



ISSN (online) : 3006-2306 ; ISSN (print) : 3006-3760

CARACTÉRISATION ET ÉVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DE NANOPARTICULES D'OXYDE DE ZINC PRÉPARÉES À BASE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES DE *CHROMOLAENA ODORATA* (L.) R. M. KING & H. ROBINSON (ASTERACEAE)

^{1,2}Trésor Ndonganzadi, ¹Jérémie Lunguya Muswema, ¹Joseph K'Ekuboni Malongwe, Pierre Osomba Lohohola, ¹Omer Muamba Mvele, ^{1,2}Denis Bilasi Musengele, ³Perbon Mukiatom, ⁴Angélique Osobo Yakolime, ⁵Giresse Kasikia, ¹Odon Nkole Mukonkole, ¹Pascal Mayinza Disa-Disa, ¹Gracien Bakambo Ekoko

¹Département de chimie, Université de Kinshasa, République Démocratique du Congo

²Département de chimie-physique, Institut Supérieur Pédagogique de Kikwit, République Démocratique du Congo

³Département de pédiatrie, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kikwit, République Démocratique du Congo

⁴Département de Biologie-chimie, Institut Supérieur Pédagogique de Kikwit, République Démocratique du Congo

⁵Département de Biologie-chimie, Institut Supérieur Pédagogique de Kilom, République Démocratique du Congo

Résumé

Dans la présente étude, les nanoparticules d'oxyde de zinc ont été préparées en utilisant l'extrait aqueux des feuilles de *Chromolaena odorata*. Ces nanocristaux biosynthétisés ont été caractérisés par diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie à dispersion d'énergie de rayons-X (EDS), la microscopie électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET). Les résultats de la DRX sur la poudre préparée ont confirmé la présence de ZnO, avec une taille moyenne estimée de 24 nm. Les images MEB et MET ont indiqué que les nanoparticules synthétisées étaient de forme sphérique avec une bonne dispersion des particules. La spectroscopie FTIR a également confirmé la présence de ZnO dans la poudre synthétisée grâce à la présence de la bande localisée entre 800-500 cm⁻¹, qui est caractéristique des liaisons (Zn-O) dans l'oxyde de zinc. L'activité antimicrobienne de nanopoudres préparées vis-à-vis des souches bactériennes *E. coli* et *S. aureus*, ont démontré des effets inhibiteurs significatifs. Ces effets inhibiteurs étaient plus prononcés sur *E. coli* que sur *S. aureus* avec des zones d'inhibition maximales de 16 et 14 mm, respectivement. Il se dégage que, cette méthode peut être utilisée pour la biosynthèse écologique de nanoparticules d'oxyde de zinc stables ayant des propriétés antimicrobiennes.

Mots clés: Nanoparticules, oxyde de zinc, *Chromolaena odorata*, antibactérien.

Abstract

In the present study, zinc oxide nanoparticles were prepared using the aqueous extract of the leaves of *Chromolaena odorata*. These biosynthesized nanocrystals were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS), scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). XRD results on the prepared powder confirmed the presence of ZnO, with an estimated mean size of 24 nm. The SEM and TEM images indicated that the synthesized nanoparticles were spherical in shape with good particle dispersion. FTIR spectroscopy also confirmed the presence of ZnO in the synthesized powder through to the presence of the band localized between 800-500 cm⁻¹, which is characteristic of the (Zn-O) bonds in zinc oxide. The antimicrobial activity of the prepared nanopowders against the bacterial strains *E. coli* and *S. aureus* demonstrated significant inhibitory effects. These inhibitory effects were more pronounced on *E. coli* than on *S. aureus* with maximum inhibition zones of 16 and 14 mm, respectively. It appears that this method can be used for the rapid and environmentally-friendly biosynthesis of stable zinc oxide nanoparticles having antimicrobial properties.

KeyWords: Nanoparticle, zinc oxide, *Chromolaena odorata*, antibacterial.

1. Introduction

L'oxyde de zinc dans sa phase de wurtzite est le plus recherché parmi les autres oxydes à cause de sa stabilité thermodynamique [1,2]. Il est très attractif dans les domaines des cosmétiques, pharmaceutiques et de médecine où il a été démontré que les nano cristaux de ZnO (selon leur taille) exhibaient des propriétés antimicrobiennes [3].

Il est connu que, la résistance aux antibiotiques constitue un défi majeur à résoudre dans le domaine médical pour le traitement des maladies infectieuses [4]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la résistance microbienne est une pandémie silencieuse, responsable de la mort de 700 000 personnes par an, avec la possibilité d'atteindre 10 million de morts d'ici 2050 [5]. Plusieurs auteurs lient cette résistance à l'utilisation inappropriée et parfois croissante des antibiotiques conduisant ainsi à la sélection de nombreuses souches bactériennes résistantes et multi-résistantes [6]. La lutte contre cette résistance bactérienne nécessite la découverte de nouveaux antibiotiques mais aussi d'autres molécules permettant d'inhiber les effets néfastes des bactéries. Les nanoparticules (Nps) constituent l'une des alternatives aux antibiotiques. Parmi les nanoparticules, les ZnO-Nps sont les plus prometteuses vis-à-vis des germes bactériennes résistantes et multi-résistantes [1].

