



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

جامعة شاذلي بن جديد-الطارف

Université Chadli Bendjedid - El Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master II

Spécialité :

Toxicologie Industrielle et Environnementale

THEME

L'évaluation de la toxicité d'un xénobiotique
Sur un modèle bioaccumulateur de pollution

Par :

Boukhari Rouaya

Devant le jury :

Dr. GHEITE SAMIRA	MCA	Présidente	Université C. Bendjedid El Tarf
Dr. Nouri Nada	MCA	Examinatrice	Université C. Bendjedid El Tarf
Dr. Amrani Amina	MCA	Encadreur	Université C. Bendjedid El Tarf
Dr. Benamara Maroua	MCB	CO-Encadreur	Université C. Bendjedid El Tarf

2021- 2022

REMERCIEMENT

Un grande merci à (aux)...

Dieu pour tous les bienfaits qu'Il nous accordé et pour le courage qu'il nous a attribué afin de compléter ce travail.

Je remercie aussi ma famille et surtout mes parents pour leur soutien morale et matériel pendant toute notre vie et surtout durant nos études.

Je remercie **Dr GHEITE SAMIRA** pour avoir accepté de présider le jury, ainsi qu'il a porté à ce travail.

Je tiens également à remercier **Dr NOURI NADA** Maitre de conférences à l'Université Chadli Bendjedid EL TARF, pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner et juger ce travail et participer à ce jury.

J'exprime ma reconnaissance à **Dr AMRANI AMINA** pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude. Je la remercie pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à **Dr ZAIDI HADJER**, pour ses remarques constructive, ses commentaires bénéfiques, recommandations et exigences m'ont guidé tout au long de mes recherches. Je lui exprime par ce fait mon remerciements les plus profonde et ma gratitude la plus sincère ,et mes vives sentiments pour sa collaboration sa gentillesse, sa politesse, son aide, ses idées, ses capacités, ses encouragements, et surtout pour les bons moments.

Mes remerciements vont aussi à **Mme MEZDOUR AICHA**, ingénieur de laboratoire pour sa hospitalité et sa gentillesse.

Je remercie **Mme khadraoui amina** pour son aides et sa gentillesse .

A toutes les personnes qui d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et tous ce qui nous a apporté l'aide durant notre cursus que nous ne pouvant citer individuellement.

DÉDICACE

Avec l'aide du dieu tout puissant, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance envers les personnes les plus importantes pour moi, je dédie ce travail.

À mais très **chères parents, BOUKHARI KAMEL** et **SEHILI NOURA** en témoignage, de mon profond respect et de l'amour que j'éprouve à leurs. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis, pour tous les efforts pour répondre à mes besoins . Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer, Aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance. Merci pour vos instructions, votre soutien, que le tout puissant vous accorde une bonne santé et longue vie.

A mes frères : **ilyes** et **abdelkader** .

A ma petite sœur : **ANFEL**.

A la femme de mon frère **NESRINE** et à **ma famille** .

A tout mes enseignants .

A tous mes proches et amies : **HOUDNA, BOUTHEINA , CHAIMA ,AYA , WISSEM , ANFEL** ,
comme signe de notre profonde amitié.

A mes amies qui je les ai connus grâce à cette étude **MAISSA ET ROUMAISSA**

À tous mes amis et camarades de promotion **2020 - 2022** de toxicologie pour leurs présence, leurs beaux moments passés ensemble, pour tous ces foux rires que je n'oublierai jamais.

RESUME

Notre étude expérimentale porte sur l'évaluation de l'impact de la molécule nanométrique à base d'oxyde de bismuth, et leur effet sur des organismes bio-accumulateurs et bio indicateurs de pollution de l'environnement terrestre l'escargot *Helix aspersa*. *Helix aspersa* a été gavé par une dose unique de Bi_2O_3 (0,5 -1 - 1,5 et 5 mg/ ind), après 48h d'exposition les escargots sont sacrifiés et le taux de biomarqueur non-enzymatique du stress oxydant le glutathion réduit (GSH) et l'indice de la peroxydation lipidique sont déterminés. Les résultats obtenus montrent que la présence des NPs d'oxyde de bismuth, provoque une perturbation de la composition biochimique au niveau de l'hépatopancréas, rein et intestin par une augmentation du taux des protéines par la diminution significative du capteur des espèces réactives d'oxygène ; GSH dans l'hépatopancréas et son induction au niveau des reins, avec une augmentation de l'indice de la peroxydation lipidique.

Mots clés : *Helix aspersa*, NPS , oxyde de Bismuth , bioindicateur, stress oxydant, GSH ,TBA .

ABSTRACT

Our experimental study focuses on the evaluation of the impact of the nanometric molecule based on bismuth oxide, and their effect on bio-accumulators and bio-indicators of pollution of the terrestrial environment, the snail *Helix aspersa*. *Helix aspersa* was gavaged with a single dose of Bi₂O₃ (0.5 -1 - 1.5 and 5 mg / ind), after 48 hours of exposure the snails are sacrificed and the level of the non-enzymatic biomarker of oxidative stress glutathione reduced (GSH) and the lipid peroxidation index are determined. The results obtained show that the presence of bismuth oxide NPs causes a disturbance of the biochemical composition at the level of the hepatopancreas, kidney and intestine by an increase in the level of proteins by the significant decrease in the sensor of reactive species of oxygen; GSH in the hepatopancreas and its induction in the kidneys, with an increase in the lipid peroxidation index.

Keywords: *Helix aspersa*, NPS, Bismuth oxide, bioindicator, oxidative stress, GSH, TBA,

ملخص

تركز دراستنا التجريبية على تقييم تأثير الجزيء النانومتري على أساس أكسيد البزموت ، وتأثيرها على المراكم الحيوية والمؤشرات الحيوية لتلوث البيئة الأرضية ، الحلزون اللولبي *Helix aspersa*. تم تغذية الحلزون *H. aspersa* بجرعة واحدة من Bi_2O_3 (0.5-1 - 1.5 و 5 مغ) ، بعد 48 ساعة من التعرض ، يتم التضحية بالقواقع ويتم قياس مستوى العنصر الحيوي غير الأنزيمي للإجهاد التأكسدي الجلوتاثيون (GSH) و تحديد مؤشر بيروكسيد الدهون. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن وجود أكسيد البزموت NPs يسبب اضطراباً في التركيب الكيميائي الحيوي على مستوى الكبد والكلى والأمعاء عن طريق زيادة مستوى البروتينات، الانخفاض الكبير في مستشعر الأنواع التفاعلية للأكسجين ؛ GSH في الكبد وتحريضه في الكلى ، مع زيادة في مؤشر بيروكسيد الدهون.

الكلمات المفتاحية: *Helix aspersa* ، NPS ، أكسيد البزموت ، المؤشر الحيوي ، الإجهاد التأكسدي ، GSH ،

، TBA

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Partie bibliographique	
Généralité sur les nanoparticules	3
1. La nanotoxicologie	3
2. Les nanoparticules	3
3. Origine de nanoparticules	3
3.1. Les nanoparticules naturelles	4
3.2. Les nanoparticules artificielles	4
4. Classification et propriétés des NPs	4
5. Types de nanoparticules et domaines d'utilisation	4
6. Caractérisation des NPs	5
6.1. La taille	5
6.2. La forme	6
6.3. L'aggrégation et l'agglomération	6
6.4. La surface spécifique	7
7. Toxicités des nanoparticules	8
7.1 L'éconanotoxicologie	8
7.2. Toxicité pour la flore	8
7.3. Toxicité pour la faune	8
8. Le stress oxydatif	9
8.1. Les espèces oxygénées activées (EOA ou ROS)	10
8.1.A. Principales cibles biologique des EOA	10
8.1.B. Les défenses antioxydantes	12
Présentation des nanoparticules étudiées	14
1. Généralité sur le bismuth	14
2. Oxyde de bismuth (III) Bi_2O_3	16
2.1. La phase $\alpha\text{-Bi}_2\text{O}_3$	16
2.2. La phase $\beta\text{-Bi}_2\text{O}_3$	17
2.3. La phase $\gamma\text{-Bi}_2\text{O}_3$	18
2.4. La phase $\delta\text{-Bi}_2\text{O}_3$	19
2.5. La phase $w\text{-Bi}_2\text{O}_3$	21
2.6. La phase $\varepsilon\text{-Bi}_2\text{O}_3$	21
3. Diagramme E-pH du bismuth	21
4. Propriétés et applications d'oxyde de bismuth	22
4.1. Propriétés électriques	23
4.2. Propriétés catalytiques	24
4.3. Propriétés optiques	24

4.4. Piles à combustible	25
4.5. Capteurs de gaz	25
5. La toxicités de Bismuth	27
Partie expérimentale	
Matériels et Méthodes	30
Matériel	30
1. Matériel Biologique	30
1.1. Description morphologique	31
2. Matériel chimique	33
Méthodes	33
1. Conditions d'élevage	33
2. Mode de traitement	34
3. Sacrifice et dissections des escargots	36
Dosages des biomarqueurs du stress oxydant	37
1. Dosage du glutathion GSH	37
2. Dosage du la peroxydation lipidique (TBARS)	38
3. Dosage des protéines	39
Résultat et discussion	41
1. Impact de l'oxyde de bismuth(III) sur le taux de mortalité	41
2. Evaluation de l'effet dul'oxyde de bismuth (III) sur le taux de glutathion (GSH)	41
2.1. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'hépatopancréas de <i>H. aspersa</i>	42
2.2. Evaluation de taux de glutathion au niveau du rein de <i>H. aspersa</i>	43
2.3. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'intestin de <i>H. aspersa</i>	43
3. Evaluation de l'effet du l'oxyde de bismuth (III) sur le taux de la peroxydation lipidique (LPO)	44
3.1. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau de l'hépatopancréas de <i>H. aspersa</i>	44
3.2. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des reins de <i>H. aspersa</i>	45
3.3. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des intestins de <i>H. aspersa</i>	46
DESCUSSION	48
Conclusion et perspective	50
Références Bibliographique	53

Liste des abbreviations

NPS	Nanopartucules
Bi₂O₃	Oxyde de bismuth
µg	Microgramme
B.S.A	Bovin serum albumine
BBC	Bleu Brilliant de Coomassie
CAT	Catalase
ERO	Espèce reactive oxygénées
GPX	Glutathion peroxydase
GSH	Glutayhion réduit
GST	Glutathion - S –transférase
H₂O₂	Peroxyde d’hydrogène
Kg	Kilo gramme
Mg	Milli gramme
Nm	Nano- mètre
O₂	Oxygène moléculaire
O₂⁻	Anion superoxide
OH[•]	Redical hydroxyle
SOD	Superoxide dismutase
TCA	Trichloroacetique

Listes des figures

N°	Titre de figure	page
01	Les frontières du nano monde	02
02	Exemples de produits contenant des nanomatériaux	05
03	Différentes formes de Nanoparticules	06
04	agglomérats et agrégats	07
05	Modélisation des causes et des effets du stress oxydant	09
06	Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.	12
07	Description de la structure cristallographique de la phase α -Bi ₂ O ₃ .	17
08	Structure cristallographique de la phase β -Bi ₂ O ₃	18
09	Description de la structure cristallographique de la phase γ Bi ₂ O ₃	18
10	Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi ₂ O ₃ selon Sillen	19
11	Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi ₂ O ₃ proposé par Gattowet Schroeder	20
12	Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi ₂ O ₃ décrit par Willis	21
13	Différentes phases de l'oxyde Bi ₂ O ₃ et leur domaine de stabilité	22
14	Diagramme d'équilibre E-pH du bismuth à 25°C	23
15	Variation de la conductivité électrique des différentes phases de Bi ₂ O ₃ en fonction de la température	24
16	L'escargot Helix aspersa	31
17	Helix aspersa	32
18	Jeune de l'escargot Helix aspersa	32
19	L'oxyde de bismuth (Bi ₂ O ₃)	33
20	L'élevage des escargots Helix aspersa dans le laboratoire	34
21	Préparation des concentrations de Bi ₂ O ₃	35
22	Le gavage	35
23	Dissection et prélèvement des organes (l'hépatopancréas, les reins et l'intestins)	37
24	Courbe D'étalonnage Du Glutathion	39
25	Dosage des protéines	40
26	Courbe D'étalonnage Des Protéines	41
27	Variations du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi ₂ O ₃ ; N=10)	42
28	Variations du taux de GSH au niveau des reins de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi ₂ O ₃ ; N=10)	43
29	Variations du taux de GSH au niveau d'intestins de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi ₂ O ₃ ; N=10)	44

30	Variations du taux des LPO au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10)	45
31	Variations du taux des LPO au niveau des reins de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .	46
32	Variations du taux des LPO au niveau des intestins de l'escargots terrestre H. aspersa traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .	47

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	N° de page
<i>Tableau 01</i>	Récapitulatif de quelques propriétés physico-chimiques du bismuth	15
<i>Tableau 02</i>	Différents degrés d'oxydation de bismuth et les oxydes correspondants.	16

INTRODUCTION

La nanotechnologie est un domaine scientifique moderne qui joue un rôle dominant dans les aspects de la vie quotidienne. Elle traite la production, la manipulation et l'utilisation de matériaux allant en nanomètres (**Kavitha et al., 2013**). Ainsi, elle concerne principalement les nanoparticules ayant une dimension de 1-100 nm (Amudha Murugan et al., 2014) qui sont largement utilisés dans les cosmétiques, aliments et médicaments pour de meilleures performances. (**Gojova et al., 2007**).

Les nanoparticules sont définies comme étant toute particule possédant un diamètre inférieur à 100 nm. Vu que la majorité de leurs atomes sont situées en surface, elles possèdent des propriétés physicochimiques propres et uniques. Elles provenant de deux sources principales, naturel et anthropiques (**Lanone et Boczkowski, 2010**).

Les nanoparticules ont envahi notre environnement quotidien suite au large spectre d'applications, malgré que nombreuses études aient bien démontrées leur pouvoir toxique plus ou moins important (**Massea et Boudene, 2012**); Plusieurs caractéristiques propres aux nanoparticules ; propriétés diélectriques, magnétique, tailles, propriétés structurelles et optiques ; ont suscité un intérêt massif pour eux, et leurs utilisations ont été élargies au fur et à mesure, dans différents domaines ; médicale, d'épurations environnementales et surtout industriel ; alors que ces même propriétés jugées favorables, sont impliquées dans leur potentielle toxique (**Schrand et al., 2010 ; Seabra et al., 2015**).

Les nanoparticules peuvent être selon **Lanone & Boczkowski, 2010** :

- D'origine naturelle (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion).
- Produites par l'homme de façon non intentionnelle (ou nanoparticules non manufacturées d'origine anthropique).
- Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées)

Le bismuth fait partie des nanoparticules qui présentes des caractéristiques physicochimiques très intéressantes ,il est utilise en électricité dans la fabrication des fils de

fusibles ,en pharmacie comme pansement pour brûlure et aussi en cosmétique ,dans les rouges à lèvres ,pour son pouvoir de brillance nacré .

Bien que les mécanismes de toxicité du bismuth soient mal connus ; certaines études ont émis l'hypothèse que les nanoparticules de Bi_2O_3 peuvent induire un stress oxydatif, en produisant les espèces réactives d'oxygène (ERO) ; ce qui suggère que la toxicité du bismuth doit obligatoirement être étudiée et évaluée à l'avenir .

