la réduction de la taille du grain conduit à une plus grande interface à l'intérieur du matériau et ainsi, peut modifier un certain nombre de propriétés parmi lesquelles, celles mécaniques et électriques (Afsset ,2006). En effet, l'augmentation de la densité de défauts tels que les joints de grains et les dislocations, offre à ces matériaux une diffusivité supérieure à celle des monocristaux et polycristaux de même composition chimique avec une taille de grains micrométrique. La figure I.2 résume cette situation.



**Figure I-2. Fraction atomique en fonction de la taille de grains (nm)**  
(Afsset ,2006)

Les points rouges représentent la fraction d'atomes situés dans les zones intergranulaires en fonction de la taille de grains, ceux en bleu représentent la fraction d'atomes dans les joints de grains, tandis que les points noirs caractérisent la fraction d'atomes dans les joints multiples.

L'agrandissement à droite montre que pour des grains de l'ordre de 100 nm, 1% environ des atomes sont dans les zones intergranulaires (surtout dans les joints de grains).

Notons que 1% représente un « seuil psychologique » à partir duquel la fraction n'est plus considérée comme négligeable.

Quant à l'agrandissement à gauche, il montre qu'à environ 2 nm de taille de grains, 50 % des atomes sont dans les zones intergranulaires et qu'à 1 nm, il y a autant d'atomes dans les joints de grains que dans les joints multiples.

#### **I.4. Quelques propriétés des nanomatériaux**

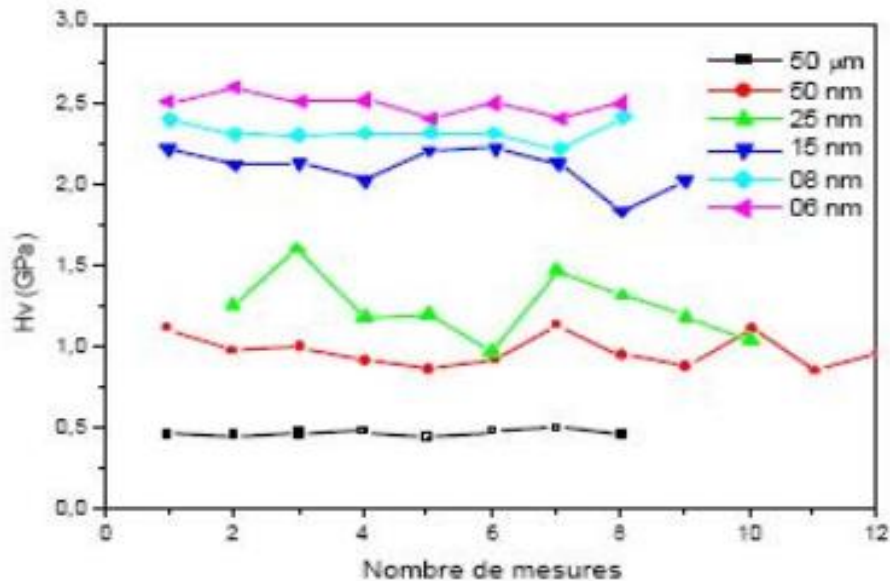
Les nanomatériaux ont des propriétés différentes de celles que l'on peut trouver pour des matériaux de la même substance qui ne possèdent pas de structure nanométrique. Ces nouvelles propriétés découlent de la grande proportion d'atomes en surface, ainsi que du confinement spatial dû aux petites dimensions. Elles sont à l'origine des nombreuses applications dans plusieurs secteurs : l'environnement, l'énergie, le textile, la chimie, la cosmétique, la santé, l'automobile, l'aéronautique, l'électronique, le verre et les articles en verre, les céramiques et matériaux de construction, le caoutchouc, les matières plastiques, la métallurgie, la défense, les peintures, les détergents, l'agroalimentaire, l'agronomie et la production de papier.

Parmi toutes les propriétés susceptibles d'évoluer lorsque la taille moyenne des cristallites atteint l'échelle nanométrique, seront brièvement discutées celles mécaniques, électriques et optiques car elles constituent la manifestation la plus nette de cette évolution.

##### **I.4.1 Propriétés mécaniques**

La présence d'une multitude de joints de grains et de régions intragranulaires, en fraction volumique presque aussi importante que celle des grains eux-mêmes, peut conduire, dans les métaux et les céramiques, à une dureté considérablement accrue ou, au contraire, à plus haute température, à de la superplasticité. En effet, la réduction de la taille de grains est de nature à induire un comportement superplastique, c'est-à-dire des déformations sans rupture, de l'ordre de 100% voire 1000%. Par exemple, (Lu *et al.*,2000) ont obtenu un renforcement mécanique très important en dispersant des nanoparticules métalliques ou céramiques dans des matrices céramiques. Les nanoparticules sont dotées d'une légèreté et d'une flexibilité importante, (Ratner,2003 et Aitken *et al.*,2004) ont mentionné que la résistance mécanique de nanotubes de carbone est plus de soixante fois supérieure aux meilleurs aciers, même si leur poids est plus de six fois inférieur.

Par ailleurs, les matériaux nano-phases présentent une dureté et une limite élastique inversement proportionnelle à la taille des grains ; par exemple, la dureté du cuivre nano-phase, constitué en moyenne de grains de 6 nm de taille est 5 fois supérieure à celle associée au même matériau, mais avec des tailles moyennes de grains de l'ordre de 50  $\mu\text{m}$  (figure I.3)



**Figure I.3. Variation de la dureté du cuivre en fonction de la taille des nanocristallites.** ( Rouanet *et al.*,1994)

#### I.4.2. Propriétés électriques

Les nanoparticules possèdent des propriétés électriques particulières. En effet, l'ajout de nanotubes de carbone (NTC) à des matrices composites, par exemple  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , augmente significativement la conductivité du matériau (Zhan *et al.*,2003). Ces propriétés semblent dues à la proximité de leurs niveaux d'énergie occupés et vacants. Dans un des exemples résumés ci-dessous, (Tableau I.3), la conductivité électrique atteint 3345 S/m pour un ajout de 10 % vol de nanotubes de carbone de type monofeuillet dans une matrice d'alumine, correspondant à une modification de 13 ordres de grandeur de la valeur initiale.

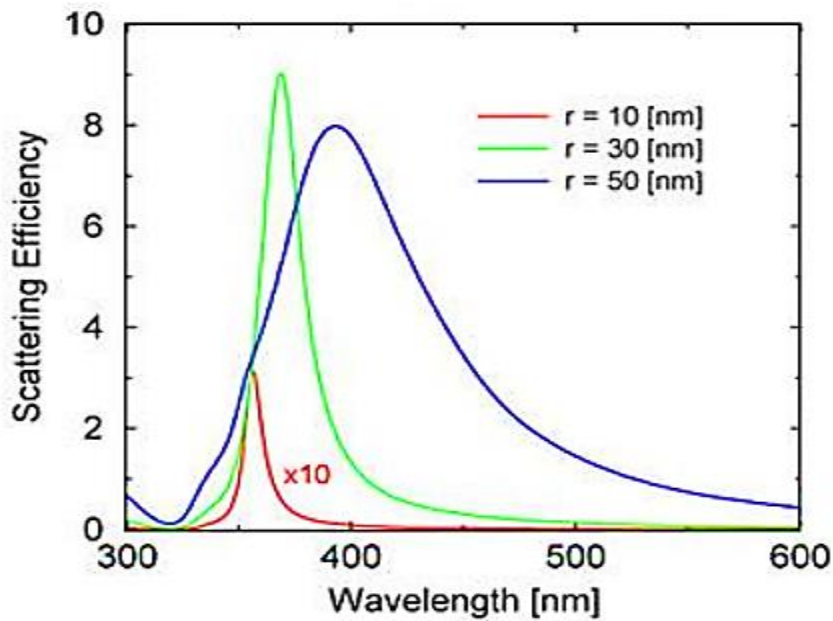
Matériaux	Densité relative (%TD)	Taille du grain (nm)	Conductivité électrique (S/m)
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> pur	100	350	10 <sup>-12</sup>
5.7-vol % noir de carbone/ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	100	200	15
5.7-vol % NTC monofeuillet/ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	100	200	1050
5.7-vol % NTC monofeuillet/ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	99	100	1510
10-vol % NTC monofeuillet/ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	99	10	3345
15-vol % NTC monofeuillet/ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	88.7	300	40-80
8.5-vol % NTC /4.3-vol % Fe / Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	87.5	300	280-400
20-vol % NTC monofeuillet/ polymère	...	....	-30

**Tableau I.3. Modification de la conductivité électrique de l'Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> suite à des ajouts de nanotubes de carbone (Zhan *et al.*,2003).**

### I.4.3 Propriétés optiques

Les propriétés optiques dépendent de l'interaction d'ondes électromagnétiques avec les électrons du semi-conducteur. Une onde électromagnétique interagissant avec ce matériau sera complètement absorbée par celui-ci si l'énergie associée  $E=hc/\lambda$  est capable de transférer des électrons de la bande de valence à la bande de conduction, c'est à dire d'être au moins égale à la largeur de la bande interdite (gap). Ainsi, si l'on veut que le matériau soit transparent dans toute l'étendue du visible, il est nécessaire que le gap soit au moins aussi large que la plus grande des énergies associées aux fréquences du spectre visible (400 nm à 800nm). Une bonne transparence dans tout le spectre du visible sera donc assurée par une valeur de la bande interdite au moins égale à 3.1eV.

Il est aujourd'hui prouvé que la taille des particules modifie les propriétés optiques des nanomatériaux en déplaçant les pics d'absorption observés vers plus de transparence (Bergeul,2006). En effet, la figure I.4 montre que le pic d'absorption de CeO<sub>2</sub> se déplace vers les faibles longueurs d'ondes quand la taille des grains diminue (Zeyons,2008).

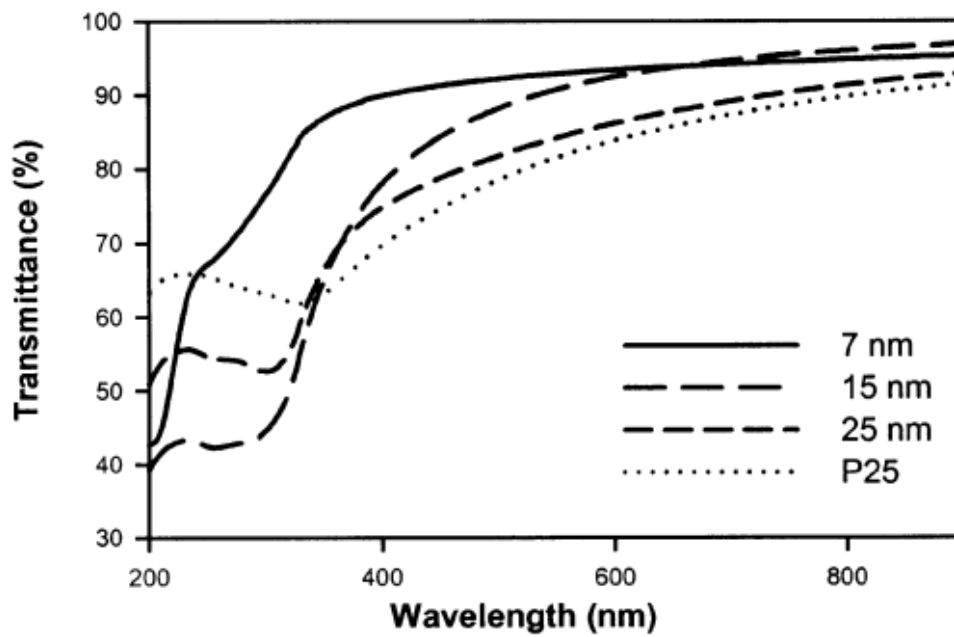


**Figure I.4. Effet de la taille sur les pics d'adsorption de  $\text{CeO}_2$**  (Zeyons,2008).

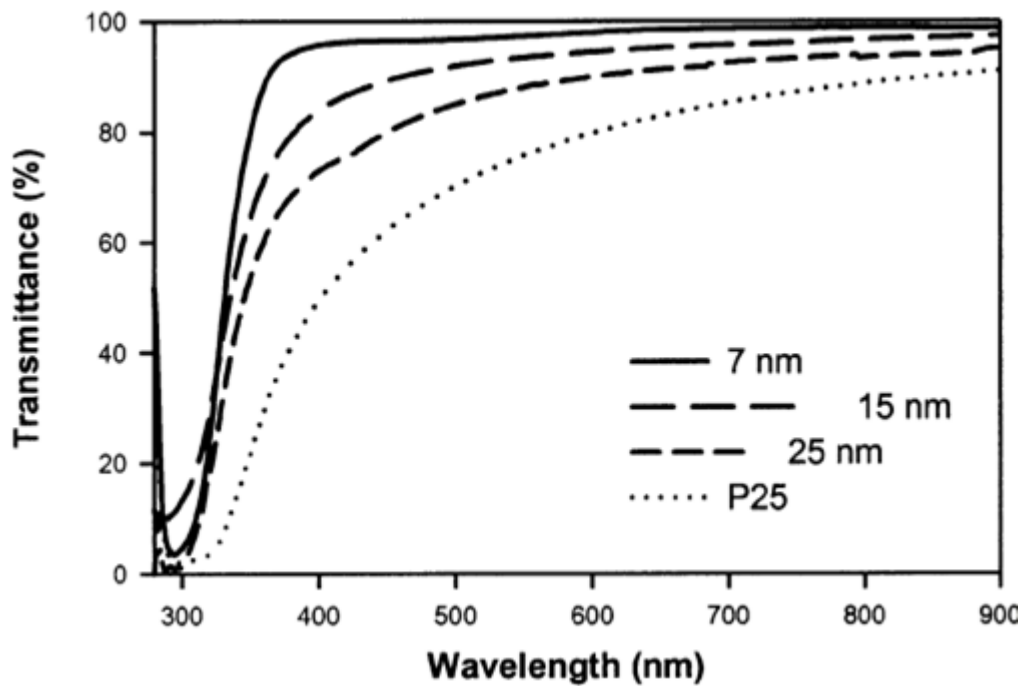
Seung Yong *et al.*,2003, ont étudié les propriétés optique et photocatalytiques des nanoparticules en suspension et de couches mince de  $\text{TiO}_2$  en phase anatase. Les nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  ont été préparées par réaction hydrothermique d'alcoolate de titane stabilisé dans une solution d'éthanol / eau acide. La taille des particules a été contrôlée à une plage de 7 à 25 nm pour les deux formes de nanoparticules de  $\text{TiO}_2$ .

Les figures I.5 et I.6 caractérisent les spectres de transmission de différentes tailles des grains des suspensions et de couches minces de  $\text{TiO}_2$  nanoparticules respectivement.





**Figure.I.5. Spectres de transmission pour différentes tailles de grains de TiO2 nanoparticules en suspension.**



**Figure.I.6. Spectres de transmission de différentes tailles des grains de TiO2 nanoparticules en couches mince.**

La figure.I.5, montre que l'absorption pour les suspensions de TiO2 et P25 à 15 et 25 nm ne sont pas sensiblement différents, mais celui du TiO2 de 7 nm

a été considérablement décalé. Ceci est indicatif d'un effet de taille quantique pour le TiO<sub>2</sub> de 7 nm. La même expérience a été réalisée pour les films particuliers dérivés des nanoparticules TiO<sub>2</sub> de différentes tailles. Contrairement à celui des suspensions, cependant, le bord d'absorption des échantillons de film n'a pas été déplacé indépendamment de la taille des particules, comme indiqué dans la figure.I.8.

Nous pouvons conclure que l'efficacité Photocatalytique des films TiO<sub>2</sub> préparés à partir des nanoparticules de 7 nm a été de 1,6 fois celle des films dérivés de Degussa P25.

### **I.5. Applications des nanomatériaux**

L'engouement pour les nanomatériaux manufacturés vient du fait que les nanoparticules (NPs) possèdent des propriétés uniques par rapport aux matériaux macroscopiques de même nature et qu'elles présentent une variété d'applications.

Ils ont ainsi permis aussi d'ouvrir de nouvelles perspectives dans le monde industriel, scientifique, économique (Koh et wong ,2005) et technique (Hussein, 2015). L'intégration des nanoparticules dans les produits commerciaux est en constante croissance ; selon l'inventaire du *Woodrow Wilson International Centre for Scholars*, on retrouve chaque année près de 250 nouveaux produits environ, comprenant de nanoparticules dans leur composition.

Le tableau I.4 résume les principales applications de quelques nanoparticules, en général les plus usitées, dans différents secteurs.

Nanoparticules	Propriétés	Applications	Secteurs
<b>C60</b>	Conductivité	Fil conducteur, Transistor, diode	Électronique
<b>Nanotube de carbone</b>	Résistance	Amélioration performance des raquettes	Sport
	Résistance	Résistance mécanique et imperméabilité	Textile
	Adsorption	Traitement eau potable/pollution	Environnement
<b>Noir de carbone</b>	Résistance	Élastomère	Matériaux
<b>Silice</b>	Isolant	Électronique	Électronique
	Antiagglomérant	Additif	Alimentation
	Poreux	Nanovecteur-délivrance ciblée de médicaments	Santé, pharmacie
	Adhérence	Pneu	Automobile
<b>Argent</b>	Antibactérien	Vêtement	Textile
		Pansements	Santé, pharmacie
<b>Dioxyde de titane</b>	Pigment	Dentifrice	Cosmétique
	Anti UV	Crème solaire	
	Pigment	Peinture	Matériaux
	Photocatalytique	Vitrage /béton Autonettoyant	
<b>Oxyde d'aluminium</b>	Adsorption	Traitement eau potable/pollution	Environnement
	Catalyse	Traitement eau potable/pollution	Environnement
<b>Oxyde de fer</b>	Adsorption/ Magnétique	Traitement eau potable/pollution	Environnement
<b>Oxyde de zinc</b>	Anti UV	Crème solaire	Cosmétique
	Antivieillisemen	Soin pour la peau	

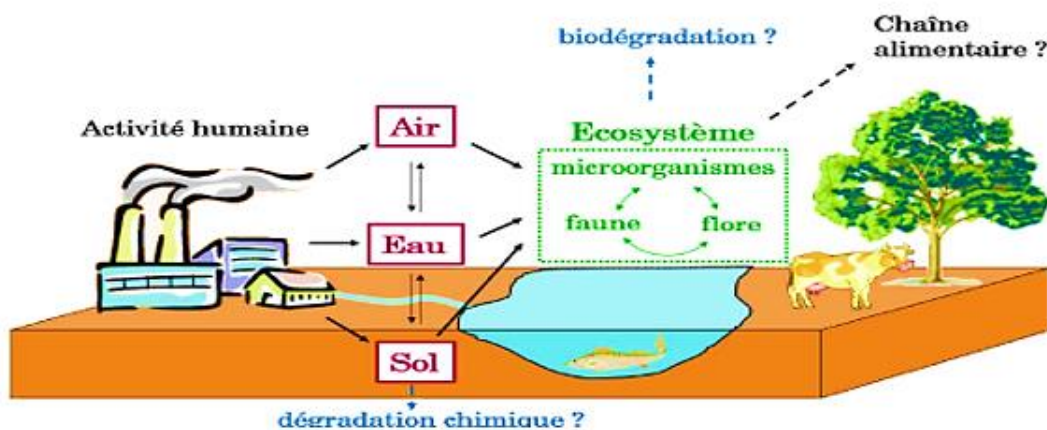
**Tableau I.4. Principales applications des nanoparticules dans différents secteurs**

### I.6.Effet des nanoparticules sur l'environnement.

La nanotechnologie est un domaine en plein développement, impliquant ainsi une production et une utilisation des nanomatériaux qui vont considérablement augmenter dans les années à venir.

Cette évolution irrémédiable va obligatoirement engendrer l'introduction et la diffusion de nanoparticules dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. On peut donc s'attendre à l'émergence possible de nouveaux phénomènes et situations inédites, tels que des pollutions, en quantité, genre et diversité, jamais vues auparavant.

La figure.I.7. Schématise clairement les différents processus susceptibles d'apparaître.



**Figure I.7. Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement. (Union Européenne, 2008).**

De plus les expositions environnementales aux nanoparticules peuvent se produire tout au long du cycle de vie des nanomatériaux qui les intègrent ou en sont émetteurs. En amont, au stade de la fabrication, de la transformation et du conditionnement, les sites industriels peuvent émettre des nanoparticules dans l'air ou les eaux, dans le cadre de leur fonctionnement

normal : rejets atmosphériques des événements de ventilation des locaux, rejets d'effluents aqueux, etc. À ce jour, cette composante de la problématique est peu étudiée, la priorité étant mise sur l'identification et la caractérisation des expositions des travailleurs de ces usines. Ensuite, en phase d'utilisation normale des produits, il est possible que les nanoparticules soient émises. Par exemple, des pneus intégrant des nanoparticules, leur confèrent de la solidité, sans alourdir pour autant le véhicule mais peuvent également libérer des particules dans l'atmosphère par abrasion lors du roulage. De même, des équipements sportifs contenant des nanoparticules pour les mêmes raisons peuvent s'user. Des emballages alimentaires incorporant des nanoparticules pour garantir une meilleure conservation des denrées (protection vis-à-vis de la lumière, protection antibactérienne, etc.) sont susceptibles d'en libérer (Bouwmeester *et al.*, 2009). Enfin, lors du recyclage ou de la destruction des matériaux, des émissions dans l'environnement sont possibles.

À titre d'exemple, on peut citer les nanomatériaux intégrés dans les bâtiments (béton plus isolant, vitrage autonettoyant, peinture épuratrice, etc.), qui, lors de leur démolition, pourront libérer leurs nanocomposants dans l'air, les sols ou indirectement dans les eaux souterraines.

Les nanoparticules ainsi émises peuvent ensuite se diffuser dans les compartiments environnementaux, s'accumuler dans certains, et conduire à des expositions de la population générale. Notons que les phénomènes physicochimiques (agglomération, agrégation, par exemple) peuvent également intervenir et modifier les modalités d'exposition.

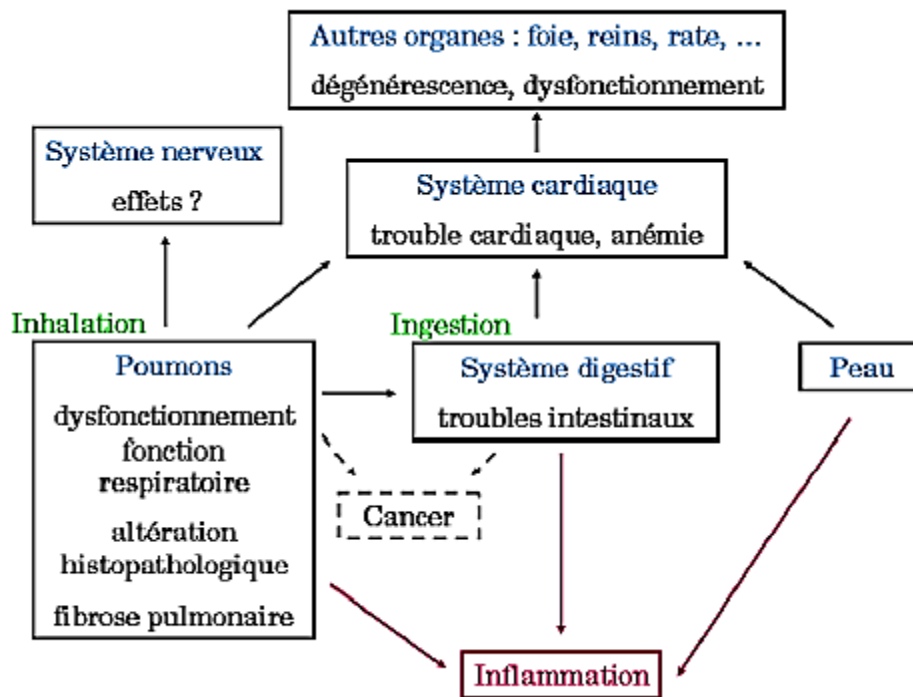
### **I.7 Effet des nanoparticules sur la santé humaine**

Ne connaissant pas le degré d'exposition de l'homme aux nanoparticules, il est difficile de quantifier et de connaître la nature de leurs effets sur la santé humaine. Cependant, ils sont nécessairement à prévoir si on se fie aux données complémentaires, obtenues par des études *in vivo* déjà réalisées et par des études épidémiologiques, sur l'impact des particules ultrafines de l'air sur la santé humaine (Rossano, 2014).

Les études épidémiologiques ont le désavantage de ne pas permettre d'établir la contribution réelle aux effets observés des particules ultrafines, et encore moins des nanoparticules manufacturées. Malgré tout, des conclusions générales peuvent en être tirées puisque les effets observés avec des particules fines sont en partie dus aux particules ultrafines. Ainsi, plusieurs études montrent que de fortes concentrations en particules fines ont un impact à court terme sur l'état de santé, en particulier en ce qui concerne les problèmes respiratoires et cardiovasculaires (Peters *et al.*, 1997).

Des études à plus long terme montrent que l'exposition à de fortes concentrations en particules fines, peut conduire à une réduction de l'espérance de vie (Brunekreef, 1997 ; Maynard et Maynard, 2002).

La figure I.8 représente les principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine



**Figure I.8. Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine décrit dans la littérature** (d'après Ostiguy *et al.*, 2008).

Il s'agit d'une description non exhaustive des effets de toutes les nanoparticules confondues, établie à partir d'études *in vivo* effectuées sur des rongeurs. La provocation de cancers n'a été attestée que pour les nanoparticules de noir de carbone, mais elle est sujette à caution à cause d'études épidémiologiques.

En effet, les études *in vivo* peuvent permettre de déterminer les effets directs des nanoparticules manufacturées ; cependant, elles sont confrontées à des modèles et ne représentent donc pas forcément la réalité des effets sur l'homme. Elles montrent, toutefois, que les nanoparticules peuvent être responsables de pathologies, principalement au niveau des organes directement exposés mais aussi dans tous les autres organes.

Il faut noter que la nature et l'intensité de ces effets dépendent des caractéristiques des nanoparticules. Il manque beaucoup d'informations sur le sujet, pour pouvoir établir une liste exhaustive de plus, ces études sont la

plupart du temps réalisées avec de fortes concentrations en nanoparticules (Ostiguy *et al.*, 2008).

### **I.8. Effet des nanoparticules sur les bactéries**

Les différentes études qui ont été réalisées à ce jour ont essayé de quantifier les probables effets toxiques des nanoparticules sur les bactéries. Ces dernières diffèrent selon les mises en contact (milieu solide, liquide), les tests de toxicité (comptage de colonies, croissance, perméabilité membranaire...), le type de nanoparticules (taille, forme, dispersant), ainsi que la nature des bactéries prises en compte. Cette diversité rend la comparaison difficile, nous allons cependant tenter d'en extraire des conclusions générales pour quelques nanoparticules, ZnO et TiO<sub>2</sub> en l'occurrence, car les plus utilisées.

La toxicité des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) est étudiée à la fois en milieu solide, le contact avec les bactéries s'effectuant sur milieu gélosé (Huang *et al.*, 2008 et Reddy *et al.*, 2007), et en milieu liquide (Brayner *et al.*, 2006, Franklin *et al.*, 2007, Reddy *et al.*, 2007, et Zhang *et al.*, 2007). Les nanoparticules de ZnO étant également envisagées pour des applications textiles (coton autonettoyant), certains tests sont réalisés par immersion de tissus imprégnés de nanoparticules dans de l'eau ultra pure avec les bactéries (Vigneshwaran *et al.*, 2006). De même que pour les nanoparticules de ZnO, les nanoparticules de TiO<sub>2</sub> sont étudiées pour leur effet bactéricide sous différentes formes : en suspension liquide (Joo *et al.*, 2005 et Verran *et al.*, 2007), en dispersion sur milieu gélosé (Adams *et al.*, 2006), adsorbées sur des fibres de coton (Daoud *et al.*, 2005 et Qi *et al.*, 2006) ou bien encore sur des couches minces fonctionnalisées pour un effet bactéricide (Elahifard *et al.*, 2007, Kiwi et Nadochenko, 2005 et Sunada *et al.*, 2003).

Nous avons déjà ici un aperçu de la multiplicité des protocoles appliqués dans ce type d'étude et la difficulté qu'elle engendre pour comparer les résultats.



## **I.9.présentation du matériau d'étude**

Nous, nous proposons dans cette partie, de présenter notre matériau d'étude, le dioxyde d'étain, SnO<sub>2</sub>, en mettant en exergue ses propriétés principales, ainsi que les diverses applications.

### **I.9.1. Définition de l'oxyde d'étain**

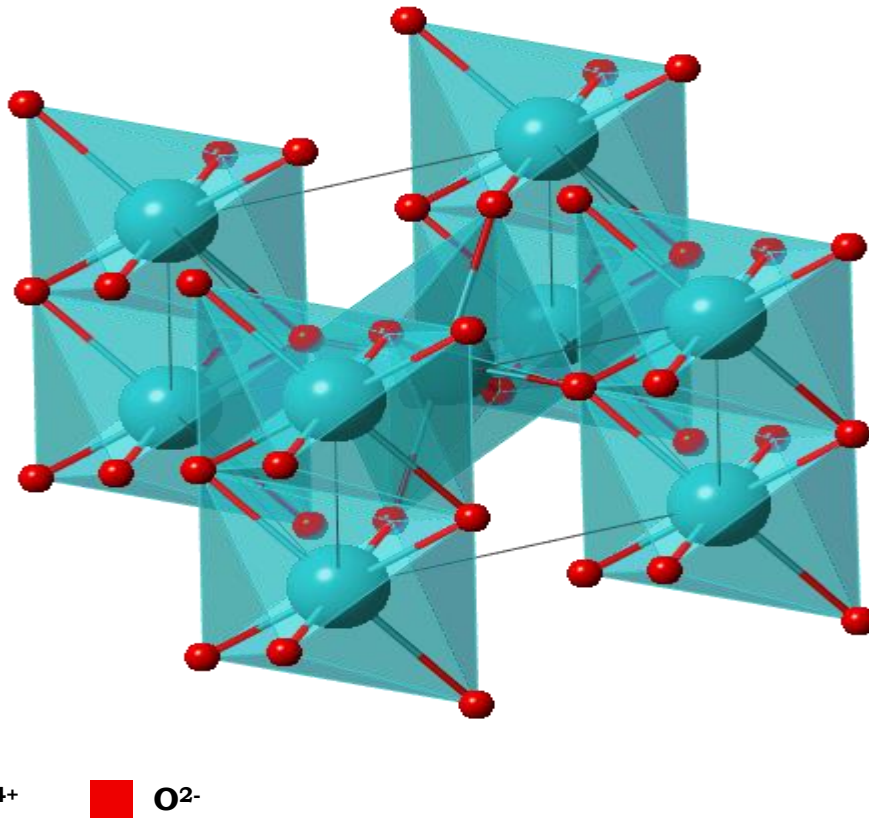
L'oxyde d'étain ou « oxyde stannique » se trouve à l'état naturel sous forme de cassitérite minérale qui est un oxyde de couleur variable, allant du jaunâtre au noir, elle est connue et exploitée depuis les temps les plus anciens ([Valleron,2011](#)).

L'oxyde d'étain est un oxyde transparent conducteur (TCO), de type n, chimiquement inerte et dur mécaniquement. Il a été le premier TCO à avoir été commercialisé ([Thangarajou,2002](#)).

### **I.9.2. Propriétés**

#### **I.9.2.1. Propriétés cristallographiques**

Le SnO<sub>2</sub> présente une seule phase stable à pression ambiante, appelée cassitérite, et adopte une maille tétragonale de type rutile (Figure I.9). Son groupe d'espace est P4<sub>2</sub>/mnm ([Jasneet et al.,2012](#)).



**Figure I.9. Représentation 3D de la maille élémentaire du SnO<sub>2</sub> (structure tétragonale).**

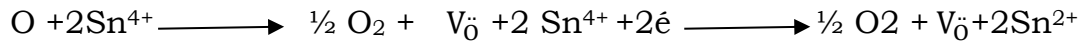
La maille élémentaire a pour paramètres  $a = b = 4.74 \text{ \AA}$  et  $c = 3.19 \text{ \AA}$  et contient six atomes, deux atomes d'étain et quatre atomes d'oxygène. Chaque ion étain Sn<sup>4+</sup> est au centre d'un octaèdre presque régulier, formé par six ions oxygène O<sup>2-</sup>, tandis que chaque O<sup>2-</sup> est entouré par trois Sn<sup>4+</sup> situés aux sommets d'un triangle isocèle. Les rayons ioniques du cation Sn<sup>4+</sup> et de l'anion O<sup>2-</sup> ont pour valeurs  $0.71 \text{ \AA}$  et  $0.14 \text{ \AA}$ , respectivement.

### I.9.2.2. Propriétés électriques

Le dioxyde d'étain, sous sa forme stœchiométrique SnO<sub>2</sub>(cristal parfait), est un isolant. Quant au cristal réel, il présente des défauts anioniques intrinsèques, assimilés à des lacunes d'oxygène dans le réseau. Ces lacunes entraînent une déficience en oxygène (SnO<sub>2-x</sub>), ce qui confère au dioxyde d'étain un comportement semi-conducteur de type n avec une large bande interdite de gap direct (3.6 eV à 4 eV). En effet, ces lacunes d'oxygène ainsi créées possèdent deux électrons qui peuvent se fixer sur des atomes d'étain

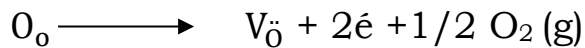
$\text{Sn}^{4+}$ , ces derniers deviennent alors  $\text{Sn}^{2+}$  et se comportent comme des donneurs d'électrons (Godinho *et al.*, 2009).

Selon la notion de Kröger et Vink



Dans la gamme de température 200-1350 °C, Mizusaki *et al* en 1990 ont mis en évidence l'existence d'un déficit d'oxygène par rapport à la composition stœchiométrique. La densité de lacunes dépend fortement de la température et de la pression partielle d'oxygène. Elle varie en général entre  $10^{-3}$  et  $10^{-2}$  % at. La concentration d'électrons dans  $\text{SnO}_2$  pur est directement proportionnelle à celle des lacunes d'oxygène, qui sont, en général, considérées comme les défauts majoritaires.

En effet, le formalisme de Kröger et Vink permet d'écrire l'équation de formation des lacunes d'oxygène,  $\text{V}_{\text{O}}^{\bullet\bullet}$  et l'équation de neutralité dans un semiconducteur de type n, comme  $\text{SnO}_2$ .

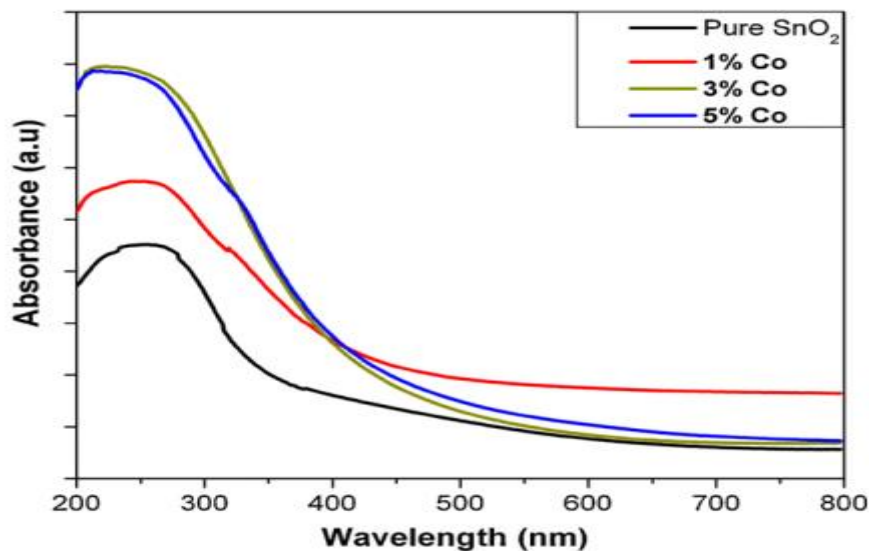


Où  $\text{O}_{\text{O}}$  est un atome d'oxygène en site oxygène,  $\text{V}_{\text{O}}^{\bullet\bullet}$  la lacune d'oxygène supposée deux fois ionisée positivement,  $\text{e}^-$  l'électron,  $\text{O}_2$ , la molécule d'oxygène sous forme gazeuse.

Cette réaction quasi chimique les conditions de conservation du rapport de nombre de sites, de conservation de la masse globale et la charge totale.

### I.9.2.3. Propriétés optiques

La figure I.10 représente les spectres d'absorption optique pour les nanoparticules SnO<sub>2</sub> pures et dopées Co, avec différentes concentrations.



**Figure.I.10. Spectres d'absorption optique des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées par Co.** (Sathyaseelan *et al.*,2010)

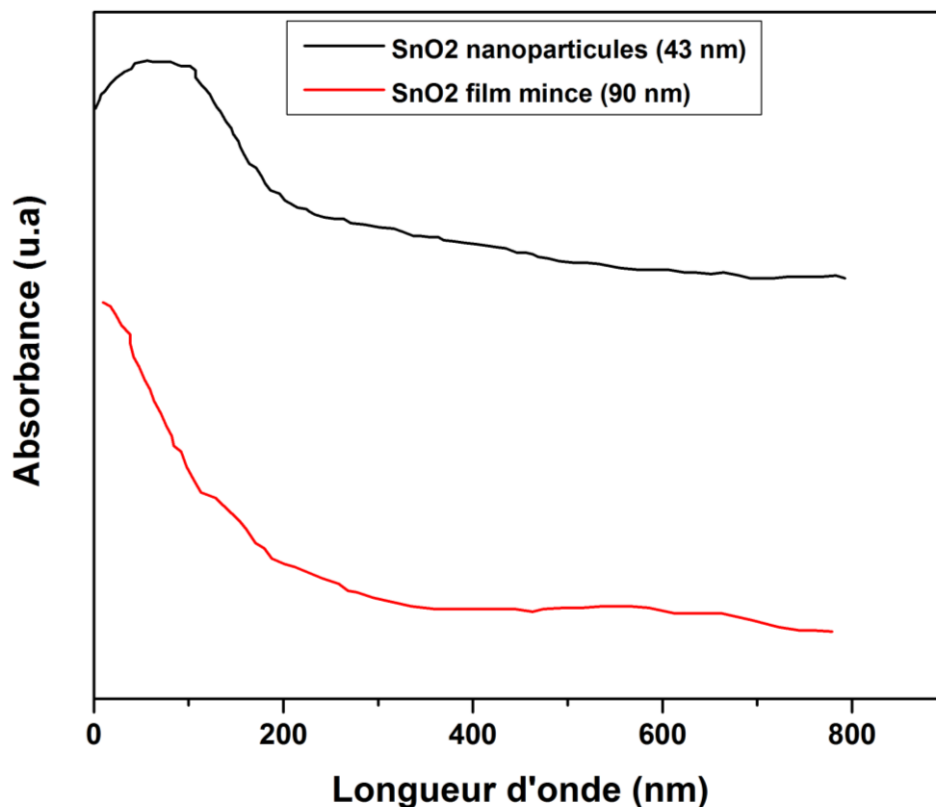
Le premier commentaire que l'on pourrait faire est que le dopage de SnO<sub>2</sub> augmente de manière notable le maximum du pic d'absorption du spectre et ce, d'autant plus que la concentration du dopant est élevée. La figure 1 concerne le cobalt mais le résultat peut aisément être généralisé à un grand nombre de dopants, toutes valences confondues. De plus, il apparaît que l'utilisation de concentrations croissantes de Co fait déplacer, de plus en plus, ce maximum vers les faibles longueurs d'onde.

Ce résultat pourrait être attribuée à des transferts de charge de type particulier, entre les ions Co<sup>2+</sup> et les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> (Wang *et al.*,2000), (Li *et al.*,2005).

Par ailleurs, il nous a paru judicieux de mettre en exergue les différences expérimentales constatées entre des spectres d'absorption de nanoparticules

et de couches minces, c'est-à-dire d'en apprécier l'effet d'échelle, micrométrique et nanométrique.

La figure.I.11, montre des résultats de mesures optiques, effectuées à température ambiante, par spectroscopie UV-visible et obtenues sur des nanoparticules (Sathyaseelan *et al.*,2010) et un film mince (Kumar *et al.*,2013) de SnO<sub>2</sub>.



**Figure.I.11. Spectres d'absorption optique de nanoparticules et d'un film mince de SnO<sub>2</sub>.**

Les courbes d'absorption relatives aux nanoparticules sont, de loin, plus élevées que celles associées à la couche, mettant clairement en évidence l'influence des réalités structurales des deux systèmes étudiés.

En conclusion et à partir des deux figures précédentes, il semble que l'amélioration des propriétés optiques d'oxydes de métaux de transition, ici

SnO<sub>2</sub>, suggère l'usage de nanomatériaux dopés, plutôt que toute autre configuration.

L'analyse de ces courbes est susceptible d'apporter un certain nombre d'informations très utiles, comme l'énergie de gap ou encore l'énergie d'Urbach.

Il est aujourd'hui que SnO<sub>2</sub> est un oxyde semi-conducteur dont les transitions électroniques sont directes.

Par conséquent, l'énergie de gap  $E_g$  peut être évaluée qualitativement à partir de la partie linéaire du graphe  $(\alpha h\nu)^2 = h\nu - E_g$ , quand la droite coupe l'axe des abscisses c'est-à-dire quand  $(\alpha h\nu)^{1/2} = 0$ , impliquant  $E_g = h\nu$ .

$h$  est la constante de Planck,  $\nu$  la fréquence et  $\alpha$  le coefficient d'absorption du matériau. Il est déduit des courbes de réflectance, en utilisant l'équation semi-empirique Kubelka-Munk ([Mazloom et Ghodsi, 2013](#)).

$$F(R) = (1-R)^2/2R$$

Où  $R$  est la réflectance et  $F(R)$  est équivalente au coefficient d'absorption.

### **I.9.3. Applications**

Grace à ses excellentes propriétés et son abondance sur terre, le dioxyde d'étain est devenu incontournable dans divers domaines, tels que les cellules photovoltaïques, la surveillance de la pollution atmosphérique ou encore la purification de l'air et de l'eau.