L'oxyde de zinc, un semi-conducteur à large bande interdite (3,37 eV) [7,8] est utilisé comme antibactérien [9,11] à cause de sa stabilité chimique, son faible coût, sa non toxicité et de sa courte durée de vie dans l'organisme (quelques heures seulement) [12].

Il existe plusieurs méthodes pour synthétiser les nanoparticules [13-17]. Cependant, ces méthodes physiques et chimiques sont consommatrices d'énergie, laborieuses, chronophages, toxiques, nocives pour l'environnement et ont un coût élevé de production. C'est ce qui a conduit à limiter strictement leur utilisation [17, 18].

La méthode de synthèse verte ou biosynthèse, utilisant les parties des plantes, des micro-organismes et des champignons à laquelle nous nous sommes intéressés au cours de cette investigation, est une alternative rentable et respectueuse de l'environnement. Elle présente les avantages d'une faible consommation d'énergie et de produits chimiques, d'un fonctionnement simple, d'une efficacité élevée, d'un faible coût de production et sont des procédures écologiques et biocompatibles [17].

La fabrication de nanoparticules par les plantes est privilégiée par rapport aux autres systèmes biologiques, car

les plantes sont omniprésentes et ont plusieurs parties dont les extraits correspondants peuvent agir différemment par rapport aux processus impliqués dans l'utilisation d'autres matériaux biologiques comme les champignons, les algues et les organismes biogènes, etc. [3,19].

Chromolaena odorata (Asteraceae) est une plante à grandes vertus, fertilisante et re-médiatrice de la pollution du sol par des métaux lourds. Il contient des polyphénols, des stéroïdes, des polyterpènes, des tanins catéchiques, des alcaloïdes et des saponosides [20-23]. Ces métabolites secondaires bioactifs à fort potentiel de réduction ont motivé le choix de cette plante comme source d'agents réducteurs et stabilisant dans la synthèse de nanoparticules [24, 25].

L'objectif de la présente étude est de synthétiser de nanopoudres d'oxyde de zinc pur en utilisant une voie de synthèse rapide, facile, non toxique et écologique à partir d'extrait aqueux de feuilles de *Chromolaena odorata* (Asteraceae) et d'évaluer *in vitro*, leur activité antibactérienne vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, deux bactéries responsables d'infections nosocomiales.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel végétal: Les feuilles fraîches de *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Robinson (Asteraceae) ont été récoltées au campus de l'Institut Supérieur Pédagogique de Kikwit en République Démocratique du Congo (05°02' 194" S et 018°49'376" E) et ont été identifiées par comparaison avec les spécimens disponibles à l'herbarium de l'Institut National d'Étude et de Recherche Agronomique (INERA) de Kiyaka. Afin d'éviter la dégradation photochimique de ces feuilles, elles ont été séchées à l'air libre, à l'abri du soleil et à la température ambiante pendant deux semaines. Après séchage, ces feuilles ont été broyées en utilisant un broyeur électrique de marque Electric Blender RAF, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui a été ensuite conservée dans un récipient en verre.

2.1.2. Souches bactériennes : Deux souches bactériennes standards : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213(Gram+) et *Escherichia coli* ATCC 8739(Gram-), ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Kinshasa.

2.1.3. Produits chimiques: Le sel précurseur inorganique $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (99,9%) et de l'eau bidistillée ont été fournis par Aldrich Chemicals. Ces produits étaient de haute pureté et ont été utilisés directement sans autre forme de purification.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation de l'extrait aqueux: L'extrait aqueux a été préparé en mélangeant sous agitation magnétique, 50 g de poudre de feuilles de *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Robinson (Asteraceae) avec 500 mL d'eau bidistillée et le mélange a été chauffé à 80 °C pendant une heure. Après filtration, l'extrait aqueux a été conservé à 4 °C au réfrigérateur.

2.2.2 Biosynthèse des nanoparticules: la procédure expérimentale suivie pour la synthèse de nanoparticules de ZnO est celle décrite dans la littérature [26] avec de légères modifications. Un volume de 184 mL d'extrait de feuilles de *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Robinson (Asteraceae) a été placé dans un bécher de 300 mL sous agitation vigoureuse et 5,9496 g de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ont été ajoutés à l'extrait de feuilles sous agitation. Après avoir laissé la réaction se poursuivre sous agitation constante à une température de 70 °C pendant 2 h, la solution a été recouverte d'une feuille d'aluminium et conservée dans l'obscurité pendant 18 heures pour éviter la réaction chimique photo induite. La solution obtenue a été centrifugée et la pâte a été purifiée en la lavant trois fois avec de l'eau bi distillée avant d'être séchée au four pendant 10 h à une température de 110 °C, puis calcinée à 500 °C pendant 2 h pour obtenir des ZnO-Nps. Les ZnO-Nps obtenus ont été stockés dans un récipient hermétique pour leur caractérisation et leur utilisation au test antimicrobien.