Il est donc nécessaire de disposer d'indicateurs de perturbation de l'environnement à travers des organismes ou un ensemble d'organismes que l'on utilise comme sentinelles en étudiant les modifications physiologiques, biochimiques et écologiques qui les affectent. Ces êtres vivants très sensibles aux contaminants présentent l'intérêt de se prêter plus facilement que l'homme aux études des effets des polluants et permettent de mettre en évidence des pollutions chroniques ou brutales (**Little. Eet al, 1990**), C'est donc, dans ce contexte, que nous avons évalué par une étude expérimentale l'effet d'une nanoparticule : l'oxyde de bismuth Bi_2O_3 sur le gastéropode terrestre *Helix aspersa*, qui est l'une des espèces d'escargots la plus abondante dans la région Nord-centre d'algerie .

Ce document est structuré comme suit :

subdivisée en 4 parties :

- **La première partie :** Il s'agit d'une étude bibliographique sur les nanoparticules, où nous présenterons brièvement les différents types et leurs applications ; et un aperçu sur l'espèce étudiée.
- **La deuxième partie :** traite les méthodes utilisées pour déterminer les effets d'oxyde de bismuth Bi_2O_3 sur *Helix aspersa* en étudiant les critères physiologiques .
- **La troisième partie :** Il présentera les résultats obtenus et la discussion.
- **Conclusion :** contient une déduction.

CHAPITRE I REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Etude bibliographique

I. La nanoparticules : (présentation et contexte générales)

I. 1. La nanotoxicologie :

La nanotechnologie est un domaine scientifique moderne qui joue un rôle dominant dans les aspects de la vie quotidienne. La nanotechnologie traite la production, la manipulation et utilisation de matériaux allant en nanomètres **(Kavitha et al., 2013)**. La nanotechnologie concerne principalement les nanoparticules ayant une dimension de 1-100 nm **(Amudha et al., 2014)** qui sont largement utilisés dans les cosmétiques, aliments et médicaments pour de meilleures performances. **(Gojova et al., 2007)**.

I. 2. Les nanoparticules :

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont la dimension est inférieure à 100 nm. La particularité d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouve en surface. Cela confère à la nanoparticule une surface d'échanges (surface spécifique) très importante de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule résultant dans des propriétés physiques et chimiques particulières. **(Lanone & Boczkowski, 2010)** Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) ou au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme. **(Oberdorster et al., 2005)**.

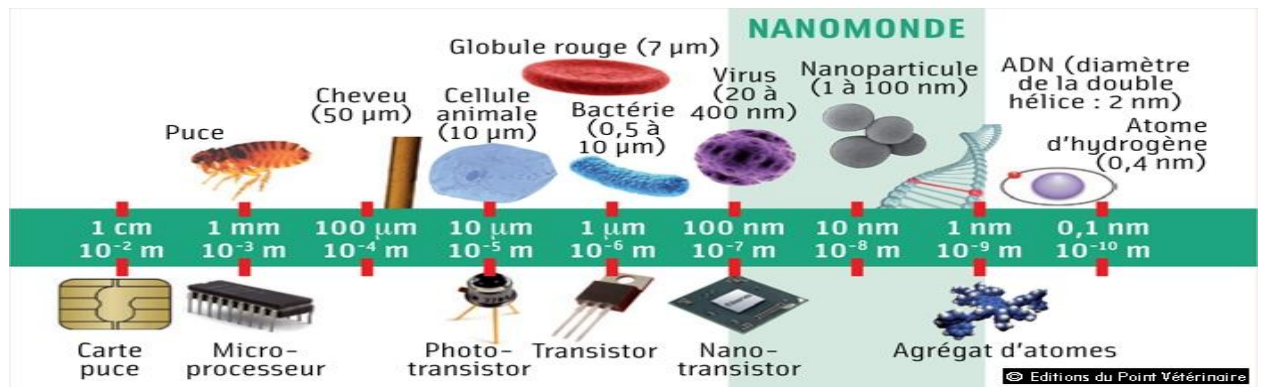


Figure 1 : Les frontières du nanomonde (Chamard ,2013)

I. 3 . Origine de nanoparticules :

Selon leurs origines, les nanoparticules sont classées en deux catégories :

I. 3.1.Les nanoparticules naturelles :

Les nanoparticules sont présentes dans l'environnement depuis des milliards d'années, comme le noir de carbone («noir de carbone», charbon de bois), et d'autres particules inorganiques, comme l'argile ou l'oxyhydroxyde métallique (Bucheli, 2007 ; Nowack et al., 2007). Ces nanoparticules sont issues de processus naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques...) et existent dans l'atmosphère, le sol et l'eau.

I. 3.2.Les nanoparticules artificielles :

Les nanoparticules (NPs) d'origine anthropogénique sont divisées en deux sous-familles différentes: les nanoparticules non intentionnelles (ou accidentelles) et intentionnelles (fabriquées). Comme leur nom l'indique, les nanoparticules accidentelles (NPA) sont dérivées des activités humaines et ont été découvertes accidentellement dans l'environnement (Murr et al., 2004). Les nanoparticules artificielles (NPM) sont, toutefois, des produits synthétisés par l'homme pour des applications spécifiques. Dans la dernière catégorie, les NPs les plus connues sont: les nanotubes de carbone (CNT) et les fullerènes; les nanoparticules d'or et de fer; les oxydes d'argent et de titane ; les nanoparticules à base de polymère (comme le polyéthylène diol) (Ju-Nam et Lead, 2008).

I. 4 .Classification et propriétés des NPs :

Les nanomatériaux peuvent donc se présenter sous un grand nombre de formes différentes, mais ils sont également caractérisés par une grande variété de propriétés chimiques (**Simonin, 2015**).

On peut les classer selon la nature :(Chuto, 2010).

- **Les nanomatériaux organiques:** sont majoritairement commercialisés sous forme de nanotubes de carbone ou de fullerènes.
- **Les nanomatériaux inorganiques :** sont divisés en 3 classes selon (**Simonin, 2015**) :
 1. les quantum-dots (séléniure de cadmium).
 2. les nanomatériaux métalliques (argent, or...).
 3. les oxydes métalliques (titane, fer, cérium, cuivre...) (**Simonin, 2015**).

Les nanoparticules, jonction entre l'échelle atomique et le matériau, ont des particularités structurales très spécifiques. En effet, contrairement aux matériaux classiques, les nanoparticules voient leurs propriétés changer en fonction de leur taille. Elles sont soumises à la fois aux phénomènes de la physique classique et à ceux de la physique quantique lorsqu'elles sont de très petite taille. Les principales propriétés des nanoparticules sont : optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques. (**Simonin, 2015**).

I .5.Types de nanoparticules et domaines d'utilisation:

Les types de nanoparticules les plus utilisés sont :

- Les oxydes métalliques comme ceux de titane, de silicium, d'aluminium, d'étain ou de fer. Ils interviennent dans les cosmétiques (filtres UV, stabilisateurs), les produits alimentaires (anti-agglomérants, liants), les vernis et les peintures (traitements anticorrosion, anti-rayures), les produits d'entretien (traitements de surface) ou encore les céramiques sanitaires (traitements déperlants). (**witschgeret al, 2005**).

- Les métaux comme l'or et l'argent. Le nano-argent est très employé pour ses propriétés antibactériennes et antimicrobiennes dans les vêtements de sport, les revêtements de façade, les brosses à dents et les produits d'hygiène corporelle. Les nanoparticules d'or ont un emploi principalement médical. (witschgeret al, 2005).
- Les nanoparticules carbonées sous la forme de noir de carbone ou de nanotubes de carbone. Celles de noir de carbone sont très utilisées pour la fabrication des pneus autos dont elles améliorent l'adhérence sur la route. Les nanotubes trouvent une application dans les articles de sport dont ils augmentent la stabilité. (witschgeret al, 2005).
- Les nano cristaux semi-conducteurs comme ceux de sélénure de cadmium ou d'arséniure de gallium. Ils sont notamment utilisés pour la fabrication des panneaux solaires (witschgeret al, 2005).



Figure 02: Exemples de produits contenant des nanomatériaux (Lowry et al, 2004).

I. 6. Caractérisation des NPs :

Les Nanoparticules ont des caractéristiques très différentes de celles des atomes ou autres matériaux. Elles leurs sont spécifiques, et nous permettent de les classer.

Les principales caractéristiques des Nanoparticules sont :

I. 6.1 . La Taille :

Grâce à leur petite taille nanométrique, les Nanoparticules ont la particularité

d'avoir 2 types de dispersion :

- **Monodispersion** : une seule et même taille
- **Polydispersion** : une gamme de plusieurs tailles plus ou moins importante .

La taille joue un rôle très important dans la réactivité des particules. Par exemple, pour les atomes d'Arsenic avec les particules d'oxyde de fer ; plus le diamètre des particules est petit, plus leur capacité dans la rétention des atomes d'Arsenic sera forte (**Canivet et al ,2015**).

I. 6.2. La forme :

Les Nanoparticules sont caractérisées par leurs diverses formes (sphériques, tubes, plaques...), tellement nombreuses qu'il est difficile de toutes les classer.

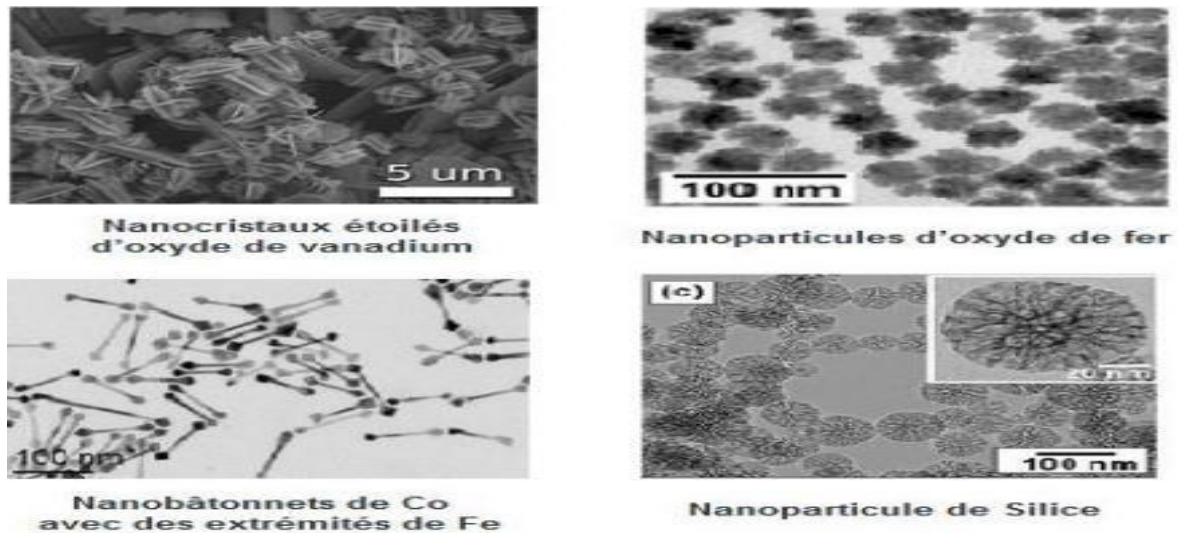


Figure 03: Différentes formes de Nanoparticules(Mirzadeh and Akhbari, 20).

I. 6.3. L'agrégation et l'agglomération :

Grâce à leur surface particulière et selon le milieu dans lequel elles se trouvent, les Nanoparticules peuvent se présenter sous 3 formes :

- Nanoparticules primaires
- Agglomérats : ce sont des liaisons de Nanoparticules primaires par des liaisons très faibles telles que les liaisons de Van Der Waals.
- Agrégats : ce sont des liaisons des Nanoparticules primaires par des liaisons chimiques très fortes telles que les liaisons de covalence.

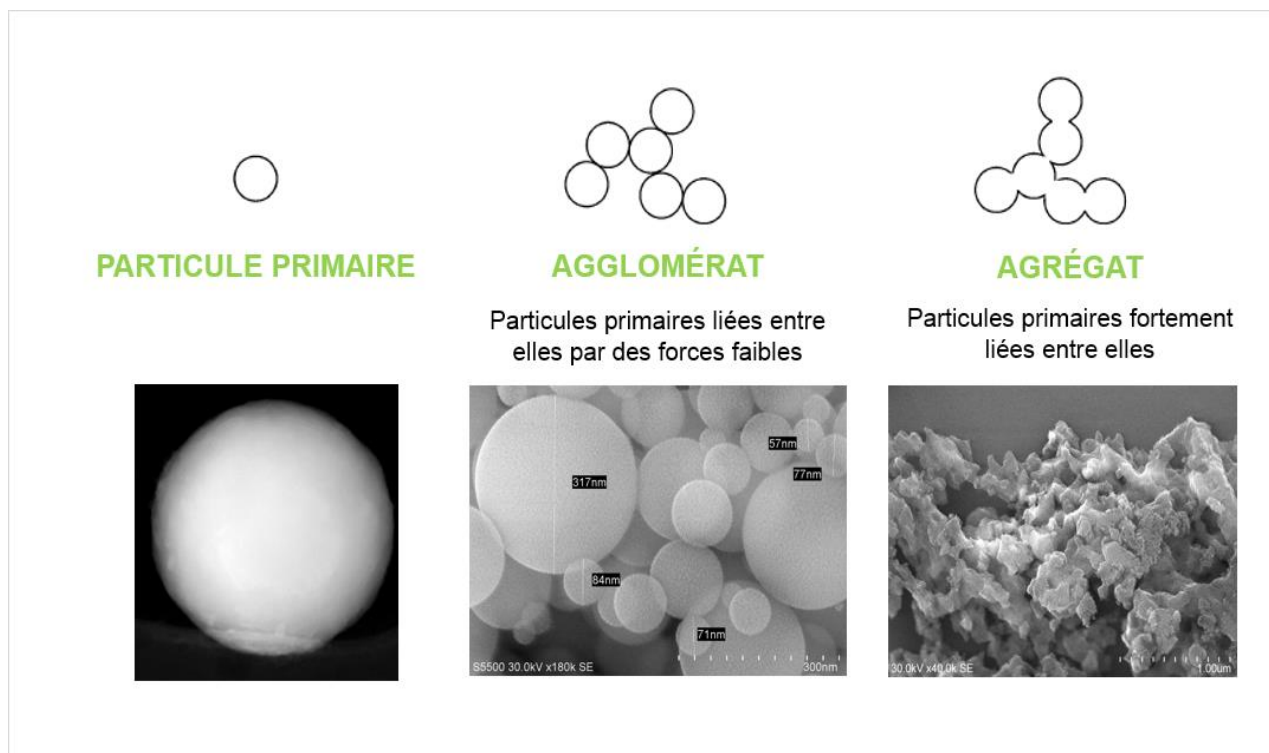


Figure 04 : agglomérats et agrégats (LNE, 2017).

I. 6.4 . La surface spécifique :

On entend par « surface spécifique » la surface réelle totale d'une particule par unité de masse de produit par rapport à sa taille apparente. La particularité de la surface d'une Nanoparticule réside dans le fait que la plupart de ces atomes se trouvent sur la surface ce qui va conférer à la Nanoparticule sa propriété de réactivité avec le milieu où elle se présente. Grâce à cette caractéristique, plus la surface spécifique augmente, plus la taille des particules va diminuer, donc, plus leur réactivité chimique et biologique va augmenter.

Les propriétés physico-chimiques particulières résultant des Nanoparticules, ont permis l'essor de nouveaux produits, ce qui a révolutionné le monde qu'on connaissait avant, et cela dans plusieurs domaines d'activité. (Liu et al., 2016).