#### **I.9.3. 1. Détection de gaz**

L'oxyde d'étain est l'un des oxydes métalliques les plus utilisés dans le domaine de la surveillance de la pollution atmosphérique et la détection des gaz toxiques ([Barsan et Weimar, 2003](#)). Les capteurs chimiques ont joué un rôle très important dans la détection de polluants, et des espèces de gaz industriellement importants toxiques, tels que les NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>, CO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub> et

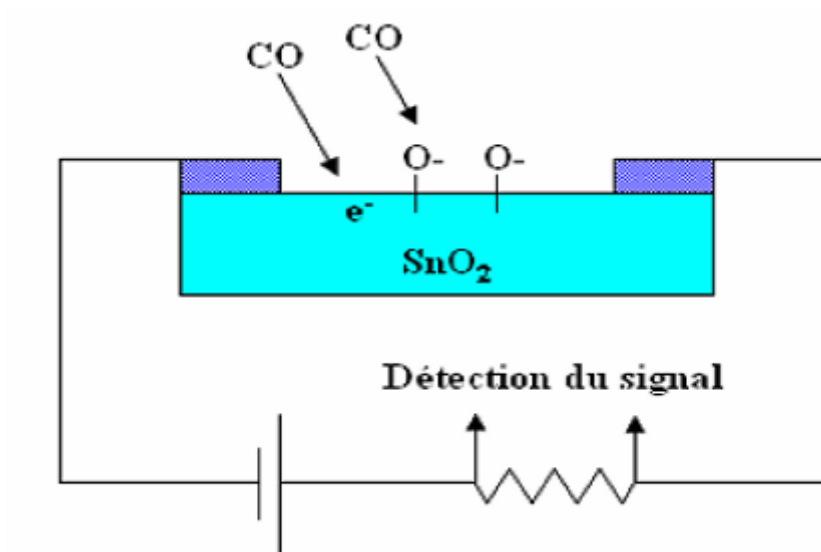
H<sub>2</sub>S. En raison de leur sensibilité élevée aux gaz cibles et la simplicité de leur fabrication, les semi-conducteurs à oxyde métallique, tels que In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO et SnO<sub>2</sub>, ont été largement choisis en tant que matériaux de détection (Chen *et al.*,2006).

L'utilisation de l'oxyde d'étain a conduit à l'apparition du premier capteur semi-conducteur commercial en 1968 (société Figaro), destiné à la détection des fuites de gaz domestiques (Jaffrezic *et al.*,2002).

Les propriétés électriques de SnO<sub>2</sub> peuvent changer en présence de certains gaz qui s'adsorbent à la surface ou niveau des joints de grains du matériau. La molécule adsorbée peut capturer un électron libre. Il en résulte une réduction de la conductivité électrique.

Le rapport entre les résistivités, avant et après la mise en présence du gaz, est appelé sensibilité du capteur.

Il est noté que le gaz à détecter ne doit pas nécessairement être adsorbé à la surface du capteur, il peut venir perturber les espèces oxygénées déjà présentes à la surface et modifier ainsi les valeurs de résistivité. Un exemple de capteur à gaz à base du SnO<sub>2</sub> est présenté (figure.I.12) , pour la détection du monoxyde de carbone CO (Yahiaoui,2014).



**Figure.I.12. Exemple de capteur à CO basé sur une couche mince de SnO<sub>2</sub>.**

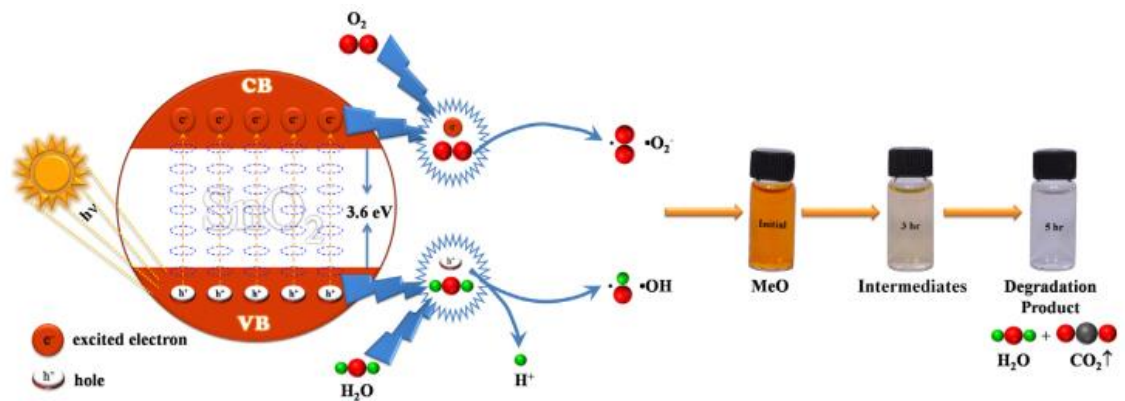
### I.9.3.2. La photocatalyse

Les effluents toxiques des industries sont très graves préoccupations pour l'environnement et beaucoup d'attention a été portée en direction de l'élimination des contaminants nocifs des eaux usées.

Comme les nanostructures de SnO<sub>2</sub> présentent de nombreux avantages, uniques, comme une petite taille de grains, une faible densité, une porosité élevée, une surface spécifique élevée et un rapport surface-volume important, il s'ensuit que l'utilisation de SnO<sub>2</sub> comme photo-catalyseur est toute indiquée (Xin *et al.*,2012).

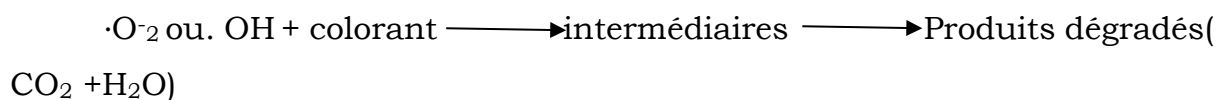
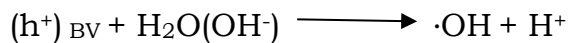
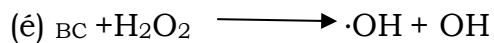
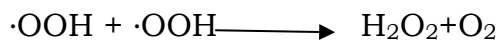
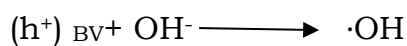
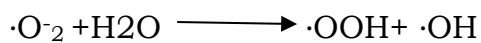
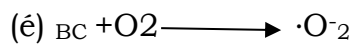
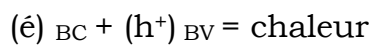
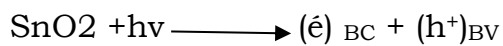
Par exemple, l'étude de la dégradation Photocatalytique du colorant de l'orange méthylique en utilisant des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, qui a été présentée par (Anandan et Rajendran,2015). La figure.I.13, illustre une vue schématique de cette dégradation.





**Figure.I.13. Profil schématique de la dégradation du photocatalyseur SnO2 semi-conducteur du colorant à l'orange méthylique (Anandan et Rajendran,2015).**

L'ensemble de réaction possible pour la dégradation Photocatalytique du colorant orange méthylique est donné comme suit :



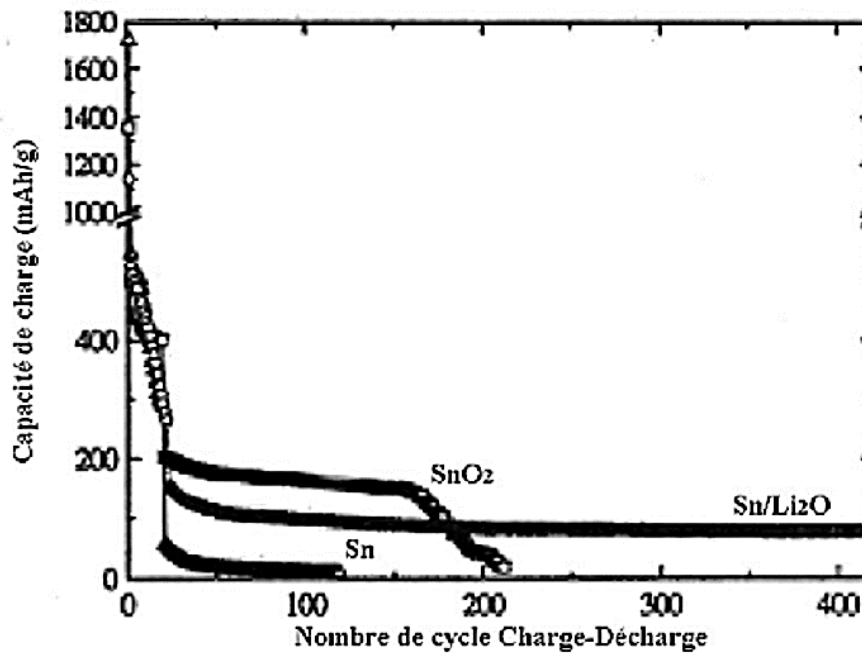
### **I.7.3.3. Piles au lithium**

Pour la fabrication des piles à accumulation, le lithium est depuis longtemps utilisé du fait de sa forte densité en énergie et ses capacités de stockage énergétique. Dans le cas de telles piles, le composé au lithium constitue la cathode et l'anode est composée de carbone graphite. Afin de limiter l'utilisation de ce dernier, et ceci pour diminuer l'encombrement lié au carbone tout en augmentant les capacités énergétiques des piles, les recherches se sont tournées vers l'association du lithium avec de nombreux oxydants dont l'oxyde d'étain (Goward *et al.*,2000) et (By Xiong *et al.*,2009).

Wang *et al* en 2009 rapportent que des feuilles de SnO<sub>2</sub> extrêmement minces, assemblées, avec des épaisseurs minimales de 1,5-3,0 nm, possèdent une grande surface et un volume extraordinairement élevé des pores, conduisant à d'excellentes performances dans les batteries au lithium-ion. Jianfeng *et al* en 2010 ont démontré que les nanotubes de SnO<sub>2</sub> réalisent de belles performances en tant que matériau d'anode dans les batteries lithium-ion.

Par ailleurs, l'utilisation d'un composé mixte à base de SnO<sub>2</sub>, permet d'augmenter considérablement le nombre de cycles de charge-décharge possibles des accumulateurs même si les capacités de charge sont plus faibles en comparaison avec l'oxyde d'étain pur.

La figure I.14 rend compte de ces résultats.



**Figure I.14. Évolution de la charge électrique de différentes couches :**

**Sn/LiO<sub>2</sub>, Sn ou SnO<sub>2</sub> (Nam *et al.*,2000)**

#### I.9.3.4. Électrodes

L'oxyde d'étain peut être utilisé comme anode dans les processus électrochimiques d'oxydation de composés organiques comme le phénol par exemple. [Kotz \*et al\* en 1991](#) montrent dans leurs travaux que lors de la décomposition électrochimique du phénol dans une solution basique (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 N), les premiers intermédiaires de décomposition sont l'hydroquinone et la benzoquinone. Dans le cas où l'on utilise une électrode d'oxyde d'étain (en remplacement des électrodes en platine ou titane généralement utilisées), les intermédiaires d'oxydation du phénol sont formés en beaucoup plus faible quantité et sont plus rapidement détruits.

Les nanofils de SnO<sub>2</sub> peuvent également être proposées en tant que matériau d'anode prometteuse parce que la structure de nanofils est d'un intérêt particulier avec les prédictions des propriétés électroniques et structurales uniques ([Park \*et al.\*,2007](#)).

### **I.9.3.5. Photovoltaïque**

Dans le domaine des applications photovoltaïques, l'oxyde d'étain est utilisé pour sa forte conductivité électrique, sa transmission optique élevée et sa bonne résistance chimique. En jouant le rôle de couche transparente conductrice, il permet la collecte d'électrons suite à l'interaction photons/semiconducteur et à la génération de paires électrons /trous en excès. La figure Z montre un exemple d'utilisation de SnO<sub>2</sub>

Par ailleurs, l'utilisation de dopants comme l'antimoine ou le fluor permet d'augmenter la conductivité électrique des couches tout en conservant les propriétés chimiques et optiques désirées, induisant une amélioration des performances de SnO<sub>2</sub> dans le domaine photovoltaïque ([Vázquez-Arreguín et al.,2016](#)).

## **I.10. Modèles biologiques utilisés**

Cette partie est consacrée à la présentation de deux modèles biologiques que nous avons utilisés pour cette étude à savoir, les bactéries car elles sont aujourd'hui le plus souvent transmises à l'homme et un bioindicateur de la pollution d'eau douce, la paramécie en l'occurrence, car elle est considérée comme parfaitement appropriée pour étudier la cytotoxicité des NPs SnO<sub>2</sub> .

### **I.10.1. Bactéries**

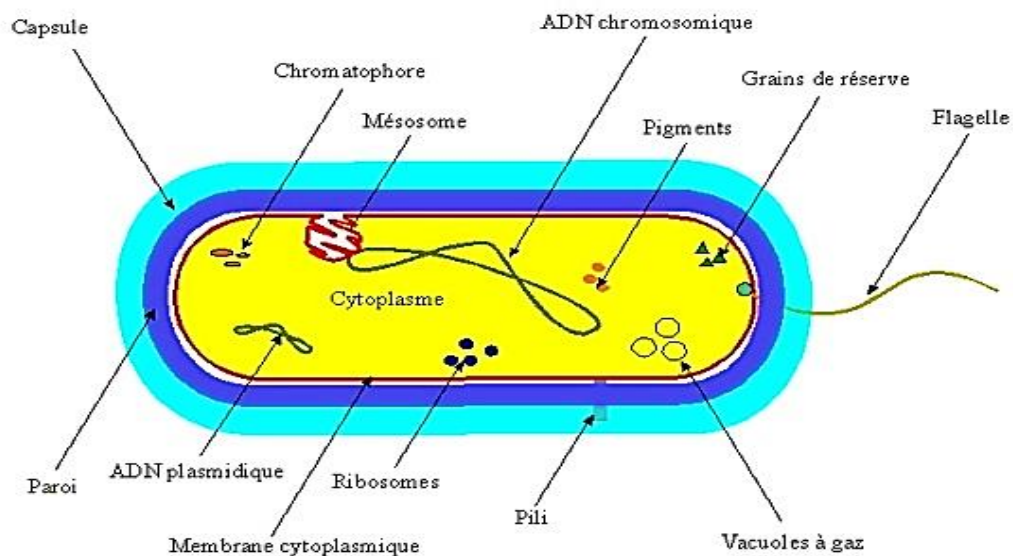
#### **I.10.1.1. Définition**

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires simples et sans noyau (procaryote). Leur taille est de l'ordre du micromètre (µm), comprise entre 200 nm (nano bactéries) et 1 mm (bactéries géantes) ; il existe trois formes de bactéries ([Baek et An, 2011](#)), sphérique, cylindrique/en forme de bâtonnet ou encore incurvée ou en spirale.

### I.10.1.2. Structure des bactéries

Toutes les espèces bactériennes comprennent obligatoirement certains éléments comme la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme et le génome et facultativement chez certaines espèces, les plasmides qui sont des molécules d'ADN double brin qui se répliquent indépendamment du chromosome, la capsule qui est habituellement de nature polysaccharidique et consiste en un polypeptide de l'acide D-glutamique, les flagelles qui sont des structures inconstantes chez les bactéries et ce sont des appendices filamenteux, composés entièrement de protéines, de 6 à 15 µm de long sur 12 à 30 nanomètres d'épaisseur et les pili qui sont appendices de surface plus courts et plus fins que les flagelles. Chacun de ces éléments joue un rôle dans la vie de la cellule de la propension à résister à des agressions extérieures, celle des nanoparticules par exemple.

La figure I.15 schématise l'anatomie d'une bactérie.



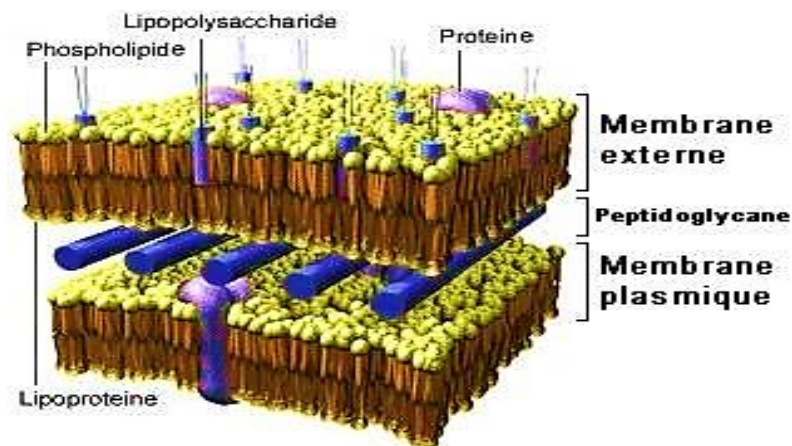
**Figure I.15. Anatomie d'une bactérie**

### I.10.1.3. Différents types de bactéries

On peut classer les bactéries grâce à la coloration de Gram, qui distingue deux types de bactéries : les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif.

#### a. Bactéries à Gram négatif

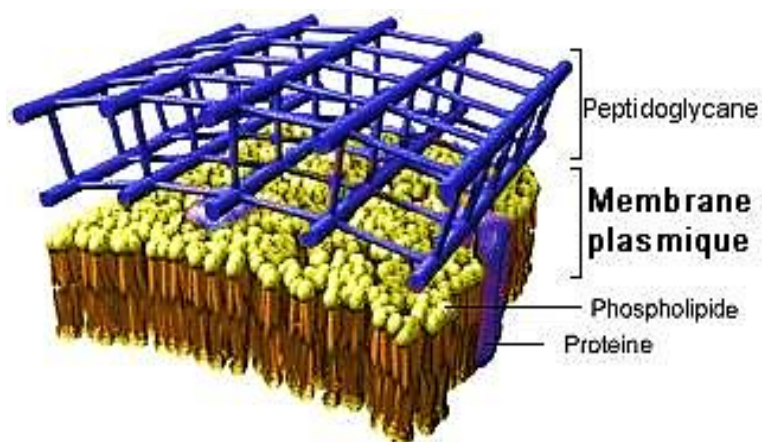
Ce sont des bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, d'une mince paroi de peptidoglycane, et d'une membrane externe ; la minceur de la paroi explique le caractère gram-négatif. Elles se distinguent clairement des autres eubactéries par la structure du peptidoglycane et par la présence d'une membrane externe (Normak et Normak, 2002).



**Figure I.16. Paroi d'une bactérie à Gram négatif**

#### b. Bactéries à Gram positif

Ce sont des bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, doublée d'une épaisse paroi de peptidoglycane et dépourvues d'une membrane externe. Le caractère gram-positif est dû à l'épaisseur de la paroi et au taux de pontage élevé du peptidoglycane. Lorsque la paroi est trop mince pour que la coloration soit nettement positive, la bactérie est néanmoins classée comme gram-positif, si elle n'a pas de membrane externe (Normak et Normak, 2002).



**Figure I.17. Paroi d'une bactérie à Gram positif**

## **I.10.2. Caractéristiques des souches bactériennes étudiées**

### **I.10.2.1. Le genre *Pseudomonas***

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe  $\gamma$  des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis *et al.*, 2000 ; Palleroni et Moore, 2004).

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif de 0.5 à 1.0  $\mu\text{m}$  sur 1.5 à 5.0  $\mu\text{m}$  de long, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires (Palleroni, 2008).

Le genre *Pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification. Elles sont aussi catalase positive, mésophile et chimio-organotrophe (Stanier *et al.*, 1966).

L'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa*, est l'espèce la plus fréquemment isolée en bactériologie médicale. Elle possède un grand nombre de facteurs de virulence jouant un rôle dans la survie de la bactérie et l'invasion des tissus. Il possède des pilis de type IV permettant l'adhésion aux épithéliums (Mammerie, 1993).

#### **I.10.2.2. Le genre *Staphylococcus***

Les *Staphylocoques* sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal.

Ce sont des Cocci à Gram positif de 0.5 à 1.5 microns de diamètre, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, catalase-positif et oxydase-négative. La production d'une coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus*, qui est un germe commensal des flores cutanées et digestives (Wertheim *et al.*, 2005).

De nombreuses souches de *S. aureus* deviennent de plus en plus résistantes à de nombreuses classes d'antibiotiques, tel que les souches résistantes à la méthicilline (SARM) et les souches résistantes à la vancomycine (SARV), qui sont de fréquentes causes d'infections nosocomiales (Eisenstein, 2008 ; Hansra et Shinkai, 2011).

#### **I.10.2.3. Le genre *Acinetobacter***

Le genre *Acinetobacter* appartient à la famille des *Neisseriaceae* qui comprend le genre *Neisseria*, *Moraxella-Brahamella* et le genre *Acinetobacter*.

Ce sont des coccobacilles à Gram négatif, immobiles, courts, de diamètre largement supérieur à un micromètre et de longueur variant d'un micromètre (formes coccoïdes), trois à cinq (formes bacillaires habituelles) ou plus (formes filamenteuses).

Ce sont des aérobies stricts souvent encapsulés, ne réduisant pas les nitrates, catalase positifs et oxydases négatifs (Avril *et al.*, 2000). Ils sont habituellement saprophytes, présents dans la nature (eau et sol), mais peuvent aussi être trouvés parmi la flore normale de l'homme (peau, voies respiratoires, voies génitales).

Ils sont fréquents dans l'environnement hospitalier (cathéters, lavabos, air, etc.). Leur résistance habituelle à de nombreux antibiotiques leur assure une place de choix comme agents de surinfection (Ferron, 1984).



#### **I.10.2.4. Le genre *Streptococcus***

Le genre *Streptococcus* appartient au phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli, à l'ordre des *Lactobacillales* et à la famille des *Streptococcaceae*. Les streptocoques possèdent une morphologie cellulaire caractéristique : des cellules en forme de coques à coloration de Gram positive, immobiles, organisées sous forme de chainettes de longueur variable, ont une taille comprise entre 0,5 et 1µm de diamètre, possédant un génome dont le pourcentage en bases G et C est bas (Farrow et Collins, 1984 ; Tettelin *et al.*, 2002). Ce sont des bactéries non sporulantes et rarement capsulées. Elles possèdent un métabolisme anaérobie mais peuvent, pour certaines, être aéro-tolérantes, dépourvu d'activité catalase (Dellaglio, 1994).

Au sein du genre *Streptococcus*, une analyse comparative des ARNr 16S a permis de distinguer 6 groupes (le groupe pyogénique, le groupe anginosus, le groupe mitis, le groupe salivarius, le groupe bovis et le groupe mutans) englobant 34 espèces (Bentley *et al.*, 1991 ; Kawamura *et al.*, 1995).

#### **I.10.2.5. Les Entérobactéries**

Le nom « entérobactérie » fait référence à la localisation de cette famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement le côlon de l'homme et des animaux.

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante : ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 µm de long sur 0,3 à 1 µm de large, immobiles tel que *Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis* ou mobiles grâce à une ciliature péritriche, aérobie anaérobies facultatifs, se développant aisément sur milieu ordinaire, fermentant le glucose, ne possédant pas d'oxydase, possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae*, réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*), leur

culture est facilement réalisée sur les milieux usuels (Denis *et al.*, 1998 ; Farmer, 1985; Le Minor et Veron, 1989).

Le pourcentage en G C de leur ADN est échelonné entre 39 et 59, ce qui permet de les différencier des *Pseudomonas* et des *Vibrionaceae* (Farmer, 1999 ; Le Minor et Veron, 1989).

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. 130 espèces sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp.), soit encore saprophytes (*Serratia* spp., *Enterobacter* spp) (Decoster, 2005 ; Morice, 2003).

#### **I.10.2.6. Le genre *Enterococcus***

Les entérocoques sont des micro-organismes ubiquitaires. Leur réservoir principal est le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Relativement résistants. Ce sont des Cocci à Gram positif, anaérobies facultatifs, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamime, 2002 ; Ho *et al.*, 2007).

Longtemps classés au sein du genre *Streptococcus*. En effet, ils prennent typiquement le même aspect de diplocoques ou de courtes chainettes. Les entérocoques sont généralement  $\alpha$ - ou non-hémolytiques, mais certaines espèces peuvent être  $\beta$ -hémolytiques selon les conditions de culture (Bouvet, 1994). Ils peuvent entraîner des infections des voies urinaires, des plaies et des tissus mous (Teixeira *et al.*, 2007 ; Ryan, 2004). Les *Enterococcus* sont des bactéries moins exigeantes qui peuvent être isolés sur gélose ordinaire. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *E. faecalis* et les espèces proches.

#### **I.10.2.7. Le genre *Bacillus***

Le genre *Bacillus*, famille des *Bacillaceae*, est le plus vaste de l'ordre des *Bacillales*. Ce sont des bactéries à Gram positifs, à spore terminale, subterminale ou centrale, aérobies facultatives ou aérobies strictes (Larpen, 1997), chimio-hétérotrophes, généralement mobiles, avec des flagelles péritriches, catalase positive. Beaucoup d'espèces de *Bacillus* ont une importance considérable. Certaines espèces produisent des antibiotiques comme la gramicidine et la polymyxine. *B. cereus* est responsable de certaines formes d'empoisonnement alimentaire. Plusieurs espèces sont utilisées comme insecticides (Prescott *et al.*, 2013).

#### **I.10.3. La paramécie**

Les protozoaires aquatiques et particulièrement les ciliés, notamment, paramécies, sont largement utilisés dans l'évaluation de la qualité des écosystèmes aquatiques vu leur intérêt écologique, leur distribution, leur rôle important dans les chaînes trophiques ainsi que leur sensibilité à une large gamme de toxiques. Il convient de souligner, aussi, que ces espèces sont des cellules hautement organisées sur lesquelles on peut aisément travailler (Azzouz, 2012).

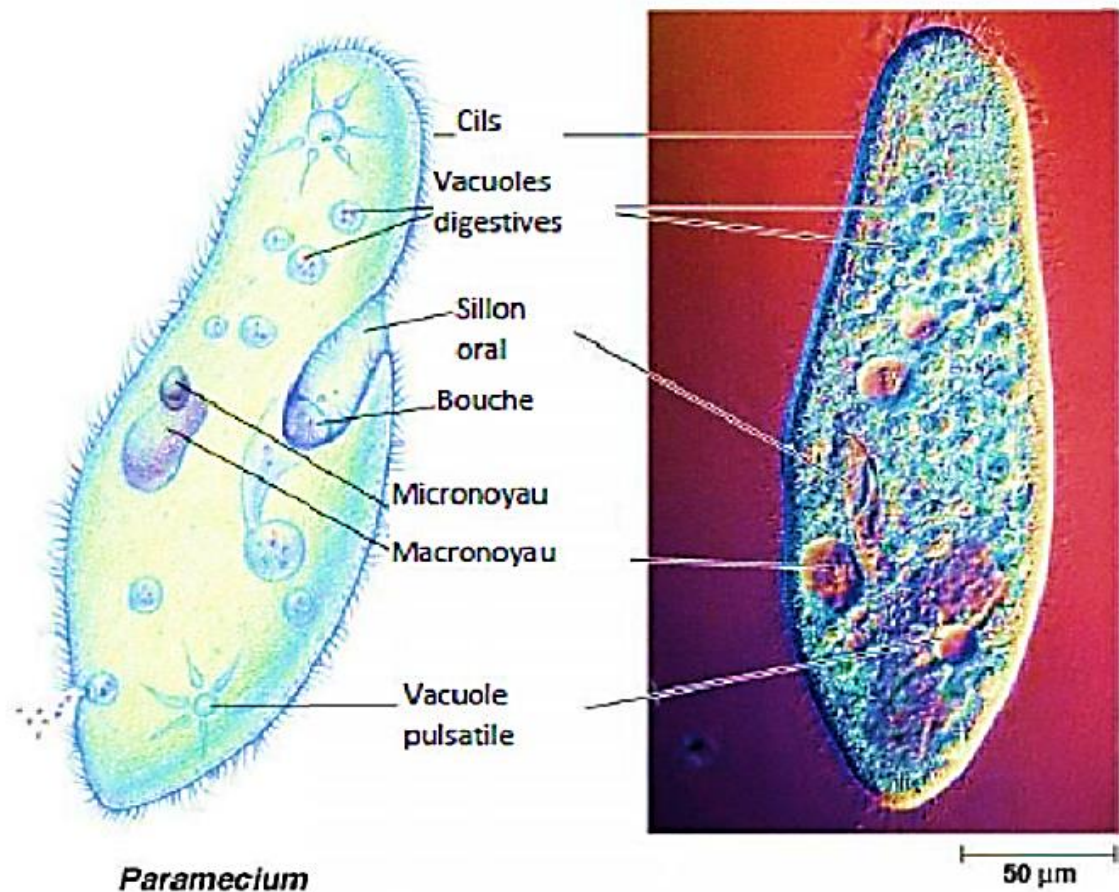
##### **I.10.3.1. Généralités**

La paramécie (*Paramecium Tetraurelia*) est un genre bien connu de protozoaire cilié. Elle est l'un des premiers organismes unicellulaires à avoir été observé au microscope. La dimension de ces organismes unicellulaires est comprise entre 70 et 350  $\mu\text{m}$ , selon les espèces prises en considération. La paramécie utilise des cils pour se déplacer et se nourrir. La ciliature somatique, qui recouvre la cellule et bat de façon synchronisée, lui permet de se déplacer. Une ciliature orale distincte couvre la grande invagination ventrale en forme d'entonnoir, le péristome, qui mène jusqu'au cystotome (la bouche). Elle se nourrit essentiellement de bactéries par phagocytose (Beaumont et Cassier, 1998).

Le genre *Paramecium* inclut environ quinze (15) espèces, actuellement enregistrées, mais moins de dix (10) peuvent être considérés comme *Paramecium* vrai (Beaumont et Cassier, 1998).

La paramécie vit isolée en eau douce. Elle fait partie des « infusoires » : elle apparaît en grand nombre dans les infusions de végétaux, rendant sa culture et son étude aisée. Certains chercheurs classent la paramécie comme étant l'ancêtre de la cellule animale (Beaumont et Cassier, 1998).

La structure de la paramécie est représentée dans la figure I.18



**Figure.I.18. Représentation de la structure d'une paramécie** (Génoscope, 2007)

### **I.10.3.2. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif**

Les paramécies sont non seulement caractérisées par une organisation complexe mais occupent, aussi, une place importante dans le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce. Elles sont, donc, d'excellents bioindicateurs. D'autre part, elles représentent d'énormes avantages tels que leurs réponses vis-à-vis des produits toxiques peuvent être similaires à celles des organismes pluricellulaires, et leur mobilité grâce à des cils possédant la même structure que ceux des cellules épithéliales respiratoires des Mammifères (Graf *et al.*,1999), de plus, les battements ciliaires chez les Mammifères sont parfaitement comparables à ceux de la paramécie, *Tetrahymena* .....etc., (Berrebbah,1990).

Les paramécies sont relativement résistantes aux fortes concentrations des polluants (Takahashi *et al.*,2005) et elles permettent l'étude des mécanismes d'action des Xénobiotique à l'échelle cellulaire et subcellulaire, aussi leur sensibilité en tant que cellules eucaryotes et leur organisation exposent leurs récepteurs à l'environnement externe, les faisant réagir à des stimuli environnementaux (Venkateswara, 2006). Dans ce contexte, l'utilisation des ciliés est devenue un outil précieux pour la détection des perturbations environnementale (Madoni *et al.*, 2006 et Amaroli, 2009) ; d'autre part leur facilité à être cultivé en laboratoire, leur multiplication rapide (cycle de vie court) ainsi que leur moindre coût (Beal et Anderson, 1993 ; Kamola,1995).

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Haddad, A. 2011. Caractérisation non destructive des matériaux nanostructurés élaborés par mécanosynthèse (Doctoral dissertation, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (USTHB)).

McHenry, M. E., Willard, M. A., & Laughlin, D. E. 1999. Amorphous and noncrystalline materials for applications as soft magnets. *Progress in Materials Science*, 44(4), 291-433.

Herzer, G. 1997. Noncrystalline soft magnetic alloys. *Handbook of Magnetic Materials*, 10,415-462.

Jordan, A., Scholz, R., Wust, P., Fähling, H., & Felix, R. 1999. Magnetic fluid hyperthermia(MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible super paramagnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism andMagneticMaterials*,201(1),413-419.

Marc Depuis, M. 2001. "série Augo, « nanomatériaux ».

Baibich, M. N., Broto, J. M., Fert, A., Van Dau, F. N., Petroff, F., Etienne, P., & Chazelas, J.1988. Giant magnetoresistance of (001) Fe/ (001) Cr magnetic super lattices. *Physical Review letters*, 61(21), 2472.

Lu, K. 1996. Nanocrystalline metals crystallized from amorphous solids: nanocrystallization, structure, and properties. *Materials Science and Engineering: R: Reports*,16(4),161-221.

Hirsch, T., Zharnikov, M., Shaporenko, A., Stahl, J., Weiss, D., Wolfbeis, O. S., & Mirsky, V.M. 2005. Size-Controlled Electrochemical Synthesis of Metal Nanoparticles on Monomolecular Templates. *Angewandte Chemie International Edition*,44(41),6775-6778.

Lu, L., Sui, M. L., & Lu, K. 2000. Super plastic extensibility of nanocrystalline copper at room temperature. *Science*,287(5457),1463.

Zhan, G. D., Kuntz, J. D., Garay, J. E., & Mukherjee, A. K. 2003. Electrical properties of nanoceramics reinforced with ropes of single-walled carbon nanotubes. *AppliedPhysicsLetters*,83(6),1228-1230.

Bergeul, S. 2006. Contribution à l'étude des nanocomposites à base de fer élaboration et caractérisation (doctorat d'état, Université de Saad Dahleb-BLIDA).

Zeyons, O. 2008. Études des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

Afsset, A. 2006. Les nanomatériaux.

Pool.C. P, Owens.F.J.2003.Introduction to Nanotechnology. Woly-Interscience.

Union Européenne .2008. Recommandation de la commission du 7 février 2008.

Rossano, M .2014. Utilisation des nanoparticules de dioxyde de titane dans les émulsions cosmétiques Impact sur la santé humaine et l'environnement

Peters, A., Wichmann, H. E., Tuch, T., Heinrich, J., and Heyder, J. 1997. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am J Respir Crit Care Med*, 155(4) :1376–1383.

Brunekreef, B. 1997. Air pollution and life expectancy: is there a relation *Occup Environ Med*, 54(11) :781–784.

Maynard, A. and Maynard, R. 2002. A derived association between ambient aerosol surface area and excess mortality using historic time series data. *Atmospheric Environment*, 36 :5561–5567.

Ostiguy, C., Soucy, B., Lapointe, G., Woods, C., and Ménard, L. 2008. Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules. Technical report, IRSST – Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.

Huang, Z. B., Zheng, X., Yan, D. H., Yin, G. F., Liao, X. M., Kang, Y. Q., Yao, Y. D., Huang, D., and Hao, B. Q. 2008. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir*, 24(8):4140–4144.

Reddy, K. M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D. G., Hanley, C., and Punnoose, A. 2007. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied Physics Letters*, 90(21):213902.

Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M. F., and Fievet, F. 2006. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Letters*, 6(4):866–870.

Franklin, N. M., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G. E., Gadd, G. E., and Casey, P. S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalga (*Pseudo-kirchneriella subcapitata*): The importance of particle solubility. *Environmental Science & Technology*, 41(24):8484–8490.



Zhang, L. L., Jiang, Y. H., Ding, Y. L., Povey, M., and York, D. 2007. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9(3):479–489.

Vigneshwaran, N., Kumar, S., Kathe, A. A., Varadarajan, P. V., and Prasad, V. 2006. Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide–soluble starch nanocomposites. *Nanotechnology*, 17:5087–5095.

Joo, J., Kwon, S., Yu, T., Cho, M., Lee, J., Yoon, J., and Hyeon, T. 2005. Large-scale synthesis of TiO<sub>2</sub> nanorods via nonhydrolytic sol-gel ester elimination reaction and their application to photocatalytic inactivation of *E. coli*. *Journal of Physical Chemistry B*, 109:15297–15302.

Verran, J. and Sandoval, G., Allen, N., Edge, M., and Stratton, J. 2007. Variables affecting the antibacterial properties of nano and pigmentary titania particles in suspension. *Dyes and Pigments*, 73:298–304.

Adams, L. K., Lyon, L. Y., and Alvarez, P. J. 2006. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Research*, 40:3527 – 3532.

Daoud, W. A., Xin, J. H., and Zhang, Y. H. 2005. Surface functionalization of cellulose fibers with titanium dioxide nanoparticles and their combined bactericidal activities. *Surface Science*, 599(1-3) :69–75.

Qi, K., Daoud, W., Xin, J., C.L., M., Tanga, W., and Cheunga, W. 2006. Self-cleaning cotton. *Journal of Materials Chemistry*, 16:4567–4574.

Elahifard, M. R., Rahimnejad, S., Haghghi, S., and Gholami, M. R. 2007. Apatite-coated Ag/AgBr/TiO<sub>2</sub> visible-light photocatalyst for destruction of bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, 129(31):9552.

Kiwi, J. and Nadtochenko, V. 2005. Evidence of the mechanism of photocatalytic degradation of the bacterial wall membrane at the TiO<sub>2</sub> interface by atr-ftir and laser kinetic spectroscopy. *Langmuir*, 21:4631–4641.

Sunada, K., Watanabe, T., and Hashimoto, K. 2003. Studies on photokilling of bacteria on TiO<sub>2</sub> thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 156:227–233.

Moore, M. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*, 32(8):967–976.

Neal, A. L. 2008. What can be inferred from bacterium-nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? *Ecotoxicology*, 17(5):362–371.

Xu, X. N., Brownlow, W. J., Kyriacou, S. V., Wan, Q., and Viola, J. J. 2004. Real-time probing of membrane transport in living microbial cells using single nanoparticles optics and living cell imaging. *Biochemistry*, 43 :10400–10413.

Valleron.A. 2011 Thèse de doctorat, l'École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.

Thangarajou.B. 2002. Structural and electrical studies on highly conducting spray deposited fluorine and antimony doped SnO<sub>2</sub> thin films from SnCl<sub>2</sub> Precursor Thin solid films; 402, 71-78.

Jasneet Kaur, Jyoti Shah, R.K. Kotnala, Kuldeep Chand Verma. 2012.Raman spectra, photoluminescence and ferromagnetism of pure, Co and Fe doped SnO<sub>2</sub> nanoparticles, *Ceramics International* 38, 5563–5570.

Godinho. K. G, A. Walsh, G. W. Watson. 2009. Energetic and Electronic Structure Analysis of Intrinsic Defects in SnO<sub>2</sub>, *J. Phys. Chem. C* 113, 439.

Mizusaki. J, H. Koinuma, Y.I. Shimoyama, K. Kawasaki, K. Fueki. 1990. High temperature gravimetric study on nonstoichiometry and oxygen adsorption of SnO<sub>2</sub>, J. Solid. State Chem 88, 443.

Jaffrezic-Renault. N, Pijolat. C, Pauly. A, Brunet.J, Varenne .C, Bouvet .M, and Fabry .P. 2002. Materials for chemical sensors, Actualite Chimique, 172.

Barsan N and Weimar U. 2003. Understanding the fundamental principles of metal oxide based gas sensors; the example of CO sensing with SnO<sub>2</sub> sensors in the presence of humidity, J. Phys.: Condens. Matter 15 R813–R839.

Chen.Y. J, L. Nie, X. Y. Xue, Y. G. Wang, and T. H. Wang. 2006. Linear ethanol sensing of SnO<sub>2</sub> nanorods with extremely high sensitivity, applied physics letters 88, 083105.

Kuzhalosai. V, Subash. B, Senthilraja. A, Dhatshanamurthi. P, Shanthi.M. 2013. Synthesis, characterization and photocatalytic properties of SnO<sub>2</sub> –ZnO composite under UV-A light, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 115, 876–882.

Lin-Rui Hou, Chang-Zhou Yuan, Yang Peng. 2007. Synthesis and photocatalytic property of SnO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> nanotubes composites, Journal of Hazardous Materials B139 ,310–315.

Pawan Chetri, Priyanka Basyach, Amarjyoti Choudhury. 2014. Structural, optical and photocatalytic properties of TiO<sub>2</sub>/SnO<sub>2</sub> and SnO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>core–shell nanocomposites: An experimental and DFT investigation, Chemical Physics 434, 1–10.

Joseph W. Magee, Wei-Ping Zhou, Michael G. White. 2014. Promotion of Pt surfaces for ethanol electro-oxidation by the addition of small SnO<sub>2</sub>nanoparticles: Activity and mechanism, Applied Catalysis B: Environmental 152–153, 397–402.

Xin Wang, Huiqing Fan, Pengrong Ren. 2012. UV light-assisted synthesis of coral SnO<sub>2</sub>: Characterization and its enhanced photo-catalytic properties, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 402, 53– 59.

Jianfeng Ye, Huijuan Zhang, Rong Yang, Xingguo Li, and Limin Qi. 2010. Morphology-Controlled Synthesis of SnO<sub>2</sub> Nanotubes by Using 1D Silica Mesoporous Structures as Sacrificial Templates and Their Applications in Lithium-Ion Batteries, *Small*, 6, No. 2, 296–306.

Wang Cen, Yun Zhou, Mingyuan Ge, Xiaobin Xu, Zaoli Zhang, and J. Z. Jiang. 2010. Large-Scale Synthesis of SnO<sub>2</sub> Nanosheets with High Lithium Storage Capacity, *J. AM. CHEM. SOC.* 132, 46–47.

By Xiong Wen Lou, Chang Ming Li, and Lynden A. Archer. 2009. Designed Synthesis of Coaxial SnO<sub>2</sub> and carbon Hollow Nanospheres for Highly Reversible Lithium Storage, *Adv. Mater.*, 21, 2536–2539.

Nam. S, Y. Yoon, W. Cho, B. Cho, H. Chun, K. Yun. 2000. "Charge/discharge performances of Sn/Li<sub>2</sub>O layered structured tin oxides thin film for negative electrode " Proceeding of the 197 th meeting of the Electrochemical Society, Toronto.

Pierson, H. O. 1999. *Handbook of Chemical Vapour Deposition* (Norwich, NY Noyes Publications.

Goward. G, L. Nazar, W. Power. 2000. "Electrochemical and multinuclear solid-state NMR studies of tin composite oxide glasses as anodes for Li ion batteries" *Journal of Material Chemistry.* 10, 1241.