2.2.3 Caractérisation: La nature cristalline et l'identification de phases de nanoparticules synthétisées ont été réalisées à l'aide d'un diffractomètre des rayons X, D/MAX-2550 X-ray (rayonnement Cu-K α de $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) avec un filtre en nickel.

La spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (FT-IR) a permis d'obtenir des informations sur les groupements fonctionnels des nanopoudres préparées à partir des modes de vibration des liaisons dans l'oxyde de zinc. L'enregistrement des bandes a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (Bruker Optic GmbH 2011) dans la gamme spectrale de 4000 à 400 cm^{-1} .

La morphologie et la taille des nanopoudres ont été déterminées par microscopie électronique à balayage (MEB) et transmission (MET; Hitachi H-800).

2.2.4 Evaluation de l'activité antibactérienne: L'activité antibactérienne a été évaluée sur deux souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli*

ATCC 8739) par la méthode de diffusion en puits sur gélose [27].

Ainsi, des boîtes de Pétri contenant la gélose Muller-Hinton ont été ensemencées par écouvillonnage avec l'inoculum réalisé à partir d'une culture microbienne de souches de 24 h ajustée à 0,5 Mc Farland soit 10^6 bactéries/mL. Des trous circulaires de 6 mm de diamètre ont été creusés de manière aseptique dans la gélose ensemencée à l'aide du gros bout d'une pipette Pasteur stérile et remplis avec 50 μ L des différentes concentrations de nanoparticules. Un trou ayant reçu une solution de DMSO 10% a servi de témoin négatif et la ciprofloxacine était utilisée comme contrôle positif. Les cultures ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Après incubation, une zone autour du puits où il n'y a pas eu de croissance bactérienne (zone d'inhibition) a été observée. Comme dans la méthode de Kirby Bauer, la lecture de résultats a consisté à déterminer le diamètre de cette zone d'inhibition à l'aide d'une règle.

La gamme des concentrations des nanoparticules a été obtenue en dissolvant 40 mg de la poudre de ZnO-Nps dans 10 mL de DMSO- Bouillon Muller Hinton (BMH). Ensuite, des dilutions en série de base logarithmique 2 ont été réalisées de 4000 μ g/mL jusqu'à 15,625 μ g/mL. Le DMSO est inerte sur l'activité bactérienne [28].

L'appréciation de la sensibilité des souches bactériennes aux nanoparticules a été faite selon l'échelle utilisée par Moreira et Mouas [29, 30] regroupant les bactéries en souches moins sensibles (diamètre <8 mm), souches sensibles (diamètre $\leq 8 \leq 14$ mm), souches très sensibles (diamètre $\leq 15 \leq 19$ mm) et souches extrêmement sensibles (diamètre ≥ 20 mm).

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été déterminée par macro-dilution en milieu liquide selon la méthode décrite par Sanogo et al. [31]

Ainsi, dans 10 tubes à hémolyse, 1 mL d'inoculum bactérien a été mis en contact avec 1 mL de chaque concentration de nanoparticules. Le tube témoin de croissance a reçu 1 mL de DMSO 10% en plus de l'inoculum alors que le tube témoin de stérilité a reçu seulement 2 mL de Bouillon Muller Hinton (BMH). Ces tubes ont été incubés pendant 24 h à 37 °C. Après l'incubation, une observation à l'œil nu a été faite et la CMI qui est la plus petite concentration à laquelle les nanoparticules présentent une activité antibactérienne, a été déterminée à partir de la plus petite solution ne présentant aucun trouble.

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse par diffraction de rayons-X (DRX)

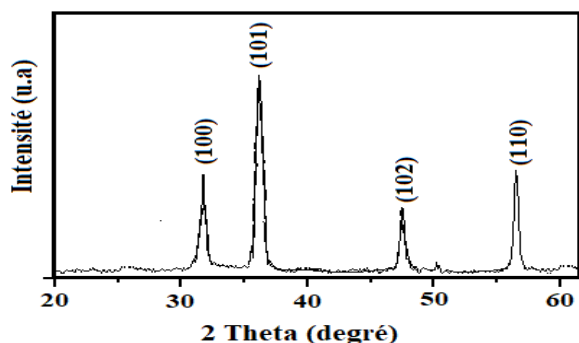


Figure 1. Diffractogramme de la poudre de ZnO préparée avec les feuilles de *Chromolaena odorata*

En observant le diffractogramme de la poudre biopréparée (Figure 1), les pics relatifs d'intensités différentes sont localisés respectivement à des positions angulaires 2 Thêta d'environ : 32° ; 36,5° ; 47,8° ; 56,79° ; correspondants respectivement aux plans de réflexion (100), (101), (102), (110), qui sont caractéristiques de la structure hexagonale wurtzite (JCDS N°89-0510) [25, 32]. Le diamètre moyen des particules présentes dans la poudre a été estimé à 24 nm en utilisant la formule de Scherrer.