I. 7 . Toxicités des nanoparticules :

I .7. 1 L'éconanotoxicologie :

Pour évaluer l'impact des nanoparticules sur l'environnement, premièrement il faut déterminer les quantités de nanoparticules qui sont rejetées dans l'environnement, les localiser (air, eau, sol), et déterminer leurs lieux d'accumulation préférentiels, ainsi que leurs conditions de persistance ou de dégradation. On pourra ensuite rechercher à déterminer l'écotoxicité des nanoparticules. Actuellement, il n'existe que peu de données traitant du comportement et de la toxicité des nanoparticules dans l'environnement. Les fullerènes sont pratiquement les seuls à être documentés (**Maurice ., LefebvreE.,2008**).

I .7.2.Toxicité pour la flore :

Il n'existe à notre connaissance aucune donnée portant sur les toxicités des nanoparticules sur la flore. Nous pouvons cependant avancer que les différentes plantes peuvent absorber, par leurs racines, les nanoparticules transportées par le sol, ainsi que les nanoparticules présentes dans l'air, par leurs stomates. La flore pourrait donc être indirectement contaminée par les nanoparticules transportant des polluants . (**AFSSET., juillet 2006., LM., 2007., Witschger,O., Fabries, JF., 2005**) .

I .7.3.Toxicité pour la faune :

La toxicité des nanoparticules vis-à-vis de la faune est de nouveau mal connue et peu documentée. Plusieurs études ont été réalisées sur des organismes aquatiques, comme sur 28 le bar *Micropterus salmoides* (en 2004, Oberdörster) que l'on a exposé à 0,5 mg/l de fullerène pendant 48 heures, sans que cela provoque de mortalité. Que peut-on en conclure sur les effets des nanoparticules de fullerène ? Beaucoup critique le protocole expérimental pour son absence de répliquas et l'utilisation d'un solvant sur le fullerène, qui pourraient modifier les propriétés et la toxicité des nanoparticules considérées. D'autant plus que d'autres études

tendent à prouver que le solvant utilisé n'est pas neutre, et fausse donc les résultats. On ne

peut ainsi rien conclure, mais les études sur le sujet tendent à se multiplier (AFSSET., juillet 2006., LM., 2007., Witschger, O., Fabries, JF., 2005).

I.8. Le stress oxydatif :

Le stress oxydant est un concept relativement récent. Il a été introduit au début des années 1990, et est défini comme un ensemble de perturbations de l'équilibre naturel existant entre les espèces pro- et anti-oxydantes, le déséquilibre se faisant en faveur des composés pro oxydants, et pouvant conduire à des dommages cellulaires (**Figure 07**) (Kelly, F.J., 2003). Le stress oxydant est le plus souvent évalué par la mesure des espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites dans des conditions données .

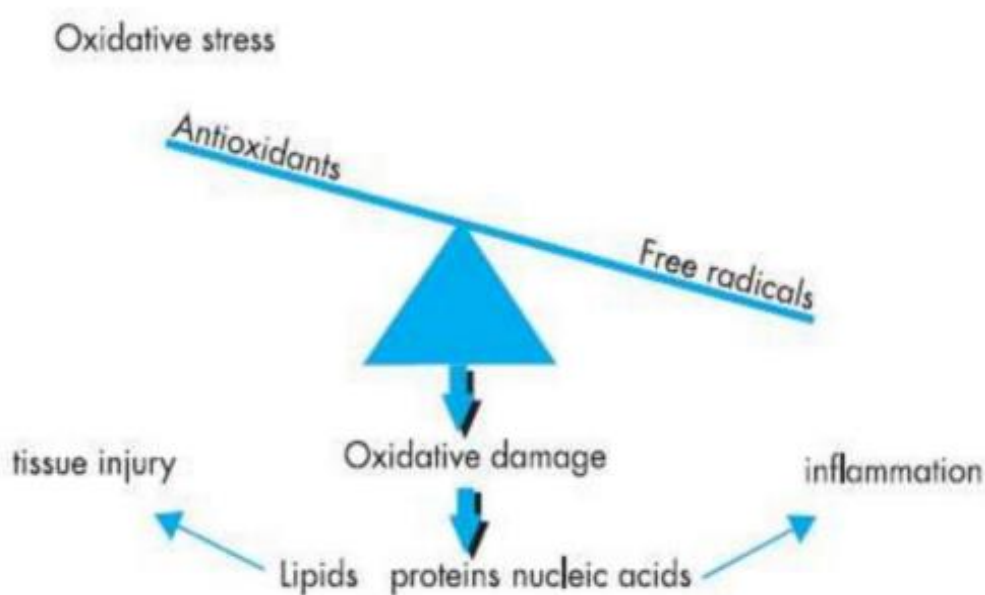


Figure 05 : Modélisation des causes et des effets du stress oxydant (d'après Kelly, F.J., 2003).

I .8.1. Les espèces oxygénées activées (EOA ou ROS) :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées

dans les

organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (**Valko et al., 2007**).

L'appellation ERO inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion super oxyde ($O_2\cdot^-$), radical

hydroxyle ($OH\cdot$), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est

importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Wuet al., 2003**).

Les ERO jouent le rôle de seconds messagers, régulant plusieurs processus physiologiques moléculaires cellulaires et tissulaires. Elles participent dans la défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la transduction de signaux cellulaires, la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes, la modulation du métabolisme cellulaire par interaction ligand – récepteur, le développement embryonnaire, la croissance, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire.

I. .8.1.A.Principales cibles biologiques des EOA :

❖ L'acide désoxyribonucléique ou ADN :

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec

•OH pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguano-sine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à

des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement. (**HALENG et al , 2007**) .

❖ Les protéines :

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec,

pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (HALENG et al, 2007).

❖ Les lipides membranaires :

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le

radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (Atkin MA, et al, 2005).

Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues.

❖ Les lipoprotéines :

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Nakajima et al, 2006). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les complexes immuns formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (Saad et al, 2006).

I.8.1.B. Les défenses antioxydantes :

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Fig. 6). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Halenge et al ;2007).

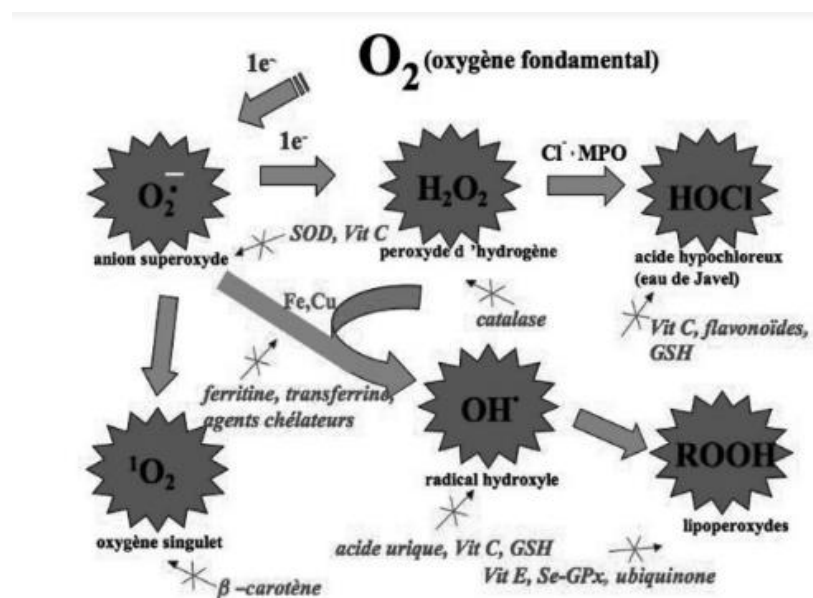


Figure 6 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production(Halenge et al ;2007).

❖ Systèmes de défense enzymatiques :

• Les superoxyde dismutases (SOD) :

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet -}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et

la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Halenge et al ;2007**).

- **Les glutathion peroxydases (GPxs)**

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration (**Halenge et al ;2007**).

- **Le système thiorédoxine :**

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfures sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif.

Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (**Halenge et al ;2007**).

❖ Systèmes antioxydants non enzymatiques :

• Le glutathion et les protéines-thiols :

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majeur au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH).

Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire. L'apport recommandé journalier est d'environ 300 mg (agrumes).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Halenge et al ;2007).

II .Présentation des nanoparticules étudiées :

II 1.Généralité sur le bismuth :

Le bismuth de symbole Bi, est un semi métal de numéro atomique 83. C'est le plus lourd du groupe (V) de la classification périodique, il est connu pour ses propriétés thermoélectriques et diamagnétiques. Le Bismuth présente des propriétés physiques particulières qui le distinguent des autres métaux et des semi-conducteurs, ceci provient du fait que la bande de conduction et la bande de valence de ces solides se recouvrent par un très petit nombre de charges libres. Les différentes propriétés physico-chimiques du bismuth sont résumées dans le Tableau suivant :

Nom, symbole	BISMUTH, Bi
Numéro atomique	83
Groupe, période, bloc	15, 6 , p
Configuration électronique	[Xe] 4f14 5d10 6s2 6p3
Système cristallin	Rhomboédrique
Electronégativité de pauling	1.9
Rayon atomique	0.152nm
Masse atomique	208.98 g.mol-1
Masse volumique	9.79 g.cm-3
Point de fusion	271.4 °C
Point d'ébullition	1564 °C
Energie de fusion	51816 J.Kg-1
Energie de vaporisation	151 KJ.mol-1
Conductivité électrique	0.867.106 S.m-1
Conductivité thermique	7.87 W.m-1.K-1

Tableau 01 : Récapitulatif de quelques propriétés physico-chimiques du bismuth (S.KENZA ,2017)

Le bismuth présente quatre degrés d'oxydation : II, III, IV et V correspondant aux états Bi^{2+} , Bi^{3+} , Bi^{4+} et Bi^{5+} respectivement, dont le degré le plus stable est (+III), il existe par conséquent un grand nombre d'oxydes avec des compositions mixtes de degrés d'oxydation.

De plus, les oxydes de bismuth ont une forte tendance à la non stœchiométrie ce qui conduit à la présence d'un grand nombre de structures

déficitaires en oxygène, ce qui permet l'obtention de plusieurs phase présentant des propriétés physiques variées.

Le Tableau 02 : résume les différents degrés d'oxydation du bismuth et les oxydes correspondants(Pourbaix et van Muydler ,1957) :

Nombre d'oxydation	Oxydes
+2	BiO
+3	Bi ₂ O ₃
+3, +5	Bi ₄ O ₇
+4	Bi ₂ O ₄
+5	Bi ₂ O ₅

Tableau 02: Différents degrés d'oxydation de bismuth et les oxydes correspondants.

II. 2. Oxyde de bismuth (III) Bi₂O₃ :

Le degré d'oxydation le plus stable du bismuth est le degré (III), lorsque l'atome de bismuth est engagé avec des atomes d'oxygène, il possède une paire électronique libre non liante. L'oxyde de bismuth (Bi₂O₃) présente plusieurs variétés allotropiques (phases), chaque phase de Bi₂O₃ présente 60% de composition en oxygène . Donc, il est très important de connaître la structure des différentes phases pour pouvoir comprendre leurs comportements physiques (électrique, optique,...). Dans ce qui suit nous présenterons ces différentes structures.

II. 2.1. La phase α -Bi₂O₃ :

La phase α -Bi₂O₃ est la phase stable à température ambiante de l'oxyde de bismuth (III), elle se cristallise dans un réseau monoclinique de paramètres: $a = 5,83 \text{ \AA}$, b

$= 8,14 \text{ \AA}$, c
 $= 13,78 \text{ \AA}$ et $\beta = 113^\circ$ (, sa maille est représentée sur la **Figure .07**. Cette structure peut être décrite par un empilement de différentes couches composées d'atomes de bismuth et d'oxygène.

Cette phase possède une structure de type fluorine (CaF_2) ; présentant des lacunes ordonnées avec un quart des sites d'oxygène libre **Figure 07** : Description de la structure cristallographique de la phase $\alpha\text{-Bi}_2\text{O}_3$.

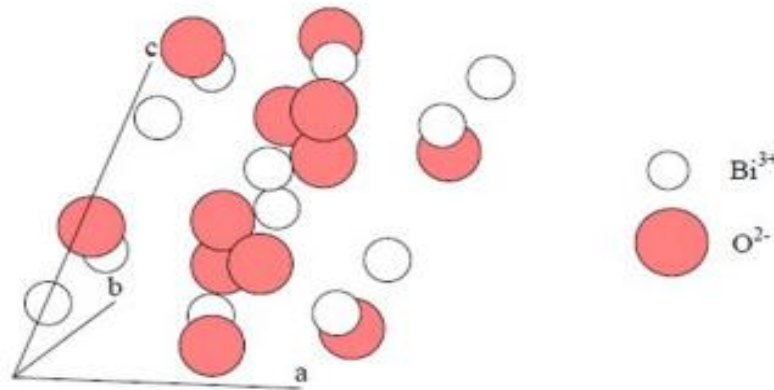


Figure 07: Description de la structure cristallographique de la phase $\alpha\text{-Bi}_2\text{O}_3$.

II. 2.2. La phase $\beta\text{-Bi}_2\text{O}_3$:

La phase $\beta\text{-Bi}_2\text{O}_3$ est obtenue à partir du refroidissement de la phase δ . Cette structure est observée dans un domaine de température allant de 650°C à 300°C . La structure de la phase β est de type tétragonal, les paramètres de la maille primitive sont : $a = 10,93 \text{ \AA}$ et $c = 5,62 \text{ \AA}$ (switzer et shumsky et al ,1999). Le schéma de la maille est représenté sur la **Figure 08**.

Cette phase est métastable, elle se transforme en phase α à une température d'environ 300°C . La structure tétragonale de cette phase peut être assimilée à la structure de la phase δ (cfc) déformée.

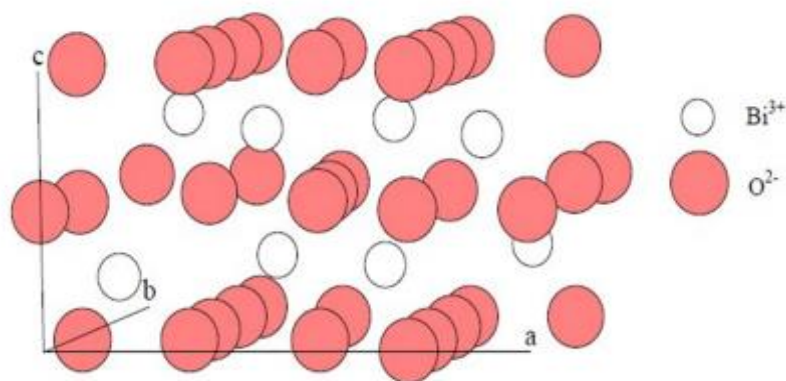


Figure 08 : Structure cristallographique de la phase β -Bi₂O₃(switzer et shumsky et al ,1999).

II. 2.3. La phase γ -Bi₂O₃ :

La phase γ -Bi₂O₃ est également obtenue lors du refroidissement de la phase δ , elle est stable dans un domaine de température allant de 640°C à 500°C. Cette phase peut également être observée à température ambiante mélangée avec la phase α . La structure de cette phase est de type cubique centré avec un paramètre de maille $a = 10,08 \text{ \AA}$ (switzer et shumsky et al ,1999). .