Paul Lippens, Michal Büchel, David Chiu, Chris Szepesi. 2013. Indium–tin-oxide coatings for applications in photovoltaics and displays deposited using rotary ceramic targets: Recent insights regarding process stability and doping level, *Thin Solid Films* 532, 94–97.

Park Min-Sik, Guo-Xiu Wang, Yong-Mook Kang, David Wexler, Shi-Xue Dou, and Hua-Kun Liu. 2007. Preparation and Electrochemical Properties of SnO<sub>2</sub>Nanowires for Application in Lithium-Ion Batteries, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 750 –753.

Kotz. R, Stucki. S, Carcer. B. 1991. Electrochemical waste treatment using high overvoltage anodes. Part1: physical and electrochemical properties of SnO<sub>2</sub> anodes, *Journal of Electrochemistry*, 21, 14.

Hansen M. and K. Anderko. 1958. *Constitution of Binary Alloys*, McGraw-Hill, New York or General Electric Co., Business Growth Services, Schenectady, New York.

Beaumont et Cassier. 1998. *Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie*, 3ème édition DUNOD, pp : 123-143.

Berrebah, H. 1990. Étude du contrôle de la mobilité flagellaire et ciliaire par le calcium. Effet du lindane, insecticide organochloré. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VII : 144 pages.

Génoscope. 2007. Centre National de Séquençage. France.

Gräf, F. and Stahr, K.1999. A Soil and Terrain Map of SW-Niger (NiSOTER). In: *Atla of Benin and Niger*.

Kamola, Z. 1995. Notes on the Use of Invertebrates, especially Ciliates, in Studies Pollution and Toxicity. *Folia biological(Krakow)*, vol 43, No 1-2.

Madoni, P., Guiseppa, Roeo, M. 2006. Acute toxicity of heavy metals towards freshwater ciliated protests. *Environmental pollution*. (141): 1-7.

Venkateswara, J., Srikanth, K., Arepalli, S.K., Gunda, V.G. 2006. Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology,

behavior and generation time. *Pesticide Biochemistry and physiology*. (86): 131-137. doi: 10.1016/j.pestbp.2006.02005.

Beal, D.L., and Anderson, R.V. 1993. Response of Zooplankton to rotenone in a small pond. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 551-556.

Amaroli. 2009. Nitric oxide production inhibited by xenobiotic compounds in the protozoan *Paramecium primaurelia*. *Ecological Indicators*. 2010; (10):212-216. doi: 10.1016/j.ecolind.04.012.

Takahashi T, Yoshii M, Kawano T, Kosaka T, Hosoya H. 2005. A new approach for the assessment of acrylamide toxicity using a green paramecium, *Toxicol. In Vitro* 19,99-105.

Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. 2000. *Bactériologie clinique*. Paris: Ellipses, p 602.

Bentley, R. W., J. A. Leigh et M. D. Collins. 1991. "Intragenetic structure of *Streptococcus* based on comparative analysis of small-subunit rRNA sequences." *Int J Syst Bacteriol* 41(4): 487-94.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L., 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.

Bouvet A. 1994. Identification des entérocoques en microbiologie clinique. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 24 Suppl 1 :132-140.

Decoster A. 2005. Entérobactéries. FLM. P1-16. Sur le lien : <http://anne.decoستر.free.fr/btelechar/bpoly/enteroba05.pdf>.

Dellaglio, F., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C. and Janssens, D. 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Bactéries lactiques. d. R. H. L. F.M., Lorica : 25-116.

Denis F., Dabernath, Monteil H. Avril J. L. 1998. Bactériologie clinique Edition marketing, Paris, ; 144-145.

Farrow, J. A. et M. D. Collins .1984. "DNA base composition, DNA-DNA homology and longchainfatty acid studies on Streptococcus thermophilus and Streptococcus salivarius." J GenMicrobiol 130(2): 357-62.

Farmer. 1985. Biochemical identification of new species and biogroup of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J. clin. Microbiol.21: 46-76.

Farmer. 1999. Enterobacteriaceae: Introduction and identification In : Manual of clinical Microbiology, P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, Tenover F.C. and R.H. Tenover (eds) 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC, :442-458.

Hansra, N. K., & Shinkai, K.2011. Cutaneous community-acquired and hospital-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Dermatologic Therapy, 24(2), 263-272.

Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., 2007. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.

Kawamura, Y., X. G. Hou, F. Sultana, H. Miura et T. Ezaki .1995. "Determination of 16S Rrna sequences of Streptococcus mitis and Streptococcus gordonii and

phylogenetic relationships among members of the genus Streptococcus." *Int J Syst Bacteriol* 45(2) : 406-8.

Larpent J. P.1997. *Microbiologie alimentaire, technology de laboratoire. Les levures.* Tec et Doc. Lavoisier : 464 – 472.

Le Minor L., Veron N. 1989. *Bactériologie Médicale.* Flam Med. Science, Paris, : 333-318 ; 773-823.

Mammerie. A ; Hadour. H et Merad AS .1993. *Etiologie des otite moyennes chroniques ; Mémoire WSTHB.*

Morice V. 2003. *Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants.* Sur le lien :

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>.

Palleroni, N.J. and Moore, E.R.B., 2004. *Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches.* In "Pseudomonas", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis, pp. 3-44.

Palleroni, N.J., 2008. *The road to the taxonomy of Pseudomonas.* In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology.* Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.

Ryan, K. J.2004. *Streptococci and Enterococci.* In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Disease* (4th ed., pp. 294-296). New York: McGraw-Hill.

Stanier, R.Y, Palleroni, N.J. and Doudoroff, M.1966. *The aerobic pseudomonads, a taxonomic study.* *J. Gen. Microbiol.* 43: 159-271.



Tamime A.Y.2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

Teixeira, L. M., Carvalho, Maria da Gloria Siqueira, & Facklam, R. R. 2007. Enterococcus. In P. R. Murray (Ed.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 430-442). Washington D.C.: ASM

Tettelin, H., V. Masignani, M. J. Cieslewicz, J. A. Eisen, S. Peterson, M. R. et al .2002. "Complete genome sequence and comparative genomic analysis of an emerging human pathogen, serotype V Streptococcus agalactiae." Proc Natl Acad Sci U S A 99(19): 12391-6.

Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, et al. 2005. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis; 5: 751–62.

Bouwmeester .H, Sdekkers. M, Noordam.y.et all.2009. review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. Regul toxicol pharmacol,53,52-62.

Vázquez-Arreguín. R.,M. Aguilar-Frutis, C. Falcony-Guajardo, A. Castañeda-Galván, L. Mariscal-Becerra, S. Gallardo-Hernández, G. Alarcón-Flores and M. García-Rocha.2016. Electrical, Optical and Structural Properties of SnO<sub>2</sub>:Sb:F Thin Films Deposited from Sn(acac)<sub>2</sub> by Spray Pyrolysis. *ECS J. Solid State Sci. Technol.* 5(3): Q101-Q107

Mazloom. J, Ghodsi F.E. 2013. Spectroscopic, microscopic, and electrical characterization of nanostructured SnO<sub>2</sub>: Co thin films prepared by sol-gel spin coating technique. Materials Research Bulletin 48, 1468–1476.

# **Chapitre II. Synthèse et Caractérisation des Nanoparticules de SnO<sub>2</sub>**

---

Le présent chapitre est consacré à la connaissance des outils utilisés pour obtenir (partie synthèse) et caractériser (partie caractérisation) nos nanomatériaux.

Concernant la partie synthèse le processus de broyage mécanique ou Mechanical Alloying (MA) est introduit sous des aspects les plus important ; la deuxième voie plus chimique est quant à elle abordée en présentant les protocoles suivis, au demeurant classique et consignés clairement dans la littérature.

Concernant la partie caractérisation, les techniques expérimentales utilisées pour connaître les propriétés structurales (DRX), morphologiques (MEB) et optique (FTIR et spectrométrie UV-Visible) de nos nanomatériaux ont été abordées, tant du point de vue de leur principe d'abord que de ceux des résultats et analyses qui ont en été déduits.

En résumé, ce chapitre permet de mieux faire connaissance avec des produits que nous avons localement obtenus et qui vont être localement testés dans des applications d'intérêt public.

---

## **II.1. Obtention des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>**

Deux démarches expérimentales ont été adoptées pour obtenir nos échantillons. La première consiste à broyer mécaniquement des particules sous haute énergie. Ce processus est souvent appelé Mechanical Alloying (MA) ; la deuxième voie utilisée est à caractère purement chimique (synthèse par la méthode de co-précipitation chimique).

Nous allons successivement et brièvement les présenter.

### **II.1.1. Broyage mécanique**

#### **II.1.1.1. Préparation des échantillons**

Dans notre travail, nous avons utilisé un produit commercial, l'oxyde d'étain en poudre (sigma-Aldrich), dont la pureté est de 99,99%. Le broyage des poudres est effectué selon des cycles de 30 minutes ; afin d'éviter une éventuelle élévation excessive de la température à l'intérieur des jarres, le broyage est interrompu, pendant 30 min, toutes les demi-heures de broyage. Par la suite, la poudre, à quantité égale, est introduite dans les deux jarres, chacune contenant six billes en acier inoxydable, scellées par un couvercle muni d'un joint circulaire en téflon, ce qui permet de maintenir l'étanchéité de la jarre pendant le broyage et évite le contact entre l'atmosphère extérieure et la poudre, lors du traitement mécanique.

Il est important de relever que cette opération s'est produite dans une boîte à gants et a nécessité un pompage primaire initial, ainsi qu'une injection de gaz neutre, l'argon en l'occurrence, dont le flux est maintenu constant et continu jusqu'à ce qu'on soit sûr que l'atmosphère régnant dans les jarres est inerte ; ce n'est qu'à la fin de ce processus que ces dernières sont soigneusement fermées à l'aide des serres joints et par la suite, transférées de la boîte à gants vers le broyeur pour être fixées sur le support de rotation.

La figure II.1 représente une image caractérisant la boîte à gants que nous avons utilisée



**Figure II.1 : Exemple de boîte à gants (au laboratoire)**

C'est une boîte en plexiglas de forme trapézoïdale, elle comprend deux orifices circulaires qui servent à la fixation des gants, deux autres entrées ; la première (A) est reliée à une pompe primaire, pour évacuer les gaz et créer un vide de  $10^{-3}$  bar en quelques minutes (les gants se gonflent fortement), alors que la deuxième (B) sert à injecter un flux permanent de gaz inerte, Ar (les gants se dégonflent). La circulation du flux d'argon (Ar) est maintenue durant le pompage primaire.

Une fois ce protocole expérimental scrupuleusement suivi, l'opération de broyage peut enfin être lancée, elle est réalisée à température ambiante.

Le broyage est effectué en utilisant des billes en acier inoxydable d'un diamètre de 12,7 mm et d'une masse de 12,5 g. Le rapport en pourcentage

entre les billes et la poudre est de 97/3 et la vitesse de rotation maintenue à 200 tours par minute durant différents temps de broyage. Les broyages ont été réalisés à différents temps : 0, 1 et 3 h ;

### II.1.1.2 Description du broyeur planétaire P7

Pour notre étude, nous avons utilisé un broyeur planétaire de type Fritsch Pulverisette 7, constitué de deux jarres qui tournent autour d'un axe vertical (son propre axe), en sens inverse du mouvement de rotation animant le plateau (disque) qui le porte.

Le broyeur utilisé (figure II.2) est disponible au laboratoire de chimie des matériaux inorganiques de l'université de Annaba.



**Figure II.2. Image d'un broyeur planétaire (Fritsch Pulverisette 7), P7.**

### **II.1.2. Élaboration des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> par voie chimique**

Pour la préparation des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures et dopées Ag et Fe, nous avons utilisé la méthode de co-précipitation chimique. Les protocoles opératoires existent dans la littérature.

#### **II.1.2.1. Élaboration des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pur.**

La synthèse de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> est démarrée avec l'addition de 5 g de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O dans un mélange de 55 ml d'eau désionisée et 25 ml d'éthanol qu'on laisse sous agitation pendant 5 min. Dans une seconde étape, 5 ml HCl sont ajoutés goutte à goutte à la solution initiale. Après agitation pendant 15 minutes, la solution est fixée à pH 8.5 par addition goutte à goutte d'ammoniaque. On agite cette solution pendant 2-3 heures à 80 °C. Une solution jaune se forme, elle est lavée à l'eau désionisée et à l'éthanol pour éliminer les impuretés, du chlore principalement. Les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sont obtenues après recuit à 1000 °C (Chetri et Choudhury,2013).

#### **II.1.2.2. Élaboration des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopé.**

Les nanoparticules de Ag-SnO<sub>2</sub> sont obtenues par la méthode de Co-précipitation qui consiste en la dissolution simultanée de 12 g de chlorure d'étain (SnCl<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) et de nitrate d'argent dans 100 ml d'eau déminéralisée et NH<sub>4</sub>OH ajoutées dans le mélange ci-dessus jusqu'à ce que le pH de la solution soit égal à 7. Le précipité formé est ensuite agité à la température ambiante, pendant 2 h et lavé avec de l'eau déminéralisée et l'éthanol absolu plusieurs fois, afin d'éliminer les ions Cl<sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Enfin, le précurseur obtenu est séché à 200 °C pendant 2 h dans un four à air chaud, suivi d'une calcination à 700 °C pendant 3 heures pour obtenir une poudre fine (Vignesh et al ;2013). Concernant la synthèse de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Fe, le même protocole expérimental est suivi, sauf que le produit de départ est un chlorure de fer hydraté, (FeCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) en l'occurrence.

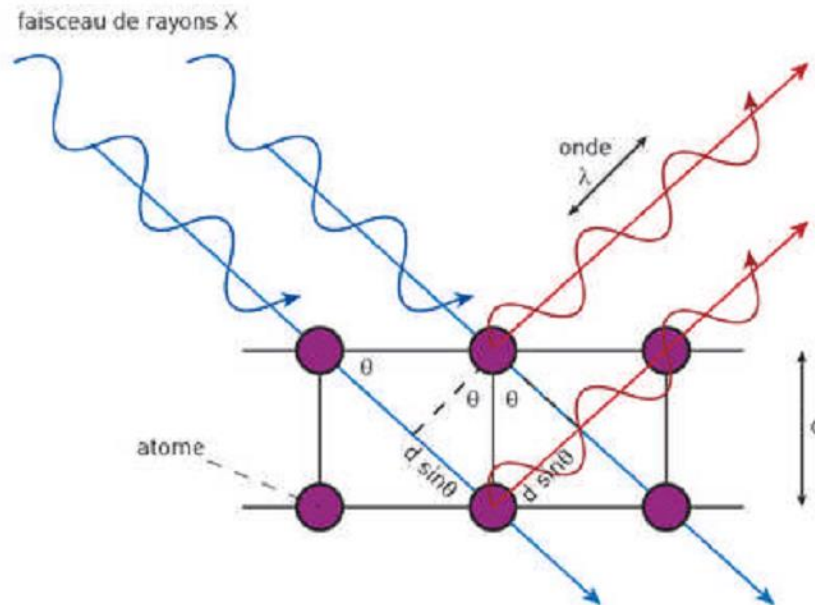
## II.2. Techniques de caractérisation.

### II.2.1. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X (DRX) est mise en œuvre pour la détermination de la structure cristalline et la taille moyenne des cristallites de SnO<sub>2</sub>.

#### Principe :

Lorsqu'un faisceau de rayons X monochromatique est dirigé sur un matériau solide, il est en partie réfléchi par les plans atomiques de certaines cristallites. Pour que la diffraction des photons X soit mesurée, l'incidence du faisceau par rapport aux plans atomiques doit avoir lieu sous un angle particulier. Il faut en effet que les ondes réfléchies soient en phase de sorte à interférer de manière constructive pour ensuite être mesurées par le détecteur, comme il est illustré à la figure.II.2.



**Figure. II.3. Représentation des conditions de Bragg dans un cristal** (Pandikumar *et al.*,2010).

Les conditions nécessaires à cette interférence constructive sont données par la loi de Bragg :

$$2d_{hkl} \cdot \sin(\theta_{hkl}) = n \cdot \lambda \quad \text{II.1}$$

Avec :

$\theta_{hkl}$  : l'angle entre le faisceau incident et les plans diffractant d'indices de Miller (hkl).

$d_{hkl}$  : la distance interréticulaire entre les plans diffractant.

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

$n$  : l'ordre de la diffraction.

Le diffractomètre utilisé dans le cadre de ce travail est de type **Panalytical X'PERT** avec un détecteur **XCELERTOR**, du Département de Génie des Procédés de l'Université Abderrahmane Mira (Béjaia).

La source des rayons X est une anticathode de cuivre ( $\lambda_{CuK\alpha} = 1,5418 \text{ \AA}$ ) alimentée par un générateur tension-courant de 40 kV –30 mA. Les mesures sont effectuées sous un angle d'attaque de  $0.54^\circ$ , et un pas angulaire de  $0.017^\circ$  avec un temps d'acquisition 0.05s. Les diffractogrammes sont enregistrés dans l'intervalle angulaire  $2\theta = 20^\circ$  et  $80^\circ$ .

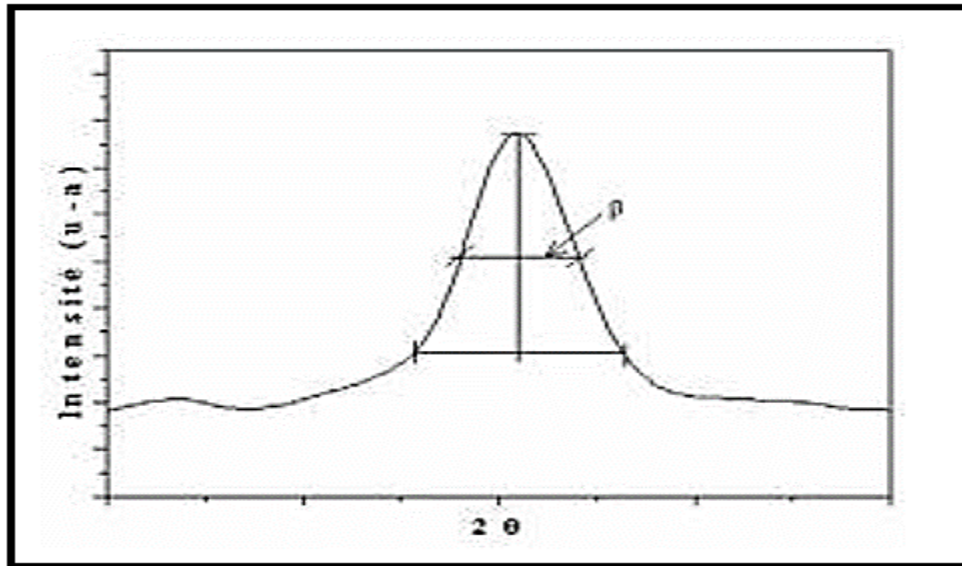
### II.2.2. Détermination de la taille des grains

L'analyse de diffraction des rayons X est un outil très important qui nous permet de calculer la taille moyenne des grains qui peut jouer un rôle important dans les propriétés physique (électrique, optique,) des matériaux. La détermination de la taille moyenne des grains "D" est déduite à partir de la largeur à mi-hauteur des pics de diffraction de rayon X suivant la formule de Scherrer. Plus les pics sont larges, plus les grains sont petits et inversement.



$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos(\theta)} \quad \text{II.2}$$

Où  $\lambda$  est la longueur d'onde des RX égale à 1.5406 Å dans notre cas,  $\theta$  est l'angle de Bragg du pic,  $\beta$  est la largeur à mi-hauteur des pics de diffraction qui s'exprime en radians (Scherrer.,1912).



**Figure II.4. Illustration montrant la définition de  $\beta$  à partir du pic de diffraction des rayons X**

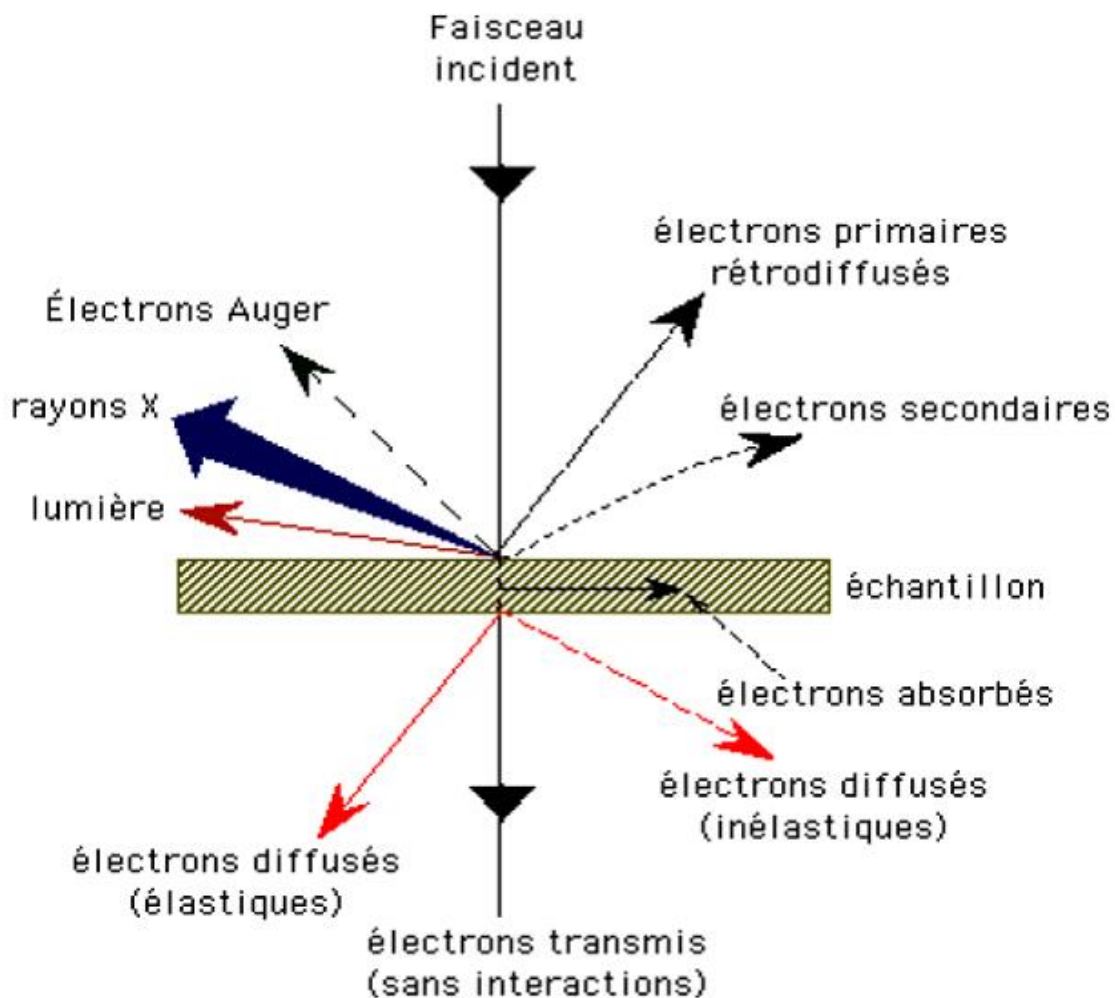
### II.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La Microscopie Électronique à Balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy en anglais) est une technique de microscopie basée sur le principe des interactions électrons-matière.

Un faisceau d'électrons, générés par une source et accélérés par un champ électrique pouvant varier de 1 à 40 kV est focalisé sur le matériau par des lentilles et balaie la surface de l'échantillon à analyser lequel, en réponse, réémet certaines particules, rayonnements et électrons de différentes énergies.

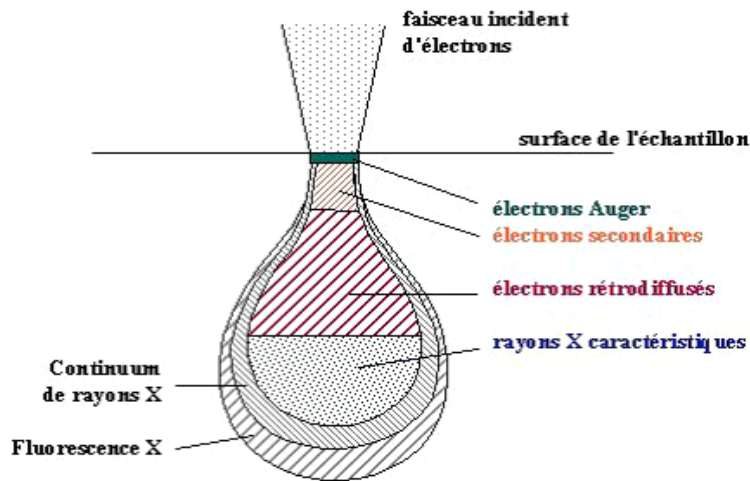
Des détecteurs permettent ensuite de les recueillir et de les analyser, ainsi que de reconstruire une image de la surface.

La figure. II.4. Illustre l'ensemble des radiations pouvant être émises lors de l'interaction entre le faisceau d'électrons et l'échantillon. Toutes ces radiations sont produites simultanément et rendent possibles à la fois l'observation et l'analyse d'un objet choisi.



**Figure. II.5. Différents types de particules émises par l'interaction entre les électrons incidents et l'échantillon (Sahel.,2004).**

Ces électrons qui irradient la surface de l'échantillon pénètrent profondément dans le matériau et affectent un volume appelé "poire d'interaction". La Figure II.5. Résume la situation.



**Figure II.6. Poire de diffusion**

Le volume ainsi créé dépend du numéro atomique moyen de l'échantillon et de l'énergie des électrons incidents. Dans ce volume d'interaction, les électrons du faisceau perdent leur énergie par collisions multiples avec les atomes du matériau, générant de nombreux phénomènes secondaires tels que la réémission d'électrons et de photons, l'absorption d'électrons, le courant induit, le potentiel électrique, l'élévation locale de la température et la vibration du réseau. Le microscope électronique à balayage possède trois (03) types de détecteurs : un pour les électrons secondaires, un autre pour les électrons rétrodiffusés et un troisième pour les photons X. Les émissions non détectées se dissipent sous forme de chaleur dans les parois de la chambre de l'échantillon ou sont mises à la terre.

Notons que si on fait une spectroscopie d'électrons réémis par l'échantillon, la courbe obtenue possède 2 pics :

- 1 pic de faible énergie (< 50 eV) : c'est le pic des électrons secondaires ;
- 1 pic de forte énergie (> 50 eV) : c'est le pic des électrons rétrodiffusés

### **II.2.3.1. Les électrons secondaires**

Les électrons secondaires sont obtenus par le passage d'un électron incident près d'un atome. Une partie de son énergie est transmise à l'électron de la bande de conduction, provoquant une ionisation par éjection de ce dernier électron, avec une énergie cinétique qui ne dépasse pas 50 eV. Chaque électron incident peut créer plusieurs électrons secondaires. De par leurs faibles énergies, seuls les électrons secondaires émis près de la surface (< 10 nm) peuvent s'échapper de l'échantillon et être recueillis par le détecteur. La moindre variation topographique modifie donc la quantité d'électrons secondaires collectés.

### **II.2.2.3. Les électrons rétrodiffusés**

Les électrons rétrodiffusés sont causés par la collision entre un électron incident et un atome de l'échantillon. Ce sont des électrons primaires qui ont réagi de façon élastique avec des noyaux d'atomes de l'échantillon. Ils sont dispersés dans toutes les directions avec une faible perte d'énergie. Du fait de leur forte énergie, les électrons rétrodiffusés peuvent provenir d'une plus grande profondeur que celle des électrons secondaires. Ils ont une sensibilité topographique nettement infime. Aussi, du fait de leur origine, la quantité d'électrons rétrodiffusés croît avec le numéro atomique des atomes constitutifs de la cible.

## II.2.4. La spectroscopie Infrarouge (IR)

### II.2.4.1. Principe de la spectroscopie Infrarouge (IR)

Nous avons utilisé un Spectromètre Infrarouge à Transformer de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed Spectroscopy) de type SHIMADZU FTIR-8400S (Fig.II.6) disponible au laboratoire de synthèse et biocatalyse organique à l'université de Annaba. Il est piloté par un micro-ordinateur, et sa gamme de travail est de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup>, ce qui correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules (Yacobi et Holt,1990).

Cette technique est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.



**Figure II.7. Spectromètre Infrarouge (au laboratoire).**

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise.

### **II.2.4.2. Mode opératoire**

Pour caractériser par la spectroscopie infrarouge, on a préparé une pastille contenant le matériau étudié, c'est-à-dire 2 milligrammes de SnO<sub>2</sub> pur ou dopé, mélangés soigneusement avec 200 milligrammes de bromure de potassium (KBr).

Avant traitement et analyse, cette mixture est pressée dans une presse à 10 tonnes pour obtenir une pastille fine, compacte et homogène.

### **II.2.5. La spectroscopie UV-Visible**

La spectroscopie ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu des photons incidents dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet(200 nm-400 nm), du visible (400 nm-750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm-1400 nm).

Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transition(s) électronique(s). Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide, ce qui est notre cas.

Le spectre électronique obtenu est une courbe qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde. Il est le plus souvent présenté comme étant l'évolution d'un paramètre appelé absorbance en fonction de la longueur d'onde. Il peut aussi être présenté

comme le coefficient d'extinction molaire en fonction de la longueur d'onde, le spectre est alors indépendant de la longueur d'onde du soluté qui absorbe.

### II.2.5.1. Principe

L'instrument utilisé pour effectuer un spectre UV-visible est appelé spectrophotomètre UV-visible. Il mesure l'intensité de la lumière (I) passant au travers d'un échantillon et la compare à l'intensité de la lumière passant dans un échantillon de référence contenant le même solvant que celui utilisé pour l'échantillon, dans une cuve identique. Le rapport, appelé transmittance T, est habituellement exprimé en pourcentage (%). L'absorbance, A quant à elle, est déterminée à partir de la transmittance par la relation :

$$A = -\log T \text{ Equation} \quad \text{II.3.}$$

La transmittance, est donnée par :

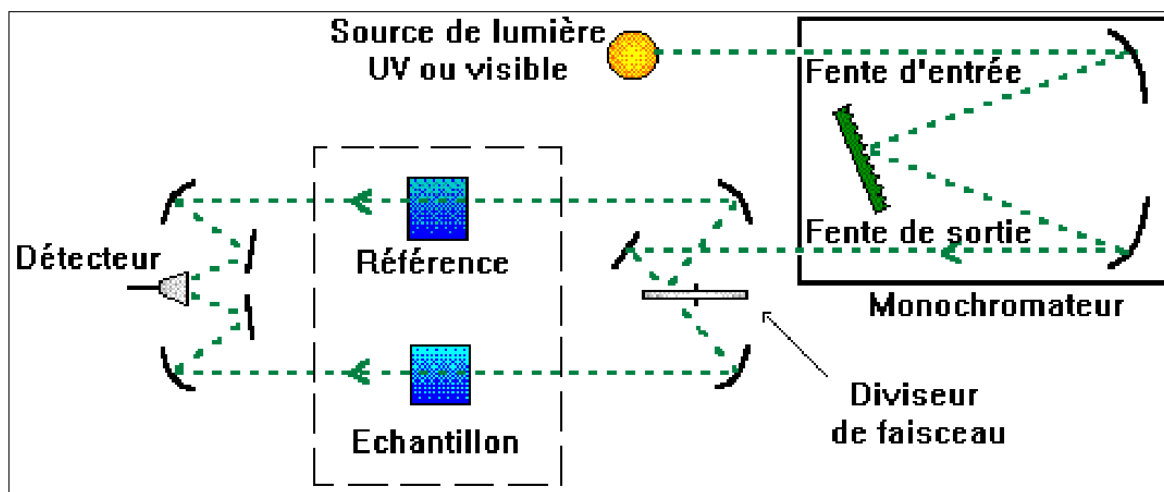
$$T = \frac{I}{I_0} \text{ Equation} \quad \text{II.4.}$$

Les éléments de base du spectrophotomètre sont une source lumineuse, un support pour l'échantillon, un monochromateur (généralement équipé d'un réseau de diffraction) afin de séparer les différentes longueurs d'ondes de la lumière, et un détecteur.

La source de radiation est parfois un filament de tungstène (émettant dans la zone 350-1700 nm), une lampe à arc au deutérium qui émet un spectre continu dans la région ultraviolette (190-400 nm), et plus récemment des lampes à arc au xénon utilisables dans toute la région UV-visible et des diodes électroluminescentes (DEL) pour les longueurs d'onde du visible(Suryanarayana.,2001).

Le détecteur est typiquement une photodiode ou un photomultiplicateur. Les photodiodes sont utilisées avec des monochromateurs, qui sélectionnent une seule longueur d'onde perçue par le détecteur, mais on utilise de plus en plus

souvent les barrettes de photodiodes qui peuvent enregistrer le spectre complet en un temps très court (de l'ordre de quelques millisecondes).



**Figure II.8. Diagramme d'un spectrophotomètre UV-visible.**

Un spectrophotomètre est le plus souvent à double faisceau. Cependant, certains instruments bon marché ou anciens peuvent être à simple faisceau. Dans un instrument à simple faisceau, toute la lumière passe par la cellule contenant l'échantillon. L'intensité de référence  $I_0$  est mesurée en remplaçant l'échantillon par une référence. Ce dispositif est le premier qui fut utilisé. Il se rencontre encore dans les spectrophotomètres conçus pour l'enseignement ou pour des mesures dans l'industrie.

Dans un instrument à double faisceau, la lumière est séparée en deux faisceaux avant d'atteindre l'échantillon. L'un des faisceaux est utilisé comme référence et traverse un « blanc » (même cuve et même solvant que l'échantillon), l'autre passe par l'échantillon. Certains instruments à double faisceau ont deux détecteurs (photodiodes ou photomultiplicateurs), et les faisceaux de référence et d'échantillonnage sont mesurés en même temps. Dans d'autres instruments équipés d'un seul détecteur, les deux faisceaux



passent par un séparateur optique, qui bloque l'un des faisceaux à la fois. Le détecteur alterne entre la mesure du faisceau échantillon et celui du blanc.

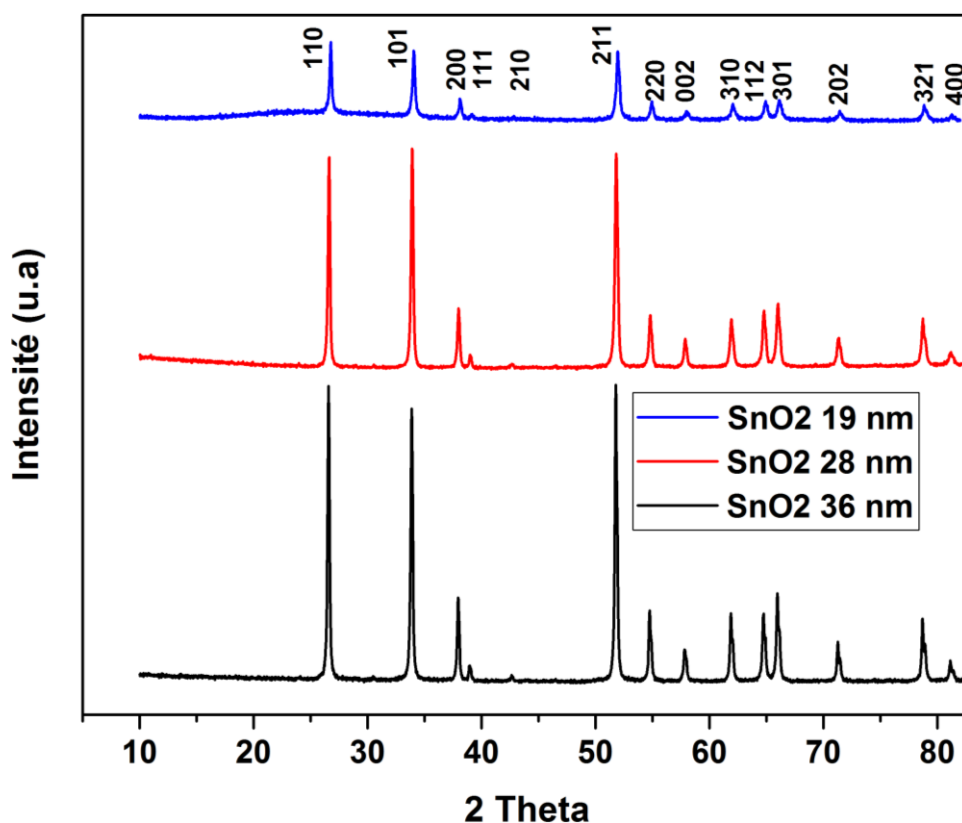
Les échantillons pour la spectrophotométrie UV-visible sont la plupart du temps des solutions, bien que l'absorbance de gaz ou de solides puisse également être mesurée. Les échantillons sont typiquement placés dans des cellules transparentes, connues parfois sous le nom de cuvettes. Ces cuvettes sont typiquement de forme parallélépipédique, avec un trajet optique souvent de l'ordre du 1cm (correspondant à la longueur  $l$  dans la loi de Beer-Lambert).

Les tubes à essai peuvent aussi être utilisés comme cuvettes dans certains instruments. Le type de contenant d'échantillon utilisé doit permettre le passage des longueurs d'ondes de la plage d'intérêt. Les cuvettes les plus utilisées sont en général en silice fondue de haute qualité ou en quartz car elles sont transparentes dans les régions UV-VIS et proche-infrarouge. Les cuvettes en verre et en plastique sont aussi communes, bien que le verre et la plupart des plastiques absorbent dans l'UV, ce qui limite leur usage au visible et proche infrarouge ([Suryanarayana.,2001](#)).

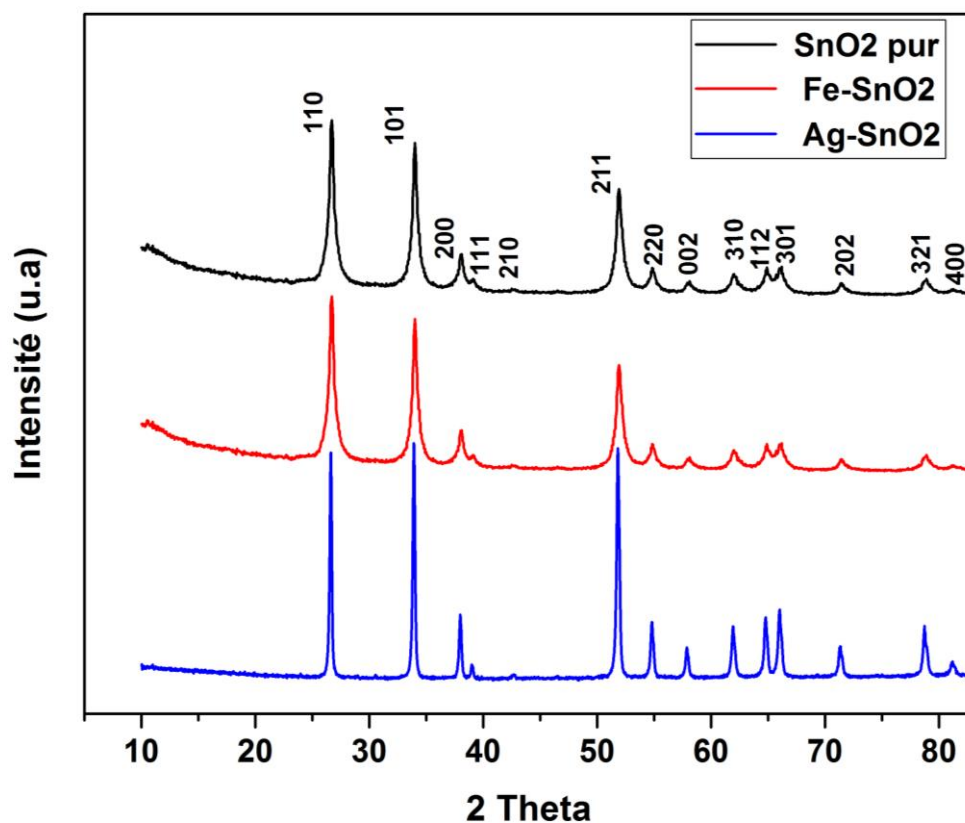
## II.3. Résultats et discussions

### II.3.1. Analyse par la diffraction de rayon X (DRX)

Les figures II.9, II.10, caractérisent les diffractogrammes de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues après broyage mécanique pendant, (0,1 et 3h) et les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par voie chimique.



**Figure. II.9. Diagramme de diffractions des rayons X des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique (0h/36 nm, 1h/28 nm et 3h/19 nm).**



**Figure.II.10. Diagramme de diffractions des rayons X des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures et dopées obtenues par voie chimique.**

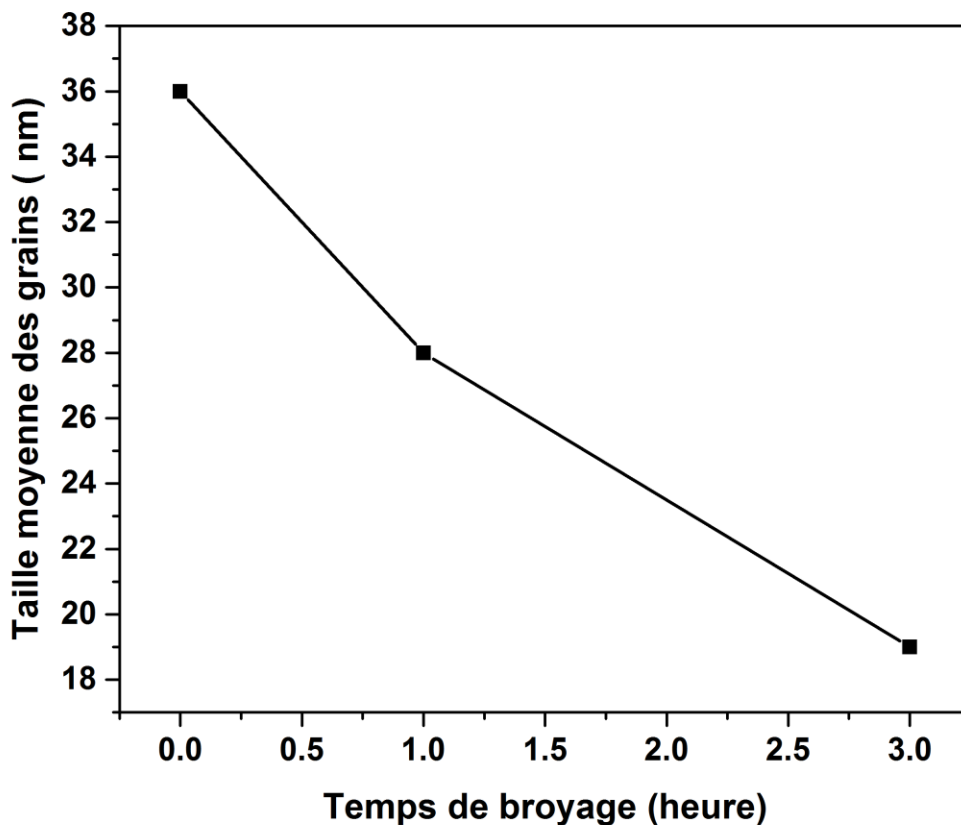
Le traitement des spectres de diffraction de rayon X de nos échantillons nous a permis de déduire l'ensemble des plans diffracteurs, associés aux angles  $2\theta$  de diffractions adéquats ; il s'agit des plans (110), (101), (200), (111), (210), (211), (220), (002), (310), (112), (301), (202), (321) et (400) correspondant à la cristallisation structurale tétragonale de la structure rutile de SnO<sub>2</sub> (groupe d'espace, P42/mnm), ce qui est en bon accord avec les valeurs de la littérature (JCPDS carte n° 41-1445) (Ganesh *et al.*, 2012).