3. 2 Caractérisation par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (FTIR)

La bande d'absorption localisée entre 800-500 cm^{-1} est caractéristique des liaisons (Zn-O) dans l'oxyde de zinc. Ceci constitue une preuve plausible de l'obtention de l'oxyde de zinc [33, 24].

La bande observée entre 1250-975 cm^{-1} est caractéristique des groupements (C-O) des alcools (polyphénols). La présence des polyphénols pourrait s'expliquer par la présence d'une couche de composés organiques à la surface de ZnO après calcination. Ceci est une preuve de la participation des biomolécules à la formation et la stabilisation de ces nanoparticules. La bande située à environ 1600 cm^{-1} serait due à la présence des molécules d'eau adsorbées à la surface de ZnO [35, 36].

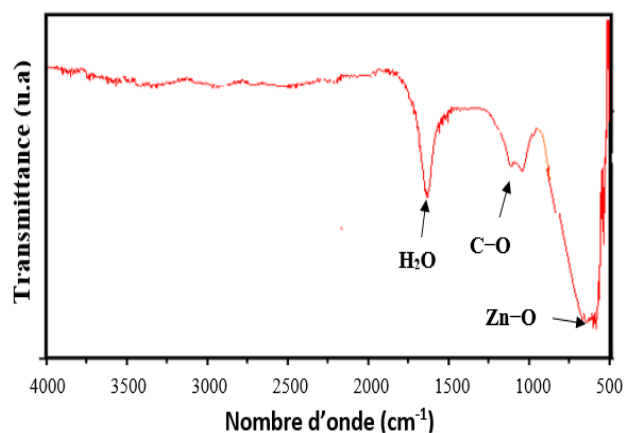


Figure 2. Spectre FTIR de nanoparticules de la poudre de ZnO biosynthétisée

3.3 Analyse par spectroscopie à dispersion d'énergie de rayons-X (EDS)

La composition élémentaire de l'échantillon de nano-poudre préparé a été étudiée par spectroscopie d'énergie de dispersion (EDS) et le résultat est illustré à la Figure 3 où les proportions montrent que la poudre synthétisée est constituée de ZnO stœchiométrique. La présence d'une petite quantité d'environ 0,8 % de carbone détectée provient probablement de la matière végétale, qui a servi de revêtement protecteur pour empêcher l'agglomération des particules de ZnO [18].

Ce spectre EDS confirme davantage la présence de l'oxyde de zinc comme l'ont révélé d'autres techniques de caractérisation.

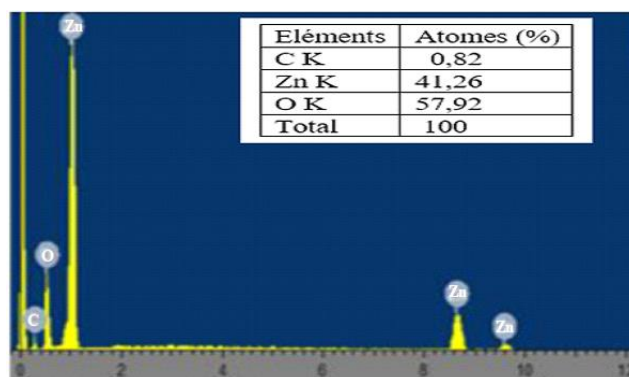


Figure 3. Spectre EDS de ZnO-Nps préparées

3.4 Analyses morphologiques

La figure 4 présente la micrographie électronique SEM (a) de nanoparticules d'oxyde de zinc préparées à base de l'extrait aqueux de *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Robinson (Asteraceae). Cette figure montre que les poudres

préparées sont de structures granulaires de forme sphérique dont les grains sont très petits et de dimensions nanométriques.

La morphologie interne présentée par micrographie électronique TEM (b) corrobore avec les images SEM indiquant que les nanoparticules préparées sont sphériques, de bonne dispersion et cristallinité.