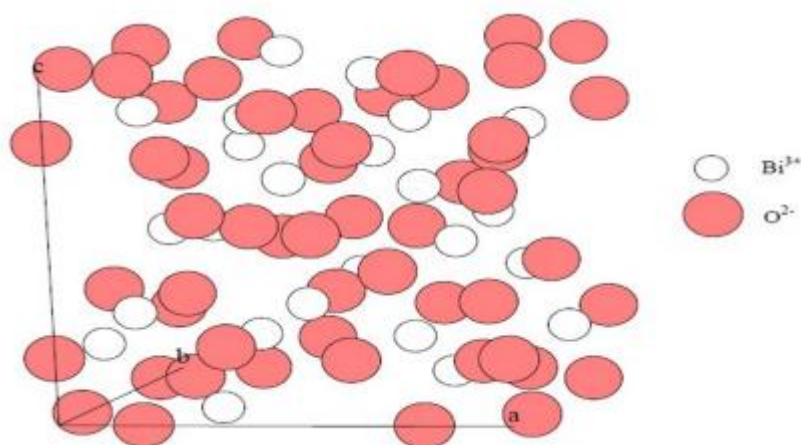


Figure 09: Description de la structure cristallographique de la phase γ Bi₂O₃(switzer et shumsky et al ,1999)..

II. 2.4. La phase δ -Bi₂O₃ :

La phase δ -Bi₂O₃ est la phase stable à haute température de l'oxyde de Bismuth, entre 729°C et 825°C (température de fusion de Bi₂O₃). La structure cristallographique de cette phase est cubique à faces centrées (cfc), avec le paramètre de maille $a = 5,53 \text{ \AA}$ (switzer et shumsky et al ,1999). Cette structure peut être comparée à une structure de type fluorine (CaF₂) déficiente. Les atomes de Bi³⁺ forment un réseau (cfc) et les atomes d'oxygène occupent les trois-quarts des sites tétraédriques de la maille.

Plusieurs structures cristallographiques ont été proposées pour décrire la phase δ de l'oxyde Bi₂O₃ stable à haute température et cela est dû à la répartition des d'oxygènes.

a-Le premier modèle :

En 1937 Sillen (Sillen et al,1937) a proposé un modèle pour décrire la structure cristallographique de l'oxyde de bismuth (δ -Bi₂O₃), ce modèle dont la maille est présentée sur la **Figure 10** montre un empilement de type (cfc) des atomes de Bi³⁺ et une occupation aux trois-quarts des sites tétraédriques du réseau cationique. Le sous-réseau anionique est organisé, les lacunes sont orientées selon l'axe [111] de l'empilement cfc cationique.

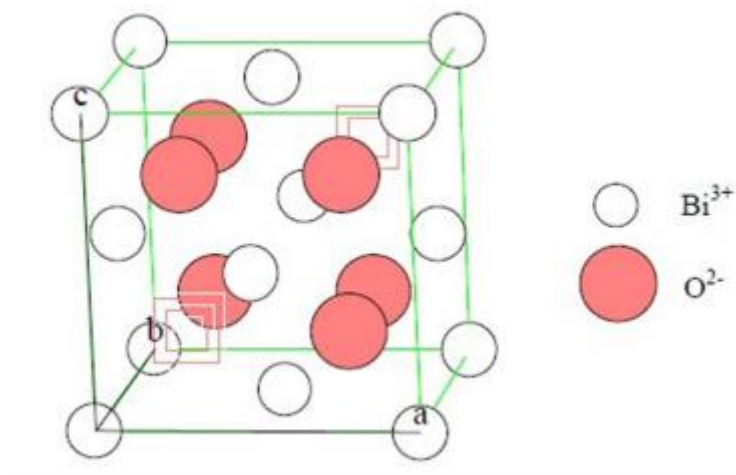


Figure 10: Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi₂O₃ selon Sillen (Sillen et al,1999).

b-Le second modèle :

Un autre modèle a été proposé en 1962 par Gattow et Schroeder (**Gattow et Schroeder et al ,1962**), il décrit la structure de δ -Bi₂O₃ de la même manière que Sillen[3], mais l'occupation du sous-réseau anionique est aléatoire.

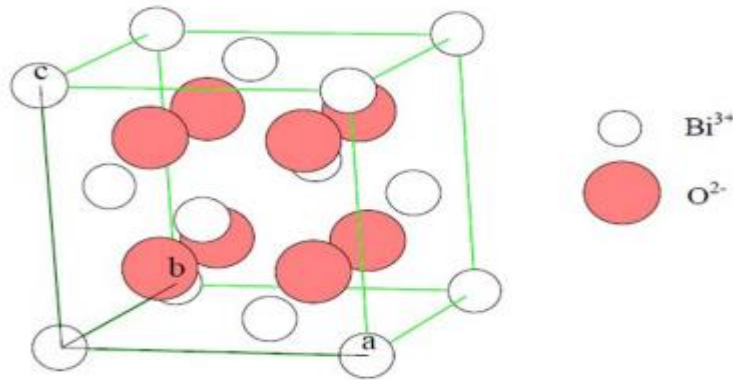


Figure 11 : Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi₂O₃ proposé par Gattow et Schroeder (**Gattow et Schroeder et al ,1962**).

c-Le troisième modèle :

Ce modèle a été proposé par Willis (**Dos Santos et Lina Et al ,2008**) en 1964, il décrit une structure dans laquelle les sites tétraédriques occupés par les atomes d'oxygène ne sont pas fixes mais décalés dans la direction [111] de la maille, ce qui conduit à la présence de 4 sites décalés vers les faces du tétraèdre de bismuth. Il en résulte une occupation statistique de 6 des 32 sites disponibles dans la maille.

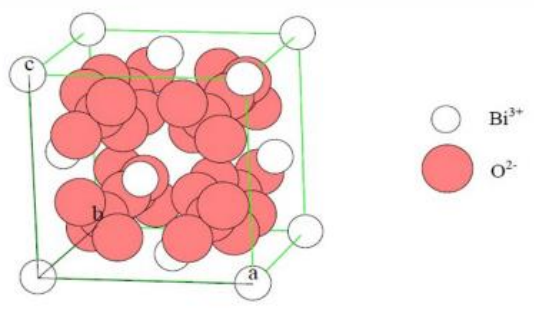


Figure 12: Structure cristalline de l'oxyde δ -Bi₂O₃ décrit par Willis (**Dos Santos et Lina Et al ,2008**).

II. 2.5. La phase w-Bi₂O₃ :

En 1997, une nouvelle phase métastable appelée w-Bi₂O₃ a été observée par la transformation de la phase α -Bi₂O₃ à 800°C sur un substrat d'oxyde de béryllium BeO. La phase w-Bi₂O₃ se cristallise dans un système triclinique, dont les paramètres de maille sont : $a = 7,268 \text{ \AA}$, $b = 8,639 \text{ \AA}$, $c = 11,969 \text{ \AA}$ et $\alpha = 87,71^\circ$, $\beta = 93,22^\circ$ et $\gamma = 86,65^\circ$ (Gualtieri et Morten et al ,1997).

II. 2. 6. La phase ε -Bi₂O₃ :

En 2006, un nouveau polymorphe ε -Bi₂O₃ a été préparé par traitement hydrothermal. La phase ε -Bi₂O₃ est stabilisée par des traces de manganèse ou d'autres dopants. Elle se transforme à 400°C en phase α -Bi₂O₃. La phase ε -Bi₂O₃ cristallise selon un système orthorhombique de paramètres de maille : $a = 4,955 \text{ \AA}$; $b = 5,585 \text{ \AA}$; $c = 12,729 \text{ \AA}$ (Cornei et Tancret et al ,2006). Les différentes phases cristallines de l'oxyde de bismuth ont été présentées. La structure de la phase stable à basse température (α -Bi₂O₃) est une structure ordonnée et de faible symétrie, alors qu'à l'inverse la structure stable à haute température (δ -Bi₂O₃) est une structure à haute symétrie et fortement désordonnée. Ces différences importantes entre les deux phases stables de Bi₂O₃ prédisent des propriétés physiques très différentes.

Les différentes phases de Bi₂O₃ et leur domaine de stabilité sont représentées sur la Figure 18

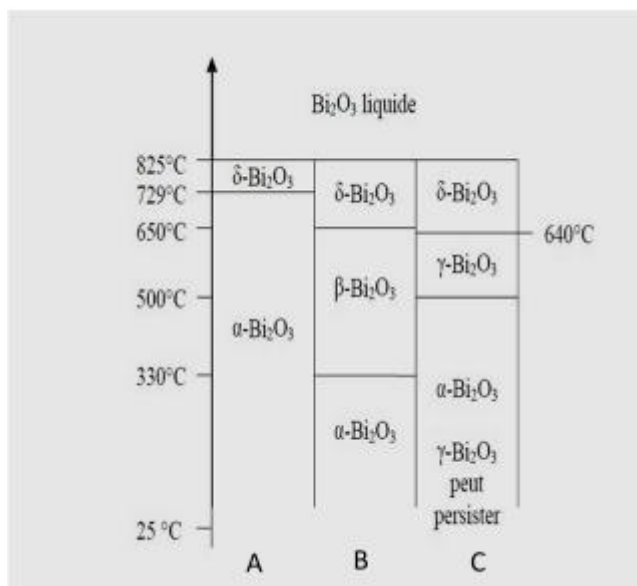


Figure 13 : Différentes phases de l'oxyde Bi_2O_3 et leur domaine de stabilité (Harwig, 1978).

À très hautes températures ($>825^\circ\text{C}$) l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3) se présente sous forme d'un liquide. Au dessous de 825°C on note l'existence de trois domaines différents A, B, C, chaque domaine correspond à la température d'obtention de chaque phase à partir du refroidissement de la phase à haute température ($\delta\text{-Bi}_2\text{O}_3$). Le diagramme de phases (Figure 1.13), montre que la phase $\delta\text{-Bi}_2\text{O}_3$ n'existe qu'à partir de 640°C , ce qui correspond à un domaine étroit d'existence en température de cette phase. En dessous de 729°C , la phase δ se transforme en phase α à basse température. Selon le mode de refroidissement employé, la phase δ se transforme en phase β à 650°C ou bien en phase γ à 640°C . Ensuite, en refroidissant davantage, ces deux phases se transforment en phase α vers 500°C pour la transition de γ à α .

II. 3. Diagramme E-pH du bismuth :

Le bismuth apparaît comme un élément stable dans le diagramme d'équilibre E-pH en milieu aqueux acide avec la formation d'ions Bi^{3+} , BiOH_2^+ et BiO^+ en fonction du pH, en milieu très basique le bismuth se présente sous forme d'espèce dissoute de degré +V (BiO_3^-).

Les espèces Bi (III) sont oxydées vers l'état Bi (V) en milieu basique, ce qui conduit à la

formation d'un film instable d'oxyde de bismuth (V) : Bi_2O_5 . Le caractère oxydant de Bi_2O_5 est très prononcé, en effet son domaine de stabilité se situe nettement au-dessus de celui de l'eau (**Figure 14**). Le film de Bi_2O_5 ainsi formé est instable et se réduit spontanément en

Bi_2O_3 . La réaction de réduction de Bi(V) en Bi(III) s'accompagne d'un dégagement d'oxygène que nous pouvons observer durant la synthèse.

On peut remarquer que lorsque l'on désire oxyder le Bi (III) vers le degré (V) on doit franchir la courbe correspondant à l'oxydation de l'eau.

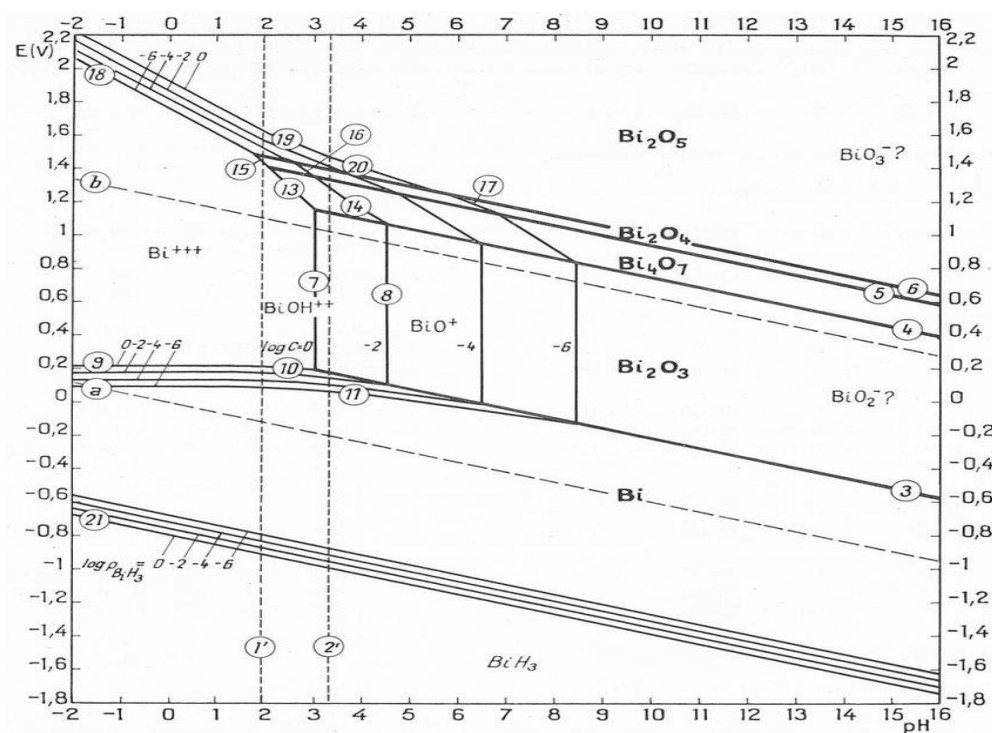


Figure 14: Diagramme d'équilibre E-pH du bismuth à 25°C (Sammes et Hafe et al,1999).

II. 4. Propriétés et applications d'oxyde de bismuth :

II. 4.1. Propriétés électriques :

En 1970 Takahashi et al (Takahashi et Wahara et al ,1972) ont été les premiers à étudier les propriétés électriques des différentes phases de l'oxyde de bismuth pur. Ces

auteurs ont observé une conductivité électronique pour la phase α - Bi_2O_3 à basse température et une conductivité principalement ionique pour la phase δ - Bi_2O_3 à

haute température. Ils ont aussi constaté une augmentation de la conductivité de trois ordres de grandeur lors de la transition à basse température entre la phase α et la phase δ . En 1978, la conductivité des polymorphismes de Bi_2O_3 a été étudiée en détail par Harwig et Gerards (Harwig et Gerards et al ,1978) et leurs travaux servent, encore aujourd'hui de référence. Les résultats obtenus sont résumés dans la **Figure 15** qui représente la variation de la conductivité des différentes phases de Bi_2O_3 en fonction de la température.

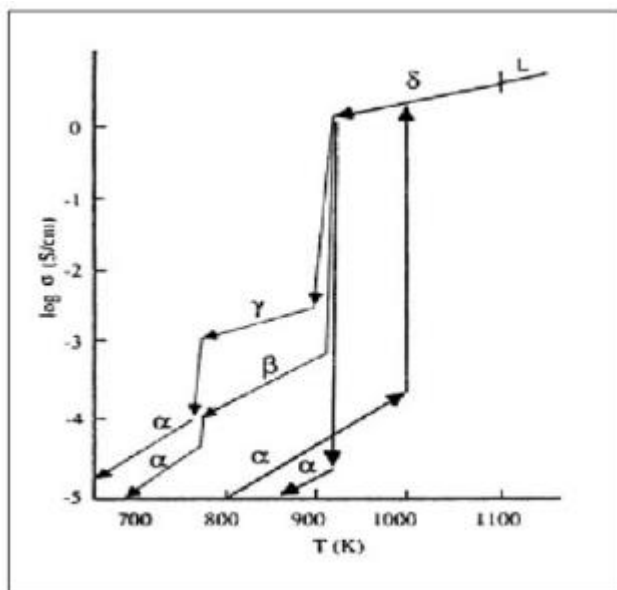


Figure 15 : Variation de la conductivité électrique des différentes phases de Bi_2O_3 en fonction de la température (Cao et Li et al ,2012).