On remarque qu'il n'y a aucun pic caractéristique des produits de départ (tels que le SnCl<sub>4</sub> ou l'éthanol), ce qui indique d'une manière concluante que les

réactifs ont été complètement mélangés pour former la phase appropriée de l'oxyde d'étain.

Par ailleurs, l'analyse DRX ne révèle la présence d'aucun pic caractéristique de l'oxyde de fer Fe et argent utilisés comme source de dopage

Dans un second temps, la relation de Scherrer a été mise à profit pour déduire les variations de la taille moyenne des cristallites en fonction du temps de broyage. La figure ci-dessous résume les résultats obtenus.

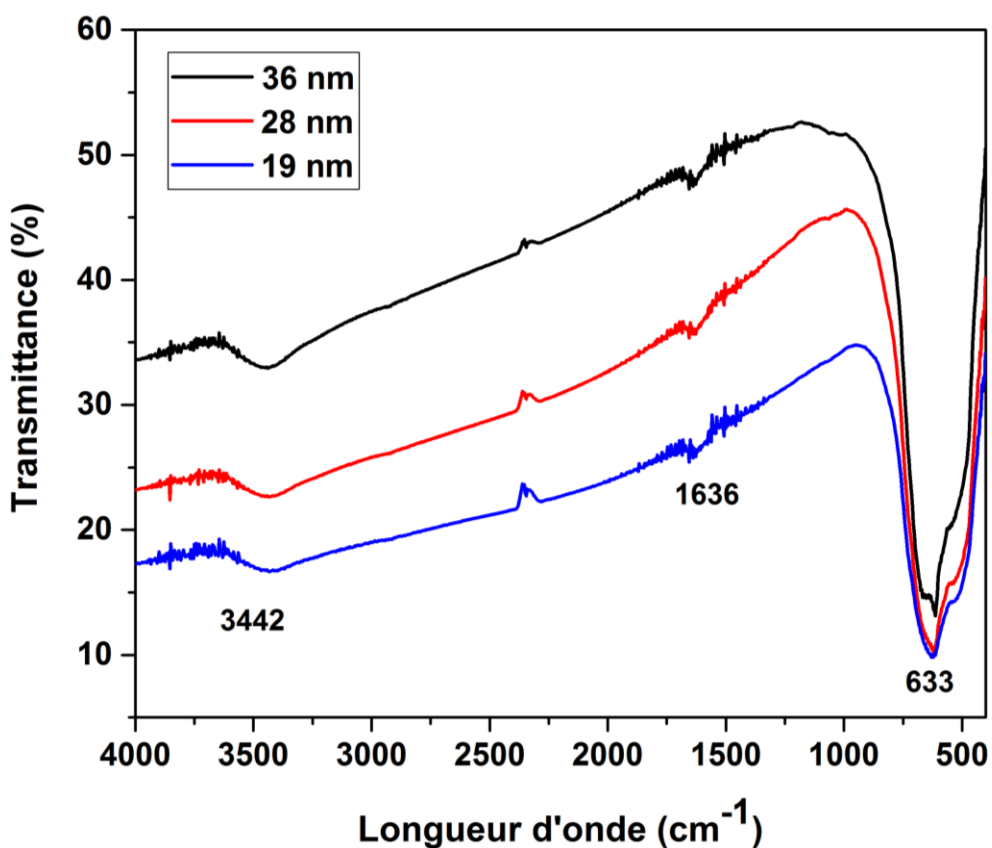


**Figure.II.11. Évolution de la taille des grains de SnO<sub>2</sub> en fonction du temps de broyage**

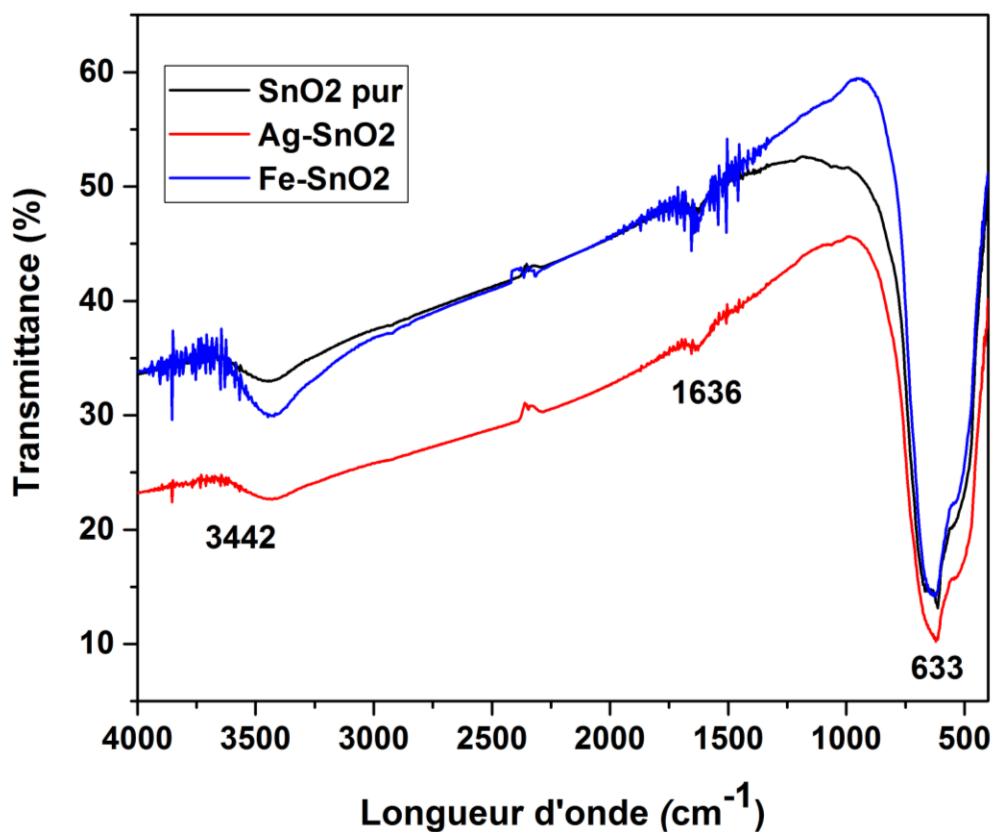
Il apparait clairement et classiquement que la taille des grains est une fonction décroissante du temps de broyage.

### II.3.2. Analyse par la spectrométrie infrarouge (IR)

Les figures II.12 et II.13, représentent les spectres de spectroscopie infrarouge (FT-IR) dans la gamme 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>, obtenus pour les échantillons broyés et ceux, purs et dopés, obtenus chimiquement.



**Figure.II.12. Diagramme de l'infrarouge des poudres de SnO<sub>2</sub> pour différents temps de broyage (0h/36 nm, 1h/28 nm et 3h/19 nm).**



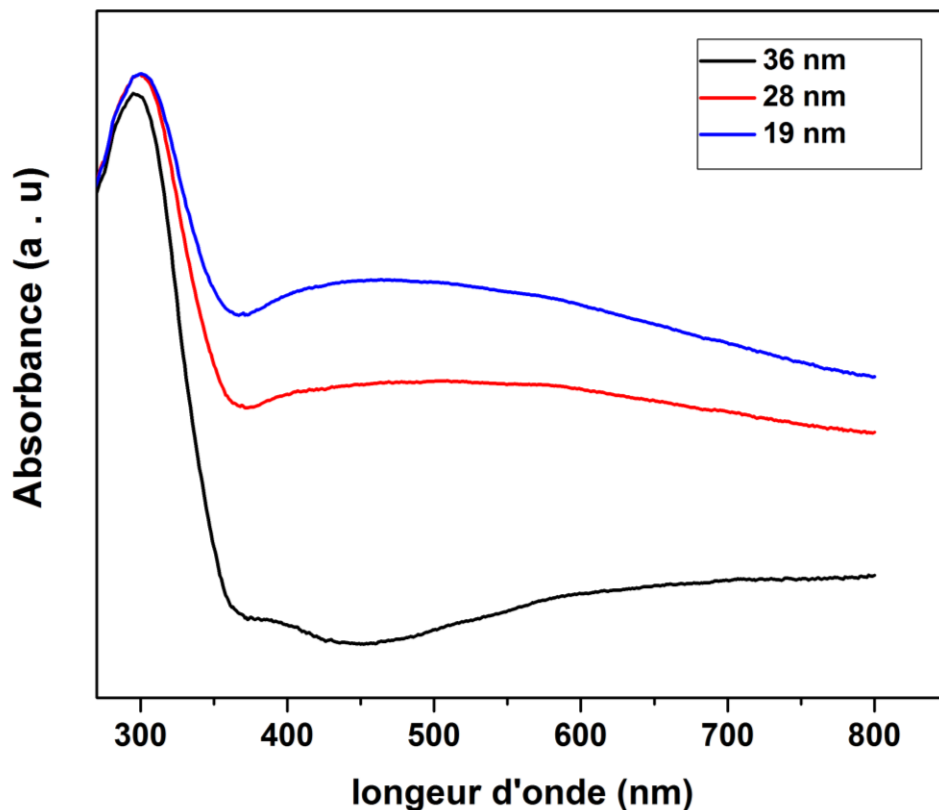
**Figure.II.13. Diagramme de l'infrarouge des nanopoudres de SnO<sub>2</sub> pures et dopées obtenues par voie chimique.**

Tous les spectres sont tout à fait semblables entre eux. De façon générale, trois zones d'absorption IR peuvent être identifiées dans les spectres FT-IR de nos échantillons, une bande d'absorption située entre 1628 et 3421 cm<sup>-1</sup> qui peut être attribuée aux vibrations de la liaison de l'eau moléculaire absorbée et la vibration des groupes hydroxyles (Bagal *et al.*, 2012), une bande qui apparaît dans la gamme de 400 à 700 cm<sup>-1</sup>, en particulier à 633 cm<sup>-1</sup> qui est attribuée aux vibrations antisymétrique Sn-O-Sn et antisymétrique Sn-O mode d'étirement de la surface du pont d'oxyde formée par condensation de vibration

du groupe hydroxyle de surface adjacente (Deosarkar *et al.*, 2013) et enfin , Le pic d'absorption entre 3300-3475 cm<sup>-1</sup> (3442 cm<sup>-1</sup>) qui est attribué à la vibration de la liaison des groupes hydroxyles OH de l'eau moléculaire absorbée sur la surface de l'oxyde d'étain (Mazloom *et al.*,2013).

### II.3.3. Analyse par la spectroscopie UV-Visible

La figure II.14, représente des spectres de spectroscopie UV-Visible de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures, broyées mécaniquement, en fonction du temps de broyage. L'influence de leur taille de grains est également mise en exergue.



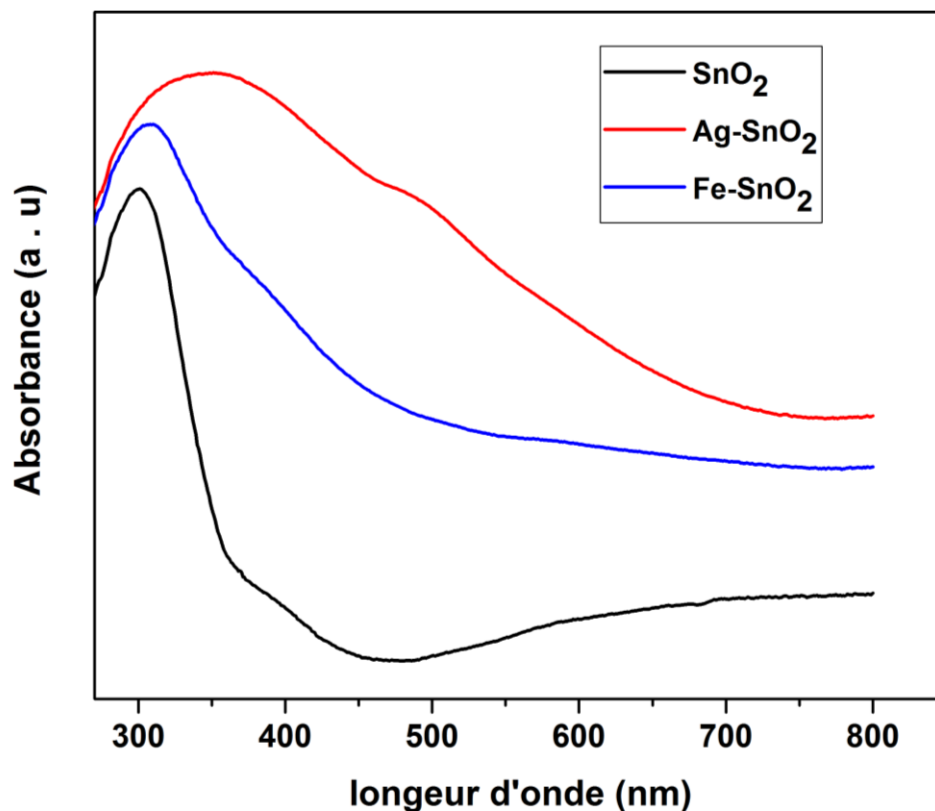
**Figure.II.14. Absorbance optique des nanopoudres de SnO<sub>2</sub>, obtenues par broyage mécanique, en fonction de la longueur d'onde, pour différentes tailles de grains (36, 28 et 19 nm).**

L'analyse qualitative de ces courbes montre assez clairement que les absorbances maximales obtenues correspondent toutes à la même valeur de longueur d'onde et ce, quelle que soit la taille de grains considérée.

De plus, la transparence des nanopoudres de SnO<sub>2</sub> apparaît clairement dans la gamme visible (400-800 nm), en ce sens que les absorbances sont minimales dans ce même domaine, avec toutefois, des valeurs différentes selon la taille de grains étudiée.

Concernant les nanoparticules obtenues par voie chimique, pure et dopées, la situation est notablement différente ; en effet, la figure II.15, montre clairement que les longueurs d'onde associées aux valeurs maximales d'absorbance varient, de même que les pseudo-plateaux d'absorbance minimale, dans le domaine du visible. En outre, il est montré clairement que l'absorption, ainsi que le déplacement vers les plus grandes valeurs de longueur d'onde sont d'autant plus affirmés que la valence de l'élément dopant est petite (Ag<sup>+</sup>, Fe<sup>3+</sup>), par rapport à la structure de base (Sn<sup>4+</sup>).





**Figure.II.15. Absorbance optique de nanopoudres de SnO<sub>2</sub> pures et dopées (Fe, Ag), obtenues par voie chimique, en fonction de la longueur d'onde.**

Il est possible, à partir de ces courbes, de déduire des informations importantes comme l'énergie de gap,  $E_g$ , et l'énergie d'Urbach,  $E_u$ .

Il est aujourd'hui admis que SnO<sub>2</sub> est un oxyde qui a un caractère semiconducteur de type n, à transition directe.

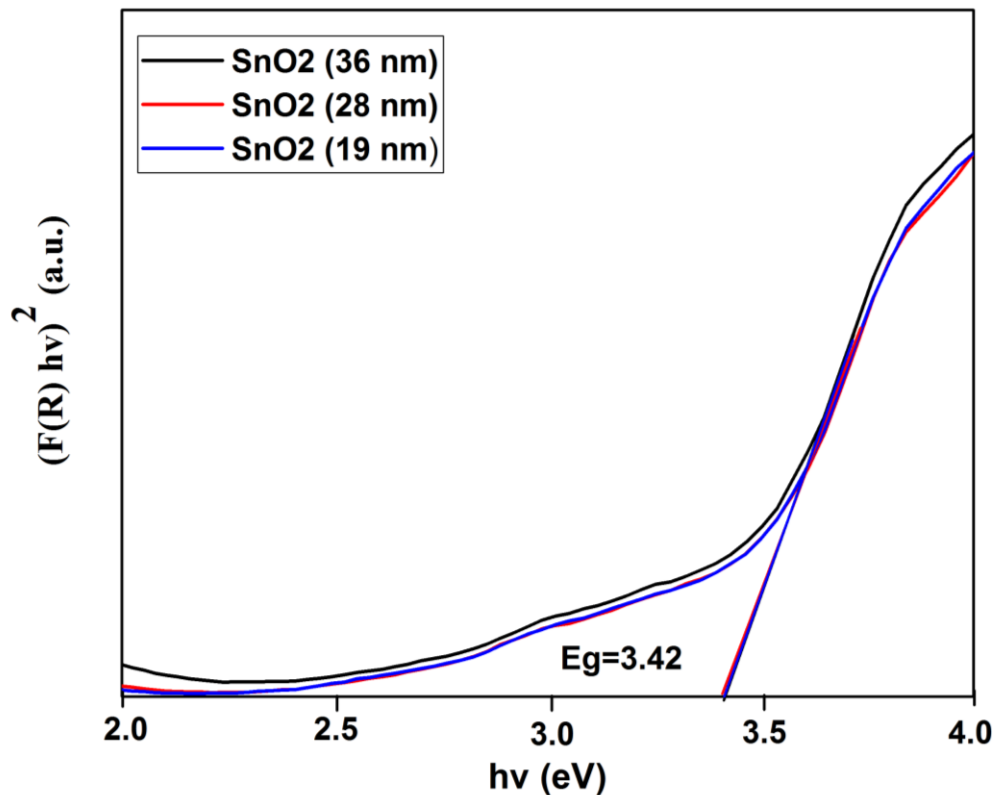
Par conséquent, l'énergie de gap  $E_g$  peut être évaluée qualitativement de la partie linéaire du graphe  $(\alpha h\nu)^2 = h\nu - E_g$ , quand la droite coupe l'axe des abscisses, c'est-à-dire quand  $(\alpha h\nu)^{1/2} = 0$ , impliquant  $E_g = h\nu$

$h$  est la constante de Planck,  $\nu$  la fréquence et  $\alpha$  le coefficient d'absorption du matériau. Il est déduit des courbes de réflectance, en utilisant l'équation semi-empirique Kubelka-Munk (Mazloom et Ghodsi, 2013).

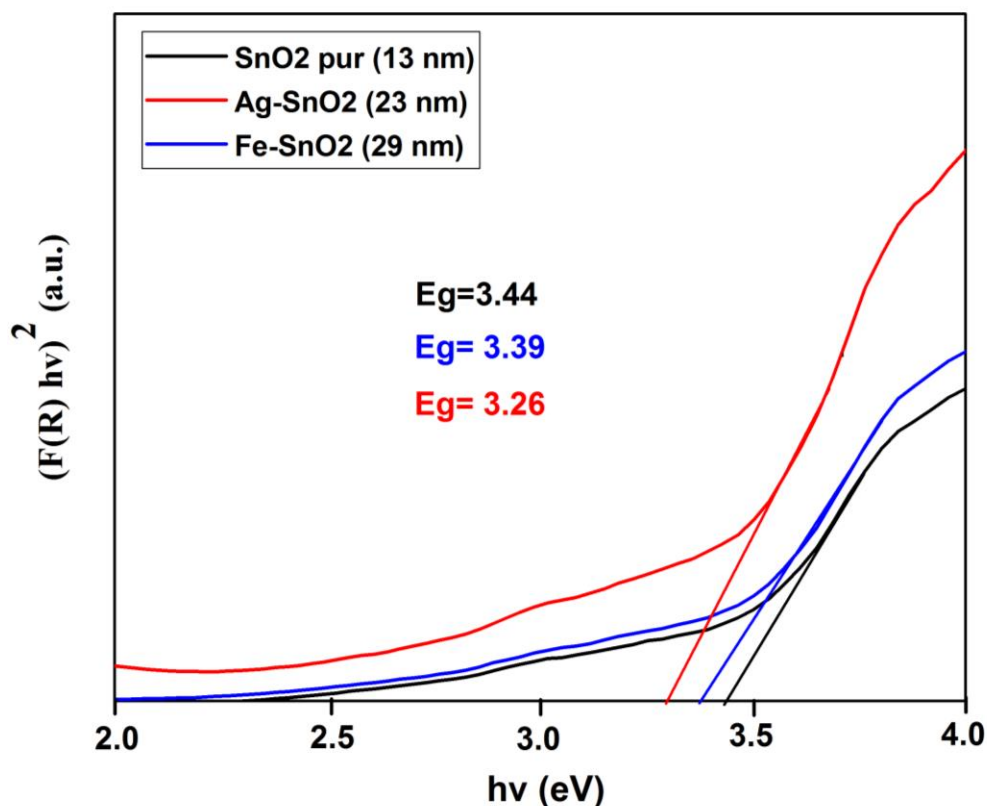
$$F(R) = (1-R)^2/2R$$

où  $R$  est la réflectance et  $F(R)$  est équivalente au coefficient d'absorption.

Les figures II.16 et II.17, montrent les différentes valeurs d'énergie de gap,  $E_g$ , obtenues à partir de l'intersection de la partie linéaire des courbes caractéristiques des coefficients d'absorption avec l'axe des énergies.



**Figure.II.16. Gap optique des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique.**



**Figure.II.17. Gap optique des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par voie chimique.**

Concernant la figure II.16, l'énergie de gap ainsi déterminée est la même pour les trois temps de broyage. Partant de l'hypothèse avérée que le processus de « Mechanical Alloying » génère toutes sortes de défauts, en particulier des lacunes d'oxygène et des interstitiels de Sn, et que ces derniers sont associés à un niveau énergétique dans la bande interdite du nanomatériau, nous pouvons conclure que le broyage mécanique n'influence pas la structure de la bande électronique de SnO<sub>2</sub> NPs.

Concernant la figure II.17, qui est relative aux nanoparticules obtenues par voie chimique, nous avons mis en évidence des valeurs différentes d'énergie de gap des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Fe et Ag ou pures. Ceci pourrait être attribuée aux perturbations, de type stérique mais aussi électronique,

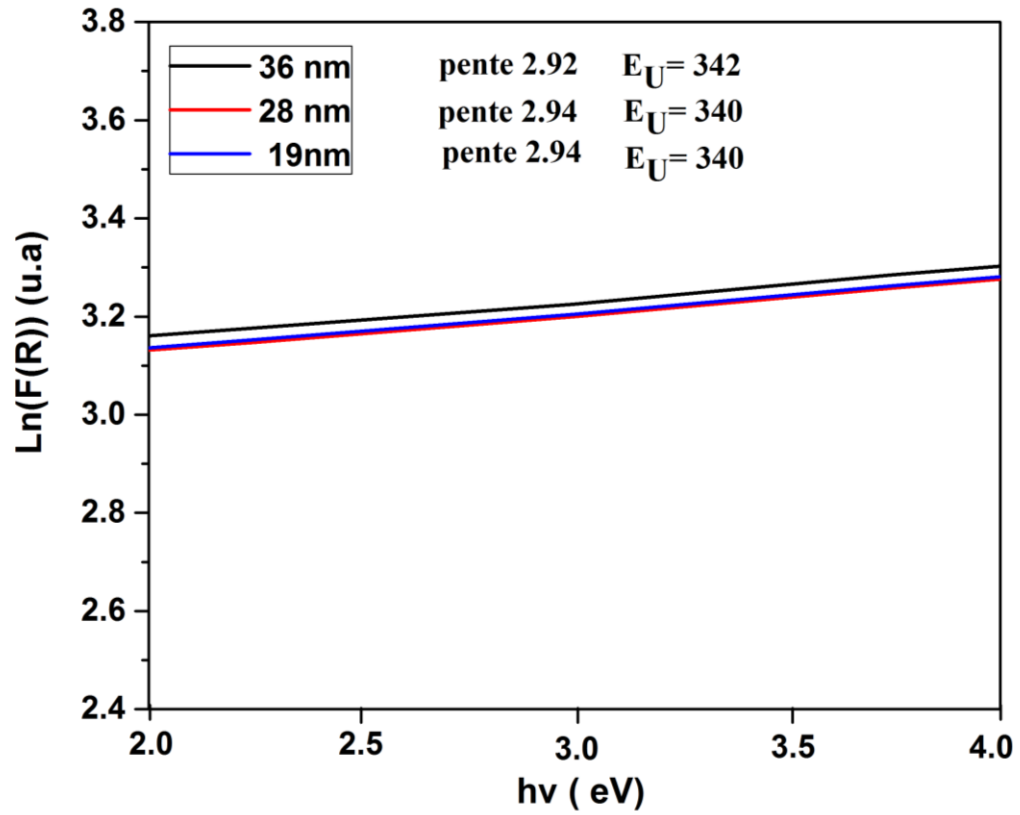
provoquées dans le réseau cristallin, suite à l'introduction de ces éléments de dopage. Cette diminution du gap avec le dopage peut s'expliquer en partie par la création de niveaux profonds dans le gap, ce qui modifie le potentiel cristallin et induit une diminution de l'énergie de la bande interdite, suite à l'augmentation du nombre des porteurs libres.

Les figures II.18 et II.19, montrent les différentes valeurs de l'énergie d'Urbach,  $E_u$ , obtenues à partir de l'intersection de la partie linéaire des courbes caractéristiques des logarithmes des coefficients d'absorption avec l'axe des énergies. D'après la loi d'Urbach, l'expression du coefficient d'absorption ( $\alpha$ ) est donnée par la formule : (Urbach. F,1953).

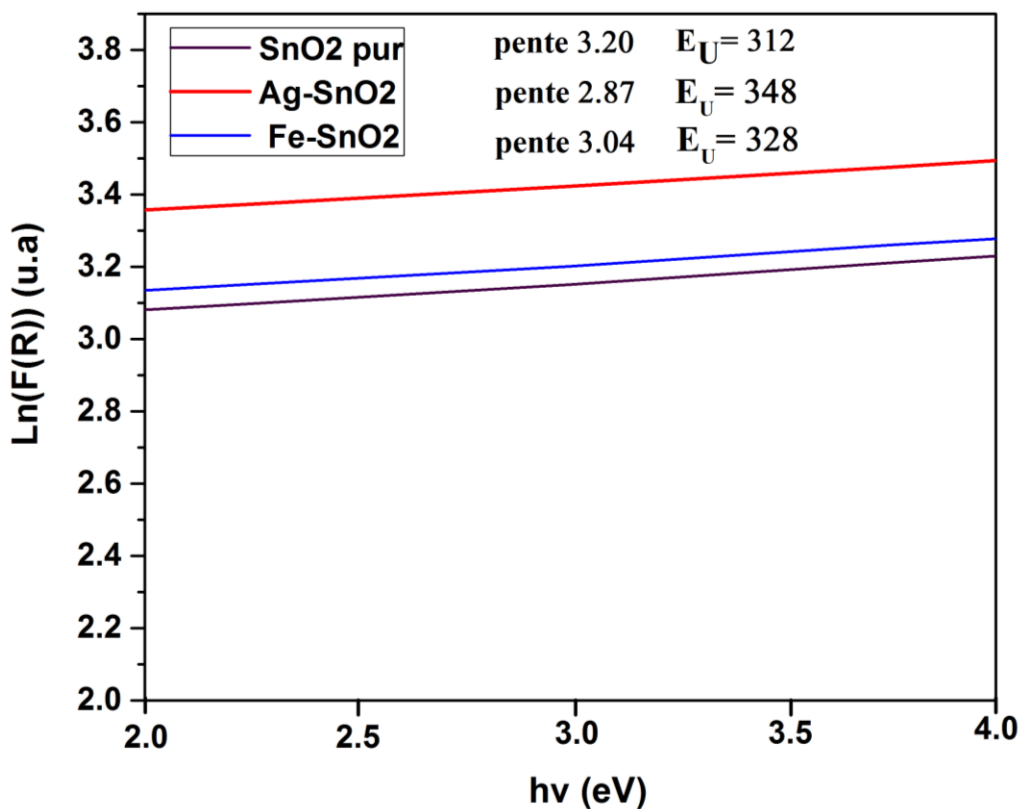
$$\ln \alpha = \ln \alpha_0 + (h\nu / E_u)$$

$E_u$  : l'énergie d'Urbach en meV.

$h\nu$  : l'énergie du photon en eV .



**Figure.II.18. Détermination de l'énergie d'Urbach pour des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par broyage mécanique.**



**Figure.II.19. Détermination de l'énergie d'Urbach des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> obtenues par voie chimique.**

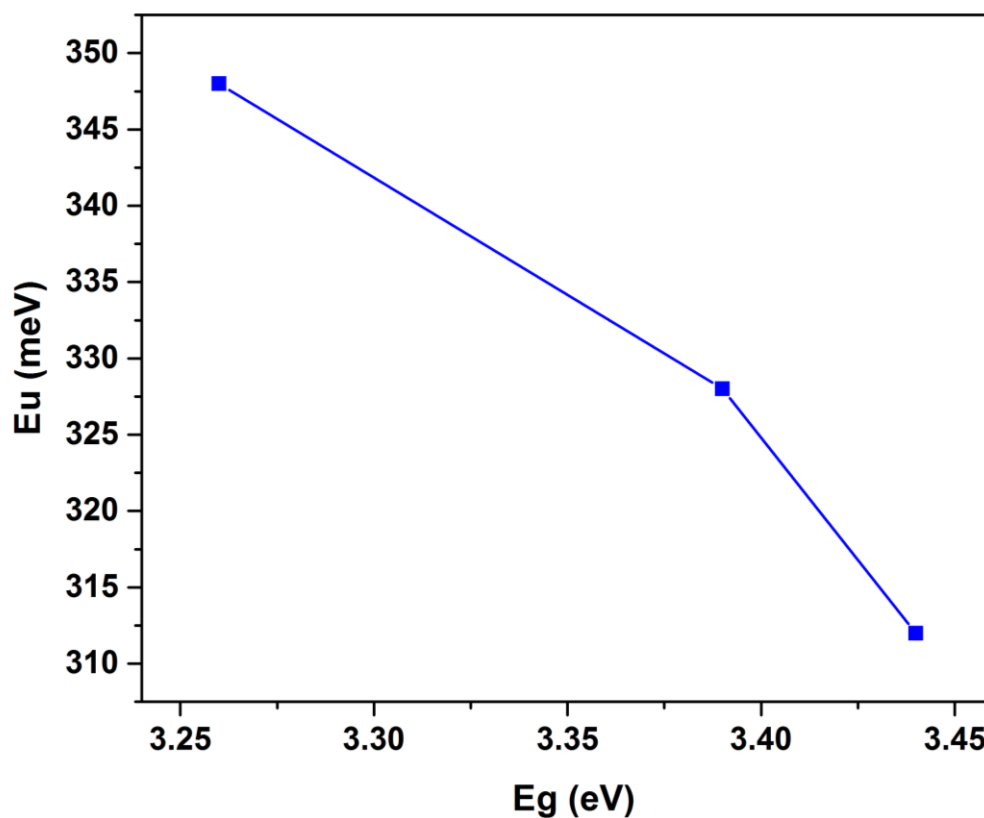
La figure.II.18, montre que l'énergie d'Urbach ainsi déterminée est la même pour les trois temps de broyage.

L'énergie d'Urbach présente un désordre structural moins important que celui dans les structures des nanoparticules obtenues par broyage mécanique puisque les énergies d'Urbach calculées sont les mêmes.

Concernant la figure.II.19, nous avons mis en évidence des valeurs différentes d'énergie d'Urbach des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Fe et Ag ou pures. Le dopage du SnO<sub>2</sub> avec Fe et Ag a produit une augmentation significative de la largeur de la queue de la bande d'Urbach par rapport aux nanoparticules non

dopées, ceci est un signe indiquant l'augmentation du désordre structural qui provient de l'effet de dopage, (Gahtar.A *et al.*, 2013, Chouikh. F *et al.*,2011).

Figure.II.20, montre l'évolution de l'énergie d'Urbach (Eu) en fonction de l'énergie de gap (Eg).



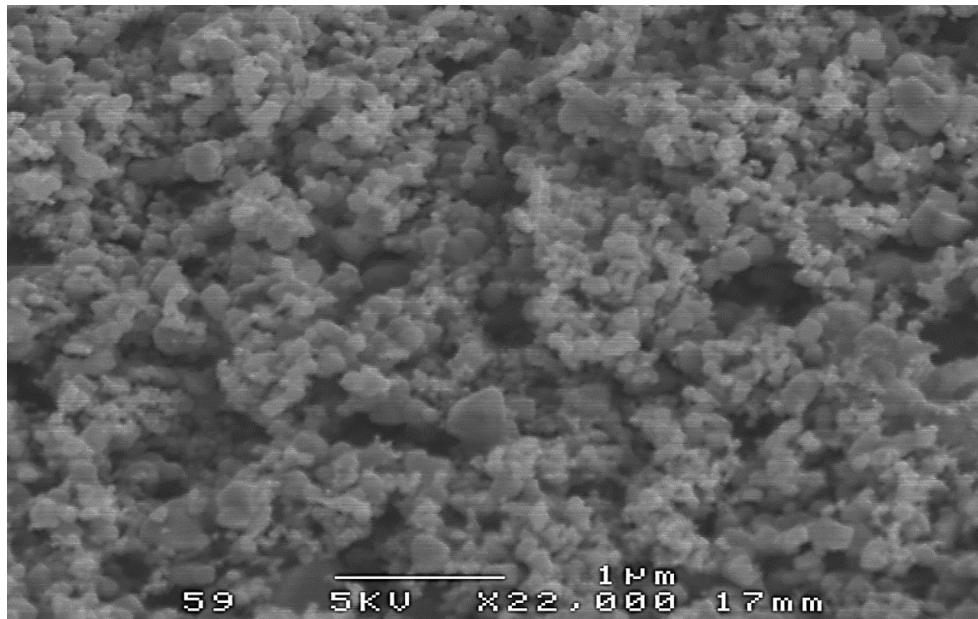
**Figure.II.20. Énergie Urbach (Eu) en fonction de l'énergie de gap (Eg).**

La figure montre bien que les valeurs de l'énergie Urbach augmentent avec la diminution des valeurs de l'énergie de gap.

Dans notre cas, nous pouvons conclure que l'énergie d'Urbach est inversement proportionnelle avec l'énergie de gap.

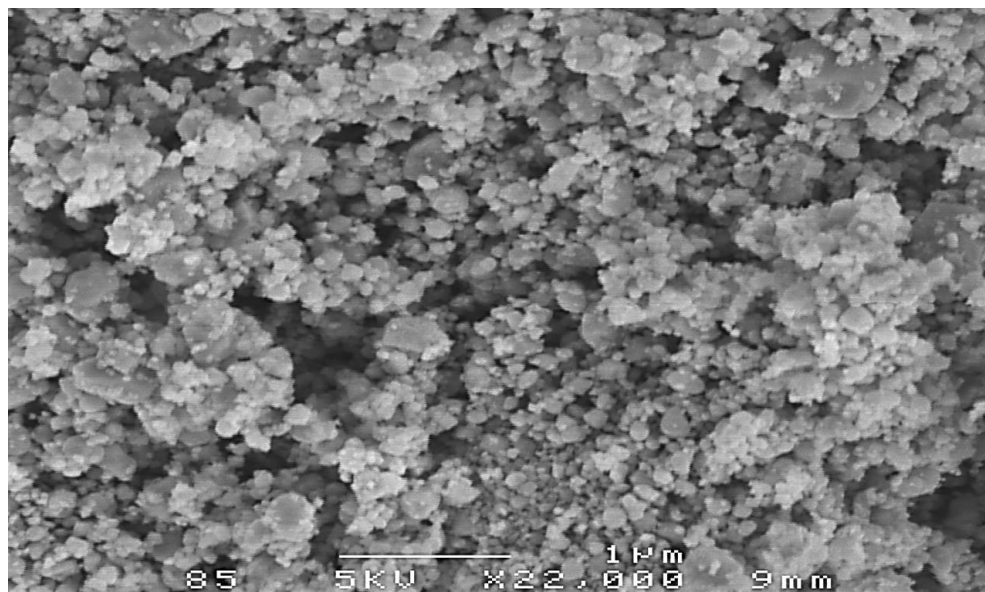
#### II.3.4. Analyse par la microscopie électronique à balayage (MEB)

Les figures II.21, II.22, II.23, donnent une représentation générale de la morphologie des tailles de grains des poudres de SnO<sub>2</sub>, pures, préparées par broyage mécanique.

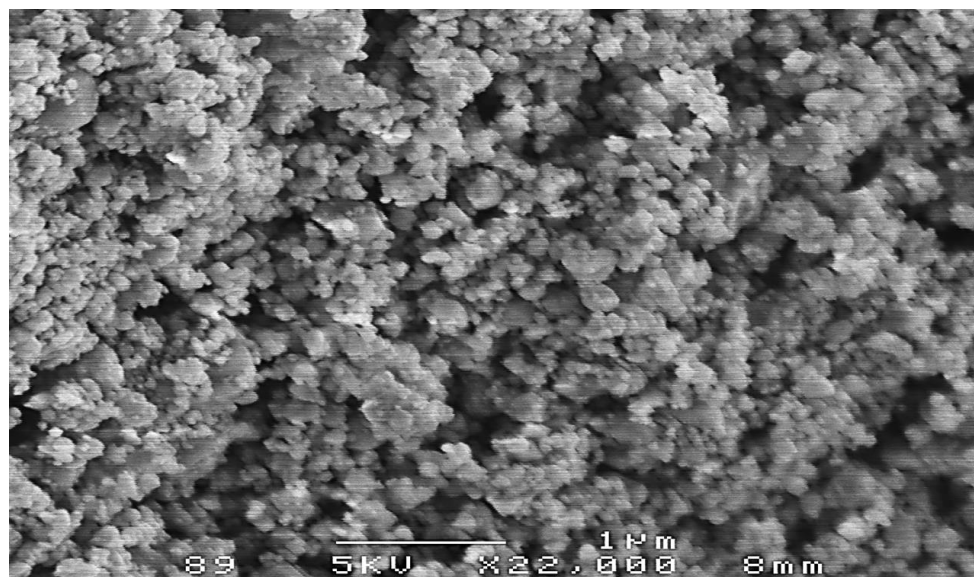


**Figure.II.21. Image MEB d'une poudre de SnO<sub>2</sub> avec une taille de grains de 36 nm.**





**Figure.II.22. Image MEB d'une poudre de SnO<sub>2</sub> avec une taille de grains de 28 nm.**



**Figure II.23. Image MEB d'une poudre de SnO<sub>2</sub> avec une taille de grains de 19 nm.**

Il ressort qualitativement de ces figures que la granulométrie de SnO<sub>2</sub> est légèrement réduite avec l'augmentation de temps de broyage et que la forme de ces nanoparticules évolue, en passant d'une morphologie un peu allongée vers une autre, un peu plus sphérique. De plus, nous constatons un phénomène classique, d'agglomération des particules.

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Chetri Pawan, Choudhury Amarjyoti. 2013. Investigation of optical properties of SnO<sub>2</sub> nanoparticles, *Physica E* 47 ,257–263.

Vignesh. K, R. Hariharan, M. Rajarajan, A. Suganthi. 2013. Photocatalytic performance of Ag doped SnO<sub>2</sub> nanoparticles modified with curcumin, *Solid State Sciences* 21, 91 -99.

Suryanarayana. C. 2001. Mechanical alloying and milling. *Progress in Materials Science* 46, 1-184.

Scherrer, P. 1912. Bestimmung derinneren Struktur und der Größe von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen (pp. 387-409). Springer Berlin Heidelberg.

Pandikumar A, S. Murugesan, R. Ramaraj, 2010, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2, 1912.

Sahel. D. 2004. Rapport de Laboratoire de Microscopie Electronique, Centre de Recherche Nucléaire d`Alger.

Yacobi. B.G and Holt. D.B. 1990. *Cathodoluminescence Microscopy of inorganic Solids* Ed. Plenum Press, New York and London.

Bagal.L. K, J.Y. Patill. S. Mulla, S.S. Suryavanshi. 2012. Influence of Pd-loading on gas sensing characteristics of SnO<sub>2</sub> thick films. *Ceramics International* 38; 4835–4844.

Deosarkar.M. P, S.M. Pawar, S.H. Sonawane, B.A. Bhanvase. Process intensification of uniform loading of SnO<sub>2</sub> nanoparticles on graphene oxide nanosheets using a novel ultra sound assisted in situ chemical precipitation method. *Chemical Engineering and Processing* 70;48–54, 2013.

Mazloom.J, F.E. Ghodsi.2013. Spectroscopic, microscopic, and electrical characterization of nanostructured SnO<sub>2</sub>: Co thin films prepared by sol-gel spin coating technique. *Materials Research Bulletin* 48; 1468–1476.

Ganesh E Patil, Dnyaneshwar d Kajale, Vishwas B Gaikwad<sup>1</sup> and Gotan H Jain. 2012. Preparation and characterization of SnO<sub>2</sub> nanoparticles by hydrothermal route. *International Nano Letters*.

Mazloom. J, Ghodsi F.E. 2013. Spectroscopic, microscopic, and electrical characterization of nanostructured SnO<sub>2</sub>: Co thin films prepared by sol-gel spin coating technique. *Materials Research Bulletin* 48, 1468–1476.

Urbach Franz .1953. The Long-Wavelength Edge of Photographic Sensitivity and of the Electronic Absorption of Solids. *Phys. Rev.* 92, 1324.

