

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté par : **HAMDANI Ilyas**

BELLAHCENE Choayb

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques

Option : Biochimie

Thème

Evaluation du pouvoir antioxydant de *Pelargonium graveolens*

Soutenu le 29 juin 2022 , devant le jury composé de :

Présidente	Melle BOUALI W.	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme GHALEM M.	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme MEDJDOUB H.	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

المخلص

تشكل النباتات مخزونًا غنيًا من الجزيئات النشطة بيولوجيًا كثيرًا ما تستخدم في مجالات مختلفة. تهدف الدراسة الحالية إلى تحليل مقالتين عن النشاط المضاد للأكسدة في *Pelargonium Graveolens* ، وهو نبات من عائلة Geraniaceae.

أظهرت النتائج أن الزيت العطري والهيدروسول لهما فعالية أفضل مقارنة بالمستخلص الإيثانولي. في الختام ، يتمتع هذا النبات بقوة مثيرة للاهتمام من مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ، الجزيئات النشطة بيولوجيًا ، النشاط المضاد للأكسدة ، *Pelargonium Graveolens*

Résumé

Les plantes constituent un réservoir riche en molécules bioactives très souvent utilisées dans les différents domaines.

La présente étude vise à analyser deux articles sur l'activité antioxydante de *Pelargonium graveolens*, plante de la famille des Géraniacées.

Les résultats montrent que l'huile essentielle et son hydrolat présentent une meilleure activité par rapport à l'extrait éthanolique.

En conclusion, cette plante est douée d'un pouvoir antioxydant très intéressant

Mots clés: huile essentielle, molécules bioactives, activité antioxydante, *Pelargonium graveolens*

Abstract

Plants constitute a rich reservoir of bioactive molecules very often used in different fields.

The present study aims to analyze two articles on the antioxidant activity of *Pelargonium graveolens*, a plant of the Geraniaceae family.

The results show that the essential oil and its hydrosol have a better activity compared to the ethanolic extract.

In conclusion, this plant is endowed with a very interesting antioxidant power.

Keywords: essential oil, bioactive molecules, antioxidant activity, *Pelargonium graveolens*

Remerciement

Louange à ALLAH, le miséricordieux qui nous a donné la patience et le courage afin d'achever ce modeste travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme MEDJDOUB H.** «Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail et pour ses conseils et ses encouragements. Avec toutes ma gratitude et de mon respect les plus sincères.

J'adresse mes remerciements aussi à **Melle BOUALI W.** « Maître de Conférences A » au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ma fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Toutes ma gratitude s'adresse aussi à **Mme GHALEM M.** «Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées je suis là, vraiment un grand remerciement pour leurs qualités d'enseignement qui nous a été dispensé.

Mes vifs remerciements à mes parents et ma famille pour leur soutien et leurs encouragements et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Je dédie ce mémoire

A mon très cher père

Mon exemple et ma fierté, je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité et ta compréhension...

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa, j'implore Dieu, tout puissant, de t'accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

A ma très chère mère

Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour toi ; ta prière, bénédiction et tes sacrifices m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu m'as aidé et soutenu pendant de nombreuses années. Puisse Dieu, tout puissant te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie.

A mon cher frère

Pour toute l'ambiance et les moments d'enfance passés avec toi mon frère, Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans ta vie.

A ma chère sœur

Pour l'amour que vous m'avez toujours donné, votre encouragement et toute l'aide que vous m'avez apportée durant ma vie. Que dieu vous protège, bénisse.

A mes nièces

A mes tantes

A mes amies

Je n'oublierai jamais nos moments de joie et de folies passés ensemble.

Merci d'être toujours à mes cotés.

A tous ceux qui j'aime

Merci !

Liste des abréviations

1O₂ : Oxygène singulet

ADN : Acide désoxyribonucléique

ABTS : Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Cat : Catalase

CUPRC : Cupric reducing antioxydant capacity

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

e⁻ : Électron

EC50 : La concentration qui correspond a une absorbance de 0.5

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe³⁺ : Fer ferrique

Fe²⁺ : Fer ferreux

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

(Pouvoir réducteur de fer).

FW : Fresh weight (poids frais de la
plante).

GAE : Gallic acid equivalents (équivalents
d'acide gallique).

GPx : Glutathions peroxydases

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

H⁺ : Hydrogène

H₂O : Molécule d'eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %
d'une activité

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de
potassium

NADPH : Nicotinamide adénine
dinucléotide phosphate

NO : Monoxyde d'azote

NOS : Nitroxyde synthase

O₂ : Oxygène

O₂^{-•} : Anion superoxyde

OH[•] : Radical hydroxyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

P.graveolens : *Pelargonium graveolens*

pH : Potentiel hydrogène

RL : Radical libre

RO[•] : Radical alkoxy

ROOH : Hydroperoxyde organique

ROO[•] : Radical peroxy

SOD : Superoxydes dimustases

TCA : Acide trichloacétique

UV : Ultra-violet

UV-VIS : Ultraviolet-Visible

Liste des figures

Figure 1 : Mecanismr provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule.....	6
Figure 2 : Electrons de valence de l'oxygène moléculaire Un point représente un électron et un trait un appariement entre deux électrons.....	7
Figure 3 : Structure chimique de la vitamine C.....	12
Figure 4 : Structures de quelques flavonoles.	14
Figure 5 : Sites possibles de la fixation de Fe ³⁺ aux cycles A et C des flavonoles	15
Figure 6 : Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes anti oxydantes	17
Figure 7 : Photographie de les pelargonium du groupe rosat.....	19