II. 4.2. Propriétés catalytiques :

Les oxydes de bismuth ont des propriétés catalytiques importantes dans les réactions d'oxydation telles que l'ammoxydation pour la synthèse d'acrylonitrile provenant du propylène, de l'oxygène et de l'ammoniac. Une telle activité catalytique puissante semble être corrélée avec l'existence de plusieurs états d'oxydation du bismuth et avec la mobilité élevée en oxygène à la surface (Bandoli et Barecca et al ,1996). La réduction catalytique sélective est l'une des voies les plus couramment utilisées et parmi

les plus efficaces pour traiter les fumées industrielles. C'est une technique de dépollution qui s'applique surtout aux gaz d'échappement des moteurs diesel pour

traiter les émissions d'oxydes d'azote (NO_x). Elle consiste à décomposer les NO_x, à basse température, en azote et en eau en présence d'un agent réducteur, le plus souvent l'ammoniac, et un catalyseur à base d'oxydes purs ou mixtes. L'oxyde de bismuth supporté sur l'alumine Bi₂O₃/Al₂O₃ est souvent utilisé pour activer la réduction catalytique sélective (RCS). Il permet la réduction des oxydes d'azote en utilisant les propènes comme réducteurs (**Sparks et Patterson et al , 2006**).

On peut noter aussi que les semi-conducteurs à base de bismuth reçoivent une attention particulière en tant que photocatalyseur qui dégrade les polluants organiques sous UV-vis (**Cao et Li et al ,2012 ; Sparks et Patterson et al , 2006**).

II. 4.3. Propriétés optiques :

L'oxyde de bismuth possède des valeurs significatives de l'écart de bande d'énergie ($E_g=2.68-2.73$ eV), indice de réfraction et permittivité diélectrique. En outre, des propriétés photosensibilités et photoluminescences importantes (**Lachheb et Puzenat et al , 2002 ; Leontie et Caraman et al , 2000**), une forte photoconductivité et en revêtement optique (**Schuisky et al , 1996**).

Actuellement plusieurs applications s'imposent à titre d'exemple on peut citer les plus étudiées:

II. 4.4. Piles à combustible :

Comme nous l'avons vu précédemment, l'oxyde de bismuth, en particulier en phase δ , présente la meilleure conductivité ionique. Or, l'une des applications majeures de ce type de matériau concerne le domaine des piles à combustible (**Halfen,2004 ; Yaremchenko et Kharton et al , 2000 ; et Azad et Larose et al ,1994**) . Le principe de fonctionnement de ce type de piles est comme suit: le cœur du système est constitué de deux électrodes séparées par un électrolyte solide. Lorsqu'une charge est appliquée à la pile, le comburant (oxygène) est réduit au niveau de la cathode, puis transporté à travers l'électrolyte vers l'anode où s'effectue la réaction avec le combustible. Il apparaît clairement que le matériau composant l'électrolyte doit être un très bon

conducteur ionique, ce qui laisse envisager l'utilisation de la phase δ -Bi₂O₃ dans ce type de pile.

II. 4.5. Capteurs de gaz

Les capteurs de gaz sont des dispositifs composés d'un élément sensible, susceptible de pouvoir réagir avec certains gaz présents dans l'atmosphère environnante. Cette réaction peut s'accompagner d'une modification des propriétés physico-chimiques de la couche sensible, qui par un procédé de transduction, génère un signal qui peut être électrique, optique, mécanique ou thermique. Ces variations peuvent alors être directement liées à l'évolution de la composition de l'atmosphère gazeuse, donc il est possible de déterminer avec plus ou moins de précision la concentration de certains gaz en présence (**Armelaio et Colombo et al ,1998**) .

L'oxyde de bismuth trouve aussi une application dans les cellules solaires (**Gobrecht et Seeck et al , 1969**) , dans le domaine du verre céramique (les verres à base d'oxyde Bi₂O₃), couches pour appareils optiques et électroniques, capteurs thermiques et mécaniques, réfléchissant, fenêtres, etc(**Hall et Newhouse et al , 1989 ; Stehle et Vira et al , 1988**) .

II. 5. La toxicité de bismuth :

La toxicité de bismuth existe et affecte principalement les reins, le foie et la vessie, bien que le degré de ces dommages soit généralement léger. Une irritation cutanée et respiratoire peut également suivre l'exposition aux organes respectifs. L'injection de fortes doses dans des cavités fermées et l'application extensive sur des brûlures peuvent provoquer des intoxications graves et parfois mortelles. On considère que l'administration de bismuth doit être arrêtée lorsqu'une gingivite apparaît, faute de quoi une stomatite ulcéreuse grave est susceptible d'en résulter. D'autres effets toxiques tels qu'une vague sensation d'inconfort corporel, la présence d'albumine ou d'autres substances protéiques dans les urines, des diarrhées, des réactions cutanées et parfois une exo dermatite grave peuvent se développer.

La toxicité de bismuth industriel n'a pas été signalé, mais une grande partie de ce

que l'on sait sur la toxicité du bismuth provient de ses utilisations thérapeutiques. La solubilité de la plupart des sels de bismuth est très faible et ils sont mal absorbés par inhalation/ingestion. Les principaux organes impliqués dans l'empoisonnement au bismuth sont les reins, le foie et la vessie. Une irritation cutanée et respiratoire peut également suivre l'exposition aux organes respectifs. Les principales voies d'exposition sont l'inhalation/l'ingestion de poussières et de fumées. Des changements mentaux, de la nervosité, des changements sanguins, une lymphocytose et une dépression de la moelle osseuse sont observés après une inhalation prolongée de bismuth .

❖ **Aigue :**

- **Contact avec la peau/les yeux :** La peau/les yeux peuvent causer une irritation locale mais ne causeraient pas de dommages aux tissus. Il n'est pas absorbé par la peau.
- **inhalation:** L'inhalation peut irriter les voies respiratoires supérieures. Ses symptômes comprennent les éternuements, la toux et l'essoufflement. Une exposition intense provoque des spasmes abdominaux, des troubles du sommeil, des nausées, de la fatigue, des maux de tête, des vomissements, une perte de poids, de l'anémie, des douleurs dans les jambes, les bras et les articulations.
- **Ingestion :** Les symptômes sont similaires à ceux qui se produisent lors de l'inhalation, tels que nausées, diarrhée, faiblesse, pyorrhée, gonflement des membranes buccales, stomatite ulcéreuse, vomissements et augmentation de la salivation. D'autres effets sur la santé peuvent également se produire, comme un goût métallique dans la bouche et la constipation ou une diarrhée sanglante .

❖ **Chronique :**

Une surexposition prolongée au bismuth peut avoir des effets chroniques sur la santé. Les signes de toxicité peuvent inclure des réactions cutanées, une perte d'appétit et de poids, de la fatigue, des troubles du sommeil et de la dépression. Une décoloration bleuâtre ou brunâtre des gencives peut également survenir dans les cas graves en raison du dépôt de bismuth dans les gencives. Elle peut également causer des dommages au système nerveux central, des troubles gastro-intestinaux et une anémie.

CHAPITRE
II
MATERIEL
ET
METHODE

Chapitre 02 : Partie expérimentale

Matériels et Méthodes :

I. Matériel :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de biodiversité et pollution des écosystèmes dirigé par Pr **Nasri Hichem**, professeur en biologie, université Chadli Ben Djedid El-Taref. Cette étude a été menée sur l'escargot terrestre *Helix aspersa* à l'âge adulte de la province de ALGER . Ce type a été choisi pour les raisons suivantes:

- Grande répartition géographique en Algérie.
- Comme indicateur de pollution écologique.
- Sa faciliter d'élevage .

I.1. Matériel Biologique :

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est un gastéropode pulmoné terrestre : l'escargot ***Helix aspersa*** connu sous le nom de petit gris.

Selon Bonnet et Vrillo (1990), sa position systématique est la suivante :

- ✓ **Règne :** Animal.
- ✓ **Embranchement :** Mollusques.
- ✓ **Classe :** Gastéropodes.
- ✓ **Sous-classe :** Euthyneurs.
- ✓ **Super ordre :** Pulmonés.
- ✓ **Ordre :** Stylommatophores.
- ✓ **Famille :** Helicidae.



Figure 16 : L'escargot *Helix aspersa* (Matéo et Simoncelli, 2008).

I. 1.1. Description morphologique

L'escargot Petit-Gris *Helix aspersa* est un mollusque sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux épithéliums olfactifs très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qui l'entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres. 99% de l'activité de l'escargot, y compris ses "repas", a lieu de nuit avec un pic de 2 à 3 heures après la tombée de la nuit. La fraîcheur nocturne et la rosée facilitent ses déplacements.

Cet auteur indique que le Petit-Gris mesure entre 2,8 et 3,5 cm pour un poids adulte compris entre 7 et 15 g. Il porte une coquille calcaire à motifs variables mais le plus souvent brune rayée de noir. Sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre. La coquille d'*Helix aspersa* est gris jaunâtre souvent ornée de 1 à 5 bandes interrompues, brun violacé. Deux grandes parties sont distinguées : le pied et les viscères (Figure 17). Les viscères correspondent aux organes situés à l'intérieur de la coquille et comprennent le rein, l'hépatopancréas, le cœur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge également dans le pied. Le pied comporte essentiellement la sole pédieuse, musculeuse, la partie antérieure du tube digestif et le système nerveux.(Kerneyet al., 2006).



Figure 17: *Helix aspersa*



Figure 18 : Jeune de l'escargot *Helix aspersa*

I.2. Matériel chimique :

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est une préparation commerciale de nanoparticules à base d'oxyde de Bismuth (Bi_2O_3).



Figure 19 : L'oxyde de bismuth (Bi_2O_3)

I. Méthodes :

II.1. Conditions d'élevage:

Les escargots utilisés dans ce travail sont des gastéropodes terrestres *Helix aspersa* à l'âge adulte, ont été collectés dans la région de Alger. Les conditions d'élevage des escargots sont les suivantes:

- ✚ Photopériode de 18h de lumière/24 avec une température de 20°C.
- ✚ Les escargots sont répartis dans des boîtes en plastique transparentes avec un couvercle perforé et chaque boîte contient une éponge mouillée pour maintenir de l'humidité.
- ✚ Une boîte de pétrie contenant de la nourriture (farine de blé) est placée au fond de la boîte.
- ✚ Les boîtes sont nettoyées régulièrement chaque trois jours (**Gomot, 1997**).



Figure 20: L'élevage des escargots *Helix aspersa* dans le laboratoire.

II.2 mode de traitement :

Après 15 jours d'adaptation aux conditions de laboratoire, Les animaux sont traités par addition des concentrations croissantes de NPs d'oxyde bismuth par le gavage . Nous avons retenu 4 doses de concentrations croissantes , et un lot témoin comme suite :

Lot 01 : 10 individus gavé par 35 μL d'eau physiologique contenant 0,5 mg de Bi_2O_3 .

Lot 02 : 10 individus gavé par 35 μL d'eau physiologique contenant 1 mg de Bi_2O_3 .

Lot 03 : 10 individus gavé par 35 μL d'eau physiologique contenant 1,5 mg de Bi_2O_3 .

Lot 04 : 10 individus gavé par 35 μL d'eau physiologique contenant 5 mg de Bi_2O_3 .

Lot 05 : 10 individus témoin.



Figure 21: préparation des concentrations de Bi_2O_3 .



Figure 22 : le gavage

Pendant la période de traitement, le nettoyage et le changement de nourriture est effectué chaque trois jour.

Dans tous les cas, la nourriture apportée est renouvelée, qu'elle soit contaminée ou non, tous les trois jours au moment du nettoyage des boîtes d'élevage. Ce nettoyage est fait, autant que possible, à heure fixe. Il comprend un lavage des parois des boîtes à l'eau distillée, un changement de l'éponge absorbante au fond des boîtes ou un ramassage des fèces des escargots déposés sur le substrat. Ensuite, l'ensemble des récipients d'essai est humidifié à l'eau distillée.

II.3 . Sacrifice et dissection des escargots :

A la fin de la période de traitement, les escargots mis à jeun pendant 48 h pour vider leur tube digestif, ceci évite d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants accumulées dans les tissus avec un lavage des boîtes pour éviter la ré-ingestion des fèces. Après la congélation des escargots à -20°C, ils sont pesés puis disséqués.

Les escargots sont décoquillés. Après la dissection l'hépatopancréas . l'intestin et les reins sont retirés, lavés avec de l'eau physiologique. (coeuradassier.M.,2001). est prélevé, pesé et conservé pour l'analyse biochimique et histologique.

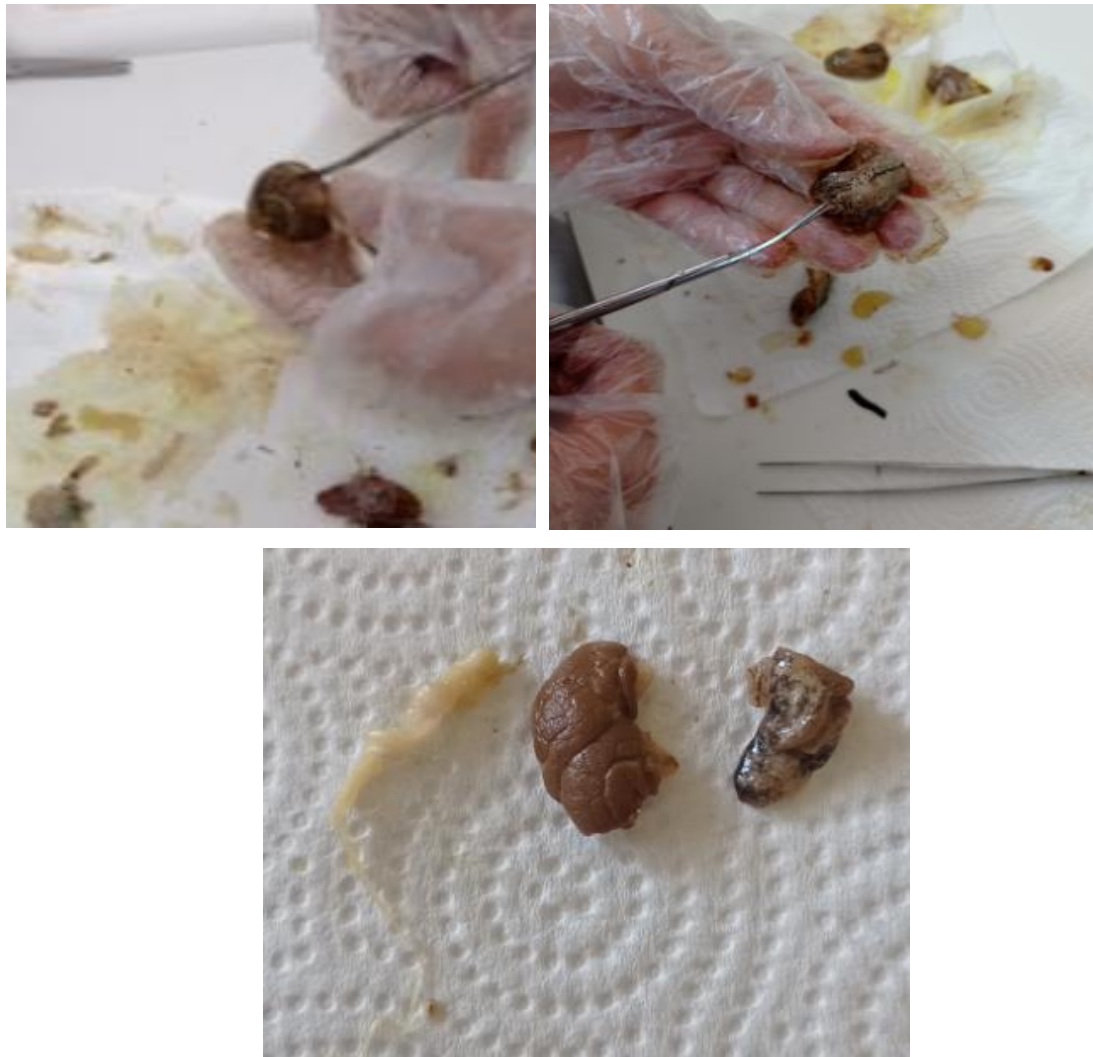


Figure 23 : Dissection et prélèvement des organes (l'hépatopancréas , les reins et l'intestins) .