Gahtar. A, Said Benramache, Boubaker Benhaoua and Foued Chabane .2013. Preparation of transparent conducting ZnO:Al films on glass substrates by ultrasonic spray technique. *Journal of Semiconductors*, Volume 34.Number 7.

Chouikh.F, Beggah. Y, Aida. M.S. 2011.Optical and electrical properties of Bi doped ZnO thin films deposited by ultrasonic spray pyrolysis .*Journal of Materials Science - Materials in Electronics*; 22, 5; 499-505.

## **Chapitre III. Effet bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>**

---

Ce chapitre est consacré à la présentation de l'étude concernant l'effet bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> vis-à-vis de bactéries existantes dans nos hôpitaux et supposées responsables de maladies nosocomiales. Pour ce faire, un protocole expérimental a été adapté à la réalité de nos expériences et à la nature de la méthode utilisée pour en extraire les informations jugées pertinentes.

Nous avons ainsi été amenés à utiliser la technique de dilution sur milieu gélosé en déduisant pour chaque batterie d'expériences la concentration minimale d'inhibition (CMI) qui matérialise l'action de nos nanoparticules sur les bactéries choisies.

---

### III.1. Introduction

L'utilisation massive des antibiotiques a modifié considérablement l'écologie bactérienne (Cavallo, 2004). Les antibiotiques, qui ont sauvé tant de vies humaines, risquent de devenir inefficaces en raison d'une inquiétante augmentation de la résistance des bactéries à leur rencontre et de la raréfaction des nouveaux produits commercialisés (Carlet *et al.*, 2012). Les résistances de plus en plus fréquentes rencontrées chez les bactéries posent des difficultés et parfois des impasses en thérapeutique humaine (Cavallo, 2004).

Par conséquent, nous avons le plus grand besoin de développer des technologies alternatives (Sosa *et al.*, 2003 ; Sunada *et al.*, 2003) et de trouver de nouveaux agents antimicrobiens efficaces, capables de détruire des micro-organismes ou d'empêcher leur prolifération (Laurent, 2013).

Actuellement, pour solutionner ce problème, Les nanoparticules semblent être des candidats attrayants et de choix pour constituer une alternative efficace aux antibiotiques .et ouvrir la voie à une nouvelle stratégie prometteuse antibactérienne à l'échelle nanométrique.

Partant du principe que les nanoparticules d'oxyde métallique présentent une excellente action biocide et biostatique contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Lopez Goerne *et al.*, 2012), nous nous sommes proposé de tester l'activité anti bactérienne de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dans le but de leur utilisation comme molécule anti bactérienne afin de remédier au problème lié à la résistance bactérienne.

### III.2. Matériel biologique

L'étude de l'activité antibactérienne des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> que nous avons synthétisés par broyage mécanique haute énergie ou obtenus par co-précipitation, a porté sur 17 souches antibactériennes gracieusement fournies par le Laboratoire de Microbiologie Générale, Faculté de Médecine,

Université Badji Mokhtar d'Annaba, dirigé par le professeur **DJAHOUDI Abdelghani** .Elles sont identifiées comme suit :

**Des souches de références (A : Americain T : Type C : Culture C : Collection) :**

- *Pseudomonas aeruginosa* 27853
- *Staphylococcus aureus* 43300
- *Staphylococcus aureus* 29213
- *Escherichia coli* 22
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM 3)
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM 7).

### **Des souches cliniques**

- *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase + (KPC +)
- *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase - (KPC -)
- *Proteus peneri*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Pseudomonas aeruginosa* VIM II
- *Pseudomonas aeruginosa* IMP R
- *Bacillus cereus*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus* spp.

### **III.3. Matériel chimique**

Les nanomatériaux testés dans notre étude correspondent à des nanoparticules de **SnO<sub>2</sub>** pures, ayant respectivement deux tailles de grains ,36 et 13 nm, ainsi que des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Ag , avec une taille moyenne de grains égale à 29 nm et dopées Fe, avec une taille moyenne de grains de 23 nm. Ces NPs de SnO<sub>2</sub> pures et dopées ont été testées aux concentrations de 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 et 1024 µg/ml, lorsqu'elles sont immergées dans une solution appropriée.

### **III.4. Protocole expérimental**

La procédure expérimentale que nous avons suivie est classique en ce sens qu'elle est codifiée selon des normes universelles, consignées dans la [CASFM, en 2012](#). Elle consiste à repiquer les souches testées, à préparer la gamme de dilution des nanoparticules utilisées, à mettre en place les différentes boîtes de Petri, une par concentration, à préparer l'inoculum bactérien et enfin, à ensemercer le mélange obtenu. Dans une dernière étape, on procède à la lecture de la CMI qui correspond à la concentration minimale inhibitrice ou bien à la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber dans un milieu (milieu liquide ou solide), toute culture visible de la souche étudiée ([Ferron, 1976](#) ; [Le minor and Veron, 1989](#)).

Nous allons successivement détailler les différentes étapes de cette procédure

#### **a. Repiquage des souches à tester**

Cette opération consiste d'abord à prélever quelques colonies à partir de milieux de conservation des souches à tester et à procéder ensuite à l'ensemencement des boîtes par la méthode des stries. Enfin, les boîtes sont incubées à 37 C° pendant 24h (chaque souche possède une température, ainsi qu'un temps d'incubation spécifiques).

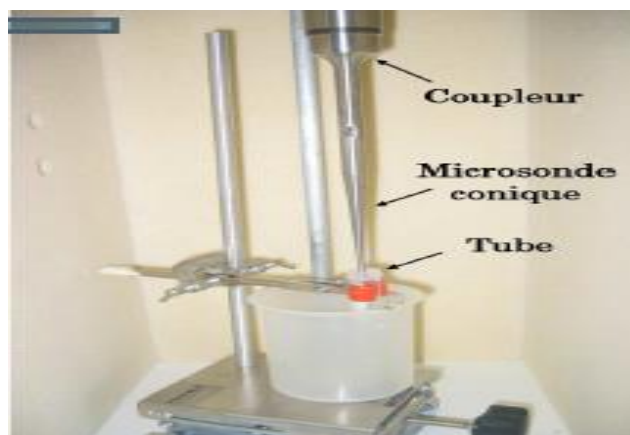
#### **b. Préparation de la gamme de dilution des NPs**

0,4 mg de poudre de NPs de SnO<sub>2</sub>, pures ou dopées, est pesée puis ajoutée à 10 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration stock de 1048 µg/ml (solution-mère SM) ; le mélange obtenu est soumis à une sonication (figure III .1), ce qui permet de rompre les interactions intermoléculaires et donc d'obtenir des nanoparticules moins agglomérées, voir moins agrégées ([Kusters et al., 1994](#) ; [Sauter et al., 2006](#) ; [Mandzy et al., 2005](#)). Dans une deuxième étape, un autoclavage de la SM est effectué à 121 C° pendant 30 min, avant de procéder aux dilutions semi-logarithmiques à raison 2 (de



demi en demi) prévues, dans de l'eau distillée stérile, jusqu'à la concentration finale de 0,5 µg/ml.

Enfin, 2ml de chaque concentration sont répartis dans les flacons qui renferment 18 ml de MH préalablement liquéfié et homogénéisé.



**Figure.III.1.** Montage d'un sonicateur.

### **c. Préparation des boîtes de dilution**

Le contenu de chaque flacon, contenant des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dans une solution avec une concentration bien définie, est versé dans la boîte de Pétri correspondante. Notons qu'une boîte de Petri témoin est également préparée en remplaçant le volume des NPs par le même volume d'eau physiologique stérile après solidification du milieu.

Toutes ces boîtes sont laissées à température ambiante, couvertes par du papier aluminium et mises au réfrigérateur, afin d'assurer une bonne diffusion des NPs dans le MH.

### **d. Préparation de l'inoculum bactérien**

À partir d'une culture pure de 18 à 24 h, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques (5 colonies pour les Cocci, 3 colonies pour les bacilles à Gram-) sont raclées à l'aide d'une pipette Pasteur, puis déchargées dans 2ml d'eau physiologique stérile, et enfin. La suspension bactérienne ainsi obtenue est enfin homogénéisée, afin d'obtenir une turbidité de 0,5 Mac Farland, ce qui correspond à 10<sup>8</sup> CFU/ml en moyenne.

### **e. Ensemencement**

Cette opération consiste d'abord à préparer un canevas pour localiser et identifier chaque spot ; dans une deuxième étape, chaque boîte de dilution est ajustée sur le canevas avant de déposer les spots sur la gélose, à l'aide d'une pipette Pasteur, dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum, en commençant par la boîte témoin et en poursuivant le processus de la plus faible concentration (0,5 µg /ml) à la concentration la plus élevée (1024 µg/ml). Après absorption de l'inoculum dans la gélose pendant 30 min, les boîtes sont incubées à 35 ± 2 °C, pendant 24h.

### **f. Lecture de la CMI**

La lecture est réalisée en plaçant les boîtes de différentes concentrations sur une surface sombre, pour y observer la présence (ou l'absence) de colonies, par rapport à la boîte témoin. La CMI (la plus faible concentration de NPs qui inhibe toute la croissance bactérienne visible ou qui entraîne un changement marqué de croissance) est alors relevée.

## **III.5.Résultats c**

Cette partie présente l'effet bactéricide des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pur et dopé Ag et Fe vis-à-vis des souches bactériennes, Gram + et Gram - .

### **III.5 .1. Effet du SnO<sub>2</sub> purs et dopées sur les Cocci à Gram positif**

Le tableau III.1 regroupe les valeurs de concentration minimale inhibitrice obtenues après traitement des bactéries Cocci à Gram positif, aux différentes concentrations de SnO<sub>2</sub>, pur et dopé.

**Tableau.III.1. Valeurs des CMI des Cocci à Gram positif traités par SnO<sub>2</sub>, pur et dopé.**

Souches	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI µg/ ml)			
	SnO <sub>2</sub> / 36 nm	SnO <sub>2</sub> /13 nm	Fe-SnO <sub>2</sub>	Ag-SnO <sub>2</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i>	512	256	256	64
<i>Staphylococcus aureus</i> 43300	16	16	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> 29213	16	16	16	4
SARM 3	32	16	8	4
SARM 7	>1024	>1024	512	64
<i>Streptococcus</i> spp.	>1024	>1024	512	64

De manière générale, l'efficacité des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées est plus marquée que celle associée aux nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures. Plus particulièrement, l'action de Ag est clairement plus manifeste que l'autre dopant, Fe en l'occurrence.

Concernant SnO<sub>2</sub> pure, il apparaît que l'influence de la taille des grains n'est pas évidente, sauf pour *Staphylococcus aureus* et SARM 3.

### III.5.2. Effet du SnO<sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram positif

Le tableau III.2 regroupe les valeurs de concentration minimale inhibitrice, obtenues après traitement des bactéries bacilles à Gram positif, à différentes concentrations de SnO<sub>2</sub>, pur et dopé.

**Tableau.III.2. Valeurs de CMI obtenues sur des bacilles à Gram positif, traités par SnO<sub>2</sub>, pur et dopé.**

Souches	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI µg/ ml)			
	SnO <sub>2</sub> / 36 nm	SnO <sub>2</sub> /13 nm	Fe-SnO <sub>2</sub>	Ag-SnO <sub>2</sub>
<i>Bacillus cereus</i>	512	256	64	16

À partir des résultats du traitement des bacilles à Gram positif par différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> pur et dopé, il apparait que l'espèce *Bacillus cereus* est surtout sensible à la présence de particules de SnO<sub>2</sub> dopé Ag, en ce sens que la CMI qui lui est associée est la plus faible, **16 µg /ml** en l'occurrence.

De manière plus générale, l'effet des particules dopées est plus marqué que celui des particules pures.

Enfin, il semble que la taille des nanoparticules joue un rôle non négligeable dans son efficacité à inhiber les bactéries, en tous cas celle qui nous préoccupe, car les résultats montrent que plus la taille moyenne des grains est faible, plus la CMI est basse.

### III.5.3. Effet de SnO<sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram négatif entérobactéries

Le tableau III. 3 rassemble les valeurs de CMI trouvés avec des Bacilles à Gram - (Entérobactéries).

**Tableau.III. 3. Valeurs des CMI obtenues sur des BGN. E traités par SnO<sub>2</sub> pur et dopé.**

Souches	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI µg/ ml)			
	SnO <sub>2</sub> / 36 nm	SnO <sub>2</sub> / 13 nm	Fe-SnO <sub>2</sub>	Ag-SnO <sub>2</sub>
<b>Bacilles à Gram - (Entérobactéries)</b>				
<i>E. coli</i> 22	<b>128</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>32</b>
KPC +	<b>&gt;1024</b>	<b>&gt;1024</b>	<b>512</b>	<b>256</b>
KPC -	<b>256</b>	<b>256</b>	<b>128</b>	<b>64</b>
<i>Proteus peneri</i>	<b>&gt;1024</b>	<b>&gt;1024</b>	<b>512</b>	<b>256</b>

Deux (2) informations peuvent être déduites de la lecture de ce tableau :

- Les quatre (4) entérobactéries étudiées sont sensibles à l'action des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Ag et à un degré moindre, aux autres nanoparticules dopées, Fe-SnO<sub>2</sub> en l'occurrence.
- L'efficacité de l'action des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures sur les bacilles à Gram- étudiées, ne semble pas dépendre de leur taille, à l'exception notable de *E. coli*22 où les nanoparticules les plus petits apparaissent comme les plus efficaces.

### III.5.4. Effet de SnO<sub>2</sub> pur et dopé sur les bacilles à Gram négatif non entérobactéries

Le tableau III.4 regroupe les valeurs de concentration minimale inhibitrice obtenues après traitement sur des bacilles à Gram négatif non entérobactéries, à différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> pur et dopé.

**Tableau.III.4. Valeurs des CMI obtenues sur les Bacilles à Gram - non Entérobactéries traitées par SnO<sub>2</sub> pur et dopé.**

Souches	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI µg/ ml)			
	SnO <sub>2</sub> / 36 nm	SnO <sub>2</sub> / 13 nm	Fe-SnO <sub>2</sub>	Ag-SnO <sub>2</sub>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	32	32	32	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>1024	>1024	512	64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VIM II	>1024	>1024	512	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IMP R	64	32	32	16
<i>Acinetobacter baumannii</i>	>1024	>1024	>1024	128

Les résultats consignés dans ce tableau admettent des commentaires comparables à ceux énoncés au paragraphe précédent, celui relatif aux bacilles à Gram négatif entérobactéries. En effet, là encore, les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Ag sont les plus efficaces pour inhiber les cinq bacilles à Gram négatif non entérobactéries étudiées et à un degré moindre, les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées Fe. Concernant l'influence de la taille des grains de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures, elle n'apparaît pas de manière évidente, les résultats de CMI obtenues étant globalement les mêmes.

D'une façon générale, nous pouvons constater que les bactéries à Gram négatif ont des valeurs de CMI supérieures à celles des bactéries à Gram positif. D'une autre part, nous remarquons que toutes les souches bactériennes traitées avec les différentes concentrations des nanoparticules dopées par le Fer et l'Argent présentent des concentrations minimales inhibitrices inférieures à celles des bactéries traitées avec SnO<sub>2</sub> pur, ce qui nous permet de déduire que les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> dopées présentent un effet bactéricide plus important, par rapport aux nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pures.

### III.6. Discussion

Les valeurs de CMI que nous avons obtenues pour les Gram négatif sont nettement supérieures à celles qui concernent les bactéries à Gram positif.

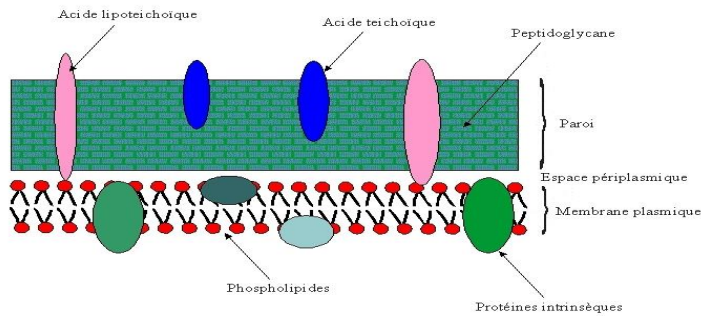
Ces résultats sont comparables à ceux de [Matin Amininezhad et al \(2015\)](#) qui ont constaté que les nanoparticules de SnO<sub>2</sub> présentent une activité antibactérienne beaucoup plus élevée contre *E. coli* ATCC 25922, par rapport à *S. aureus* ATCC 29213.

Nous pouvons donc déduire que les NPs de SnO<sub>2</sub>, n'agissent pas de la même manière sur les différents modèles bactériens testés.

Par ailleurs, une compilation des résultats de la littérature montre que la toxicité des NPs peut varier significativement entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif et dans certains cas, entre dans organismes ([Jiang, 2009](#)).

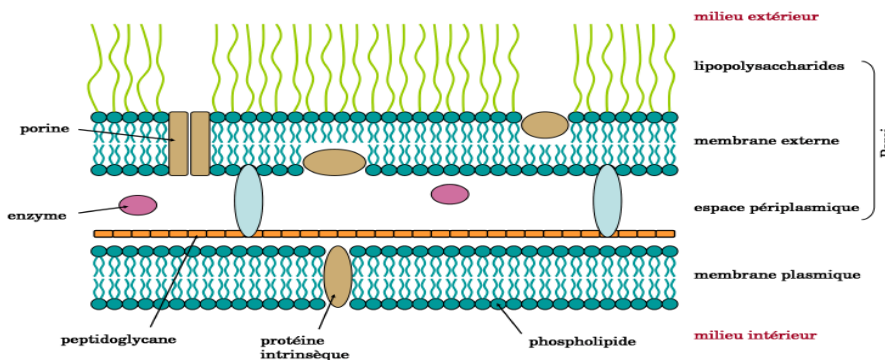
Cette toxicité peut être expliquée par les différences qui interviennent dans la composition de la paroi bactérienne, laquelle, peut (ou pas) faciliter l'introduction des NPs ([Baek & An, 2011](#)). En effet, la paroi des bactéries à Gram positif est relativement épaisse (figure.III.2), composée de plusieurs couches de polymère de peptidoglycane, et une seule membrane plasmique.

La paroi des bactéries Gram positif



**Figure.III.2. Organisation de la paroi bactérienne des bactéries à Gram positif.**

Quant à la paroi des bactéries à Gram négatif, elle est plus complexe (figure.III.3).



**Figure.III.3. Organisation de la paroi bactérienne des bactéries à Gram négatif (Simon-Deckers, 2008).**

Le peptidoglycane, réduit à une fine couche, est entouré par deux membranes. La membrane interne comporte majoritairement des phospholipides, alors que la membrane externe présente une structure asymétrique, avec une face interne constituée de phospholipides et une face externe, caractérisée par la présence du lipopolysaccharide (LPS) (Cronan *et al.*, 1987).



Le LPS représente 75% de la surface totale de la membrane externe et établit des interactions spécifiques avec des protéines membranaires, telles que les porines qui sont des protéines membranaires formant des canaux permettant la diffusion de petites molécules à travers la membrane des cellules. Il est constitué de trois domaines structuraux, comprenant un lipide A, qui assure son ancrage à la membrane externe, un oligosaccharide central et un antigène O, formé de plusieurs unités oligosaccharidiques. Son caractère hydrophile rend la membrane externe des bactéries à Gram négatif imperméable à la plupart des macromolécules hydrophobes (Normak et Normak, 2002).

Aussi, les différences observées entre les deux types bactériens laissent penser que l'interaction avec la paroi joue un rôle important dans la toxicité de NPs de type métallique.

Partant du principe qu'il existe une attraction électrostatique entre les oxydes métalliques chargés positivement et les microorganismes chargés négativement ce qui permettrait une adsorption de ces NPs à travers la paroi bactérienne. Par conséquent, des fosses vont se former au niveau des porines conduisant à une perméabilité accrue de LPS et une mort cellulaire (Holt *et al.*, 2005). Cependant les mécanismes de ces dommages ne sont pas encore bien élucidés (Fang *et al.*, 2007).

Plusieurs hypothèses ont été formulées. L'hypothèse la plus probable de la déstabilisation de la paroi par les NPs peut être due à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui provoqueraient des réactions radicalaires destructrices en chaînes (peroxydation lipidiques) dans la couche lipopolysaccharides bactériennes, cette production d'ERO a été corrélée à des dommages membranaires et à des dommages oxydatifs de l'ADN (Gurr *et al.*, 2005).

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Matin Amininezhad, S., Alireza Rezvani., Mehdi Amouheidari., Mohamad Amininejad, S, Sajjad Rakhshani. 2015. The Antibacterial Activity of SnO<sub>2</sub> Nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Baek, Y. W., & An, Y. J.; 2011. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Science of the Total Environment*, 409(8), 1603-1608. doi : 10.1016/j.scitotenv.2011.01.014

Carlet, J., Rambaud, C., Pulcini, C. 2012. Alliance contre les bactéries multirésistantes : sauvons les antibiotiques ! Alliance against MDRO : Safe guarding antibiotics. *Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation* 31(2012) 704-708.

Cavallo, J-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrab, E. ; 2004. Bêta lactamines. *EMCN Maladies Infectieuses* 1 (2004) 129 – 202.

Communiqué de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie (CASFM) ; 2012. Communiqué de l'année 2012.) à ajouter aux références.

Cronan J.E., Gennis R.B. and Maloy S.M.; 1987. Cytoplasmic membrane. In *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *American Society for Microbiology* : Washington, D.C. pp. 31-55.

Fang, J., Lyon, D. Y., Wiesner, M. R., Dong, J., & Alvarez, P. J. J.; 2007. Effect of a Fullerene Water Suspension on Bacterial Phospholipids and Membrane Phase Behavior. *Environmental Science and Technology*, 41(2636-2642). doi: 10.1021/es062181w.

Ferron A.1976. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 8<sup>ème</sup> édition. Éd. Groun et Roques. France.

Gurr, J.-R., Wang, A.S.S., Chen, C.-H., and Jan, K.-Y.; 2005. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photo activation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213(1-2):66–73

Holt, K.B. and Bard, A.J.; 2005. Interaction of silver (1) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy of micromolar Ag. *Biochemistry*. 44(39): 13214–13223

Jiang, W., Yang, K., Vachet, R. W., Xing, B. 2010. Interaction between oxide nanoparticles and biomolecules of the bacterial cell envelope as examined by infrared spectroscopy. *Journal of surfaces and colloids*, 26(23), 18071-18077.

Laurent Guitmann. ; 2013. La résistance aux Antibiotique. Service de microbiologie de l'hôpital européen. Paris.

Le minor, L., Veron, N. Bactériologie Médicale. *Flam Med. Science*, Paris. ; 1989 : 333-318 ; 773-823.

Lopez Goerne, T.M., Alvarez Lemus, M.A., Morales V.A., López E.G. and Ocampo P.C.2012. Study of Bacterial Sensitivity to Ag-TiO<sub>2</sub> Nanoparticles. *J Nanomed Nanotechol*. S5:003.

Mandzy, N., Grulke, E., and Druffel, T.; 2005. Breakage of TiO<sub>2</sub> agglomerates in electrostatically stabilized aqueous dispersions. *Powder technology*, 160(2) :121–126.

Normak, H.B. and Normak S.; 2002. Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. Intern. Med.* (252): 91-106.

Sauter, C., Pohl, M., and Schuchmann, H.P.; 2006. Ultrasound for dispersing nanoparticles. In 12th European Conference on Mixing.

Simon -Deckers Angélique.2008. Thèse de doctorat : Effet Biologique de nanoparticules manufactures influence caractéristique.

Sosa I.O., Noguez, C. and Barrera, R.G.; 2003. Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary shapes. *J Phys Chem B*. 107(26): 6269–75.

Sunada, K., Watanabe, T., and Hashimoto, K.; 2003. Studies on photokilling of bacteria on TiO<sub>2</sub> thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 156:227–233.

# **Chapitre IV. Évaluation de la Toxicité des Nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, sur un Modèle Unicellulaire : *Paramecium Tetraurelia*.**

---

La présente étude porte essentiellement sur l'évaluation de la toxicité potentielle des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur un organisme eucaryote unicellulaire, *Paramecium Tetraurelia*. Pour cela, un premier volet est consacré au suivi de la croissance cellulaire de *Paramecium Tetraurelia* en présence des trois tailles de grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>. Dans un second volet, nous nous sommes intéressés au suivi d'un métabolisme clé à savoir le métabolisme respiratoire à travers notamment l'évaluation de la consommation d'oxygène par la paramécie. Ceci nous conduit logiquement à étudier l'effet de ces nanoparticules sur le système antioxydant via la mesure de certains biomarqueurs : la quantification du taux du Glutathion réduit (GSH), l'activité Catalase (CAT) et l'activité Glutathion S-transférase.

---

### **IV.1. Introduction**

Il est aujourd'hui admis que ce qu'on définit comme étant des bioindicateurs de la pollution environnementale sont très sensibles aux variations physicochimiques de leurs milieux, tel que les hydrocarbures (Ismart *et al.*,2002), les éléments traces métalliques (Gomot,1997) ou encore les pesticides (Coeurdassier *et al.*, 2002, Vidal 2001 et Rouabhi,2005).

Soumis à un stress exogène, les microorganismes ont la capacité de développer toute une batterie de réponses capables d'enclencher un processus de détoxification, vis-à-vis des xénobiotiques afin de lutter, et/ou de s'acclimater face au stress chimique (Lagadec *et al.*,1997, Perez-Rama,2001).

C'est le cas des protistes qui sont des cellules eucaryotes, ubiquitaires dans l'environnement aquatique et terrestre, caractérisées par un court cycle de vie, une multiplication rapide (Beal et Anderson, 1993). Toute modification de leur milieu pourrait affecter leur comportement, ce qui a justifié l'utilisation de *Paramecium Tetraurelia* comme modèle cellulaire alternatif en toxicologie, ainsi que pour l'évaluation des risques pour la santé (Sauvant *et al.*,1999).

### **IV.2. Matériel et méthodes**

Cette partie de notre travail a été effectuée au niveau du Laboratoire de Toxicologie Cellulaire du département de biologie de l'université Badji Mokhtar-Annaba. Elle consiste d'abord à procéder à la culture de la paramécie étudiée selon un protocole déjà établi, à l'observation des cinétiques de leur croissance par microscopie optique, à la détermination du nombre relatif de paramécies vivantes, aux dosages enzymatiques, tels que GSH, GST et catalase et enfin, à l'étude du mécanisme respiratoire.

### IV.3. Culture du microorganisme *Paramecium Tetraurelia*

La culture des paramécies est effectuée selon la méthode de [Beaumont et Cassier \(1998\)](#) : après avoir fait macérer un mélange de foin et de laitue séchée dans de l'eau de pluie, le milieu est placé dans un endroit sombre, tiède et bien aéré à 20 °C, pendant environ dix jours. Après filtration, une goutte de ce milieu est prélevée et observée sous microscope optique (Leïca DL 1000) pour confirmer la présence des premiers flagellés et dont les mouvements assurent notamment la natation de la cellule).

Ces organismes se nourrissent aux dépens du voile bactérien. Après apparition des paramécies, il est procédé à leur isolement, avec des repiquages tous les trois jours pour maintenir une bonne culture.

La purification de la culture est obtenue en suivant la méthode de [Azzouz et al., \(2011\)](#), dont la composition est détaillée dans le tableau IV.1.

**Tableau. IV.1. Composition du milieu de culture des paramécies [Azzouz et al., \(2011\)](#),**

Composition du milieu	Quantité en g
Foin	7.5
Laitue	10
Blé	7.5
Concombre	4
Pomme de terre	4
Cacahuètes	2
Levure	Une pincée

Le mélange est enfin porté à ébullition dans 1.5 litre d'eau distillée pendant 30 min et le bouillon final, réparti dans des flacons.

#### IV.4. Cinétique de croissance cellulaire

La cinétique de croissance des paramécies est effectuée par comptage cellulaire manuel (compteur manuel) sous microscope optique (Leïca DL 1000) en fonction du temps, selon la méthode de (Bouaricha ,2012). La cinétique de croissance est réalisée par le comptage journalier (toutes les 24 heures) du nombre de cellules après fixation des cellules avec du lugol.

L'observation microscopique est réalisée sous microscope photonique au grossissement 10, selon le protocole suivant :

T0h → Observation microscopique + comptage de cellules

T24h → Observation microscopique + comptage de cellules



T96h → Observation microscopique +comptage de cellules

#### IV.5. Calcul du pourcentage de réponse

C'est un calcul qui évalue la réponse du protiste vis-à-vis des xénobiotiques ; les valeurs positives du pourcentage de réponses indiquent une inhibition de la croissance, tandis que celles négatives attestent d'une stimulation de la croissance (wong *et al.*, 1999).

Le pourcentage de réponse est déterminé à partir de l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de réponse} = [(N_C - N_E) / N_C] \times 100 \quad \text{IV.1}$$

où N<sub>C</sub> est le nombre de cellules témoins et N<sub>E</sub>, le nombre de cellules traitées.



## IV.6. Dosages biochimiques

Pour suivre l'évolution des biomarqueurs biochimiques après chaque temps de traitement, les aliquotes de paramécies sont centrifugés à (1500 rpm/min), puis les culots sont conservés dans des solutions tampon pour le dosage du Glutathion (GSH), l'activité Glutathion-s-transférase (GST) et de l'activité Catalase, respectivement.

Nous allons successivement les expliciter.

### IV.6.1 Dosage du taux de glutathion (GSH)

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker et Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion. Il est mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante ([Weckberker et Cory \(1988\)](#)) :

$$\text{GSH } (\mu \frac{\text{mol}}{\text{min}} / \text{mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \cdot \text{V}_1 \cdot \text{V}_2}{\text{C} \cdot \text{V}_3 \cdot \text{V}_4 \cdot \text{P}} \quad \text{IV.2}$$

Avec :

**DO**, la densité optique,

**V<sub>1</sub>**, le volume total, égal à 1 ml, des solutions utilisées dans la déprotéinisation,

**V<sub>2</sub>**, le volume total, égal à 1,525 ml, des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml tris-EDTA),

**C**, le coefficient d'absorbance (concernant le groupement thiol (-SH) du GSH), égal à 13.1,

**V<sub>3</sub>**, le volume de l'homogénat utilisé en ml, pris égal à 0,8 ml,

**V<sub>4</sub>**, le volume du surnageant utilisé en ml, égal à 0,5 ml,

**P**, la quantité de protéines exprimée en mg.

#### **IV.6.2. Mesure de l'activité GST (glutathion S-transférase)**

L'activité glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de [Habig et al., \(1974\)](#). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène), en présence d'un cofacteur, le glutathion (GSH).

Pour ce faire, les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6) et l'homogénat centrifugé à 14000 tours pendant 30 min, tandis que le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

L'activité est déterminée en utilisant la formule suivante ([Habig et al.,1974](#)) :

$$\text{GST}(\mu\frac{\text{mol}}{\text{min}}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO} \cdot \text{Vt}}{\text{C} \cdot \text{Vs} \cdot \text{d} \cdot \text{P}} \quad \text{IV.3}$$

**DO** : La densité optique, ou  $\Delta\text{DO}$  : la variation de la densité optique par minute.

**V<sub>t</sub>** : Le volume total de la cuve (1,2 ml du mélange CDNB / GSH + 0,2 ml de surnageant),

**C= 9,6** : Le coefficient d'extinction du mélange (GSH-CDNB) à 340 nm,

**V<sub>s</sub>** : Le volume du surnageant utilisé dans le dosage (0,2 ml),

**d** : L'épaisseur de la cuve (1 cm),

**P = mg de protéines** : La quantité de protéines exprimée en mg.

### IV.6.3. Mesure de l'activité Catalase (CAT)

La mesure de l'activité Catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de [Regoli et Principato \(1995\)](#), dont le principe repose sur la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), à une longueur d'onde de 240nm.

L'activité Catalase (CAT) est exprimée en μmol d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute et par mg de protéines, en adoptant la formule suivante :

$$X \left( \mu \frac{\text{mol}}{\text{min}} / \text{mg de protéines} \right) = \frac{\Delta \text{DO} \cdot 10}{\epsilon \times L \cdot 0.05 \cdot P} \quad \text{IV.4}$$

**X** est le nombre de micromoles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consommées par minute et par mg de protéines, **Δ Do**, la différence de Densité Optique obtenue après hydrolyse du substrat, **ε**, le coefficient d'extinction, égal à 0,0040 m M<sup>-1</sup>. Cm<sup>-1</sup> dans notre cas, **L**, la longueur de la cuve utilisée (1cm) et **P**, la quantité de protéines exprimée en mg.

### IV.7. Caractérisation des malformations

Le traitement des paramécies est opéré pour différentes concentrations et tailles de nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, tandis que l'évolution de leurs anomalies morphologiques (structurales et membranaires) est suivie par observation microscopique (Leica DL1000), au grossissement x20, durant les 96 heures de traitement.

### IV.8. Étude du métabolisme respiratoire

L'activité respiratoire des paramécies est mesurée au moyen d'une électrode à oxygène de type Clark, selon une méthode développée par [Djebar et Djebar, \(2000\)](#).

Les échantillons sont injectés dans l'enceinte de l'électrode qui est constituée principalement d'une cellule cylindrique à volume réglable, entourée d'une

pochette d'eau qui est liée à un bain marie avec un système circulaire d'eau. La cellule de réaction contient un agitateur magnétique pour assurer une homogénéité optimale de l'échantillon (figure IV.1).



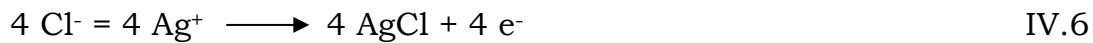
**Figure.IV.1. Image d'une électrode d'oxygène**

Le principe de cet oxymètre à électrode (Hansatech DW1) repose sur un phénomène électrochimique. L'électrode est constituée d'une cathode de platine et d'une anode d'argent, plongeant dans une solution saturée de KCl qui sert d'électrolyte. L'ensemble électrodes-électrolyte est séparé du milieu étudié par une membrane perméable au dioxygène mais imperméable à l'eau et aux ions. Une tension de polarisation d'environ 0.7 V est appliquée entre les deux électrodes. Sous l'influence de cette tension (potentiel redox),

l'oxygène dissous dans la solution de KCl est ionisé en hydroxyle au contact de la cathode, suivant la réaction :



Au contact de l'anode, a lieu l'autre réaction :



L'oxygène diffusant à travers la membrane est réduit en eau par les électrons libérés à la cathode. Le courant qui s'établit entre les deux électrodes est proportionnel à la concentration en oxygène. Ce courant est ensuite amplifié et mesuré.

## IV.9. Résultats et discussion

### IV.9.1. Effets des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur la croissance des paramécies

Les figures IV.2, IV.3 et IV.4 illustrent l'effet des concentrations croissantes des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, de différentes tailles, sur la cinétique de croissance des *paramécies*, témoin et traitées.

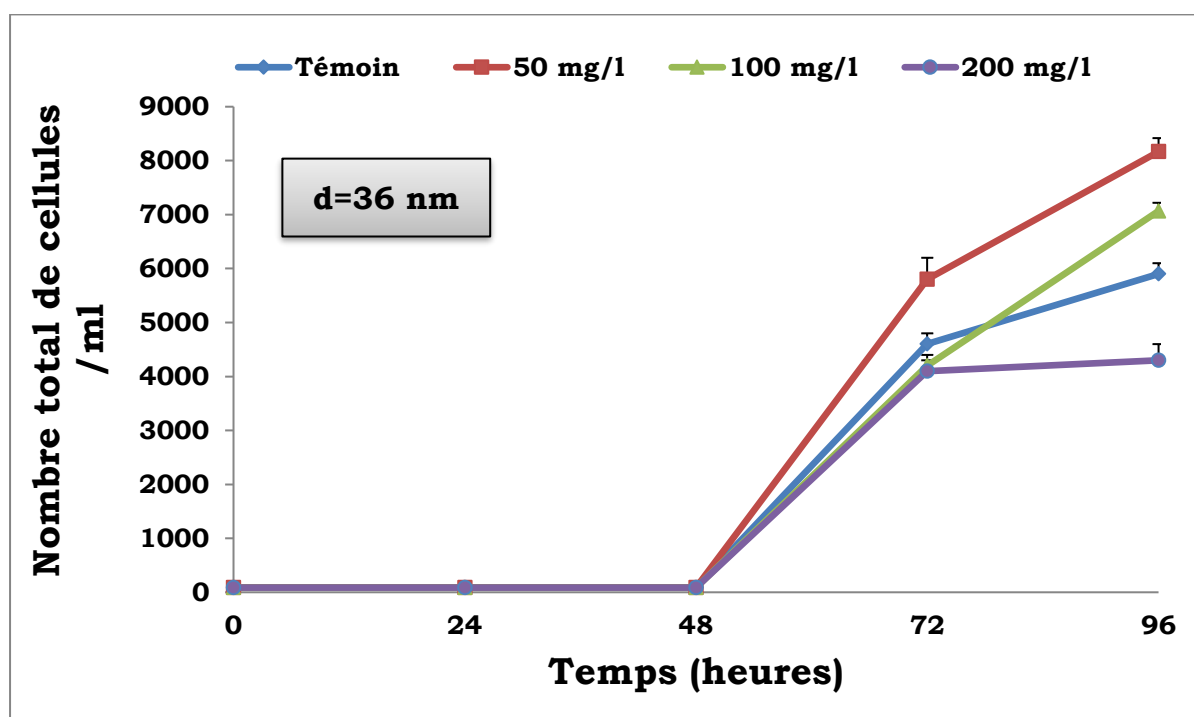


Figure. IV. 2. Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.

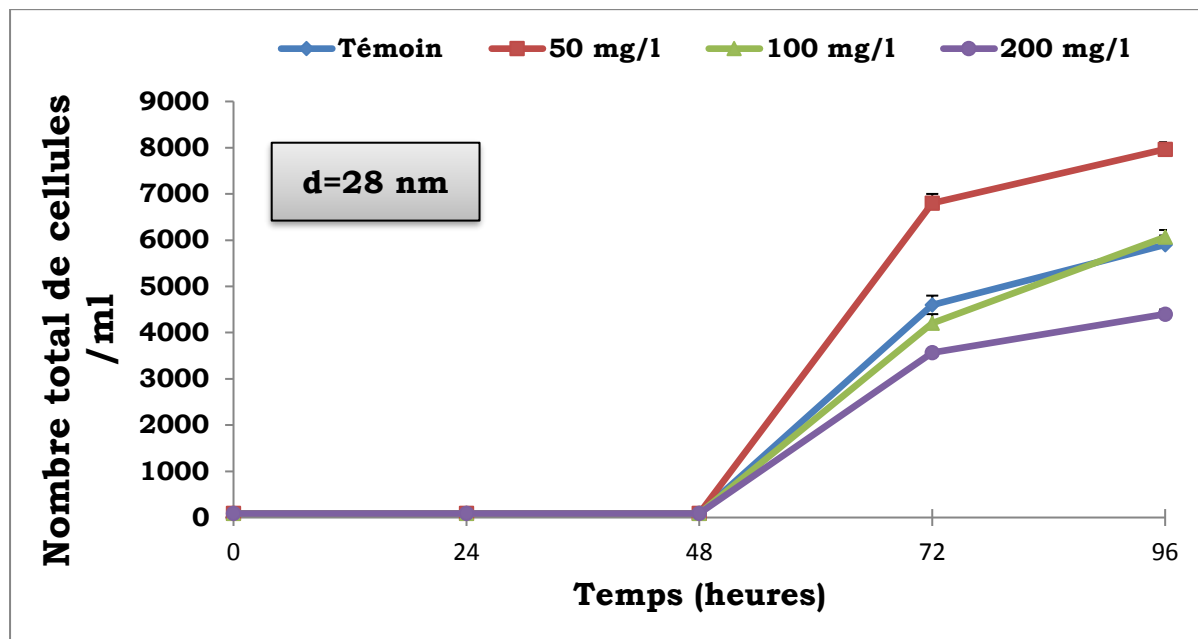


Figure. IV. 3. Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 28 nm.

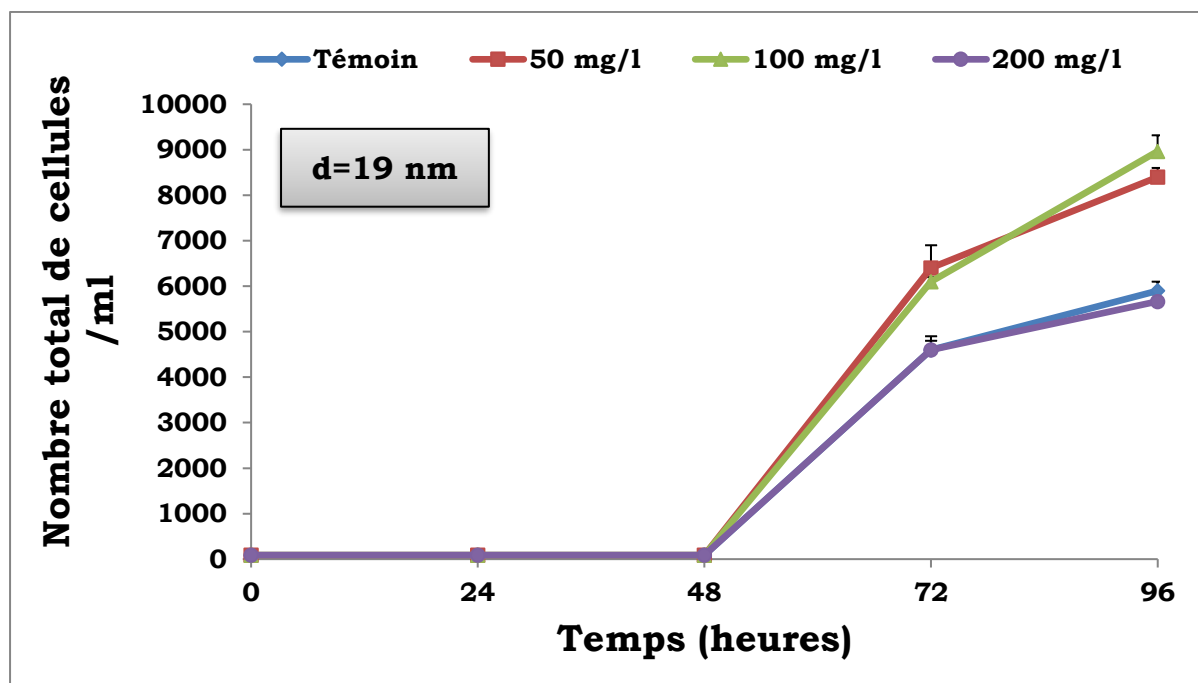


Figure. IV. 4. Cinétique de croissance des paramécies en fonction de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.