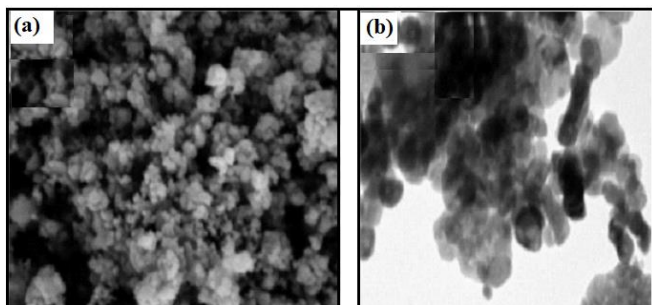


Figure 4. (a) Images SEM et (b) MET de ZnO-Nps synthétisées

3.5 Evaluation de l'activité antibactérienne

Tableau 1. Concentrations Minimales d'Inhibition de la croissance bactérienne en présence de ZnO-Nps

Souches bactériennes testées		CMI ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	62,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	250

Les résultats de tests antimicrobiens obtenus (tableau 1 et figures 5 et 6) montrent que les nanoparticules de ZnO préparées ont un effet antibactérien contre les souches testées. Cela est justifié par la présence de zones d'inhibition allant de 3 à 16 mm et de 3 à 14 mm respectivement pour *E. coli* et *S. aureus* avec des CMI respectives de 62,5 et 250 $\mu\text{g/mL}$.

Des résultats similaires ont été rapportés en indiquant que les ZnO-Nps ont une activité antibactérienne importante avec des zones d'inhibition maximales de 15,8 mm pour *E. coli*, et 15 mm pour *S. aureus*, à une concentration de 2 mg/mL [2]. Majid et collaborateurs [37] ont observé des zones d'inhibition de 9 mm pour *E. coli* et 8,5 mm pour *S. aureus* à une concentration de 1 mg/mL; ce qui est un peu inférieur à ce que nous avons observé dans la présente étude.

Selon l'échelle utilisée par Moreira et Mouas [29,30], les souches bactériennes testées ne deviennent sensibles aux nanoparticules préparées qu'à des concentrations de 250

$\mu\text{g/mL}$ pour *E. coli* et supérieures à 500 $\mu\text{g/mL}$, pour *S. aureus*. Cette sensibilité est donc dépendante aux concentrations des nanoparticules préparées et aux espèces microbiennes.

Nous remarquons que les nanoparticules de ZnO synthétisées présentent une activité antibactérienne supérieure sur *E. coli* (Gram-) que *S. aureus* (Gram+). Ceci est en accord avec d'autres auteurs et peut être attribué à la différence des structures membranaires de ces deux types de bactéries. En effet, les bactéries à Gram+ sont dotées d'une paroi cellulaire épaisse et ont une teneur élevée en peptidoglycane, ce qui les rend plus résistantes que les bactéries Gram-. Un autre facteur possible est la facilité des interactions coulombiennes entre les ions Zn chargés positivement et la surface des bactéries à Gram-chargée négativement [38].

Bien que le mécanisme antimicrobien des nanoparticules d'oxyde de zinc ne soit pas encore très bien élucidé, peu de travaux dans la littérature l'associent à un ou à la combinaison des mécanismes suivants:

- L'accumulation de ZnO-Nps et la libération de Zn^{2+} dans la cellule bactérienne [39,41] ;
- L'interaction électrostatique entre Zn^{2+} et la paroi cellulaire microbienne conduisant à la destruction de la paroi cellulaire et donc à la compromission de l'intégrité cellulaire;
- La perte d'intégrité cellulaire après contact des matériaux ZnO et de la paroi cellulaire [38] ;
- La formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) [25, 41].

La production d'espèces oxydantes réactives (ROS) à vie courte par les ZnO-Nps, tels que les radicaux hydroxyles (OH^\cdot), les radicaux superoxydes (O_2^\cdot), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et l'oxygène singulet (O_2^\cdot) est suggérée par plusieurs auteurs comme mécanisme clé du potentiel antimicrobien des ZnO-Nps. En raison de leur haute réactivité, les ROS endommagent l'ADN, les membranes cellulaires, les ribosomes, l'ARNm et les protéines et, en fin de compte, entraînent la mort cellulaire [41, 42].

Les ROS peuvent aussi inhiber la traduction, la transcription, l'activité enzymatique et la chaîne de transport d'électrons des cellules [6, 43].

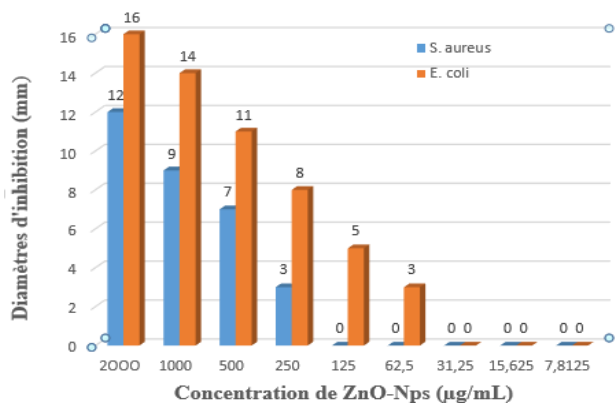


Figure 5. Diamètres d'inhibition de *S. aureus* et *E. coli* par ZnO-Nps

Conflit d'intérêts:

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêt à déclarer.