III. Dosages des biomarqueurs du stress oxydant

III.1 . Dosage du glutathion GSH

❖ **Principe** : le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage du glutathion a été fait au niveau du foie, des reins, des poumons, des branchies et des intestins des 04 groupes d'animaux exposés aux différentes doses de microcystine. 100 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 1 ml d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid en utilisant un broyeur ultra son (4 °C) pour obtenir un homogénat.

❖ **Mode opératoire** :

1. Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
2. Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
3. Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
4. Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
5. Prélever 0,5 ml du surnagent.
6. Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
7. Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
8. Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
9. Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

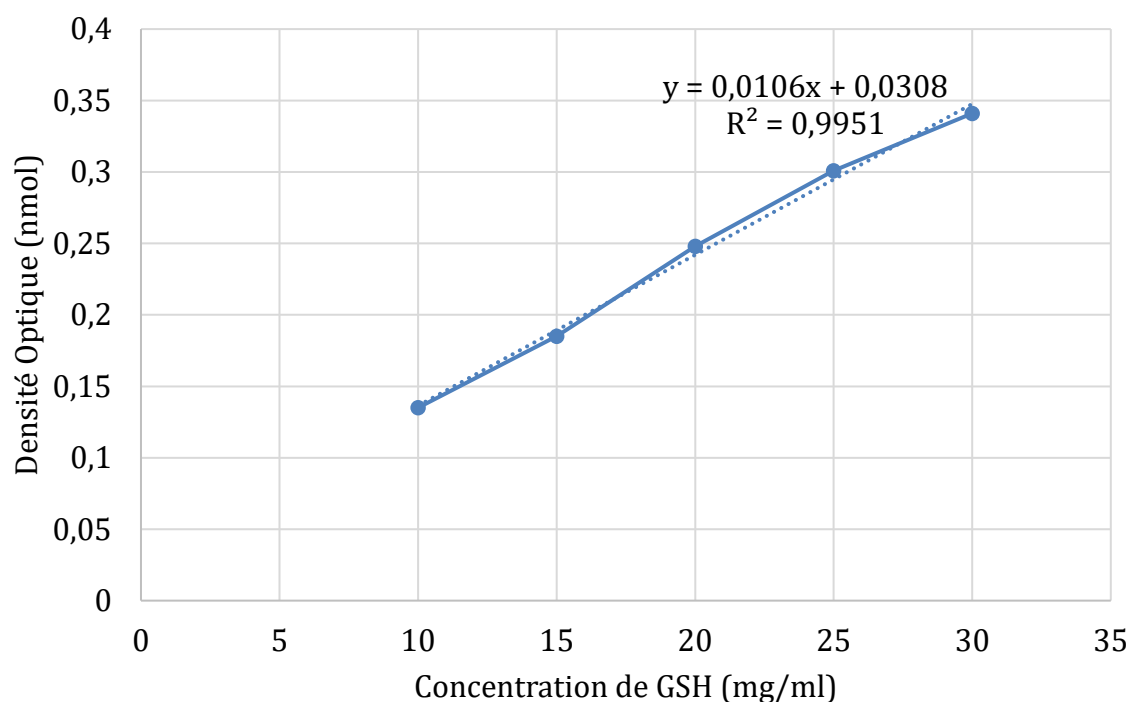


Figure 24 : Courbe D'étalonnage Du Glutathion

III. 2. Dosage du la peroxydation lipidique (TBARS)

La méthode de l'acide thiobarbaturique (TBA) décrite par **Fatima et al., (2000)** a été utilisée pour évaluer la peroxydation des lipides (LPO) dans le foie, les reins, l'intestin et le poumons (branchies chez la carpe) des spécimens exposés aux toxines et témoins. On a incubé 1,0 ml d'homogénat pendant 1 h à 37 ° C avec un tremblement continu. Ensuite, 1,0 ml d'acide trichloroacétique à 5% et 1,0 ml d'acide thiobarbiturique à 0,67% ont été ajoutés à chaque échantillon et mélangés. Ensuite, chaque flacon a été centrifugé à 3000 tr / min pendant 10 min. Le surnageant a été séparé et placé dans un bain d'eau bouillante pendant 40 minutes, refroidi à température ambiante et mesuré à 532 nm. Le taux de peroxydation lipidique a été

exprimé en nanomoles de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA) formé par heure, par milligramme de protéines (nmol TBA / (mg prot))

III. 3. Dosage des protéines

❖ **Principe:** la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amine ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

❖ **Mode opératoire :**

1. Prélever 0.1 ml de l'homogénat
2. Ajouter 5 ml du réactif de Bradford
3. Agiter et laisser reposer 5 min
4. Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc

❖ **Calcul de la concentration des protéines :** la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.



Figure 25 : Dosage des protéines

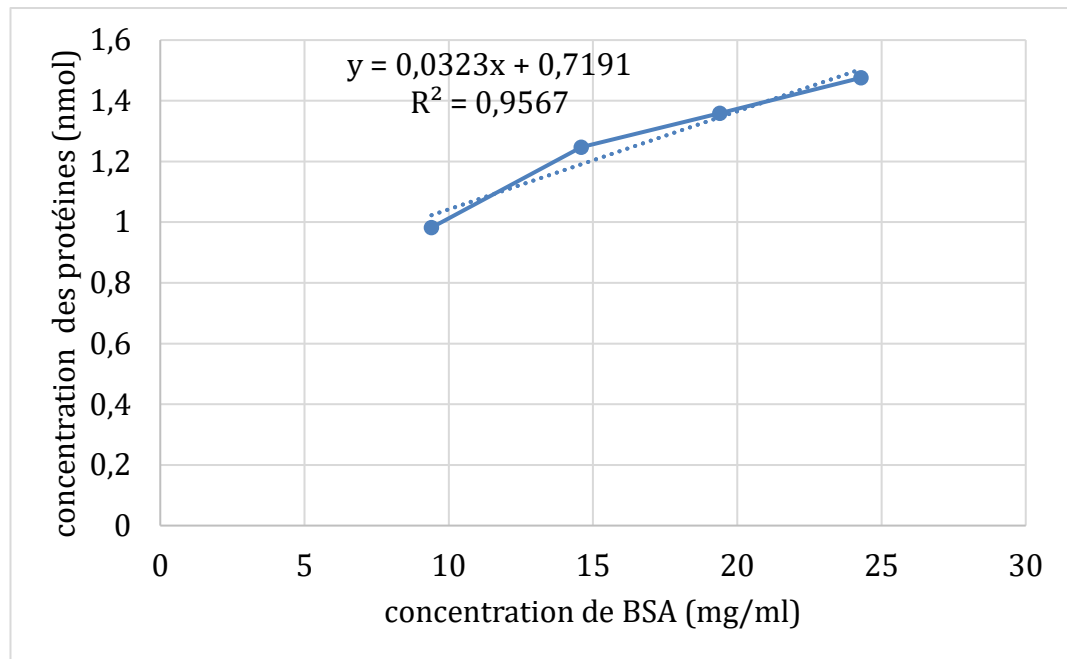


Figure 26 : Courbe D'étalonnage Des Protéines

Résultats et Interprétation

I. 1. Impact de l'oxyde de bismuth(III) sur le taux de mortalité

L'exposition unique par gavage de *Helix aspersa*(N=10) à 04 doses de l'oxyde de bismuth(III) (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) a provoqué une seule mortalité au sein de la forte dose (5 mg/ind) après 24h de gavage. Aucune mortalité a été signalée dans les autres groupes.

I. 2. Evaluation de l'effet de l'oxyde de bismuth (III) sur le taux de glutathion (GSH)

I. 2.1. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

La figure N°27 montre les concentrations du glutathion détectées dans l'hépatopancréas de *Helix aspersa*(N=10), suite au gavage par quatre doses sublétales du Bi₂O₃.

Les résultats obtenus montrent un gradient de GSH avec une relation dose-effet ($p \leq 0.01$). La faible dose 0.5 mg/individus de l'oxyde de bismuth (III) a induit une réduction significative ($p \leq 0.05$) de 35.88% de GSH avec 1.091 ± 0.4135 nmol/mg de protéine. La plus forte concentration détectée était 3.98 ± 1.6178 nmol/mg de protéine au niveau des hépatopancréas de *H. aspersa* traités par la forte dose 5 mg/ind de Bi₂O₃.

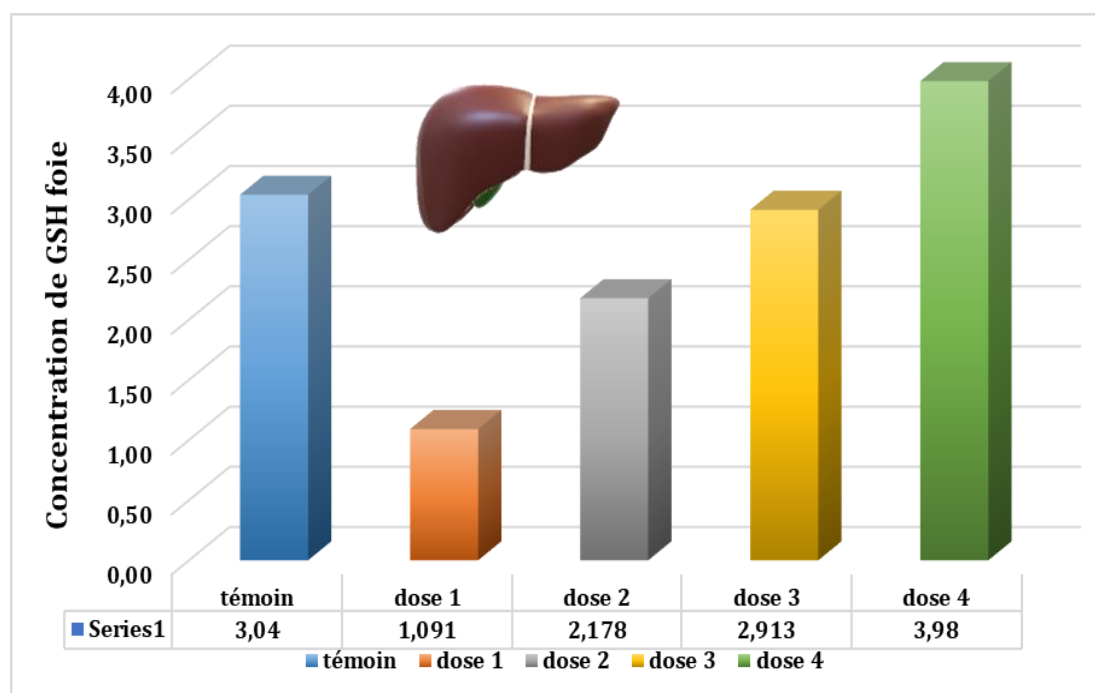


Figure N°27: Variations du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10).

I. 2.2 Evaluation de taux de glutathion au niveau du rein de *H. aspersa*

La **figure 28** illustre les variations du taux de GSH au niveau des reins de *H. aspersa* gavés par 04 doses de Bi_2O_3 .

Des résultats similaires à l'hépatopancréas sont trouvés dans les reins, une induction de GSH ($p \leq 0.01$) est notée entre les quatre doses (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) ; 0.33 ± 0.1 , 0.592 ± 0.185 , 0.623 ± 0.161 et 1.04 ± 0.330 nmol/mg de protéine, respectivement, par rapport, au témoin 0.27 ± 0.168 nmol/mg de protéine.

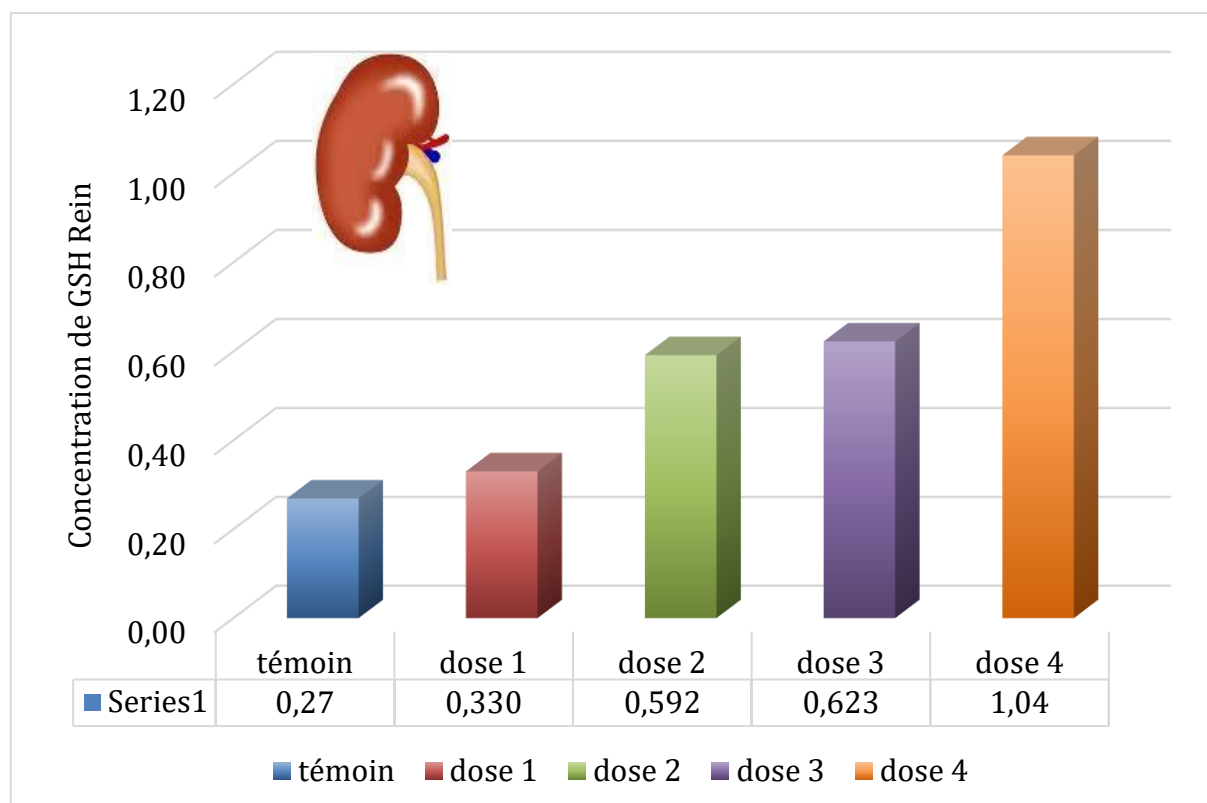


Figure N°28 : Variations du taux de GSH au niveau des reins de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .

I. 2.3 Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'intestin de *H. aspersa*

La **Figure 29** montre l'effet de l'oxyde de Bismuth III sur l'intestins de *H. aspersa* après 48h de gavage. Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative de glutathion (GSH) au sein des 04 organes en question ($p = 0.000$).