Une observation couplée et comparée des figures IV.2, IV.3 et IV.4 permet d'abord de constater, chez les paramécies exposées aux nanoparticules de SnO<sub>2</sub> avec une concentration de 200 mg/l, une inhibition de la croissance pour deux tailles de grains (28 et 36 nm) par rapport à l'échantillon témoin, tandis qu'elles sont du même ordre de grandeur pour d=19 nm.

Par contre, il est moins évident de conférer à l'influence des autres concentrations sur les cinétiques de croissance une logique d'évolution, sauf à dire qu'il existe une stimulation de la croissance cellulaire, avec un maximum de 7000 cellules/ml, chez les cellules traitées à faible concentration, clairement à 50 mg/l et partiellement à 100 mg /l, pour toutes les tailles des particules de SnO<sub>2</sub> testées.

Ces observations apparaissent plus clairement en appréciant l'effet de la taille des cristallites de SnO<sub>2</sub>, avec différentes concentrations, sur la cinétique de croissance des *paramécies*, témoins et traitées. Les figures IV.5, IV.6 et IV.7 illustrent ces variations.



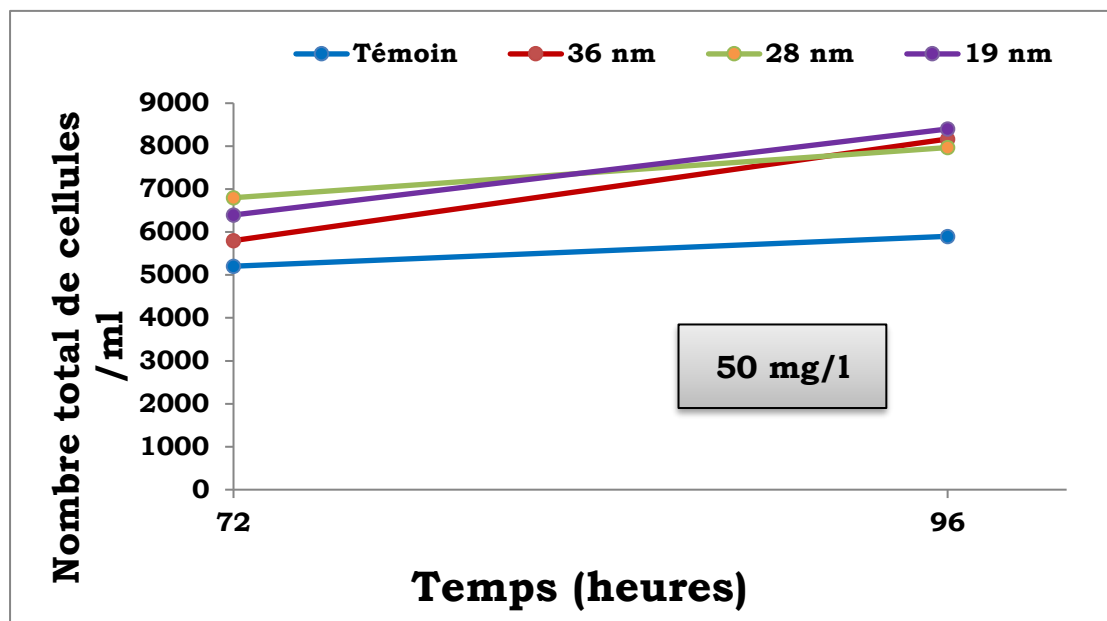


Figure.IV.5. Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO<sub>2</sub> NPs, à une concentration de 50 mg/l.

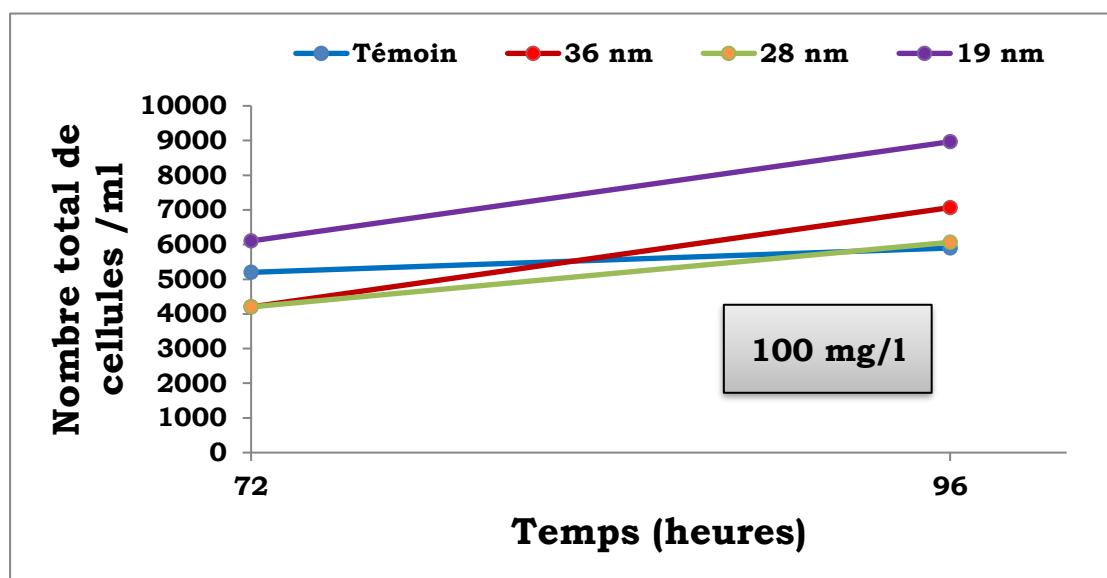
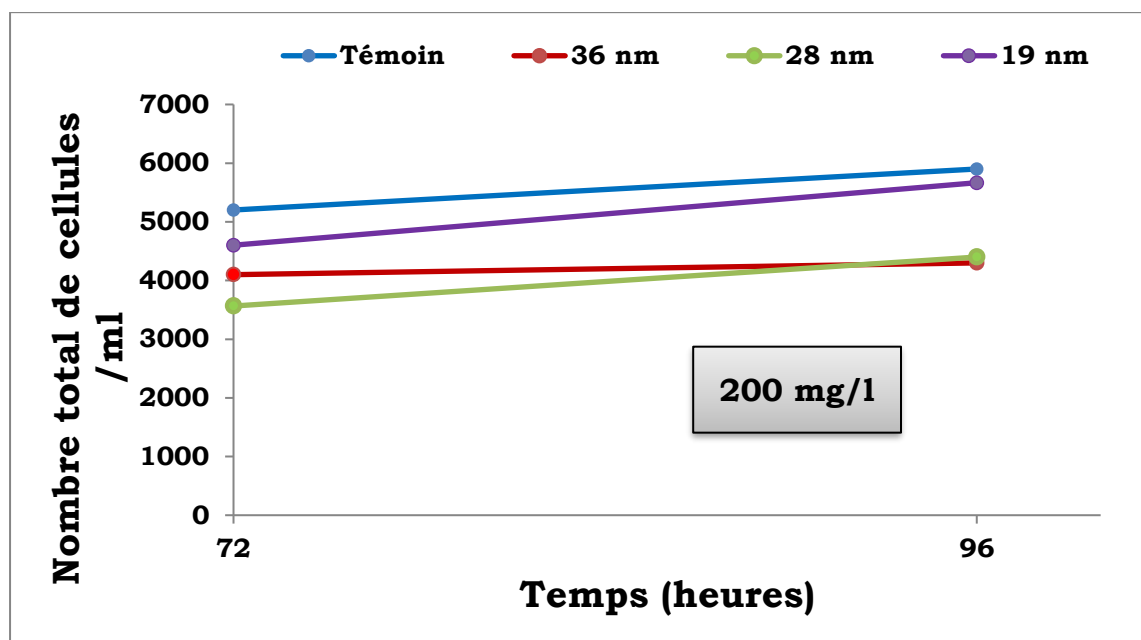


Figure.IV.6. Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO<sub>2</sub> NPs, à une concentration de 100 mg/l.



**Figure.IV.7. Cinétique de croissance des paramécies traitées en fonction du temps d'exposition, pour différentes tailles de grains de SnO<sub>2</sub> NPs, à une concentration de 200 mg/l.**

Le premier constat qui pourrait être énoncé est le fait que l'influence de la taille des grains sur les cinétiques de croissance des paramécies est assez notable. Une stimulation de la croissance cellulaire par toutes les tailles de grains testées, aux deux concentrations ,50 et 100 mg/l, est observée. De manière plus particulière, c'est avec la taille de 19 nm que les valeurs les plus élevées ont été obtenues, 9000 et 8000 cellules/ml respectivement.

En revanche, chez les paramécies exposées aux nanoparticules de SnO<sub>2</sub> avec la concentration 200 mg/l, nous constatons une inhibition de la croissance pour toutes les tailles de grains.

De plus, les figures IV.8 et IV.9 illustrent l'évolution des courbes traduisant la cinétique de croissance des *paramécies* en fonction de la taille des grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, pour différentes valeurs de concentrations.

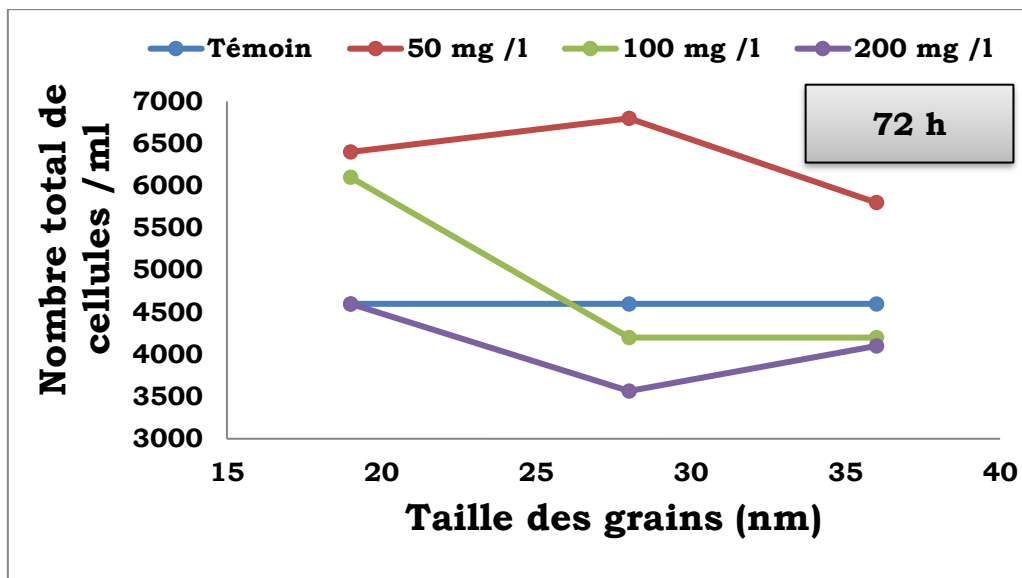


Figure.IV.8. Effet de la taille des grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur la cinétique de croissance des *paramécies*, pour différentes valeurs de concentrations à 72 h d'exposition.

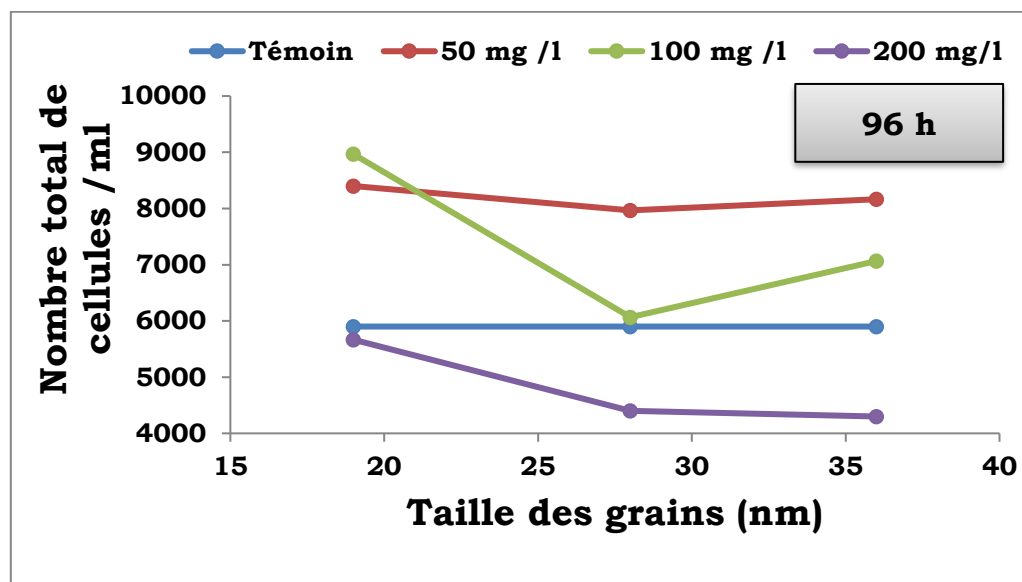


Figure.IV.9. Effet de la taille des grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur la cinétique de croissance des *paramécies*, pour différentes valeurs de concentrations à 96 heures d'exposition.

Il est important de noter tout d'abord que la toxicité de NPs de SnO<sub>2</sub> a été très peu étudiée, l'absence d'articles sur le sujet en témoigne.

Le paramètre physique que nous avons jugé le plus pertinent pour apprécier son effet sur la cinétique de croissance des paramécies, paramètre qui rend réellement compte de la toxicité d'un xénobiotique (Sauvant *et al.*, 1999 ; Perez-Rama, 2001), est la taille moyenne des grains. Notons que l'on pourrait également prendre en considération d'autres paramètres qui leur sont spécifiques, comme leur surface spécifique, à cause d'un rapport surface/volume élevé ou encore la forme de ces grains.

La stimulation de la croissance cellulaire pour les deux plus faibles concentrations peut être expliquée par le phénomène "d'hormesis", qui peut être défini comme étant une relation dose-réponse caractérisée par une stimulation à faible dose et une inhibition à dose élevée (Eaton et Klaassen 2001).

Les travaux de shin *et al.*, 2007 sur la cytotoxicité des NPs d'Ag sur des cellules mononucléaires de sang périphérique ont montré qu'à faible concentration, la prolifération cellulaire est stimulée alors qu'à forte concentration, elle est inhibée ; ceux effectués par Zhi-Hao Jiao *et al.*, 2014 ont montré qu'à faible concentration de NPs d'Ag, il y a stimulation de la prolifération des cellules de HepG2.

Cet effet sur la croissance a pu être confirmé par le pourcentage de réponse (Wong *et al.*, 1999) qui est un paramètre qui rend compte de l'évolution réelle de la croissance cellulaire.

La perturbation de la croissance est indicatrice d'une toxicité des NPs testées. Aussi est-il nécessaire d'investiguer les capacités de défense cellulaire vis-à-vis du stress induit. Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobies, il permet de neutraliser les réactions chimiques intermédiaires, produites par voie endogène et/ou le métabolisme des

xénobiotiques. L'activité du système antioxydant peut être induite ou inhibée sous l'effet d'un stress chimique (Winston et Di Giulio ,1991).

#### **IV.9.2. Effet des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur l'évolution du pourcentage de réponse**

Le pourcentage de réponse permet d'évaluer les effets de SnO<sub>2</sub> aux différentes concentrations sur la viabilité des paramécies et de confirmer ainsi les résultats obtenus concernant la cinétique de croissance des paramécies.

Les figures IV.10, IV.11 et IV.12, illustrent le pourcentage de réponse des paramécies traitées pour trois concentrations (50,100 et 200 mg/l) et trois tailles de grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> (19,28 et 36 nm).

Rappelons que ces résultats ont été obtenus à partir des informations consignées au paragraphe IV.4, en particulier la relation IV .1, qui fait intervenir le nombre de cellules témoins, N<sub>c</sub>, ôté du nombre de cellules traitées, NE, et rapporté à N<sub>c</sub>. C'est pour cette raison que tous nos histogrammes ont été effectués pour les seuls temps d'exposition de soixante-douze (72) et quatre-vingt-seize (96) heures.

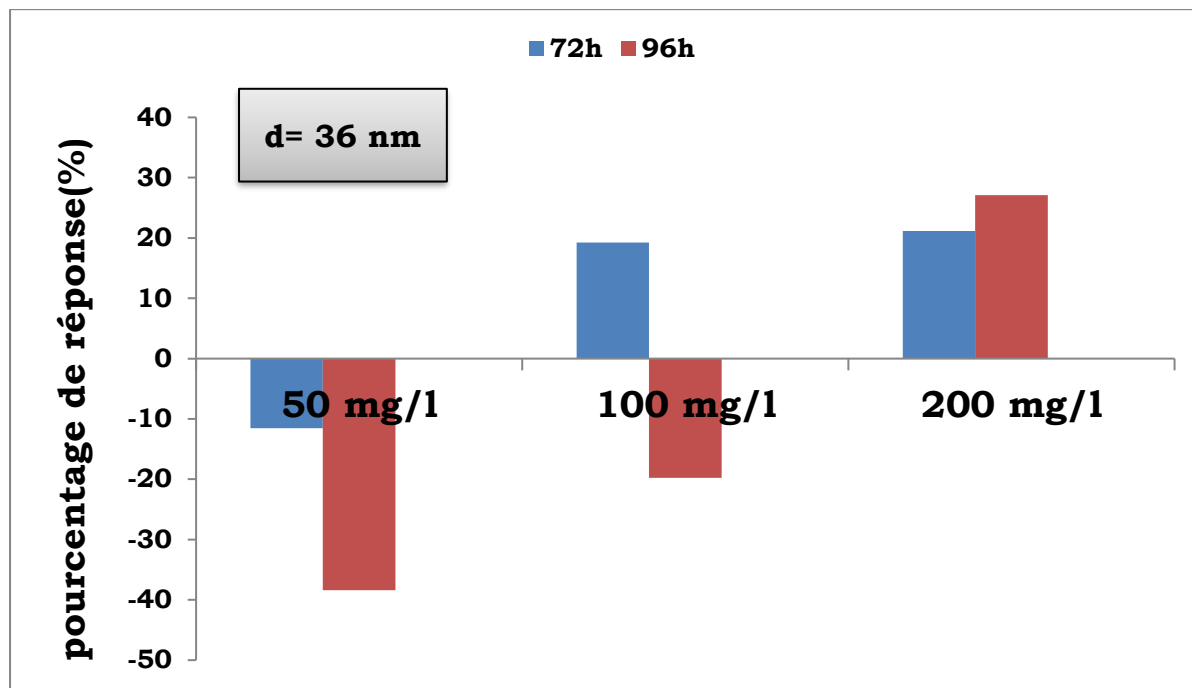


Figure.IV.10. Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.

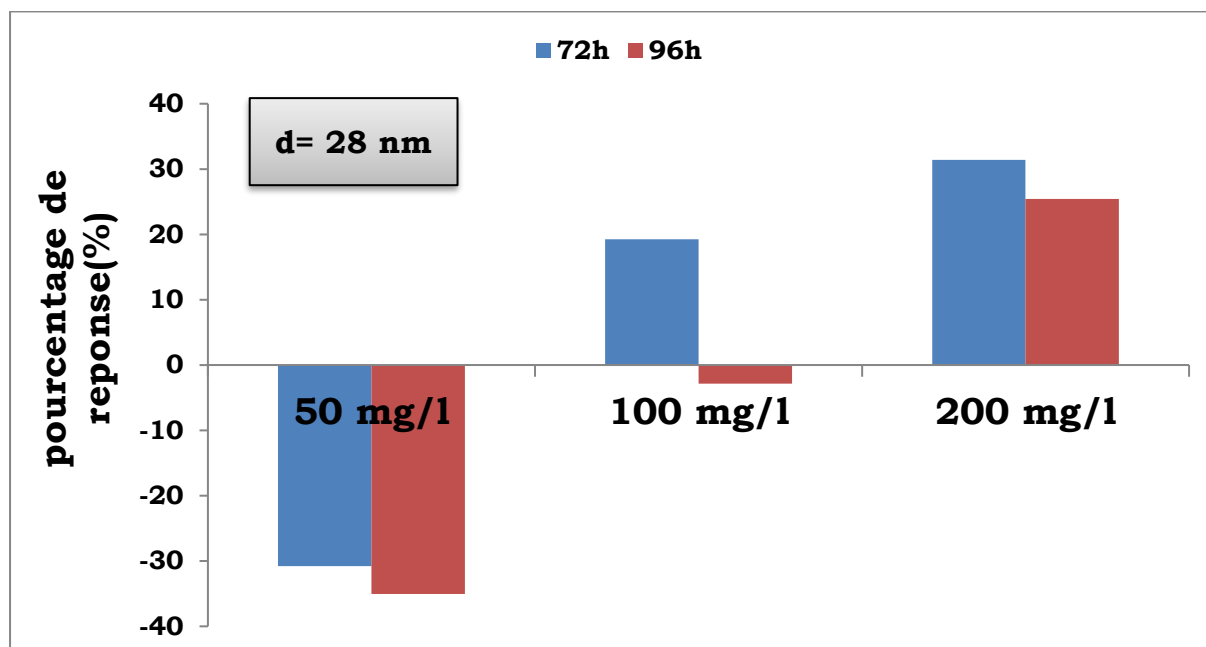
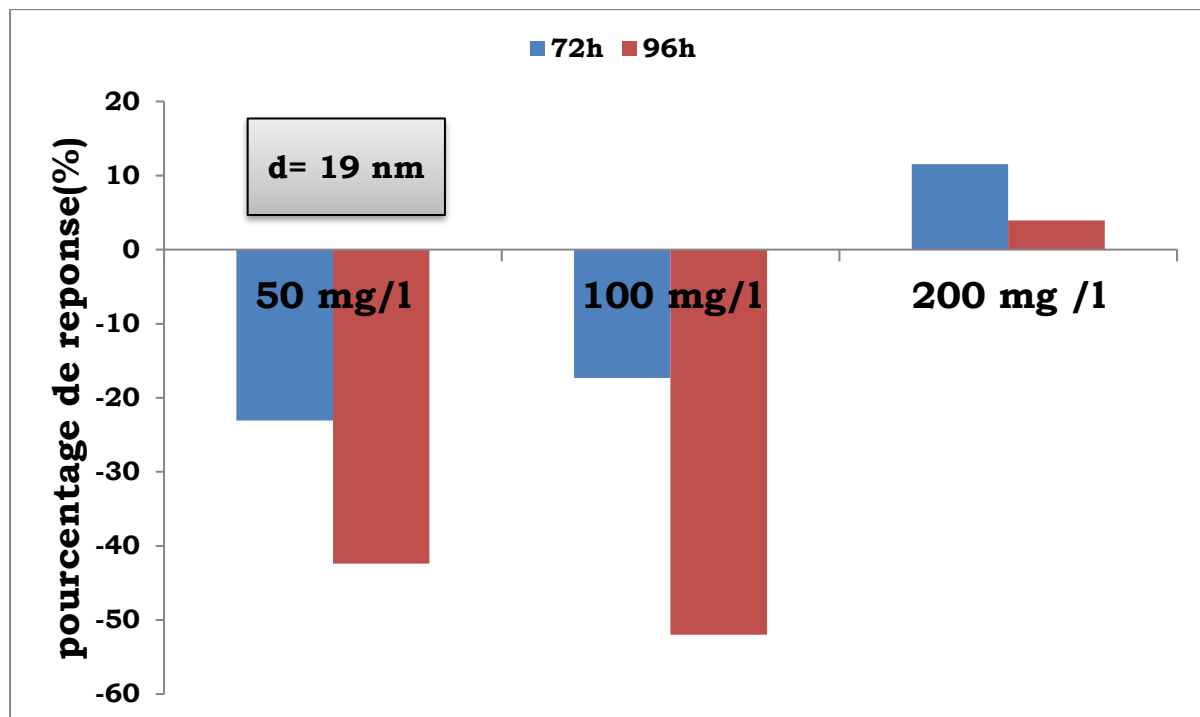


Figure.IV.11. Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 28 nm.



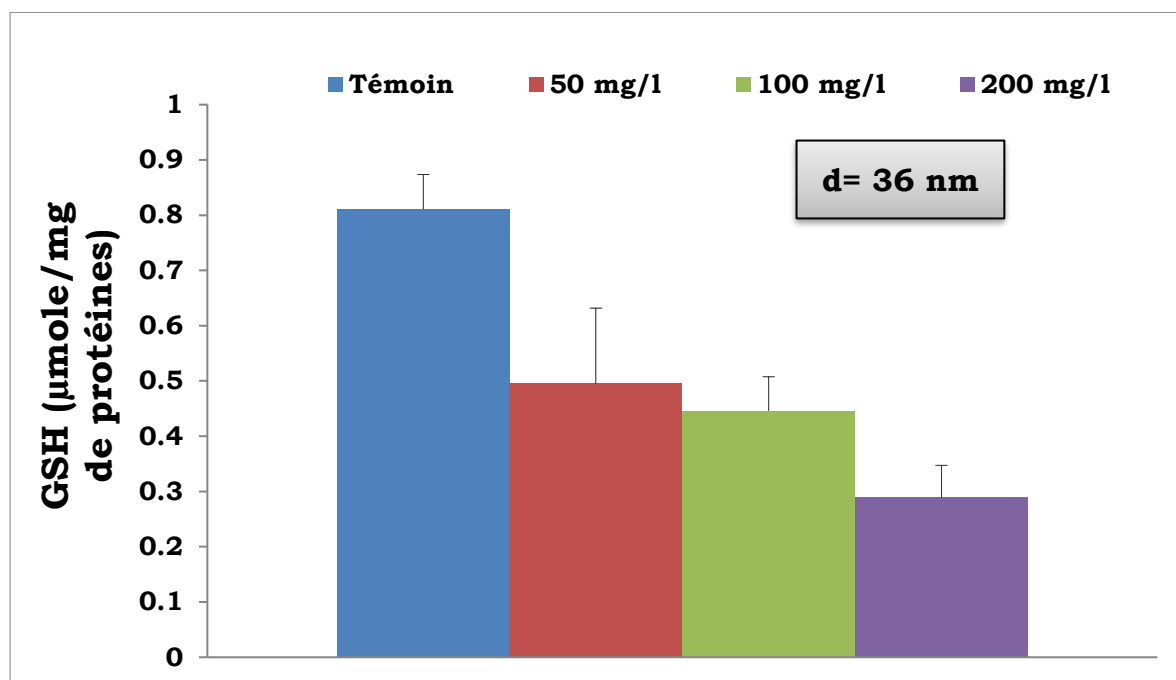
**Figure.IV.12. Pourcentage de réponse des paramécies traitées avec différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.**

Il apparaît d'abord que le pourcentage de réponse relatif à la concentration de 200 mg/l est positif, contrairement à celui qui est associé à la concentration de 50 mg/l où il est négatif, pour toutes les tailles de particules testées (19,28 et 36 nm).

Par contre, à 100mg/l, le pourcentage de réponse à un comportement erratique, négatif à quatre-vingt-seize (96) heures d'exposition pour les trois tailles de grains, négatif également pour 19 nm, mais positif pour 36 et 28 nm, à soixante-douze (72) heures.

### IV.9.3. Effet des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur le taux de GSH

Les figures IV.13, IV.14 et IV.15, mettent en évidence l'évolution du taux de GSH en fonction de différentes concentrations et tailles de grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>. L'évaluation de ces taux se fait à travers la relation IV.2 du paragraphe IV.5.1.



**Figure.IV.13. Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 36 nm.**



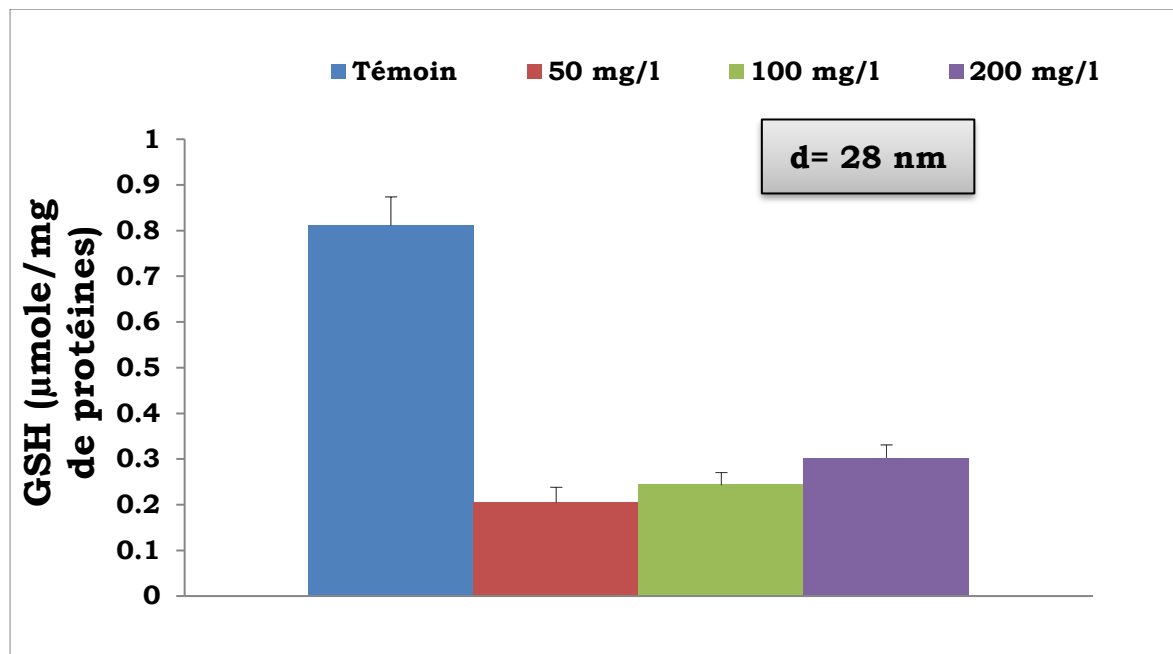


Figure.IV.14. Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d=28 nm.

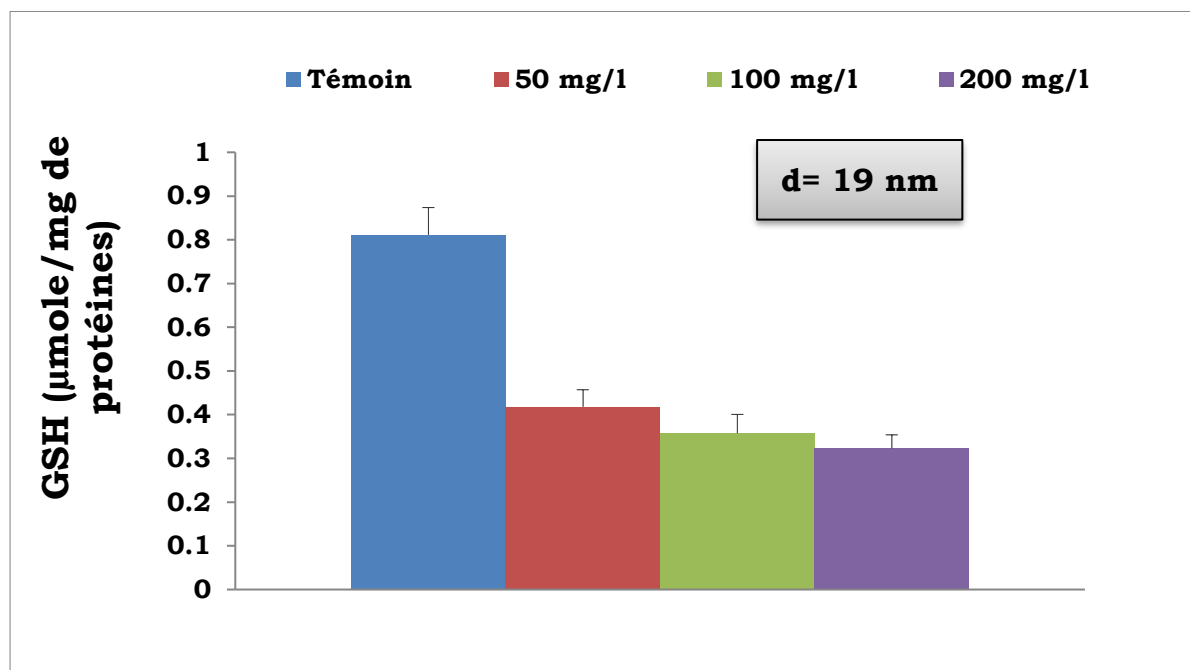


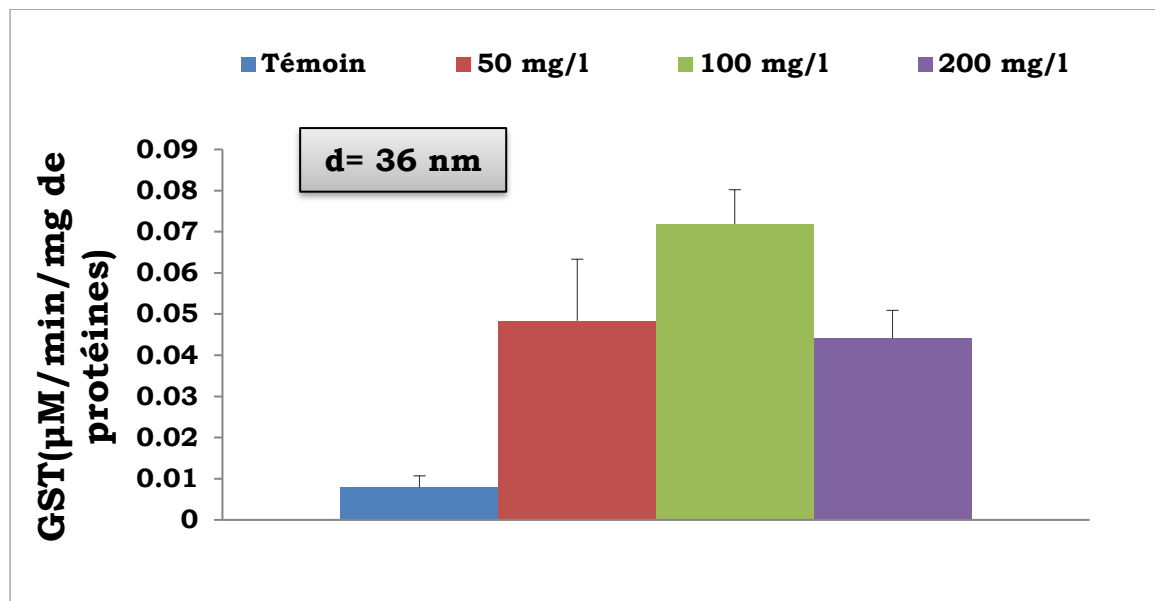
Figure.IV.15. Évolution de l'activité GSH en fonction de concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 19nm

Nous remarquons une diminution monotone du taux de GSH avec toutes les concentrations étudiées (50,100 et 200 mg/l) et ce, pour deux tailles des particules testées (19 et 36 nm), mais pas pour celle, intermédiaire, de 28 nm où elle admet un comportement inverse, déduction faite de l'échantillon témoin, dont les valeurs sont beaucoup plus élevées.

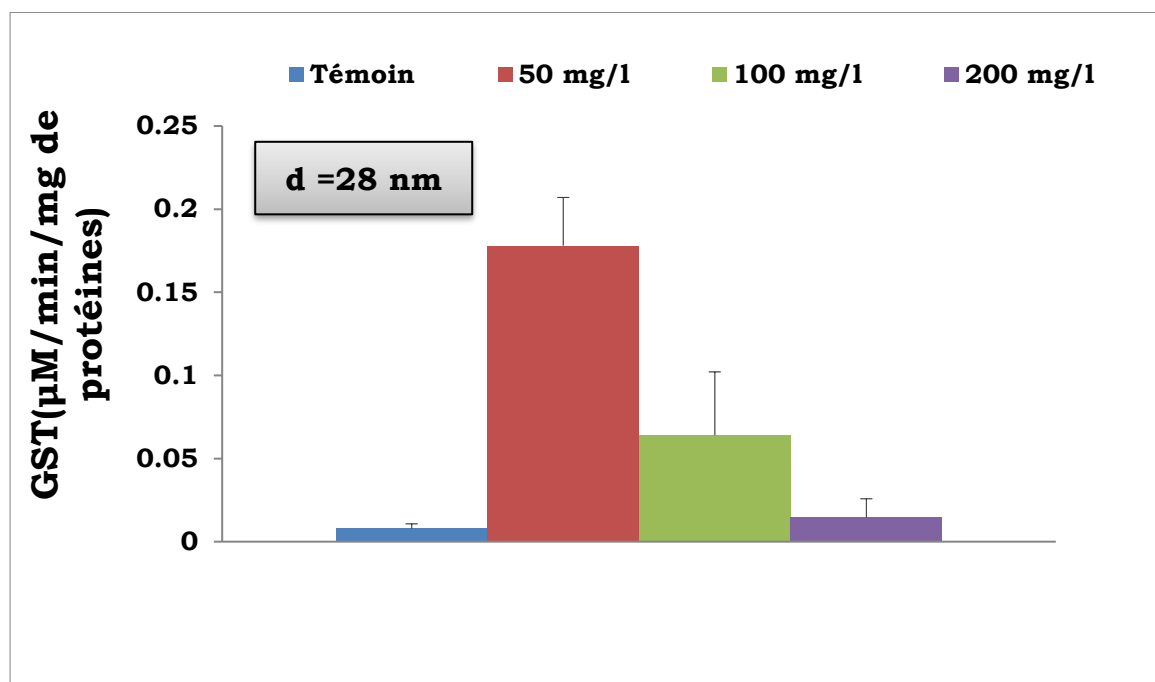
La diminution du taux GSH en présence de SnO<sub>2</sub> NPs peut être expliquée par son implication directe comme antioxydant dans les réactions radicalaires initiées par les xénobiotiques comme le suggère [Canesi et al., \(1999\)](#). En effet, le GSH est responsable du maintien du potentiel redox cellulaire ainsi que de l'intégrité fonctionnelle de la grande majorité des enzymes de la cellule, il agit comme un tampon antioxydant réagissant l'homéostasie intracellulaire. La baisse du taux de GSH peut également être attribuée à sa conjugaison avec les xénobiotiques, réaction catalysée par la Glutathion S Transférase (GST), dont l'activité est induite. Nos résultats sont en accord avec ceux de [Jia et al., \(2001\)](#) qui a évalué la toxicité des nanoparticules d'aluminium chez des rats. [Amamra et al., \(2015\)](#) et [Djekoun et al., \(2015\)](#) ont noté également une diminution du taux de GSH chez des paramécies traitées par des pesticides.

#### **IV.9.4. Effet des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur l'activité GST**

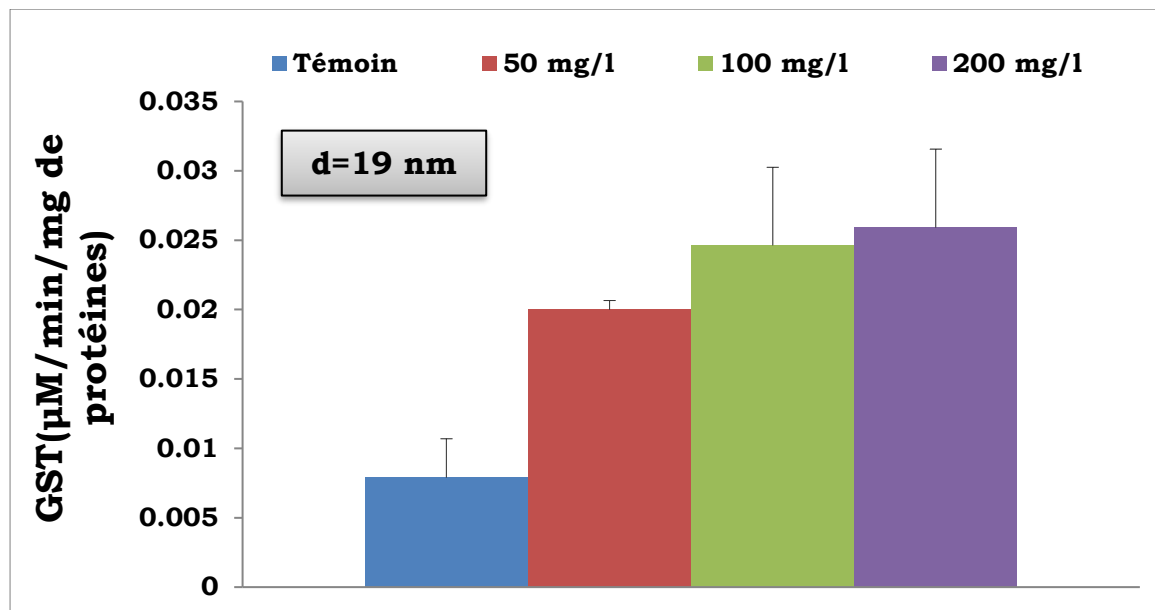
Les figures IV.16, IV.17 et IV.18, caractérisent l'évolution de l'activité GST chez les paramécies, témoin et traitées, en fonction des concentrations et tailles de grains de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> étudiées.



**Figure.IV.16. Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 36 nm.**



**Figure.IV.17. Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 28 nm.**



**Figure.IV.18. Évolution de l'activité GST en fonction des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 19 nm.**

Le constat visuel de ces résultats permet d'abord de mettre en évidence une activité GST importante pour toutes les expériences effectuées, relativement à l'échantillon témoin ; de plus, il apparaît des valeurs de GST maximales beaucoup plus élevées pour 28 nm et 50 mg/l, relativement au cas 36nm, 100 mg/ (près de trois fois plus) et celui de 19 nm, 200 mg/l (dix fois plus).