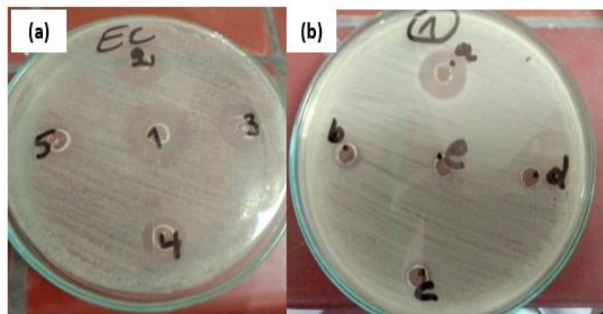


Figure 6. Exemples illustrant les diamètres d'inhibition de *E. coli* (a) et *S. aureus* (b) par ZnO-Nps

Conclusion

Dans la présente étude, les nanoparticules d'oxyde de zinc sous forme de poudre ont été synthétisées en utilisant l'extrait aqueux des feuilles de *Chromolaena odorata* comme sources d'agents réducteurs, stabilisants et protecteurs.

Ces nanopoudres ont été caractérisées par des techniques physiques et spectroscopiques et leur composition a relevé la présence l'oxyde de zinc de forme sphérique avec une taille moyenne de 24 nm. Les nanoparticules préparées ont montré un effet inhibiteur vis-à-vis de *E. coli* et *S. aureus*. Cependant, ces souches ne deviennent sensibles qu'à des concentrations élevées de ces nanoparticules. C'est pourquoi, nous suggérons l'amélioration de leurs propriétés antibactériennes par le dopage.

Références

- [1] D. Celebi, O. Celebi, A. Taghizadehghalehjoughi, Activity of zinc oxide and zinc borate nanoparticles against resistant bacteria in an experimental lung cancer model. *DARU. J Pharm Sci.* 2024, 3, 505-515. <https://doi.org/10.1007/s40199-024-00505-2>
- [2] T.S. Aldeen, H.E.A. Moamed and M. Maaza, ZnO nanoparticles prepared via a green synthesis approach: Physical properties, photocatalytic and antibacterial activity. *Journal of Physics and Chemistry of Solids.* 2022, 160, 1103-13. <https://doi.org/10.1016/j.jpics.2021.110313>
- [3] P. Kumar, C. Chawengkijwanich, C. Pokum, P. Soison and K. Techato, Antibacterial Activities of Biosynthesized Zinc Oxide Nanoparticles and Silver-Zinc Oxide Nanocomposites using *Camellia Sinensis* Leaf Extract. *Trends in Sciences.* 2023 20(3): 5649. <https://doi.org/10.48048/tis.2023.5649>
- [4] H.S. Nisa, Y. Bibi, M. Zia, A. Sajjad, A. Ishfaq and H. Ali, Ciprofloxacin loaded PEG coated ZnO nanoparticles with enhanced antibacterial and wound healing effects. *Scientific reports.* 2024:4689. <https://doi.org/10.1038/s41598.024.55306.z>
- [5] P. Kaushal, D. Maity and R. Awasthi, Nano-green: Harnessing the potential of plant extracts for sustainable antimicrobial metallic nanoparticles. *Journal of Drug Delivery, Science and Technology.* 2024, 94, 105488. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105488>
- [6] R. Dadi, Synthèse de nanoparticules d'oxydes métalliques et leur activité antibactérienne. *Matériaux.* Université Paris-Nord - Paris XIII, 2019. Français. NNT: 2019PA131039. tel-03119316
- [7] O. Adedokun, B.T. Bello, Y.K. Sanusi, A.O. Awodugba, Effet of precipitating agents on the performance of ZnO nanoparticles based photoanodes in dye-sensitized solar cells. *Surf. Interfaces,* 2020, 21, 100656. <https://doi.org/10.1016/J.Surf.2020.100656>
- [8] T. Mohammed, B.O. Touati, Synthèse de nanoparticules de ZnO par l'extrait des feuilles de *Phoenix Dactylifera*. L. Mémoire de Master académique en Sciences et Technologies, Université Echahid Hamma Lakhdar-Eloued, 2018.
- [9] M.Y Hidayat, M. Rosfarizan, U. H. Zaidan and N.A. Rahman, Sustainable microbial cell nanofactory for zinc oxide nanoparticles production by zinc-tolerant probiotic *Lactobacillus plantarum* strain TA4, *Microb. Cell. Fact.* 2020 19(10):1-17 <https://doi.org/10.1186/s12934-020-1279-6>
- [10] M. Maleki, Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by zinc oxide nanoparticles in aqueous solution. *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* 2015 4(Suppl 1):16.
- [11] A. Datta, C. Patra, H. Bharadwaj, S. Kaur, N. Dimri, & R. Khajuria, Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Parthenium hysterophorus* leaf extract and evaluation of their antibacterial properties. *Journal of Biotechnology & Biomaterials,* 2017, 7(3), 271.
- [12] E. Ganasan, H.M. Yusoff, A.A. Azmi, P.W. Chia, S.S. Lam, S.Y. Kan, R.K. Liew, K. Venkateswarlu, & C.K. Teo, Food additives for the synthesis of metal nanoparticles: A review. *Environmental Chemistry Letters,* 2023, 21(1), 525-538.
- [13] S.Riani, N. B. Moussa et al., Bactericidal activity of ZnO nanoparticles against multidrug resistant bacteria. *Journal of Molecular Liquids.* 2023, Vol 387,122596. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122596>
- [14] G.B. Ekoko, J.L. Muswema, A.K. Mbongo, N.K. Nzazi, F.M.Nduku, D.B. Musengele, P.K. Kidingi, T.Ndonganzadi, P. Mukiatom, Characterization of Multinopororous Pt-TiO₂ Thin Films Fabricated by a Three-Step Electrochemical Technique. *American Journal of Nanosciences.* 2019, 5(1):9-17. <https://doi.org/10.11648/j.aj.20190501.12>
- [15] G.B. Ekoko, J.L. Muswema, O.M. Mvele, N.K. Nzazi, F.M.Nduku, D.B. Musengele, T. Ndonganzadi, P. Mukiatom, G.N. Mata Niasa, Nickel Oxid Nanocrystalline Fabricated Under Gamma Irradiation and Its Photocatalytic Investigation for Textile Azo Dye Degradation. *Advances in Materials.* 2019, 8(3), 112-119. <https://doi.org/10.11648/j.am.20190803.13>.
- [16] J. L. Muswema, G.B. Ekoko, K. K. Lobo, O. M. Mvele, H.M. Kalele, A.K. Mbongo G.N. Mata, Gamma-radiation induced synthesis of spinel Co₃O₄ Nanoparticles, *SN Applied Sciences* 2019, (1)333 | <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0342-6>
- [17] T. Ndonganzadi, P.O. Lohohola, G.B. Ekoko, J.S. Kayembe, B.M. Yuyu, P.K.Kidingi, P. Mukiatom, J. Mabunzi, M.Mayindombe, O. Mutombo et L. Masinsanga, Synthèse et caractérisation des nanocristaux de NiO à partir des extraits aqueux des feuilles de *Moringa oleifera* et de NiSO₄.7H₂O comme précurseur. *Pistes et Recherches.* 2021, 37(1) 141-152.