La plus forte valeur est signalée au niveau des reins des individus exposés à la forte dose (5 mg/ind), avec 1.40 ± 0.3 nmol/mg de prot., par rapport à leur témoin qui a montré 0.2 ± 0.12 nmol/mg de prot. Alors que les plus faibles variations sont notées chez les escargots traités par 0.5 mg/ind avec 0.306 ± 0.116 nmol/mg de prot..

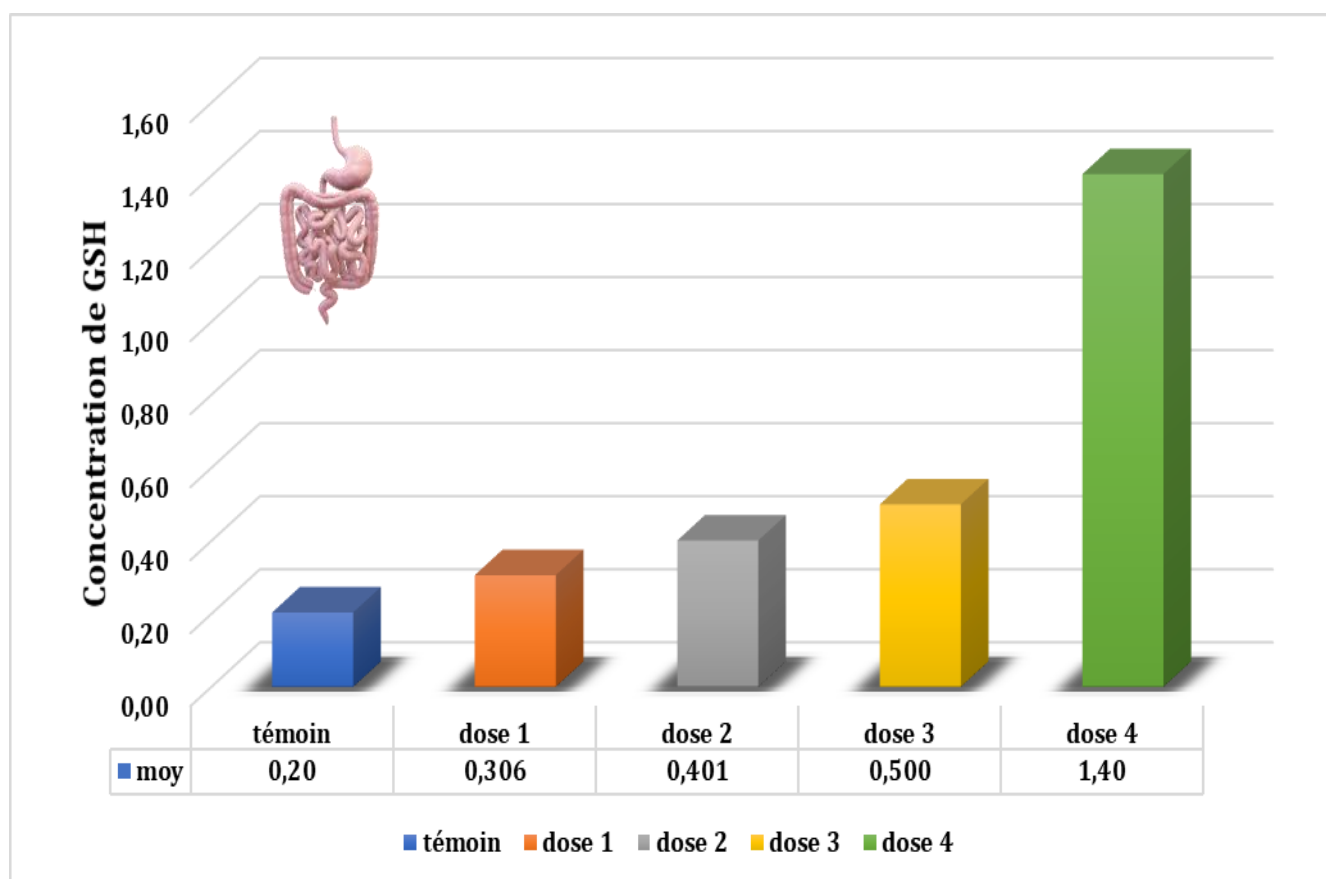


Figure N°30 : Variations du taux de GSH au niveau des reins de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10).

II. Evaluation de l'effet de l'oxyde de bismuth (III) sur le taux de la peroxydation lipidique (LPO)

II. 1.1 Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

Une différence très hautement significative de taux de la peroxydation lipidique (LPO) au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* ($p=0.000$; Figure 30).

Le taux des LPO dans l'hépatopancréas témoin équivaut à 0.097 ± 0.05 nmol/mg de prot., cette concentration a été variée d'un groupe à un autre, le pic a été signalé au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* de la dose N°2 : 0.344 ± 0.15 nmol/mg de prot.

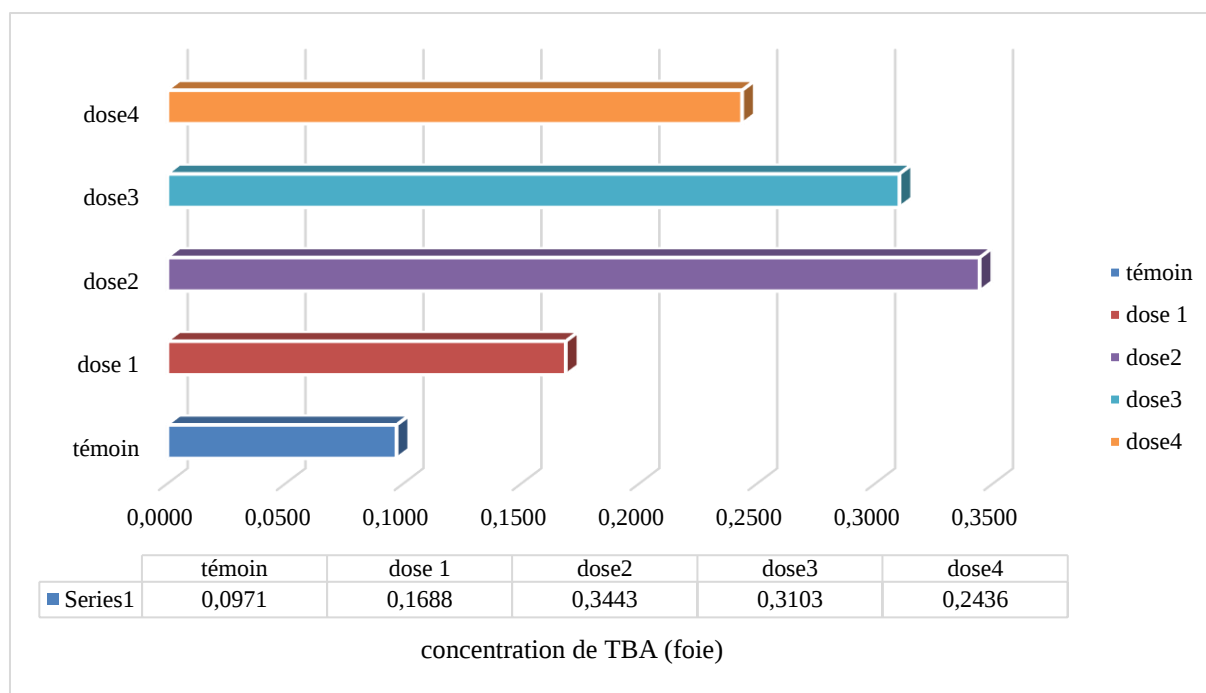


Figure N°31 : Variations du taux des LPO au niveau de l'hépatopancréas de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .

II. 2.2. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des reins de *H. aspersa*

La figure 30, illustre les variations des LPO au niveau des reins de *H. aspersa*, gavé par 04 doses de l'oxyde de Bismuth.

48h de gavage a induit une induction significative de la peroxydation lipidique ($p \leq 0.001$). la plus forte concentration était 0.382 ± 0.12 nmol/mg de prot. chez la deuxième dose (1 mg/ind), alors que la faible concentration était 0.161 ± 0.10 nmol/mg de prot. chez la quatrième dose (5 mg/ind) par rapport à leur témoin ; 0.092 ± 0.05 nmol/mg de prot.

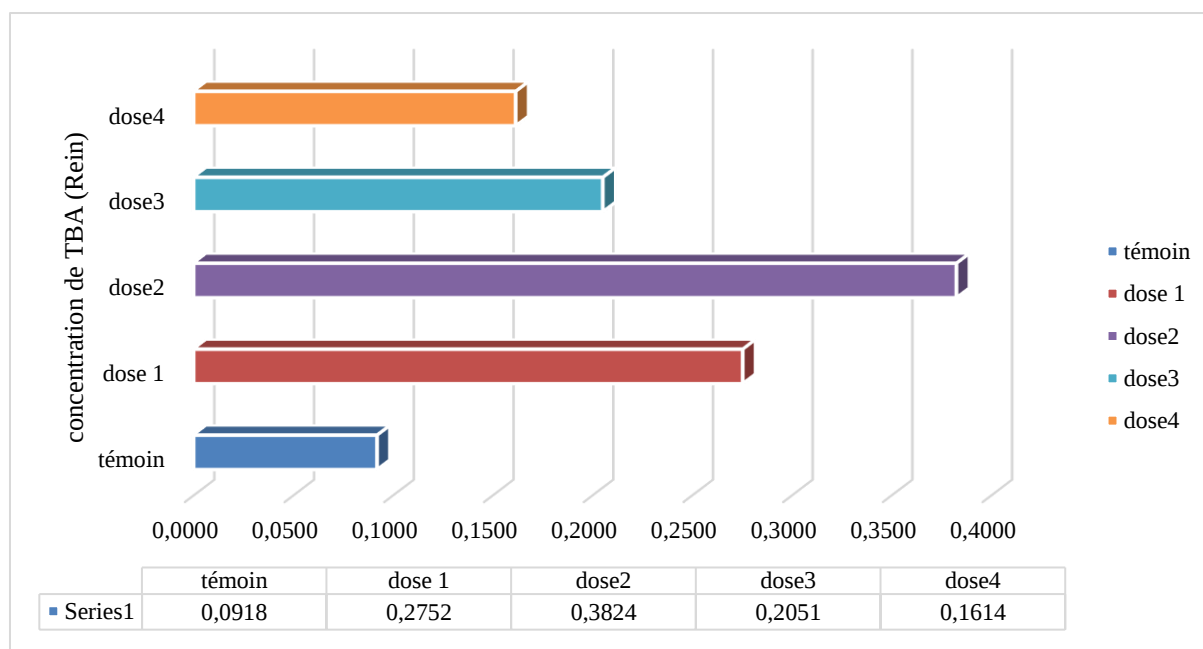


Figure N°32 : Variations du taux des LPO au niveau des reins de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .

II. 2.3 .Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des intestins de *H. aspersa*

Les résultats de l'exposition des *Helix aspersa* à la trioxyde de Bismuth, sont similaire à ceux des autres organes (figure 32).

Le taux des LPO sont variés de manière significative d'un groupe à l'autre ($p \leq 0.05$). La concentration chez les témoins gavés par de l'eau physiologique était équivalente à $0.189 \pm 0.076 \text{ nmol/mg de prot.}$, le pic des concentrations était $0.265 \pm 0.078 \text{ nmol/mg de prot.}$ chez le groupe gavé par 1 mg/ind de Bi_2O_3 , et la plus faible concentration était $0.116 \pm 0.066 \text{ nmol/mg de prot.}$ chez le groupe gavé par 5 mg/ind de Bi_2O_3 .

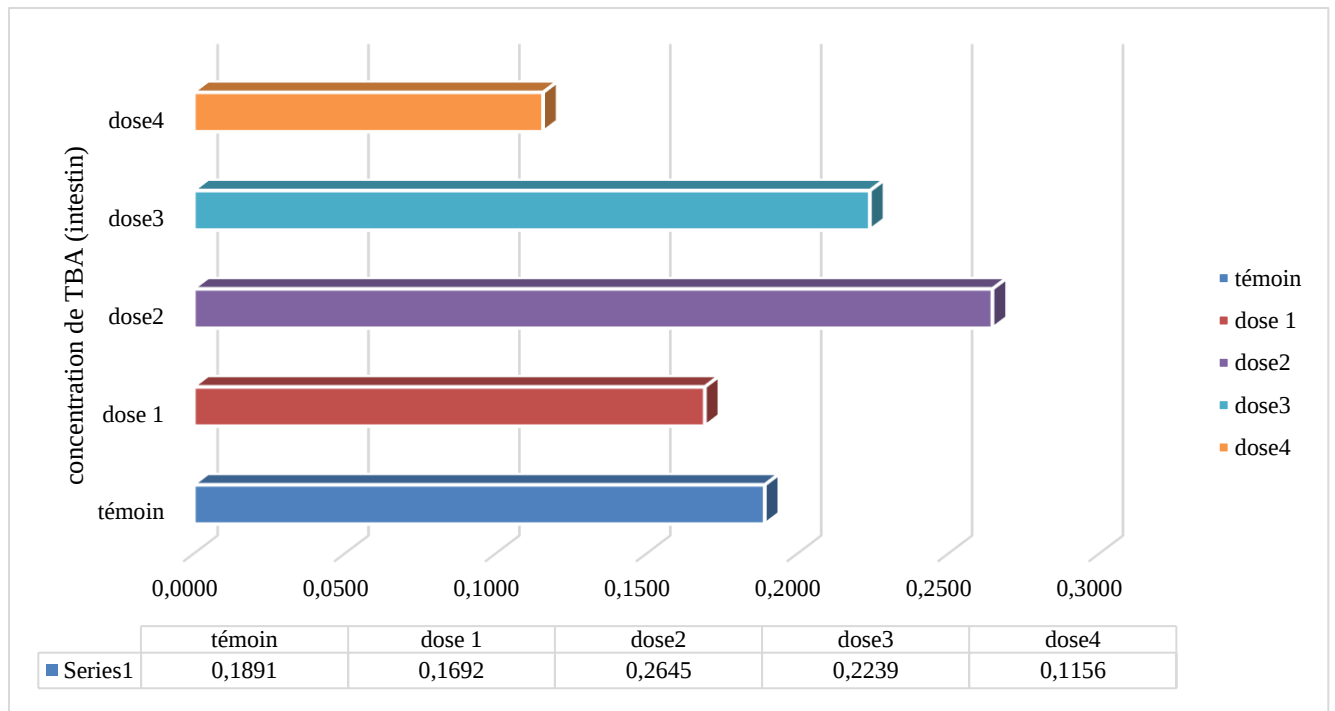


Figure N°33 : Variations du taux des LPO au niveau des intestins de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par l'oxyde de bismuth (Bi_2O_3 ; N=10) .

DISCUSSION

Discussion

Les nanoparticules ont attiré l'attention dans divers domaines allant de la médecine à l'industrie en raison de leurs propriétés et fonctions physicochimiques, qui conduisent à une exposition humaine importante aux nanoparticules. Les composés à base de bismuth (Bi) sont couramment utilisés dans les applications industrielles, cosmétiques et médicales. Bien que la toxicité des composés à base de Bi ait été étudiée pendant des années, il existe un sérieux manque d'informations concernant leur toxicité et leurs effets à l'échelle nanométrique sur la santé humaine et l'environnement.

Le stress oxydatif est considéré comme le mécanisme de toxicité le plus courant lié à l'exposition aux nanoparticules (Yang et al., 2009). Le stress oxydatif induit par les nanoparticules entraînant la production des radicaux libres et entraînant une altération des antioxydants. Différentes nanoparticules sont impliquées dans la perturbation de la fonction mitochondriale par la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) dans un certain nombre de lignées cellulaires (Long et al., 2007; Kang et al., 2008; Park et al., 2008). Les ROS provoquent un certain nombre de lésions, notamment l'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN (Shigenaga et Ames, 1991 ; Srikanth et al., 2014).