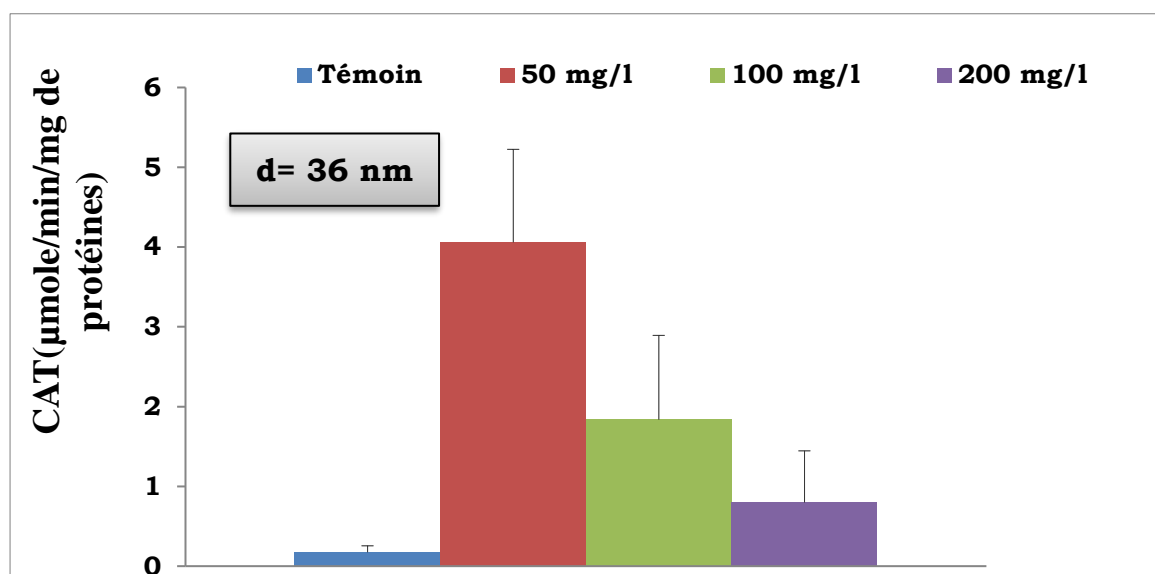
Les GST sont une grande famille d'isoenzymes, faisant partie de la classe II des enzymes de détoxification (Lukkari *et al.*, 2004, Kim *et al.*, 2009). Elles catalysent la conjugaison du GSH aux composés électrophiles cytotoxiques. Les composés ainsi conjugués au GSH sont souvent moins toxiques, plus hydrosolubles et peuvent ensuite être expulsés plus facilement de la cellule (Salinas et Wong, 1999).

La GST joue un rôle primordial dans le mécanisme de détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et dans la régulation de l'équilibre redox (Konings et Penninga, 1985, Siritantikorn *et al.*, 2007).

Dans ce travail, nous avons mis en évidence une induction de l'activité GST pour les trois concentrations et pour toutes les tailles de grains, par rapport au témoin. Nos résultats confirment ceux de Buffet *et al.*,2011 qui ont travaillé sur *S. plana* et *H. diversicolors* exposées aux NPs de CuO, ainsi que ceux de Pan *et al.*,2012 sur *S. plana* exposées à des NPs d'or. Ce biomarqueur a été stimulé également chez *M. galloprovincialis* exposées à des NPs de SiO<sub>2</sub> (canesi *et al.*,2010) et chez *D. magna* exposés à des NPs de TiO<sub>2</sub> (Ki TaeKim *et al.*,2010).

#### IV.9.5. Effet des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur l'activité catalase (CAT)

Les figures IV.19, IV.20 et IV.21, englobent les résultats obtenus quant aux variations de l'activité catalase des paramécies témoins et exposées aux multiples concentrations et tailles de grains des nanoparticules de SnO<sub>2</sub>.



**Figure.IV.19. Évolution de l'activité catalase en fonction des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 36 nm.**

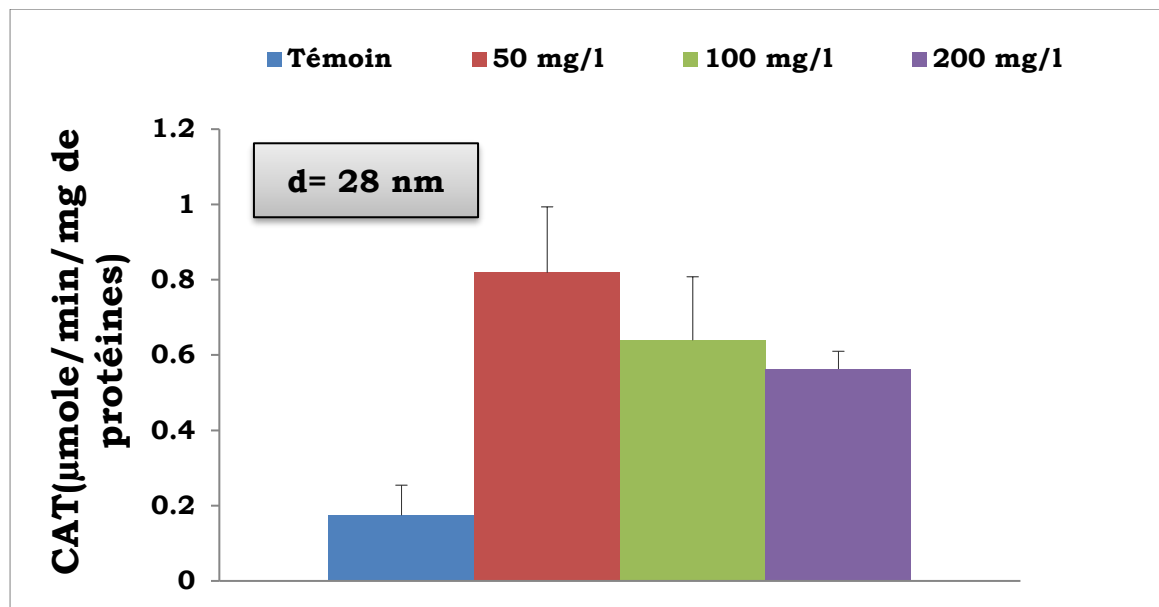


Figure.IV.20. Évolution de l'activité catalase en fonction de concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d= 28 nm.

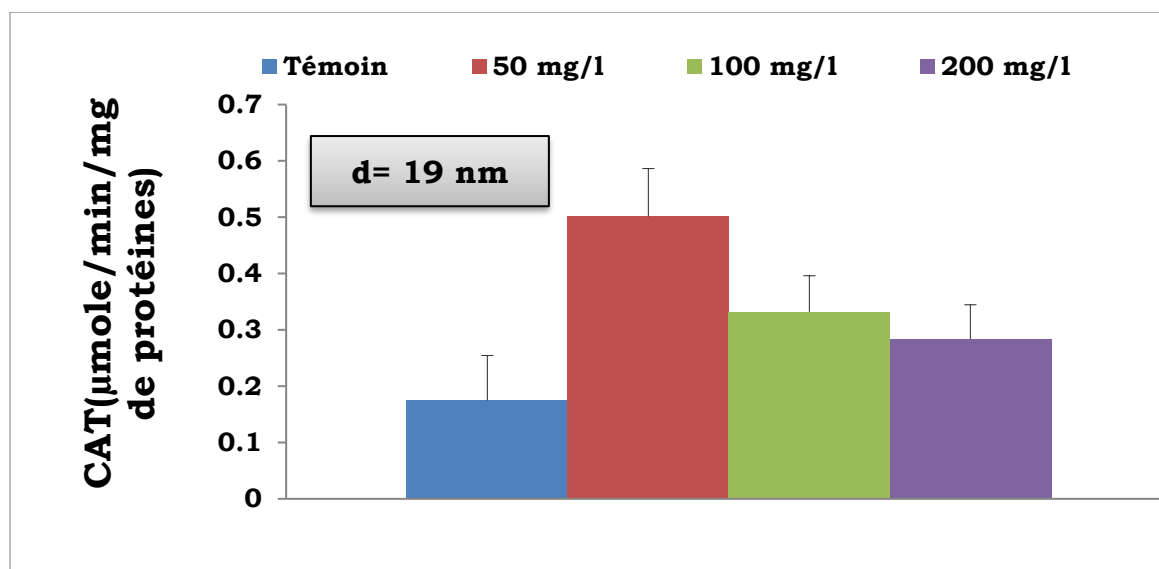


Figure.IV.21. Évolution de l'activité catalase en fonction des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub>, avec d=19 nm.

Le comportement quantitatif de l'activité catalase (CAT) est similaire à celui de la GST ; il augmente de manière significative avec toutes les concentrations testées (50 ,100 et 200 mg/l) et ce, pour toutes les tailles étudiées (19,28 et 36 nm) ; par contre, les valeurs maximales de CAT obtenues n'apparaissent pas de la même façon pour les mêmes conditions expérimentales que précédemment. En effet , celle associée au couple (36 nm , 50 mg/l) est près de sept fois plus élevée que celle associée à (28 nm , 50 mg/l) et huit fois plus élevée que la dernière (19 nm , 50 mg/l) .Parmi les enzymes impliquées dans les systèmes de détoxification, notre intérêt s'est porté sur l'évolution de l'activité catalase, qui est un catalyseur de la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire .Cette enzyme joue un rôle dans la prévention de la peroxydation des molécules biologiques et elle est sensible à certains contaminants indicateurs du stress oxydant au niveau des membranes cellulaires , comme les contaminants organiques mais aussi les métaux et NPs métalliques (Buffet ,2012).

Ainsi , nos résultats montrent que pour toutes les concentrations de NPs de SnO<sub>2</sub>, l'activité catalase tend à augmenter et cela ,quelle que soit la taille des particules testées (19, 28, 36 nm).

Ce biomarqueur s'est révélé très sensible vis à vis des NPs comme le suggère (Buffet *et al.*,2011) qui a observé une induction de l'activité CAT chez les bivalves *S. plana* et l'annélide *H diversicolore* exposés à des NPs de CuO. D'un autre côté, (Pan *et al.*,2012) ont mis en évidence une induction de l'activité CAT chez *S. plana* traités par les NPs d'or, de même que (Canesi *et al.*, 2010) qui a fait des observations similaires sur *M. galloprovincialis* exposés à des NPs de SiO<sub>2</sub> et de TiO<sub>2</sub>.

Cependant, pour les plus fortes concentrations de NPs (100 et 200 mg/l), nous avons constaté une induction de l'activité CAT moins importante, par rapport au traitement pour les concentrations de 50mg/l. (Gomes *et al.*,2011) explique ce phénomène par la production de ROS générés par des NPs de CuO qui a induit une augmentation de l'activité CAT, jusqu'à atteindre les limites de ses capacités antioxydantes, conduisant ensuite à son inactivation (Gomes *et al.*,2011).

#### IV.9.6. Effet des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur l'activité respiratoire.

Les figures IV.22, IV.23 et IV.24, illustrent les variations de l'activité respiratoire chez les paramécies témoins et traitées avec des concentrations croissantes de nanoparticules de SnO<sub>2</sub>, ayant différentes tailles de grains.

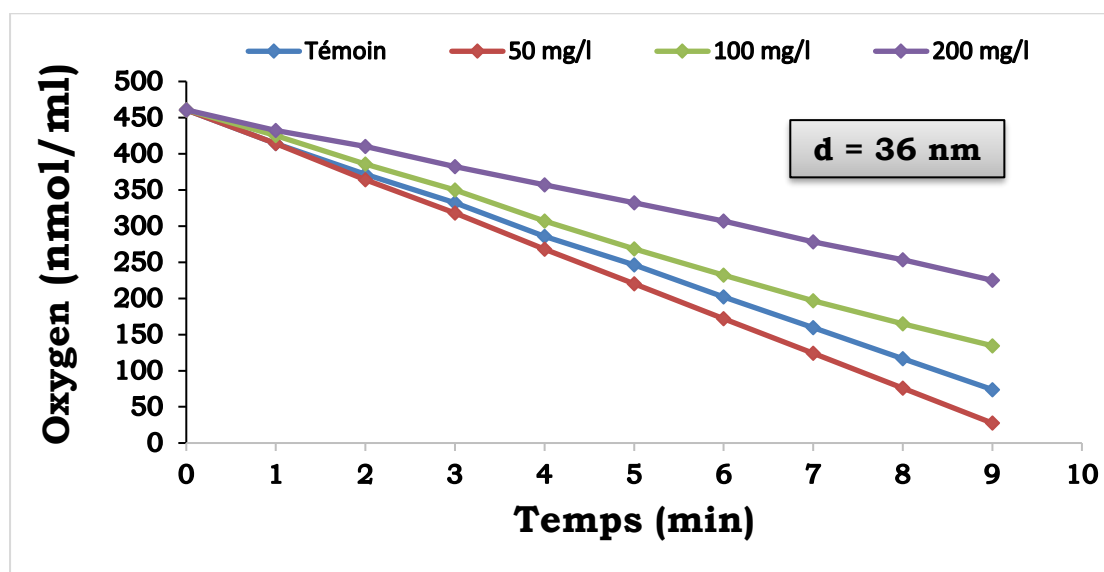


Figure.IV.22. Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 36 nm.



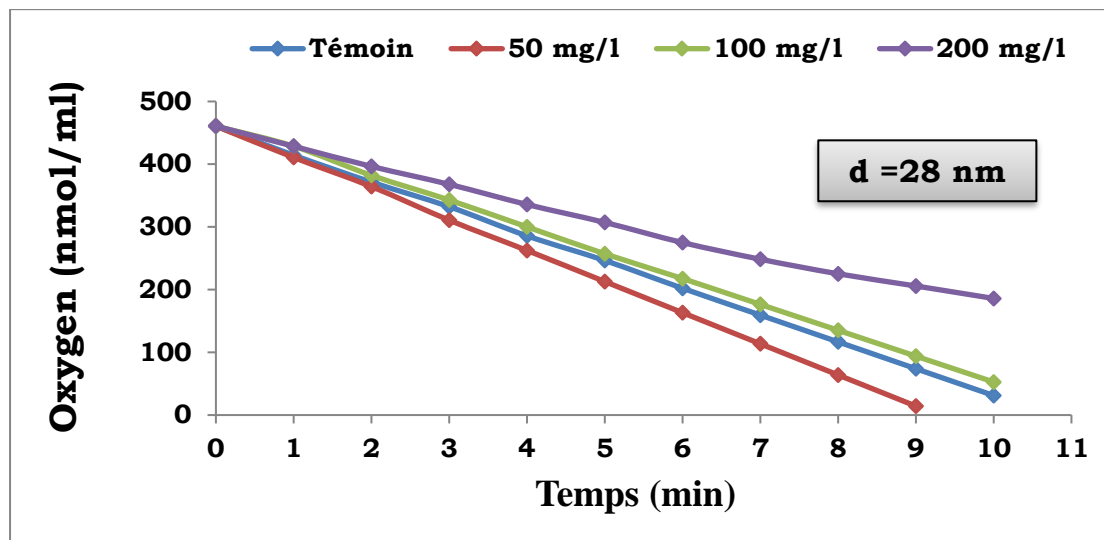


Figure.IV.23. Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d=28 nm.

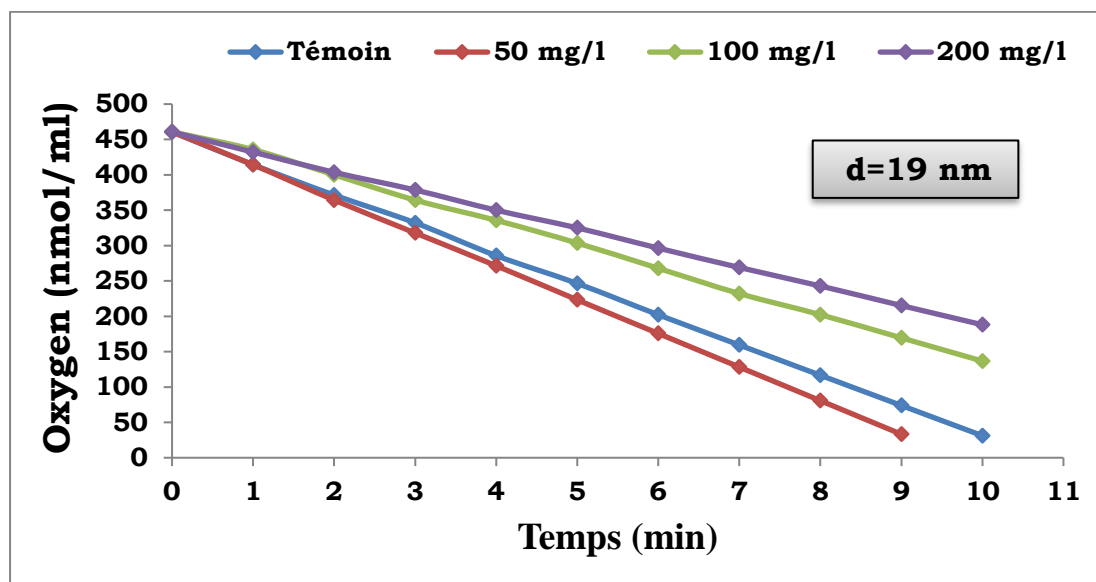


Figure.IV.24. Évolution de l'activité respiratoire en présence de différentes concentrations de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 19 nm.

Pour les paramécies traitées avec une concentrations de 50 mg/l, associée à toutes les tailles de grains (19,28 et 36 nm), nous constatons une stimulation du métabolisme respiratoire qui se traduit par une décroissance linéaire du nombre de moles d'oxygène consommées.

Parallèlement, une inhibition du métabolisme respiratoire est notée pour les paramécies traitées avec les concentrations (100 et 200 mg/ml) (courbes positionnées au-dessus de celle qui caractérise le témoin) et ce pour toutes les tailles de grains testées (19,28 et 36 nm).

Dans notre étude, l'action des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> sur la division cellulaire de paramécies *Tetraurelia* s'accompagne d'une perturbation des échanges gazeux. En effet, nous avons constaté une inhibition du métabolisme respiratoire chez les cellules traitées par les concentrations 100 et 200 mg/l et une stimulation du métabolisme chez les cellules exposées à la concentration 50 mg/l de SnO<sub>2</sub> NPs et ce, quelle que soit la taille des particules (19,28 ou 36 nm).

Nos résultats sont similaires à ceux de [\(Amara ,2012\)](#) qui les a observés sur la *Chlorellacalcitrans*. L'auteur suggère l'hypothèse selon laquelle les NPs induisent une modification de la composition en lipide membranaire, survenue lors de la croissance des espèces.

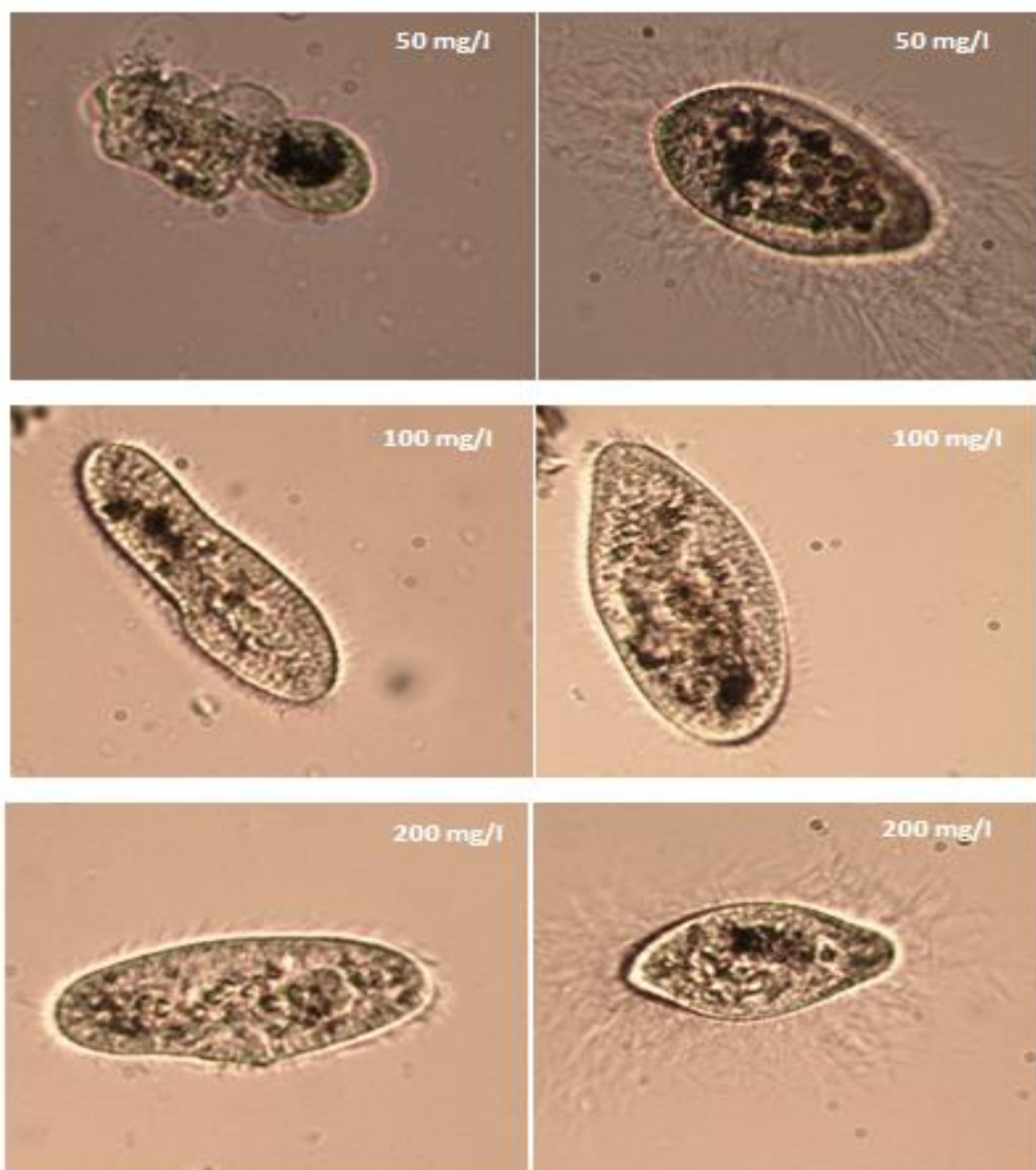
[\(Djekoun et al.,2015\)](#) suggèrent que cette perturbation peut être expliquée par le fait qu'une fois le xénobiotique (nanoparticules) introduit dans les cellules, il sera responsable du déclenchement de systèmes de défense cellulaire, conduisant à l'induction des enzymes de détoxification, en particulier le cytochrome P450 qui participe à la métabolisation des xénobiotiques en les rendant hydrophiles, facilitant ainsi leur élimination. Toutefois, la contribution de cette monooxygénase pourrait conduire à la génération d'intermédiaires oxygénés réactifs qui sont connus comme perturbateurs du métabolisme respiratoire.

#### **IV.9.7. Atteintes membranaires et structurales**

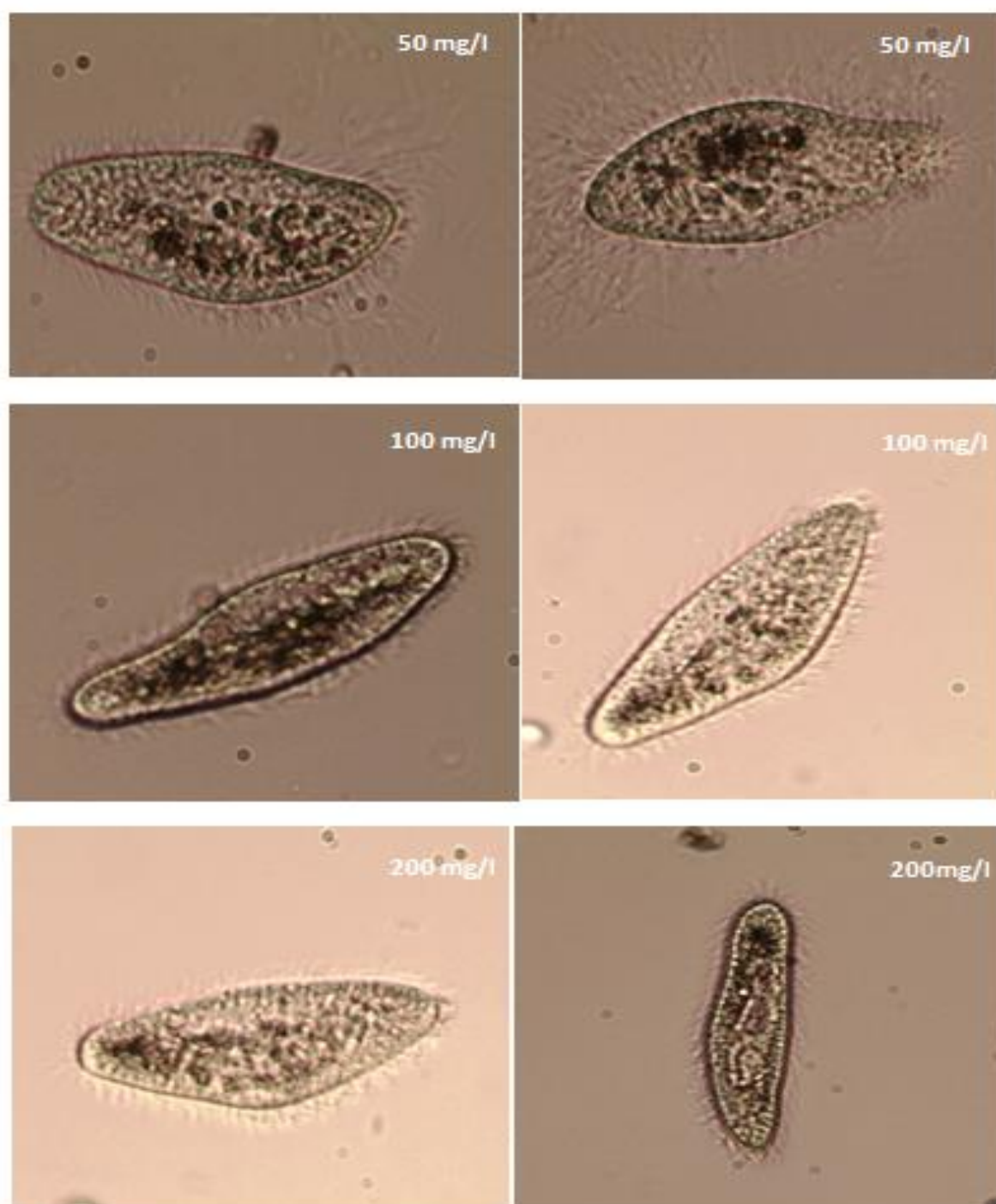
Les figures IV.25, IV.26, IV.27 et IV.28 illustrent des photos d'observation microscopique des paramécies témoins et traitées au cours de tous les traitements subis.



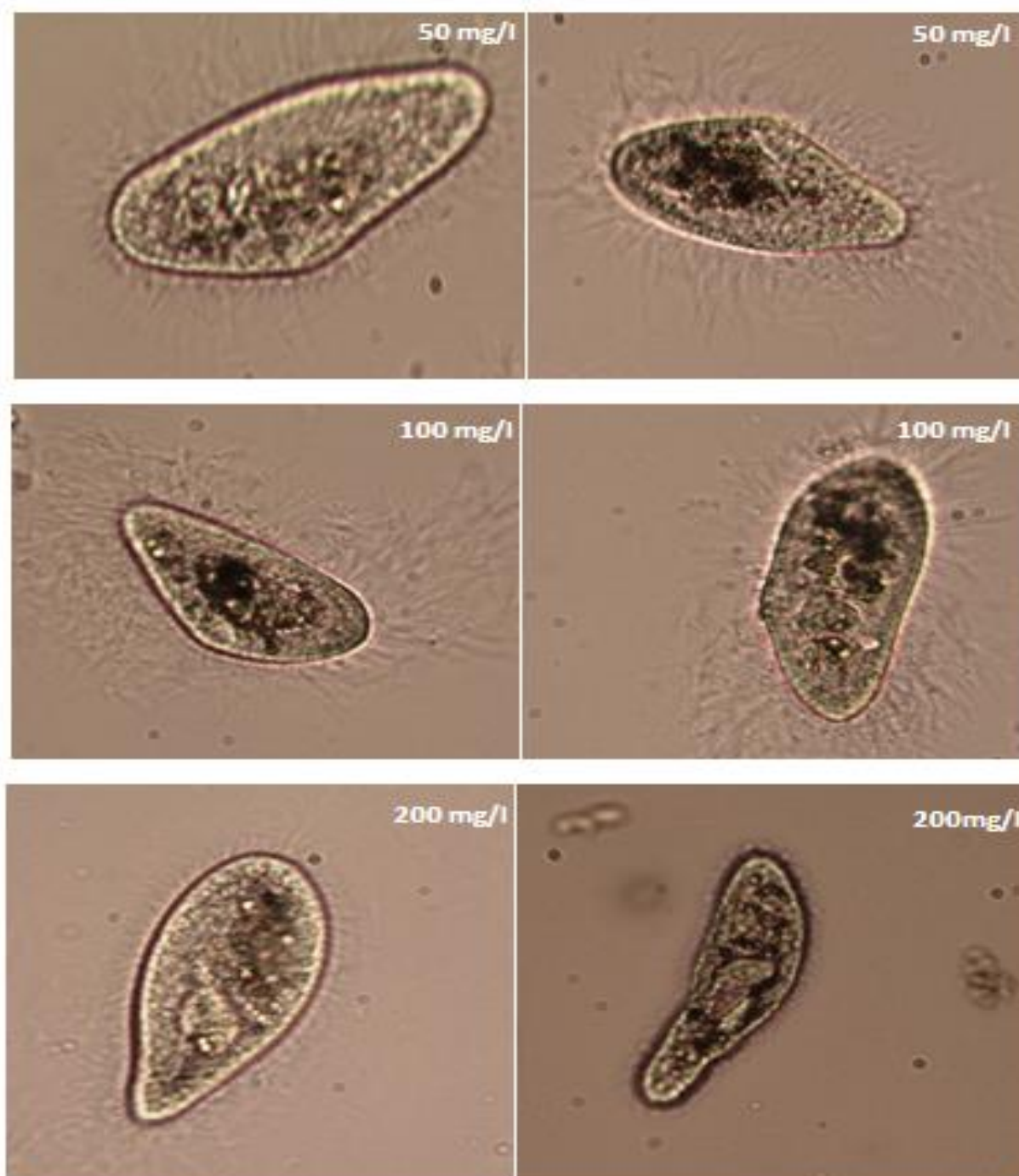
**Figure.IV.25. Morphologie d'une cellule de paramécies Tetraurelia Témoin, observée au microscope optique.**



**Figure IV.26. Anomalies morphologiques observées chez des paramécies *Tetraurelia*, exposées à des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 36nm.**



**Figure.IV.27. Anomalies morphologiques observées chez les paramécies Tetraurelia, exposées à des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 28nm.**



**Figure.IV.28. Anomalies morphologiques observées chez des paramécies Tetraurelia, exposées à des concentrations croissantes de SnO<sub>2</sub> NPs, avec d= 19nm.**

Les paramécies témoins semblent avoir des formes normales allongées, avec un déplacement selon une trajectoire bien définie. En revanche, les paramécies traitées présentent des anomalies de forme avec toutes les concentrations des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> et ce, pour toutes les tailles de grains testées.

En effet, les cellules deviennent arrondies et gonflent en volume. De plus, elles tendent à être asymétriques, tout en se rétrécissant et en s'allongeant.

L'interaction cytosquelette – membrane permet à la cellule de changer de forme et contribue à la stabilisation de la morphologie cellulaire (Soulas,2011). Cette interaction peut être altérée sous l'effet de certains agents physiques ou chimiques, générant des dommages structuraux au niveau de la membrane et du cytosquelette (Stevens et lowe ,1997).

Ces effets se traduisent par la survenue de malformations, laissant apparaître des vésicules ou bourgeonnement au niveau de la membrane plasmique, ce qui conduit à la mort cellulaire (Friendl et wolf,2003).

Certains auteurs soutiennent que l'apparition des vésicules est liée à une rupture de la membrane plasmique, au niveau du cytosquelette (Fishkind *et al.*,1991 ; Burton et Taylor,1997 ; Mills *et al.*,1998 ; Friendl et Wolf,2003) et que l'augmentation de leurs volumes est due à l'écoulement du fluide extracellulaire à l'intérieur (Cunningham,1995).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Azouz, Z., Berrebbah, H., Djebbar, R. 2011. Optimization of *Paramecium tetraurelia* growth kinetics and its sensitivity to combined effects of azoxystrobin and cyproconazole. *Afri.J. Microbial. Res.* 5(20) : 3243-3250.

Bouaricha, H., Berrebbah, H., Grara, N., Djebbar, M.R. 2012. Response of *paramecium sp.* with respect to an insecticide (Proclaim): growth, content of MDA, Ache activity and respiratory metabolism. *Journal of Applied Sciences Research.* 8(8): 4172-4180.

Wong, C.K., Cheung, and Ming-Ho, Yo. 1999. Toxicological assessment of coastal sediments in Hong Kong using a flagellate *Dunalliella tertiolecta*. *Environmental pollution*,105: 175-183.

Wechbeker, G, Cory. 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* 1988; (40): 257-264.

Habig, W H., Pabst, M.J., Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological chemistry.* (249):7130-7139.

Regoli F. and Principato G. 1995. Glutathione, glutathione- dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: Implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 31 : 143-164.

Djebbar, M.R., Djebbar, H. 2000. Bioénergétique, les mitochondries végétales. Synthèse, Publication de l'université d'Annaba.

Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., et Ramade, F. 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie : Aspects fondamentaux. Edition Masson, pp: 33-53-97.

Perez-Rama, M., Abalde, A.J., Herrero, L.C., and Torres, E. 2001. Class III metallothioneins in response to cadmium toxicity in the marine microalga



Tetraselmis suecica (KYLIN) BUTCH. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (9) :2061-2066.

Beal, D.L., and Anderson, R.V. 1993. Response of Zooplankton to rotenone in a small pond. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 551-556.

Sauvant, M.P., Pepin, D., and Piccini, E. 1999. Tetrahymena pyriformis. A tool for toxicological studies. *Chemosphere*, 38(7), p.1631-1669.

Buffet, P.E., Tankoua, O.F., Pan, J.F., Berhanu, D., Herrenknecht, C., Poirier, L., Mouneyrac, C. 2011. Behavioral and biochemical responses of two marine invertebrates *Scrobicularia plana* and *Hediste diversicolor* to copper Oxide nanoparticles. *Chemosphere*, 84(1), 166-174.

Amara, S. 2012. Effets d'une exposition sub-chronique au champ magnétique statique sur le métabolisme du zinc et la toxicité du cadmium chez le rat : Rôle du stress oxydant. Thèse effectuée au laboratoire de physiologie intégrée. Université de 7 novembre à Carthage.

Ismert, M. Oster, T. Bagrel, D. 2002. Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic metabolizing enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere* 46; 273-280.

Gomot, A. 1997. Effects of heavy metals on the development of snails. Using the snail as bio-indicators of pollution by heavy metals to the preservation of human health. *Bull. Acad. Natle. Méd.*, 181; 59-75.

Coeurdassier, M. Gomot-deVaufleury, A. Lovy, C. Badot, P.M. 2002. Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snail, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53; 425-431.

Vidal, ML. 2001. Study of biochemical markers of pollution in the bivalve fresh water mollusk *Corbicula fluminea* (Muller)-Purification and characterization of Glutathione S Transferases. These doctorates from the University of Bordeaux .267;.15,17.

Rouabhi, R. 2005. The impact of two pesticides and Diflubenzuron flucycloxuron three alternative cellular models: *Paramecium. sp*, *Tetrahymena pyriformis*, *Tetraselmis suecica* and embryonic development of the domestic chicken (*Gallus domesticus*), PhD University of Annaba. Algeria.

Eaton, DL. Klaassen, CD. 2001. Principles of toxicology, In: Klaassen CD (Ed), Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, pp11-34. McGraw-Hill, New York.

Shin, S-H. Ye, M-K. Kim, H-S. Kang, H-S. 2007. The effects of nano-silver on the proliferation and cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells. *International Immunopharmacology* 7:1813–1818.

Zhi-Hao Jiao, Ming Li, Yi-Xing Feng, Jia-Chen Shi, Jing Zhang, Bing Sha. 2014. Hormesis Effects of Silver Nanoparticles at Non-Cytotoxic Doses to Human Hepatoma Cells, *journal. pone.0102564* .

Winston, G.W. Di Giulio, R.T. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, 19, 137-161.

Buffet, P.-E. 2012. Evaluation of the environmental risk of metal nanoparticles: bioavailability and potential risk for two key species of estuarine ecosystems. Doctoral thesis at the University of Bordeaux. p.75-76,

Buffet, P.-E., O.F. Tankoua, J.-F. Pan, D. Berhanu, C. Herrenknecht, L. Poirier, C. Amiard-Triquet, J.-C. Amiard, J. B. Bérard, C. Risso, M. Guibbolini, M. Roméo, P. Reip, E. Valsami Jones and C. Mouneyrac. 2011. Behavioural and biochemical responses of two marine invertebrates *Scrobicularia plana* and *Hediste diversicolor* to copper oxide nanoparticles. *Chemosphere* 84(1):166-174.

Pan, J.-F., P.-E. Buffet, L. Poirier, C. Amiard-Triquet, D. Gilliland, Y. Joubert, P. Pilet, M. Guibbolini, C. Risso de Faverney, M. Roméo, E. Valsami Jones and C. Mouneyrac. 2012. Size dependent bioaccumulation and ecotoxicity of gold nanoparticles in an endobenthic invertebrate: The Tellinid clam *Scrobicularia plana*. *Environmental pollution* 168: 37-43.

Canesi, L., R. Fabbei, G. Gallo, D. Vallotto, A. Marcomini and G. Pojana. 2010. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* exposed to suspensions of selected nanoparticles (Nanocarbon black, C60 fullerene, Nano-TiO<sub>2</sub>, Nano SiO<sub>2</sub>). *Aquatic Toxicology* 100(2):168-177.

Gomes, T., J.P. Pinheiro, I. Cancio, C.G. Pereira, C. Cardoso and M. J. Bebianno. 2011. Effects of Copper Nanoparticles Exposure in the Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Science & Technology* 45(21): 9356-9362.

Lukkari, T., Taavitsainen, M., Soimasuo, M., Oikari, A., Haimi, J. 2004. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure, differences between populations with and without earlier metal exposure. *Environ. Pollut.* 129,377–386.

Kim, M., In-Young Ahn, Cheon, J., Park, H. 2009. Molecular cloning and thermal stress induced expression of a pi-class glutathione S-transferase (GST) in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 152: 207–213.

Salinas, A.E., Wong, M.G.1999.GlutathioneS-transferases –a review. Curr. Med. Chem. 4, 279–309.

Konings, A.W., Penninga, P.1985.On the importance of the level of glutathione and the activity of the pentose phosphate pathway in heat sensitivity and thermotolerance. Int.J. Radiat.Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med. 48, 409–422.

Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., VRinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P., Morgenstern, R. 2007. Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase 1. Biochem. Biophys. Res. Commun. 355, 592–596.

Ki Tae Kim, Stephen J. Klaine, Jaeweon Cho, Sang-Hoon Kim, Sang D. Kim.2010. Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO<sub>2</sub> nanoparticles according to size fraction. Science of The Total Environment, Pages 2268–227.

Djekoun. M, H. Berrebah and M.R. Djebbar. 2015. Growth kinetics, monitoring of biomarkers and respiratory metabolism to evaluate the combined effects of fludioxonil and difenoconazole in afreshwater ciliated protist: *Paramecium* sp. Der Pharma Chemica, ,7(11):197-204.

Soulas J.2011. Nombre d’Or. Bases structurelles de l’univers et la vie. Éditions publibook.p.254.

Stevens A.et Lowe J.1997.Anatomie pathologique générale et spéciale. De Boeck supérieure. P 552.

Amamra, Rima., Mohamed, Réda Djebbar., Ouissem, Moumeni., Zoubi, Azzouz., Ibtissem, Zeriri., Amira, Atailia., Sana, Benosmane., Houria, Berrebah.2015. Lipid peroxidation, oxidative stress and respiratory metabolism alteration in the freshwater ciliate *Paramecium tetraurelia* exposed to cypermethrin, a pyrethroid insecticide. J. Bio. & Env. Sci. Vol. 6, No. 4, p. 115-123.

Friedl P. and Wolf K. 2003. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer* 3,362-374.

Fishkind D. J, Cao L. G, Wang.Y.L.1991.Microinjection of the catalytic fragment of myosin light chain kinase into dividing cells: effects on mitosis and cytokinesis.*J.Cell.Biol.*114,967-975.

Burton K. and Taylor D.L.1997.Traction forces of cytokinesis measured with optically modified elastic substrata. *Nature* 385,450-454.

Jia, Y., Zhong, C., Wang, Y. 2001. Effects of Aluminum on amino acid neurotransmitters in hippocampus of rats. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 35 (6): 397-400.

Mills J.C, Stone N.L, Erhardt J, Pittman R.N.1998. Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation. *J. Cell. Biol.* 140:627-636.

Canesi, L. A., Viarengo, C., Leonzio, M., Filippelli, G., Gallo. 1999. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46: 67-76.

## Conclusion générale

Dans cette étude, nous avons d'abord élaboré des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> en suivant deux procédures différentes. La première a consisté à utiliser un broyeur mécanique de haute énergie et en faisant varier le temps de broyage. Quant à la seconde, nous avons réalisé une synthèse chimique classique pour l'obtention des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> pure et dopée (Fe et Ag).

Les nanoparticules, de différentes tailles, ont fait l'objet de caractérisations variées, structurale par DRX, morphologique par MEB, et optique par spectrométrie UV-Visible et infrarouge.

Dans une seconde étape, deux études parallèles intégrant nos nanomatériaux ont fait l'objet de notre intérêt.

La première contribution est relative à l'étude de l'effet bactéricide vis-à-vis de bactéries existant dans nos hôpitaux et supposées responsables de maladies nosocomiales, tandis que la seconde concerne leur toxicité vis-à-vis d'un micro-organisme unicellulaire, la paramécie, qui est partie prenante de la chaîne alimentaire humaine.

Les analyses structurales ont montré que tous les échantillons cristallisent dans la structure tétragonale de type rutile et que la taille moyenne des grains est une fonction décroissante avec le temps de broyage.