- [18] G. N. Mata, J.E.Malongwe, P.O. Lohohola, J. L. Muswema, O. M. Mvele, R. I. Ndjoko, H. M. Kalele, D. K. Tshibangu, P.K. Mahuku, G. B. Ekoko, A Friendly Environmental Route for the Fabrication of Spinel Co_3O_4 Nanorods, Using Inorganic Precursor Salt and Aqueous Extracts of *Moringa Oleifera* Leaves. *South Asian Res J Eng Tech*, 2022, 4(2): 31-37.
- [19] P. Ramesh, A. Rajendran & M. Meenakshisundaram, Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Flower Extract *Cassia Auriculata*. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014, 2(1), 41-45.
- [20] W. M. Tovi, K. P. Kprie, G. Abizi, E. M. Affy, et K. Kouakou, Evaluation de l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux des feuilles de *Chromolaena odorata* (asteraceae) chez le rat (*Rattus norvegicus*) de souche wistar. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2021, 13(6): 578-589.
- [21] H. Yusuf, F. Husna, B.A.Gani, The chemical composition of the ethanolic extract from *Chromolaena odorata* leaves correlates with the cytotoxicity exhibited against colorectal and breast cancer cell lines. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2021, 9(3): 344-356.
- [22] K. Vijayaraghavan, J. Rajkumar, M.A. Seyed, Efficacy of *Chromolaena odorata* leaf extracts for the healing of rat excision wounds. *Veterinari Medicina*, 2017, 62 (10): 565-578 Original Paper <https://doi.org/10.17221/161/2016>
- [23] A.M.H. Koffi, F.D. Soko, M.N. Yah, O.Y. Koffi, C.D. Tonessia and A.T. H. Diallo, Evaluation de l'activité fongique des extraits aqueux d'*Ocimum gratissimum* et de *Chromolaena odorata* sur *Colletotrichum* sp. responsable des pourritures des tubercules de *Dioscorea alata* en conservation à Daloa, Cote d'Ivoire. *Int. J. Adv. Res.* 2021, 9(07), 209-218. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/13119>
- [24] A.I. Nurul, A. NUR, A.A. Thifah and al., Electrochemical performance of zinc oxide nanoparticles prepared via green synthesis route using *chromolaena odorata* leaves extract as potential anode material in sodium-ion battery. *Journal of Sustainability Science and Management* Volume. 2023, 18(10): 126-137
- [25] J. Hasnain, S. Muzanul, U. Hazrat, Biogenetic synthesis and characterization of antimicrobial and antiparasitic of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous extracts of the *Himalayan columbine* (*Aquilegia pubiflora*). *Frontiers in Materials.* 2020, 7:249. <https://doi.org/10.3389/fmat.2020.00249>
- [26] R. Saha, K. Subramani, P. M. R. SAK, S. Rangaraj, R. Venkatachalam, *Psidium guajava* leaf extract-mediated synthesis of ZnO nanoparticles under different processing parameters for hydrophobic and antibacterial finishing over cotton fabrics. *Prog Org Coat.* 2018, 124:80-91. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.08.004>.
- [27] H. Lokman, L. Y. Lim, K. Hammer, D. Hettiarachchi and C. Locher (2022) A Review of Commonly Used Methodologies for Assessing the Antibacterial Activity of Honey Products. *Antibiotics.* 2022, 11(7), 975 ; <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070975>
- [28] L. Boutabia, S. Telailia, I. Bouguetof, F. Guenadil et A. Chefrou, Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 2016, 85 : 174-189
- [29] M.R. Moreira, A.G. Ponce, C.E. Del Valle, et S.I. Roura, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT.* 2005, 38: 565-570.
- [30] Y. Mouas, F.Z. Benrebaha, & C. Chaouia, Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Revue agrobiologia*, 2017, 7(1), 363-370.
- [31] Y. Sanogo, N.K. Guessend, H.F. Tra Bi, N.J. Kouadio, F.K.Konon, M. Bamba, N. Danho, A. Bakayoko, K. Yao, & M. Dosso, Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combrataceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *Int. J. Biol. Chim. Sci.* 2016, 10(3) : 1139-1152. ; <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.19>
- [32] N.J.Ghdeeb, N.A.Hussain, Antimicrobial activity of ZnO Nanoparticles prepared using a green synthesis approach. *Nano Biomedicine and Engineering*, 2023, <http://doi.org/10.26599/NBE.2023.9290003>
- [33] Q. Tang, H. Xia, W. Liang, X. Huo, et al., Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Morus nigra* and its anticancer activity of AGS gastric cancer cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2019, 202:111698 <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111698>