Notre objectif c'est d'évaluer l'impact oxydative du trioxyde de Bismuth sur un bioindicateur environnemental l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Les spécimens ont été gavés par quatre doses de Bi₂O₃. Cette toxicité est détectée par deux biomarqueurs de stress oxydants ; le glutathion réduit et la peroxydation lipidique, et cela au niveau de l'hépatopancréas, les reins et les intestins.

Une diminution puis une augmentation significative de GSH suite à l'exposition à une dose unique de Sb₂O₃, indique une condition de stress oxydatif dans les organes en question, et cela est due à la production des ROS et au système de défense antioxydant (Alshatwi et al., 2013).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide de cystéine, de glycine et d'acide glutamique, possède une puissante capacité antioxydante. Il joue un rôle important non

seulement dans la protection des tissus contre les effets dégénératifs des dommages oxydatifs en éliminant les radicaux libres des composés endogènes ou exogènes (**Reed, 1986**), mais aussi en détoxifiant directement de nombreux composés exogènes (**Lee et al., 1996 ; Mizutani et al., 1999**).

Les concentrations de GSH dans les reins sont les plus élevées que celles dans les autres organes étudiés, ce qui indique que les reins ont le pouvoir à surmonter la toxicité des Sb_2O_3 . Cela peut être la raison pour laquelle la peroxydation lipidique s'est produite dans l'hépatopancréas et non dans le rein.

Le stress oxydant peut endommager les tissus ou les cellules par l'augmentation des LPO. Plusieurs études ont rapporté l'effet de la microcystine sur les LPO chez les rats et les souris (**Ding et al., 1998; Weng et al., 2007**).

La peroxydation lipidique a été largement étudiée dans le cadre des programmes de surveillance environnementale. Des niveaux accrus de dommages oxydatifs en termes de peroxydation lipidique ont été signalés chez diverses espèces d'escargots exposées à des contaminants de laboratoire ou environnementaux (**Al-Daihan et al., 2010 ; Barky et al., 2012; El-Shenawy et al., 2012 ; Ma et al., 2014 a ; b ; Ali et al., 2015**).

Dans notre étude une augmentation significative du taux de LPO est notée dans les hépatopancréas des escargots traités. Les résultats de Boucenna (2016) de l'évaluation toxicologique des NPs de Fe_2O_3 sur *Helix aspersa* soutient nos résultats. L'étude d'Utkarsh et al. [2015] montre que le taux de LPO a été augmenté dans les tissus d'une manière dépendante de la dose des IONPs des rats traités, ils ont expliqués ces niveaux élevés de LPO par la formation des radicaux hydroxyle qui à son tour associé aux lipides peroxydés des tissus. Dans les hépatocytes des rats traités avec le Fe_2O_3 nanométrique, un taux élevé des LPO a été enregistré (**Sarkar et al., 2014**).

Plusieurs études montrent que les nanoparticules (NPs) peuvent pénétrer dans l'organisme par plusieurs voies et avoir des effets toxiques systémiques sur la santé humaine. **Besnaci et al. (2019)** ont étudié l'effet de Fe_2O_3 sur une espèce bioaccumulatrice et bioindicatrice, l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Leurs résultats révèlent un stress oxydatif déclenché et une induction du système de détoxification, avec une augmentation des taux de GSH, GST, GPx et MDA (LPO) avec une diminution de l'activité de la catalase. Des lésions tissulaires rénales très nettes confirment les résultats obtenus aux premières doses.

L'étude de **Besnaci et al., 2022** est intéressée à l'évaluation de l'impact des nanoparticules de silice fumée (SiO_2) sur un organisme bioaccumulateur, bioindicateur de pollution de l'environnement et un indicateur d'état sanitaire des sols, le gastéropode *Helix aspersa* suite à une exposition via la nourriture. Les résultats obtenus montrent que la présence des nanoparticules de silice dans la nourriture de *H. aspersa* provoque des modifications des paramètres testés dont une augmentation du taux des protéines totales. Ces données révèlent une diminution du taux du GSH ainsi que de l'activité de la CAT et de la GPx, parallèlement à l'observation d'une augmentation de l'activité de la GST au niveau de l'hépatopancréas et du rein. Les perturbations notées sont relativement plus significatives au niveau de l'hépatopancréas qu'au niveau du rein, ce qui montrent un état de stress oxydatif chez *H. aspersa* exprimé par le déclenchement du système de lutte contre le stress oxydatif à travers les biomarqueurs de cette réaction métabolique.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les nanoparticules d'oxyde du bismuth ont suscité ces dernières années un intérêt énorme au près des scientifiques, du fait de leurs caractéristiques uniques très favorables sont en interaction continue avec l'environnement du fait de leurs utilisations massive et souvent non contrôlé, ces nanoparticules sont utilisées dans différents domaines : dans l'industrie, en pharmacie et en cosmétique.

Notre étude avait l'objectif primordial de déterminer la toxicité présumée de ces nanoparticules, après une exposition sub-chronique par voie de l'eau de boisson chez un modèle biologique l'escargot *Helix aspersa*, en utilisant les biomarqueurs de détoxification GSH, TBA et dosage de protéines, les effets dans les trois organes ont été évalués ; le foie, les reins et l'intestin.

En s'appuyant sur nos résultats on a conclu que les nanoparticules d'oxyde de bismuth pouvaient causer les effets suivants :

- Une augmentation significative de taux de GSH au niveau des 3 organes suite au traitement par forte dose de bismuth.
- Une augmentation de taux de TBA et une diminution à partir de la dose 3 au niveau des 3 organes.

En conclusion, il est évident que les nanoparticules d'oxyde de bismuth exercent un effet toxique à certaines concentrations chez l'escargot *Helix aspersa*.

Perspective :

- Conduire cette recherche sur d'autres modèles biologiques.
- Faire le même type d'étude sur un autre type de NP métalliques.
- Appliquer d'autres tests biochimiques (dosage du SOD, GST, GPX, CAT, LDH,ex)
- La réalisation d'autres approches toxicologiques sur ce type de nanoparticules afin d'élargir les connaissances sur leurs mécanismes de toxicité.
- Une législation nationale sur les nanoparticules en général et spécifique sur le dioxyde de bismuth, avec des lignes directrices, limitation d'usage et restriction.

- Un control sévère et efficace des utilisations industrielles et médicales de Bi_2O_3 , avec limitation d'usage massive .

Référence bibliographique

Références bibliographiques

A

- **Amudha Murugan, Krishna Kumara, Shanmugasundaram, 2014.** Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using the aqueous extract of vitex negundo. linn. World J. Pharm. pharm. Sci., 3(8): 1385 1393.
- **Avasare, V., Zhang, Z., Avasare, D., Khan, I., Qurashi, A., 2015.** Room-temperature synthesis of TiO₂ nanospheres and their solar driven photoelectrochemical hydrogen production. Int. J. Energy Res. 39, 1714–1719 .
- **AFSSET. 2006.** Les nanomatériaux : effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. Juillet 2006.Paris. 248p.
- **Ali, A., Zafar, H., Zia, M., Ul Haq, I., Phull, A.R., Ali, J.S., Hussain, A., 2016.** Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. Nanotechnol. Sci. Appl. 9, 49–67 .
- **Astrid, 2011.** OEufs d'escargot. Dans Escargots.
<http://leblogdastrid.canalblog.com/archives/2011/10/27/22492885.html>. Consulté le 15 juin 2019.
- **Atkin MA, Gasper A, Ullegaddi R, et al.—** Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : res- ponse to antioxidants in vitro and to antioxidants supplementation. Clin Chem, 2005, 51, 2138-2144.
- **. Azad, S. Larose, and S.A. Akbar,** Journal of Materials sciences, 29 4135 - 4151(1994) .
- **Armelaio, P. Colombo, M. Fabrizio, J. Sol-Gel Sci. Techn , 3, 213, (1998).**

B

- **Bahadar, H., Maqbool, F., Niaz, K., Abdollahi, M., 2016.** Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. Iran. Biomed. J. 20, 1–11.

- **Bandoli.G , D.Barecca, E.Brescacin, G.A. Rizzi, E.Tondello, Chem, Vapor depos, 2, 238, (1996).**
- **Belhaouchet, N. 2014.**Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Mémoire de doctorat, Université Bdji Mokhtar. Annaba. P 13-14.

C

- **CHAMARD, Valentine.2013.** Les nanomédicaments, alliés de la médecine de demain .
- **Chuto, G. Chaumet-Riffaud, P.** le groupe Oncologie de la société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire (SFMN). 2010.Les nanoparticules. Médecine nucléaire 34: p 370-376.
- **Canivet. L, P. Dubot, G. Garçon, F.-O. Denayer.2015.**
- **Cornei, N. Tancret, F. Araham, O. Mentré, Journal of inorganiquechimie, 45, 4886 4888, (2006).**
- **Cao, X. Li, H. Lin, S Chen, J. Hazard. Mater.239-240, 316(2012).**
- **Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot- de Vaufléury A., Ribera D. & Badot P.M 2001.** The garden snail (*Helix aspersa*) as bioindicator of organophosphorus exposure : effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity *Enviromental Toxicology and Chemistry*, 20 :1951-1957

D

- **Dos Santos, R. C. Lima, C. S. Riccardi, R. L. Tranquilin, P. R. Bueno, J. A. Varela,E.Longo, Journal of Materials Letters, 62, 4509-4511, (2008).**

G

- **Gojova et al (2007)** *Environ Health Perspect* 115 :403 – 409 .

- **Gattow, H.** Schröder, Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie, 318, 176-189, (1962).
- **Gualtieri, S. Immovilli, B. Morten, and M. Prudenziati,** Journal of Powder Diffraction, 12, 90-92, (1997).
- **Gobrecht, S. Seeck, H-E. Bergt, A. Märten, K. Kossmann,** Phys. Stat. Sol. 33, 599, 34, 569, (1969 [20] D. W. Hall, M. A. Newhouse, N. F. Borelli, W. H. Dumbaugh and D. L. Weidman Appl. Phys. Lett. 54, 1293, (1989).
- **Gomot A., et Pihan F., 1997.** Comparison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc in two snail subspecies (Helix). Ecotoxicology and Environmental Safety. 38. 85-94

H

- **Haleng .J , Pincemail.J , Defraigne .J.O, Charlier .C , Chapelle .J.P.** Revue Médicale Liège **2007**. 62 ; 10 ; 628-638.
- **Harwig,** Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie, 444, 151-166, (1978)
- **Harwig, A. G. Gerards,** Journal of Solid State Chemistry, 26, 265-274, (1978).
- **Helten,** thèse de l'Université de Marne la Vallée, (2004).
- Hall, M. A. Newhouse, N. F. Borelli, W. H. Dumbaugh and D. L. Weidman Appl. Phys. Lett. 54, 1293, (1989).

J

- **Ju-Nam Y. et Lead J.R. (2008).** Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. Science of The Total Environment 400: 396-414.

K

- **Kavitha, K.S., Syed Baker, Rakshith, D., Kavitha, H.U., Yashwantha Rao, H.C., Harini B., Pand Satish, S. 2013.** Plants as green source towards synthesis of nanoparticles. *Int. Res. J. Biol. Sci.*,2(6) : 66 76
- **Kelly, F. J. (2003).** "Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects." *Occup Environ Med* 60(8): 612-616.
- **Kerney M., Cameron R. et Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe. Delachaux et Niestlé SA, Paris, 2006, 288 p.

L

- **Lanone, S., & Boczkowski, J. (2010).** Les sources de nanoparticules. *Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 211-213.
<https://doi.org/10.1016/j.reval.2010.01.039>
- **Lowry G.V. and Johnson K.M. 2004.** Congener-Specific Dechlorination of Dissolved PCBs by Microscale and Nanoscale Zerovalent Iron in à Water/Methanol Solution. *Environmental Science & Technologie*. 38(19) : 5208-5216.
- **Lachheb, E. Puzenat, A. Houas, M. Ksibi, E. Elaloui, C. Guil-lard, J.-M.** Herrmann, UV Irradiated Titania. *Applied Catalysis B: Environmental*, 39, 75-90, (2002).
- **Leontie, M. Caraman, G. I. Rusu, J.** Optoelectron. *Adv. Mater.* 2(4), 385, (2000).

M

- **Ma X., Geisler-Lee J., Deng Y., et Kolmakov A. (2010).** Interactions entre les nanoparticules fabriquées (ENP) et les plantes: phytotoxicité, absorption et accumulation. *Sci. Total Environ.* 408,3053-3061.

- **Mirzadeh, E., Akhbari, K., 2016.** Synthesis of nanomaterials with desirable morphologies from metal–organic frameworks for various applications. *Cryst Eng Comm* 18, 7410–7424
- **AFSSET.,2006.** Les nanomatériaux : effets sur la santé de l’homme et sur l’environnement, Agence française de sécurité sanitaire de l’environnement et du travail, Juillet 2006, Paris, 248 .
- **M. Pourbaix, J. Van Muydler,** Rapport technique R.T. 48 du CEBELCOR (mai 1957).
- **Mebirouk, R. 2017.** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d’*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti inflammatoire, anti tumorale et anti-antigénique. Mémoire de doctorat, Université des Frères Mentouri. Constantine. P 5-7.

N

- **Nakajima K, Nakano T, Tanaka A.—** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 2006, 367, 36-47.

O

- **Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al.** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2005;2:8.

P

- **Pirame Sandrine, 2003.** Contribution à l’étude de la pathologie estivale de l’escargot petit gris (*Helix aspersa*) reproduction expérimentale, « thèse de doctorat, université Paul Sabatier de Toulouse .

S

- **Simonin, M. 2015.** Dynamique, réactivité et écotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques dans les sols : impact sur les fonctions et la diversité des communautés microbiennes. Ecotoxicologie. Université Claude Bernard -Lyon I. Français. P 16-31.
- **Switzer J.A., M.G. Shumsky, E.W. Bohanam,** Science, 284, 293, (1999).
- **Sillen.L.G,** ArkivförKemi, MineralogiochGeologi, 12A,1-15, (1937).
- **. Sammes, G. A.Tompsett, H.Nafe, F. Aldinger, J. Eur. Ceram. Soc.**19, 1801, (1999).
- **Sparks, P. M. Patterson, G. Jacobs, M. Crocker, J. A. Chaney** , “Journal of Catalysis Communications, 7 ,122-126(2006).
- **Schuisky, A. Harsta, Chem. VaporDepos.,** 2, 235, (1996).
- **Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al.**— OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. J Lipid Res, 2006, 47, 1975-1983.
- **Stehle ,C. Vira ,D.Vira, D.Hogan, S.Feller and M.Affatigato**Phys. Chem. Glasses39(2) 83, (1988).
- **Sandrine., Sylvie., Louisette P. 2003.** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de • L'escargot petit-gris (Hélix aspersa) : reproduction expérimentale.

T

- **Takahashi, H I.wahara, Y. Nagai,** Journal of Applied Electrochemistry, 2,97-104, (1972).

V

- **Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., et al. (2007)** Radicaux libres et antioxydants dans les fonctions physiologiques normales et les maladies humaines. Journal international de biochimie et de biologie cellulaire, 39(1), 44-84.

W

- **Wu, S., Huang, J., Dong, J., Pan, D. (2003).** hippo code pour une protéine kinase de la famille Ste-20 qui limite la prolifération cellulaire et favorise l'apoptose en conjonction avec le salvador et les verrues. Cellule 114(4) : 445--456.

Y

- **Yaremchenko, V.V. Kharton, E.N. Naumovich, A.A. Tonoyan,**
Journal of Materials Research Bulletin, 35,515-520(2000).