Les observations morphologiques par microscopie électronique à balayage (MEB) de nos nanomatériaux ont révélé des morphologies irrégulières avec, toutefois, une certaine agglomération entre les particules. On peut, néanmoins, constater qualitativement que l'opération de broyage a fait progressivement diminuer la taille moyenne des cristallites et évoluer leur aspect général en direction d'une forme de plus en plus sphérique.

La spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier (FT-IR) a permis de mettre en évidence l'existence de liaisons chimiques de type Sn-O, O-Sn-O,

Sn-O-Sn, ainsi que celle de deux liaisons adsorbées en surface, de types OH- et O-H.

Concernant l'étude de l'activité antibactérienne, nos résultats montrent que les NPs de SnO<sub>2</sub>, n'agissent pas de la même manière sur les différents modèles bactériens testés. Nous avons remarqué que les valeurs de la CMI obtenues dans les bactéries à Gram négatif sont supérieures à celles obtenues chez les bactéries à Gram positif. L'effet bactéricide est probablement dû à une attraction électrostatique entre les bactéries et les oxydes métalliques, qui pourrait produire des ROS (espèces réactives de l'oxygène) dès leur contact avec la membrane et ainsi provoquer des dommages membranaires. Des trous dans la membrane pourraient également être formés et permettre la pénétration et l'accumulation des nanoparticules dans le périplasme ou le cytoplasme, conduisant à la mort cellulaire.

L'étude de l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de SnO<sub>2</sub> nous permet entre autres , de conclure que les faibles concentrations de nanoparticules de SnO<sub>2</sub> ont un effet bénéfique sur la croissance cellulaire des paramécies (activation de la prolifération cellulaire), contrairement à de fortes concentrations où on a noté une diminution de la croissance des cellules. Cela peut être expliqué par le phénomène de l'hormesis, qui est un processus dans lequel l'exposition à une faible dose d'un agent chimique ou d'un facteur environnemental induit un effet bénéfique , adaptatif , de la molécule sur la cellule ou sur l'organisme.

En effet, nos résultats montrent que, malgré la prolifération cellulaire des paramécies, l'activation de leur système antioxydant, même à de faibles concentrations , n'a pu être freinée, en raison probablement de la complexité de l'interaction potentielle entre les NPs en général , et particulièrement les NPs de SnO<sub>2</sub> , avec l'organisme vivant.

L'effet potentiel à long terme des NPs aux faibles doses chez l'homme devrait donc impérativement être évalué, afin d'établir des normes pour une utilisation sûre et efficace de ces nanomatériaux.

Au terme de ce travail, il serait intéressant d'entreprendre des recherches sur:

- D'autres morphologies de NPs de SnO<sub>2</sub> (nanotubes, nanofils, .....)
- Une autre variété de NPs ( ZnO , TiO<sub>2</sub> ,CeO<sub>2</sub>, .....)
- Élargir les tests réalisés sur d'autres souches bactériennes (plus résistantes)
- Procède à des tests de génotoxicité.
- Suivi l'évolution des activités enzymatiques antioxydantes (SOD, MDA,.....).



**ANNEXE**

# CYTOTOXIC EFFECT OF $\text{SnO}_2$ NANOPARTICLES ON ALTERNATIVE CELLULAR MODEL: *PARAMECIUM TETRAURELIA*

Tayeb Bouarroudj<sup>1\*</sup>, Mohamed Rida Benloucif<sup>1</sup>, Djamel Eddine Mekki<sup>2</sup>, Meriem Djekoun<sup>3</sup>,  
 Maroua Benamara<sup>3</sup>, Houria Berrebbeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Chemistry of Inorganic Materials, Department of Chemistry, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Study of Surfaces and Interfaces of the Solid Matter, Department of Physic, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

<sup>3</sup>Laboratory of Cellular Toxicology, Department of Biology, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

**ABSTRACT:** The development of nanotechnologies and their uses, leads to an increase of nanoparticles concentrations in the air, water and soil. For better understanding the potential impacts of metal oxide nanoparticles in the ecosystem, the present study investigates the cytotoxic effect of  $\text{SnO}_2$  nanoparticles for different grain sizes on the alternative model of freshwater, water pollution bioindicator, *Paramecium tetraurelia*. The size of  $\text{SnO}_2$  nanometric powder (Sigma-Aldrich 99.99% pure) has been reduced using mechanical milling with different times. Obtained nanomaterials were then characterized by X-ray diffraction (XRD) and spectroscopy infrared Fourier transforms (FTIR). Moreover, the toxicity of  $\text{SnO}_2$  nanoparticles on paramecium was studied by following the evolution of the growth kinetics and percent response as a function of time; whereas the impact of  $\text{SnO}_2$  nanoparticles on paramecium was determined on two biomarkers of oxidative stress respectively, Catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST). The preliminary results show a non-negligible effect of  $\text{SnO}_2$  (NPs) via their grain sizes. Indeed, it was recorded an increase in the number of paramecium at low concentrations of  $\text{SnO}_2$  and its inhibition at high concentrations.

**KEYWORDS:** Nanoparticles,  $\text{SnO}_2$ , grain size, *Paramecium tetraurelia*, cytotoxicity.

## INTRODUCTION:

Nanotechnology uses materials of which a single unit is sized between 1 and 100 nm (Mallakpour *et al.*, 2015). Due to its interesting chemical and physical properties, nanomaterials have attracted the attention of researchers around the globe. Nowadays, different products utilize various types of nanomaterials with variety of structures and properties including cosmetics (Matranga *et al.*, 2012), fungicides in agriculture, food industry (Martineau *et al.*, 2014) and electronic devices (Zhang *et al.*, 2011) etc. Transition metal oxides nanoparticles play a crucial role in photocatalysis applications (He *et al.*, 2013) and because of their nano-scale size, high aspect ratio (i.e. surface to volume ratio of atoms) and edge effect (Jan *et al.*, 2014) they exhibit desired properties which found to be applicable in many fields such as lithium-ion batteries (Subramanyam *et al.*, 2014), industry and medicine (Gambardella *et al.*, 2014), photodetectors and solar cells (Jan *et al.*, 2014).

Among these transition metal oxides, Tin Dioxide ( $\text{SnO}_2$ ) is an important n-type semiconductor material (Meena Kumari *et al.*, 2015) with a wide band-gap (Eg = 3.6 eV) (Suvetha Rani, *et al.*, 2013). A wide band gap of  $\text{SnO}_2$  has attracted considerable attention wherever doped with transition metals owing to their remarkable electronic optical and magnetic properties resulting from large Sp-d exchange interaction between the magnetic ions and the band electron (Kaur *et al.*, 2012). It is extensively used in variety of applications such as; Catalysis (Karunakaran *et al.*, 2013), biomedical and biological sensing (Liu *et al.*, 2014), lithium batteries (Vidhu *et al.*, 2015), solar cells (Henry *et al.*, 2015), gas sensors, transparent conducting electrode (Vidhu *et al.*, 2015), and optical material (Fakhri *et al.*, 2015).

Many methods have been developed to synthesize  $\text{SnO}_2$  nanostructure such as hydrothermal methods, sol-gel methods (Bhattacharjee *et al.*, 2015), microwave heating (Bhattacharjee *et al.*, 2015), chemical vapor deposition, co-precipitation, mechanical synthesis, laser pyrolysis and thermal evaporation (Bhattacharjee *et al.*, 2015).

Despite the significant contribution of nanoparticles in solving many of our daily life problems through their technological applications, the use of nanoparticles nowadays in many commercial products without clear studies on their effects on human and environment health raised many concerns. Thus, the utility of nanomaterials and nanoparticles is highly dependent on their toxicity. Alternative models are used in toxicology to understand the mechanisms of toxic actions at different levels of the organization of the biological cell.

Among these models, the *Paramecium tetraurelia* is a suitable one to investigate the cytotoxicity of  $\text{SnO}_2$  NPs because it is already been used to study the effect of chemicals on aquatic community (Amamra *et al.*, 2015; Djekoun *et al.*, 2015).

The objective of our work is to study the toxicity effects of  $\text{SnO}_2$  nanoparticles in the ecosystem. For this purpose, the toxicity of  $\text{SnO}_2$  NPs was investigated by different grain size using the alternative model *Paramecium tetraurelia* to define their mechanisms of action and subsequently explain their toxicity.

## MATERIALS AND METHODS:

### Samples Preparation (ball milling)

Two grams of commercial  $\text{SnO}_2$  powder (Sigma-Aldrich, 99.9% purity) were used as starting materials and milled during different times (0, 1 and 3h) at room temperature under argon atmosphere, by using a

planetary ball milling machine. Milling was performed using stainless steel balls with a diameter of 12.7 mm, and was loaded with 12.5 g. The relationship of ball-to-powder percent was equal to 97:3 and the rotation speed as maintained at 200 rpm.

### Characterization Techniques

Ball-milled powders were characterized by X-ray powder diffraction (XRD) using X'Pert PRO PANalytical system with Cu radiation at wavelength  $\lambda = 1.5405980 \text{ \AA}$  at  $2\theta$  values between  $20^\circ$  and  $90^\circ$ . The SnO<sub>2</sub> samples were analyzed by infrared spectrometry (FTIR), (SHIMADZU FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROPHOTOMETER (FTIR-8400S). Two milligrams of the sample was mixed with 200 mg KBr (FTIR grade) and pressed into a pellet. The sample pellet was placed into the sample holder and FTIR spectra were recorded in the range  $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$  in FTIR spectroscopy at a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### Cell Culture

The biological material used in our study is a ciliated protist: *Paramecium tetraurelia* (Azzouz *et al.*, 2011), kindly provided by Laboratory of Cellular Toxicology at the University of Annaba (Algeria).

### Measurement of Growth Kinetics

The experiments were performed according to (Azzouz *et al.*, 2011). The SnO<sub>2</sub> NPs were dispersed in water ultrapure during 10 min by using a sonicator. In test tubes, the concentrations of SnO<sub>2</sub> (50, 100 and 200 mg/l) were prepared in 10 ml of culture medium. For each tube we added 10  $\mu\text{l}$  of paramecium, the culture was done at  $28 \pm 2^\circ \text{ C}$ . The total number of cells of paramecium was measured by the daily cell counting (0, 24, 48, 72 and 96 h), after fixation with formalin at 4%, under photonic microscope with enlargement 10

using grooved blade. The count was repeated at least three times for each sample.

### Determination of Percentage of Response

Percentage of response is a reliable parameter to evaluate the xenobiotic effect via the inhibition of the cell growth of protists. Positive values of response percentage indicate an inhibition of growth, while negative values indicate a stimulation of growth (Bradford, 1976).

Percentage of response is calculated by the following formula:

$$\text{Response}(\%) = (\text{CN} - \text{EN}) / \text{CN} \times 100$$

Where CN: is the number of control cells ( $\text{cell ml}^{-1}$ ) and EN is the number of treated cells ( $\text{cell ml}^{-1}$ ).

### Determination of Glutathione S-Transferase Activity (GST)

The measurement of Glutathione Stransferase (GST) is determined by the method of (Habig *et al.*, 1974). It is based on the reaction of conjugation between the GST and a substrate, the CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzene) and in the presence of a cofactor the glutathione (GSH). The absorbance was measured spectrophotometrically at 340 nm.

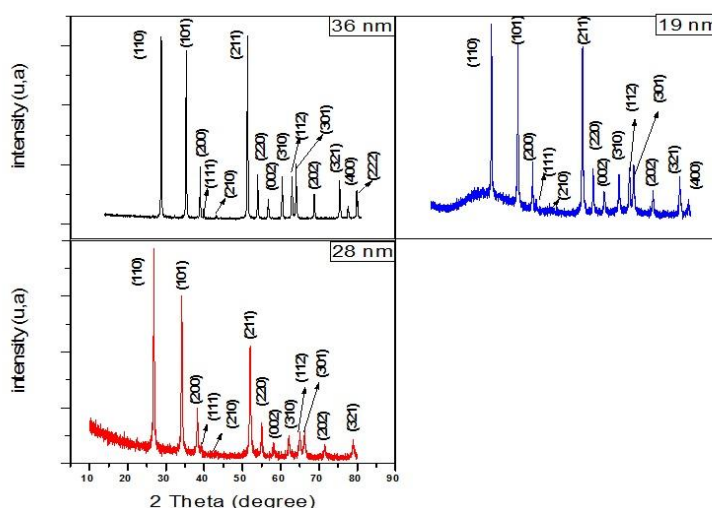
### Determination of Catalase Activity (CAT)

The measurement of Catalase activity (CAT) is determined using the method of (Regoli *et al.*, 1995). Whose principle is based on the change in consecutive optical density dismutation of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The (CAT) activity was determined spectrophotometrically at 240 nm

## RESULTS AND DISCUSSION:

### Structural Properties by XRD

The XRD pattern of the product is shown in figure 1.



**Fig 1** .The XRD patterns of the SnO<sub>2</sub> nanoparticles prepared by ball milling

The peaks pointed out at  $2\theta$  values of can be associated with (110), (101), (200), (111), (210), (211), (220), (002), (310), (112), (301), (202), (321), (400) and (222), respectively, correspond to tetragonal SnO<sub>2</sub> rutile structure crystallite (space group, P42/mnm), which are in good agreement with the literature values

(JCPDS card no. 41-1445). The average size of the SnO<sub>2</sub> particles can be estimated by the Scherrer equation (Ganesh *et al.*, 2012).  $D = k\lambda / \beta \cos \theta$ , where **D** is the crystallite size, **K**= 0.9,  $\lambda$  is the X-ray wavelength,  $\beta$  is the full width at half maximum of the diffraction peak, and  $\theta$  is the Bragg diffraction angle of

the diffraction peaks. The average size for the SnO<sub>2</sub> nanoparticles that were prepared by ball milling is

shown in table. 1

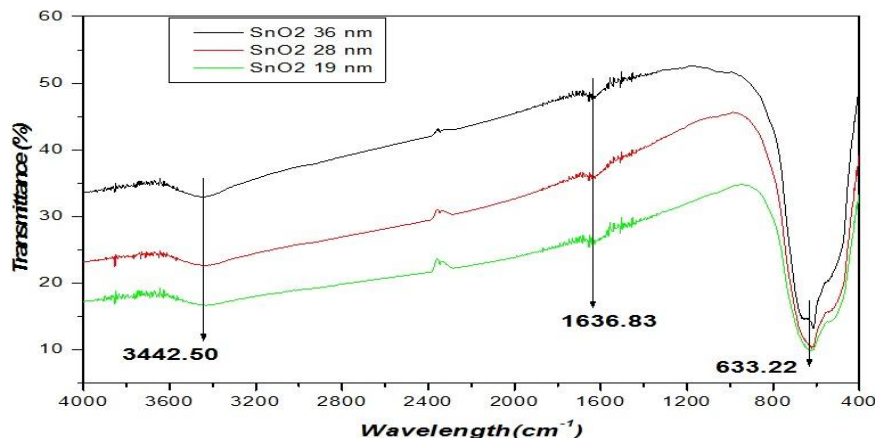
**Table 1 .**

Average grain size obtained by different milling times (0, 1 and 3 hours)

Milling time (h)	0	1	3
Average grain size (nm)	36	28	19

### FTIR Analysis

The FTIR spectrum of SnO<sub>2</sub> nanoparticles is shown in Fig. 2



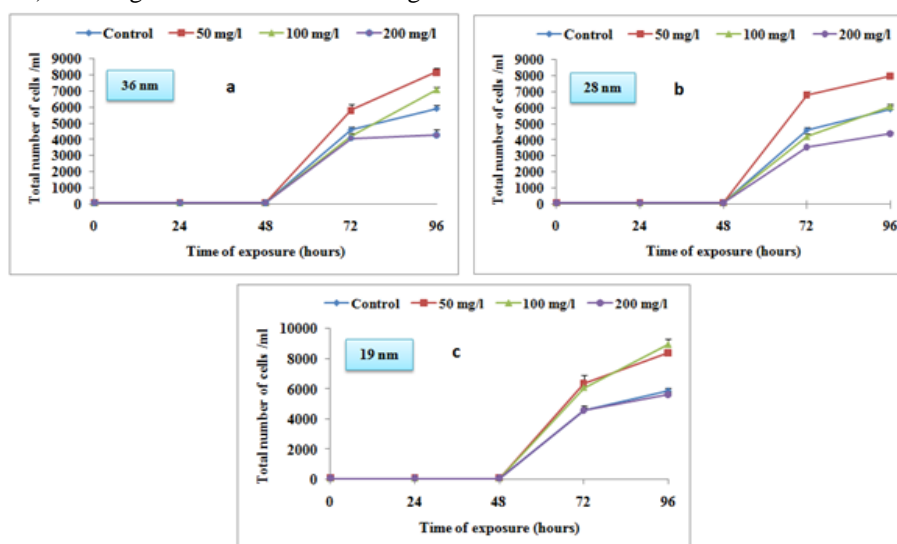
**Fig 2.** FTIR spectra of SnO<sub>2</sub> nanoparticles prepared by ball milling

From this spectrum, the peaks around 1628 and 3421 cm<sup>-1</sup> correspond to the binding vibrations of absorbed molecular water and the stretching vibration of -OH groups (Bagal *et al.*, 2012). A band which appeared in the range of 400 and 700 cm<sup>-1</sup>, specifically, at 633.22 cm<sup>-1</sup> is assigned to anti-symmetric Sn-O-Sn and anti-symmetric Sn-O stretching mode of the surface bridging oxide formed by condensation of adjacent surface hydroxyl group's vibration (Deosarkar *et al.*, 2013). The absorption peak within 3300–3475 cm<sup>-1</sup> (3442.50 cm<sup>-1</sup>) is assigned to O-H stretching

vibration of absorbed H<sub>2</sub>O at the surface of the tin oxide (Mazloom *et al.*, 2013).

### Kinetics Growth

Figure.3 (a-b-c) shows changes in the number of *Paramecium tetraurelia* in function of time, treated with increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> (50, 100, 200 mg / l) with different grain sizes (36, 28, 19 nm) for each concentration.

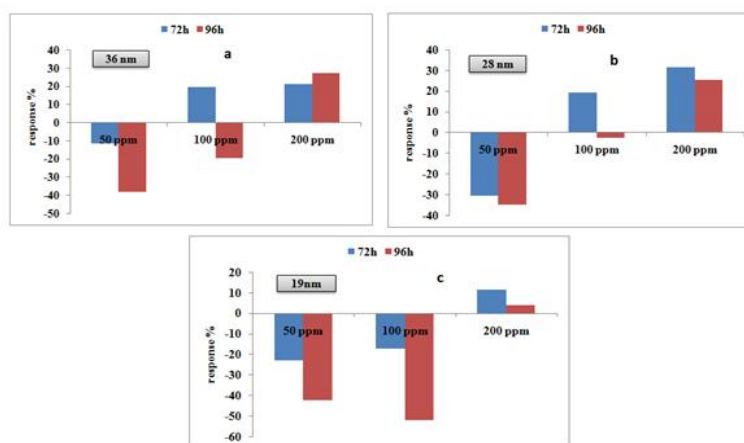


**Fig 3(a- b- c).** Effects of increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles on the growth of *Paramecium tetraurelia* with different grain sizes (a 36 nm , b 28 nm , c 19 nm )

### Response Percentage

Figure.4 (a-b-c) shows the percentage response *Paramecium tetraurelia* treated with increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> (50, 100, 200 mg / l) with

different grain sizes (36, 28, 19 nm), for each concentration. The results obtained concerning the response percentage confirm those of kinetics growth.

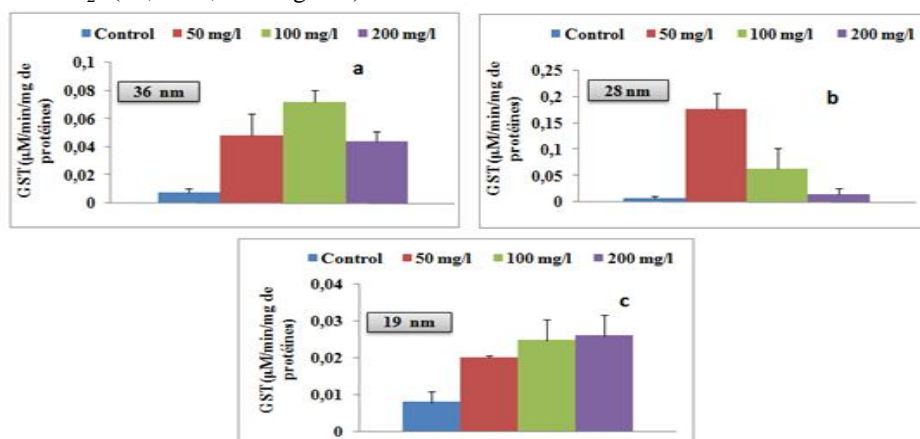


**Fig 4 (a- b-c).** Effects of increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles on the response percentage with different grain sizes (a 36 nm, b 28 nm , c 19 nm )

### Glutathione S-transferase (GST) Activity

Figure.5 (a-b-c) shows the changes in GST activity in *Paramecium tetraurelia* treated with increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> (50, 100,200 mg / l) with

different grain sizes (36, 28, 19 nm) for each concentration.

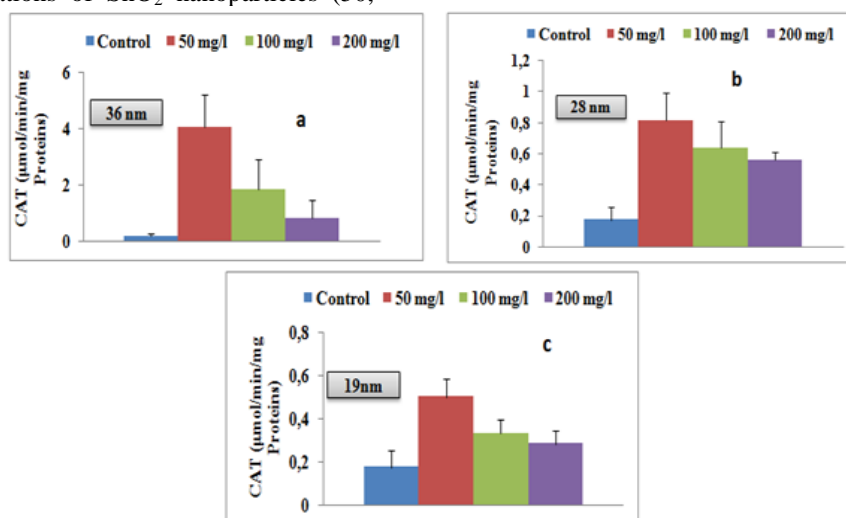


**Fig 5(a-b-c).** Variations of GST content in *Paramecium tetraurelia* exposed to increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles with different grain sizes (a 36 nm, b 28 nm, c 19 nm)

### Catalase Activity

Fig. 6 (a-b-c) shows the changes in Catalase activity in *Paramecium tetraurelia* treated with increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles (50,

100, 200 mg / l) with different grain sizes (36, 28, 19 nm) for each concentration.



**Fig 6(a-b-c).** Variations of CAT activity in *Paramecium tetraurelia* exposed to increasing concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles with different grain sizes (a 36 nm, b 28 nm, c 19 nm)

## Toxicity Discussion

Environmental pollution bioindicators are sensitive to physicochemical changes in their environment, such as hydrocarbons (Ismert *et al.*, 2002), trace metals (Gomot, 1997), or pesticides (Coourdassier *et al.*, 2002; Vidal, 2001; Rouabhi, 2005), subjected to exogenous stress, micro-organisms have the ability to develop a battery capable of responses that trigger detoxification process, against xenobiotics to fight, and / or acclimatize against the chemical stress (Lagadic *et al.*, 1997; Perez-Raman *et al.*, 2001). Thus, protists are eukaryotic cells, ubiquitous in the aquatic and terrestrial environment, characterized by a short life cycle, rapid multiplication (Beal *et al.*, 1993) and any changes to their environment could affect their behavior, which justified the use of *Paramecium tetraurelia* as an alternative cell model for toxicology and risk assessment for health (Sauvant *et al.*, 1999). In this paper, we studied the toxicity of NPs SnO<sub>2</sub> of which toxic potential has been the main subject of our research. For that we were interested to investigate the effect of these NPs SnO<sub>2</sub> with different grain sizes (36, 28, 19 nm) on the growth kinetics of *Paramecium*, a parameter that actually reflects the toxicity of a xenobiotic (Perez-Rama *et al.*, 2001; Sauvant *et al.*, 1999). The obtained results show that the exposure to low concentrations of NPs SnO<sub>2</sub> induces the stimulation growth of *Paramecium* for two concentrations (50 and 100 mg / l) and this is true for all grain sized (36, 28, 19 nm). We have also found that this stimulation was greater for the concentration 50 mg / l as that induced by a concentration of 100 mg / l for both particle sizes 36 and 28nm.

In contrary, high concentration of (200 mg / l) has obvious inhibition for two sizes of NPs grains (36, 28nm). On the grain size of 19 nm we have demonstrated a stimulation of *Paramecium* growth for both concentrations (50 and 100 mg / l); this stimulation is higher for the concentration 100 mg / l when induced by a concentration of 50 mg/l. As for the high concentration (200 mg / l), there was a very low inhibition.

The stimulation of cell growth for the two lower concentrations may be explained by the phenomenon of "hormesis", which can be defined: A dose-response relationship that is characterized by low-dose stimulation and a high-dose inhibition (Eaton *et al.*, 2001).

The work of (Shin *et al.*, 2007), on the cytotoxicity of Ag NPs on peripheral blood mononuclear cells (peripheral blood mononuclear cells) has showed that low concentration of cell proliferation is stimulated and high concentration is inhibited (Shin *et al.*, 2007), where (Jiao *et al.*, 2014), who observed that low concentrations of Ag NPs provoke a stimulation of cell proliferation of HepG2 cells.

The percentage of response is a parameter by which we can confirm the growth evolution curves of *Paramecium* treated by different concentrations of NPs SnO<sub>2</sub> used.

The antioxidant defense system is present in all aerobic cells; it neutralizes the intermediate chemical reactions produced endogenously and / or metabolism

of xenobiotics. The activity of the antioxidant system may be induced or inhibited under the effect of a chemical stress (Winston *et al.*, 1991). Among the enzymes involved in the detoxification systems, our interest has focused on the development of Catalase activity, which is a catalyst for the reduction of hydrogen peroxide to water and molecular oxygen. This enzyme plays a role in preventing peroxidation of biological molecules and it is sensitive to certain contaminants inductor of oxidative stress at the cell membrane as the organic contaminants, but also metals and metal NPs (Buffet, 2012). Thus, our results show that for all the concentrations of NPs SnO<sub>2</sub>, Catalase activity tends to increase and this true for all the tested grain size (19, 28, 36 nm). This bio-scoring has been very sensitive overlooked NPs. As suggested by (Buffet *et al.*, 2011), who observed an induction of CAT activity in "*Scrobicularia plana*" bivalves and Annelid *H. diversicolor* exposed to NPs CuO. On the other side (Pan *et al.*, 2012) have demonstrated induction of CAT activity in *Scrobicularia plana* treated by Au NPs, or "*Mytilus galloprovincialis*" exposed to NPs SiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> (Canesi *et al.*, 2010), however for the highest concentration of NPs (100 and 200 mg / l), we found induction of CAT activity to be less important compared to treatment for concentration of 50 mg / l. (Gomes *et al.*, 2011) explains this phenomenon by the ROS generated by NPs CuO, which induces an increase in CAT activity until reaching the limit of its antioxidant capacity then leading to its inactivation (Gomes *et al.*, 2011). The other enzyme closely involved in the detoxification phenomenon is the Glutathione S-transferase. The GSTs are a large family of isoenzymes, part of the class II detoxification enzymes (Lukkari *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2009). They catalyze the conjugation of GSH with electrophilic cytotoxic compounds. The previous compounds and GSH conjugates are often less toxic, more water-soluble and can then be more easily expelled from the cell (Salinas *et al.*, 1999). GST plays a major role in the detoxification mechanism of species reactive oxygen species (ROS) and the regulation of redox equilibrium (Konings *et al.*, 1985; Siritantikorn *et al.*, 2007).

In this work, we have demonstrated the induction of GST activity for the three concentrations and for all grain sizes compared to the control. Our results confirm those of (Buffet *et al.*, 2011), that showed induction of GST activity in *Scrobicularia plana* diversicolores and *H. diversicolor* exposed to CuO NPs and those of (Pan *et al.*, 2012). *S. plana* exposed to NPs Au. This biomarker was also stimulated in *Mytilus galloprovincialis* exposed to SiO<sub>2</sub> NPs (Canesi *et al.*, 2010) and in *Daphnia magna* exposed to NPs TiO<sub>2</sub> (Kim *et al.*, 2009). We also found a lower GST activity for the concentration 200 mg / l for the grain size 36 nm while for the grain size of 28 nm depletion occurred in concentrations 100 and 200 mg / l, this can be explained by the fact that the GST has reached the limit of its antioxidant capacity then leading to inactivation as if was the case for Catalase activity. For the grain size of 19 nm we found an induction of GST activity for NPs treated with SnO<sub>2</sub>.

## CONCLUSION:

From the interpretation of obtained results in the present study, we can conclude that the low concentrations of SnO<sub>2</sub> nanoparticles (low cytotoxic concentration) had a beneficial effect on the growth of paramecium (activation of cell proliferation), as suggested by (Jiao *et al.*, 2014) where two representative AGNPS with different particle sizes did not induced p38 MAPK pathway cytotoxic doses led to activation and promotion of the proliferation of HepG2 cell (Jiao *et al.*, 2014), unlike the strong concentration where has been a decrease in cells growth. This can be explained by the phenomenon of hormesis, who is a process in which exposure to a low dose of a chemical agent or environmental factor that is damaging at higher doses induces year adaptive beneficial effect on the cell or organism (Calabrese, 2007; Mattson, 2008). Although the phenomenon of hormesis is considered a beneficial adaptive response, our results showed that despite the observed cell proliferation, this cannot prevent the paramecium of antioxidant system when activated and that at even low concentrations. For this and especially because of the complexity of potential interaction between NPs in general and NPs SnO<sub>2</sub> in our work and in living organism particularly, the potential long-term effect of its NPs at low doses on humans should be evaluated to establish standards for a safe and efficient use.

## ACKNOWLEDGEMENTS:

The authors would like to thank the Department of Chemistry of Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria for assistance to carry out the present research work.

## REFERENCES:

Azzouz. Z, H. Berrebbah and M. R. Djebbar. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5, 3243–3250, 2011.

Amamra Ryma, Mohamed Reda Djebbar, Nedjoud Grara, Ouissem Moumeni, Hadjer Otmani1, Amel Alayat and Houria Berrebbah. *Cypermethrin-Induces Oxidative Stress to the Freshwater Ciliate Model: Paramecium tetraurelia*. *Annual Research & Review in Biology* 5(5), Article no.ARRB.2015.042, 2015.

Bhattacharjee Archita, M. Ahmaruzzaman. A green and novel approach for the synthesis of SnO<sub>2</sub> nanoparticles and its exploitation as a catalyst in the degradation of methylene blue under solar radiation: *Materials Letters* 145; 74–78, 2015.

Bhattacharjee Archita, M. Ahmaruzzaman, Tanur Sinha. A novel approach for the synthesis of SnO<sub>2</sub> nanoparticles and its application as a catalyst in the reduction and photodegradation of organic compounds: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 136; 751–760, 2015.

Bhattacharjee Archita, M. Ahmaruzzaman. A green approach for the synthesis of SnO<sub>2</sub> nanoparticles and its application in the reduction of p-nitrophenol: *Materials Letters* 157; 260–264, 2015.

Bradford MMA. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* ;( 72):248-254, 1976.

Bagal.L.K, J.Y. Patil I.S. Mulla, S.S. Suryavanshi. Influence of Pd-loading on gas sensing characteristics of SnO<sub>2</sub> thick films. *Ceramics International* 38; 4835–4844, 2012.

Beal, D.L., and Anderson, R.V. Response of Zooplankton to rotenone in a small pond. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 551-556, 1993.

Buffet, P.-E . Evaluation of the environmental risk of metal nanoparticles: bioavailability and potential risk for two key species of estuarine ecosystems. Doctoral thesis at the University of Bordeaux. p.75-76, 2012.

Buffet, P.-E., O .F. Tankoua, J.-F. Pan, D. Berhanu, C. Herrenknecht, L.Poirier, C.Amiard-Triquet, J.-C. Amiard, J.-B. Bérard, C. Risso, M.Guibolini, M. Roméo, P. Reip, E. Valsami-Jones and C. Mouneyrac. Behavioural and biochemical responses of two marine invertebrates *Scrobicularia plana* and *Hediste diversicolor* to copper oxide nanoparticles. *Chemosphere* 84(1):166-174, 2011.

Canesi, L., R. Fabbei, G. Gallo, D. Vallotto, A. Marcomini and G. Pojana. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* exposed to suspensions of selected nanoparticles (Nano carbon black, C60 fullerene, Nano-TiO<sub>2</sub>, Nano-SiO<sub>2</sub>). *Aquatic Toxicology* 100(2): 168-177, 2010

Calabrese EJ. Converging concepts: adaptive response, preconditioning, and the Yerkes-Dodson law are manifestations of hormesis. *Ageing Res Rev*, 2007.

Coeurdassier, M. Gomot-de Vaufleury, A. Lovy, C.Badot, P.M. Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53; 425-431, 2002.

Deosarkar.M.P, S.M. Pawar, S.H. Sonawane, B.A. Bhanvase. Process intensification of uniform loading of SnO<sub>2</sub> nanoparticles on graphene oxide nanosheets using a novel ultrasound assisted in situ chemical precipitation method. *Chemical Engineering and Processing* 70; 48–54, 2013.

Djekoun. M, H. Berrebbah and M. R. Djebbar. Growth kinetics, monitoring of biomarkers and respiratory metabolism to evaluate the combined effects of fludioxonil and difenoconazole in a freshwater ciliated protist: *Paramecium sp.* *Der Pharma Chemica* ,7(11):197-204, 2015.

Eaton DL and Klaassen CD. Principles of toxicology, In: Klaassen CD (Ed), Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, pp 11-34. McGraw-Hill, New York, 2001.

Fakhri Ali, Sajjad Behrouz, Melika Pourmand. Synthesis, photocatalytic and antimicrobial properties of SnO<sub>2</sub>, SnS<sub>2</sub> and SnO<sub>2</sub>/SnS<sub>2</sub>

- nanostructure: Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 149 ; 45–50, 2015.
- Gambardella Chiara , Tina Mesarič , Tamara Miliivojević ,Kristina Sepčić , Lorenzo Gallus , Serena Carbone, Sara Ferrando , Marco Faimali . Effects of selected metal oxide nanoparticles on *Artemia salina* larvae: evaluation of mortality and behavioural and biochemical responses: Environ Monit Assess 186:4249–4259, 2014.
- Ganesh E Patil, Dnyaneshwar D Kajale, Vishwas B Gaikwad<sup>1</sup> and Gotan H Jain. Preparation and characterization of SnO<sub>2</sub> nanoparticles by hydrothermal route. International Nano Letters, 2012.
- Gomot, A. Effects of heavy metals on the development of snails. Using the snail as bio-indicators of pollution by heavy metals to the preservation of human health. Bull. Acad. Natle.Méd ,181; .59-75, 1997.
- Gomes, T., J. P. Pinheiro, I. Cancio, C. G. Pereira, C. Cardoso and M. J. Bebianno .Effects of Copper Nanoparticles Exposure in the Mussel *Mytilus galloprovincialis*. Environmental Science & Technology 45(21): 9356-9362, 2011.
- He Zuoli, Jiaqi Zhou. Synthesis, Characterization, and Activity of Tin Oxide Nanoparticles: Influence of Solvothermal Time on Photocatalytic Degradation of Rhodamine B: Modern Research in Catalysis, 2, 13-18, 2013.
- Hui Liu, Tingting Liu, Xiaonan Dong, Yuwu Lv, Zhenfeng Zhu. A novel fabrication of SnO<sub>2</sub> and graphene oxide core/shell structures with enhanced visible photocatalytic activity. Materials Letters 126;36–38, 2014.
- Henry. J, K. Mohanraj, G. Sivakumar, S. Umamaheswari. Electrochemical and fluorescence properties of SnO<sub>2</sub> thin films and its antibacterial activity: Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 143; 172–178, 2015.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry, 249(22), 7130-7139, 1974.
- Ismert, M. Oster, T. Bagrel, D. Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. Chemosphere 46; 273-280, 2002.
- Jan Tariq , Javed Iqbal , Muhammad Ismail , Noor Badshah ,Qaisar Mansoor , Aqsa Arshad , Qazi M. Synthesis, physical properties and antibacterial activity of metal oxides nanostructures: Materials Science in Semiconductor Processing 21;154–160, 2014.
- Kaur Jasneet, Jyoti Shah, R.K. Kotnala , Kuldeep Chand Verma. Raman spectra, photoluminescence and ferromagnetism of pure, Co and Fe doped SnO<sub>2</sub> nanoparticles. Ceramics International 38; 5563–5570, 2012.
- Karunakaran. C, S. Sakthi Raadha, P. Gomathisanankar. Microstructures and optical, electrical and photocatalytic properties of sonochemically and hydrothermally synthesized SnO<sub>2</sub> nanoparticles: Journal of Alloys and Compounds 549; 269–275, 2013.
- Kim, M., In-Young Ahn, Cheon, J., Park, H. Molecular cloning and thermal stress-induced expression of a pi-class glutathione S-transferase (GST) in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 152: 207–213, 2009.
- Konings, A.W., Penninga, P. On the importance of the level of glutathione and the activity of the pentose phosphate pathway in heat sensitivity and thermotolerance. Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med. 48, 409–422, 1985.
- Lukkari, T., Taavitsainen, M., Soimasuo, M., Oikari, A., Haimi, J. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure, differences between populations with and without earlier metal exposure. Environ. Pollut. 129, 377–386, 2004.
- Lagadic, L. Caquet, T. Amirad, J-C. and Ramade, F. Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux. Paris. Masson NB, 1997.
- Mallakpour Shadpour, Madani Maryam. A review of current coupling agents for modification of metal oxide nanoparticles: Progress in Organic Coatings 86; 194–207, 2015.
- Matranga Valeria, Ilaria Corsi. Toxic effects of engineered nanoparticles in the marine environment: Model organisms and molecular approaches: Marine Environmental Research 76; 32-40, 2012.
- Martineau Nicole, Joan E. Mc Lean, Christian O. Dimkpa, David W. Britt, Anne J. Anderson. Components from wheat roots modify the bioactivity of ZnO and CuO nanoparticles in a soil bacterium: Environmental Pollution 187; 65-72, 2014.
- Meena Kumari. M, Daizy Philip. Synthesis of biogenic SnO<sub>2</sub> nanoparticles and evaluation of thermal, rheological, antibacterial and antioxidant activities: Powder Technology 270 () 312–319, 2015.
- Mazloom. J, F.E. Ghodsi. Spectroscopic, microscopic, and electrical characterization of nanostructured SnO<sub>2</sub>: Co thin films prepared by sol–gel spin coating technique. Materials Research Bulletin 48; 1468–1476, 2013
- Mattson. Mark P. Hormesis Defined. Ageing Res Rev. Jan; 7(1): 1–7, 2008.
- Pan, J.-F., P.-E. Buffet, L. Poirier, C. Amiard-Triquet, D. Gilliland, Y. Joubert, P. Pilet, M. Guibolini, C. Risso de Faverney, M. Roméo, E. Valsamijones and C. Mouneyrac. Size dependent bioaccumulation and ecotoxicity of gold nanoparticles in an endobenthic invertebrate: The Tellinid clam *Scrobicularia plana*. Environmental pollution 168: 37-43, 2012.
- Perez-Rama, M., Abalde, A.J., Herrero, L.C. and Torres, E. Class III metallothioneins in response to cadmium toxicity in the marine microalga *Tetraselmis suecica* (KYLIN) BUTCH.



- Environmental Toxicology and Chemistry, 20(9), .2061-2066, 2001.
- Rouabhi,R. The impact of two pesticides and Diflubenzuron flucycloxuron three alternative cellular models: .sp Paramecium, Tetrahymena pyriformis, Tetraselmis suecica and embryonic development of the domestic chicken (*Gallus domesticus*), PhD University of Annaba. Algeria, 2005
- Regoli F, Principato G. Glutathione, glutathione dependant and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metal under field and laboratory conditions: implication for the biomarker. *Aquatic Toxicology* ;( 31):143-164, 1995.
- Subramanyam. K, N. Sreelekha, G. Murali, D. Amaranatha Reddy, R.P. Vijayalakshmi. Structural, optical and magnetic properties of Cr doped SnO<sub>2</sub> nanoparticles stabilized with polyethylene glycol: *Physica B* 454; 86–92, 2014.
- Suvetha Rani. J , V. Ramakrishnan. Interaction of Schiff base ligand with tin dioxide nanoparticles: Optical studies: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 114; 170–174, 2013
- Sauvant, M.P., Pepin, D. and Piccini, E.Tetrahymena pyriformis.A tool for toxicological studies.*Chemosphere*, 38(7), p.1631-1669, 1999.
- Shin S-H, Ye M-K, Kim H-S, Kang H-S. The effects of nano-silver on the proliferation and cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells. *International Immunopharmacology* 7: 1813–1818, 2007.
- Salinas, A.E., Wong, M.G.Glutathione S-transferases – a review. *Curr. Med. Chem.* 4, 279–309, 1999.
- Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P.,Morgenstern, R.,Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355, 592–596, 2007.
- Vidal.ML . Study of biochemical markers of pollution in the bivalve freshwater mollusc *Corbicula fluminea* (Muller) - Purification and caraterisation of Glutathione S-Transferases .These doctorate from the University of Bordeaux .267 ;,15,17, 2001.
- Vidhu. V.K, Daizy Philip. Phytosynthesis and applications of bioactive SnO<sub>2</sub> nanoparticles: *Materials Characterization* 101; 97–105, 2015.
- Vidhu. V.K, Daizy Philip. Biogenic synthesis of SnO<sub>2</sub> nanoparticles: Evaluation of antibacterial and antioxidant activities: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 134; 372–379, 2015.
- Winston, G.W. Di Giulio, R.T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, 19, 137-161, 1991.