- [34] S. Alamdari, M.S. Ghamsari, C. Lee et al., Preparation and characterization of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of sambucus eb ulus. *Applied Sciences*. 2020, 10(10): 3620. <https://doi.org/10.3390/app10103620>
- [35] S.W Balogun, Y.K Sanusi, and B.A Agboluaje, Green Synthesis, characterization of Zinc oxide nanoparticles using Chromolaena odorata extract and evaluation of its properties for photoanode of solar cells *Materials Science and Engineering* (2020)805 : 012003 <https://doi.org/10.1088/1757-899X/805/1/012003>
- [36] R. Dobrucka and J. Dugaszewka, Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. *Saudi J. Biol. Sci.* 2016, 23: 517-523.
- [37] R.A. Majid, S. Mina, D. Samened, Study of antibacterial performance of biosynthesized pure and Ag-doped nanoparticles. *Rendiconti Lincei Scienze Fisiche e Naturali*. 2022, 33: 613-621
- [38] N. Babayevska, Ł. Przysiecka, I. Iatsunskyi, G. Nowaczyk, M. Jarek, E. Janiszewska & S. Jurga, ZnO size and shape effect on antibacterial activity and cytotoxicity profile. *Scientific Reports*, 2022, 12:8148. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12134-3>
- [39] W.S.Choet, Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn²⁺ dissolution inside lysosomes. *Part Fibre Toxicol.* 2011, 8, 27-36.
- [40] J. Pasquet, Y. Chevalier, E. Couval, D. Bouvier & M.A. Bolzinger, Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: interactions with common formulation ingredients. *Int. J. Pharm.* 2015, 479, 88–95.
- [41] K.R. Raghupathi, R.T. Koodali & A.C. Manna, Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* 2011, 27, 4020–4028.
- [42] S. Soren, S. Kumar, S. Mishra, P.K.Jena, S.K. Verma and P.Parhi, Evaluation of antibacterial and antioxidant potential of the zinc oxide nanoparticles synthesized by aqueous and polyol method. *Microb Pathog.* 2018, 119:145–151
- [43] A. Kumar, A.K.Pandey, S.S.Singh, R. Shanker, A. Dhawan, Engineered ZnO and TiO₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. *Free Radic Biol Med.* 2011, 51:1872–1881.