Liste des tableaux

Tableau 1: Comparaison entre les deux travaux publiés sur les deux articles	31
Tableau 2: Résultats de l'activité antioxydante des extraits (décocté, infusé et macéré) de géranium rosat (Article 1).....	32
Tableau 3: Résultats de l'activité antioxydante des huiles essentielles et hydrolats de géranium rosat (Article 2)	33

Table des matières

Introduction	1
Synthèse	
Bibliographique	
Chapitre 01	
Stress oxydant	
1. Le stress oxydant.....	5
2. Les radicaux libres	7
3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	7
4. Le peroxyde d'hydrogène.....	7
5. Le radical hydroxyle.....	8
L'anion superoxyde	9
6. Espèces réactives de l'azote.....	
Perxynitrite (ONOO)	10
Monoxyde (NO [•])	10
7. Les antioxydants.....	10
Les antioxydants enzymatique.....	11
Glutathion proxidase.....	11
Superoxyde dismutase (SOD).....	11
Catalase.....	11
Les antioxydants non enzymatique.....	11
8. Les vitamines.....	12
Vitamine E.....	12
Vitamine C ou acide L-ascorbique	12
Les polyphénols	13
La lactoferrine.....	16
Les oligoéléments	17
Chapitre 02	
Présentation de la Plante étudiée	
Introduction.....	19
9. Généralité.....	19

Plantes médicinales.....	19
Plantes aromatiques	20
10. Plant étudiée.....	20
Comment la reconnaître.....	21
Historique	21
Nomenclature et étymologie.....	21
Présentation de la famille des géraniacées (geraniaceae)	22
Les plantes populaires	22
La différence entre le géranium et pélargonium.....	22
Propriétés médicinales de géranium rosat	22
Culture de géraniums rosat	23
11. Huile essentielle	23
D'où provient l'huile essentielle de géranium rosat	23
Les propriétés de l'huile essentielle de géranium rosat	23
Huile essentielle de géranium rosat quels maux soigne t-elle	24
Qui peut utiliser l'huile essentielle de géranium rosat	24
Les modes d'application de l'huile de géranium rosat	24
Comment bien utiliser l'huile de géranium rosat	25
En usage interne.....	25
En usage externe	25
Matériels et méthodes	
1. Objectif	28
2. Matériel végétal	19
3. Préparation des extraits.....	20
Préparation de l'extrait eau-acétone	20
Préparation de l'extrait eau-éthanol.....	21
4. Calcul du rendement	21
5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	21
Principe.....	21
Solutions à préparer.....	21
Mode opératoire.....	22
Protocole.....	23

Résultats et interprétation

1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait	25
2. Evaluation de l'activité antioxydante	25
effet de l'extrait eau-acétone	25
effet de l'extrait eau-éthanol.....	26
effet de l'acide ascorbique	27
Discussion	28
Conclusion.....	32
Références Bibliographiques.....	37

Introduction

Selon l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles ; parmi eux les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.). Elles sont aussi utilisées dans les traitements de l'appareil digestif, l'appareil respiratoire et l'appareil circulatoire...etc. Les plantes constituent une source d'antioxydants naturels qui bloquent l'action des radicaux libres et donc défendent contre le stress oxydant (**Akinmoladun et al., 2007; Lahsissene et al., 2009 ; Sompaga & Anupalli et al., 2016**).

Ce stress oxydant est un déséquilibre lié, soit à une production accrue des espèces réactives de l'oxygène, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante; qui favorise le développement des pathologies diverses comme le cancer, des pathologies oculaires, des maladies neurodégénératives...ect (**Favier, 2006 ; Defraigne & Pincemail, 2008**).

Parmi ces plantes nous citons *Pelargonium graveolens* une plante de la famille des *Géraniaceae*, originaire d'Afrique de Sud et cultivée en Algérie dans la plaine de la Mitidja (wilaya de Blida), dans les jardins et dans les cimetières. Cette espèce est utilisée depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques (Émollient, bactéricide, fongicide et anti-inflammatoire). Il s'avère utile dans le traitement des problèmes de peau (acné, eczéma, vergetures, couperose), traite les dermatoses, apaise les symptômes liés à des affections respiratoires, aide à la cicatrisation des plaies, en massages en cas de grande fatigue, d'asthénie ou de stress, en cataplasmes et pour traiter les hémorroïdes (**Boukhatem et al., 2011 ; Cardenas, 2017**).

Notre travail vise à valoriser cette plante par l'évaluation de son pouvoir antioxydant. Pour ce faire, nous avons traité et analysé deux articles qui s'intéressent à cette propriété médicinale de la plante en objet.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :

Stress oxydatif

1. Stress oxydant :

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants antioxydants en faveur des oxydants (**Atamer et al., 2008**). Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non pairés dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques (**Tremellen, 2008**). De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne. Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (**Zou et al., 2008**). Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle (OH), le radical peroxyde ($ROO\cdot$) ou le

Chapitre 01 : Stress oxydant

peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non paillés. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote (NO) et le peroxyde d'azote ($ONOO$) étant deux espèces bien connues (Tremellen, 2008).

Alors que les espèces réactives de l'oxygène induisent un stress oxydatif, les espèces réactives de l'azote induisent pour leur part un stress azoté.

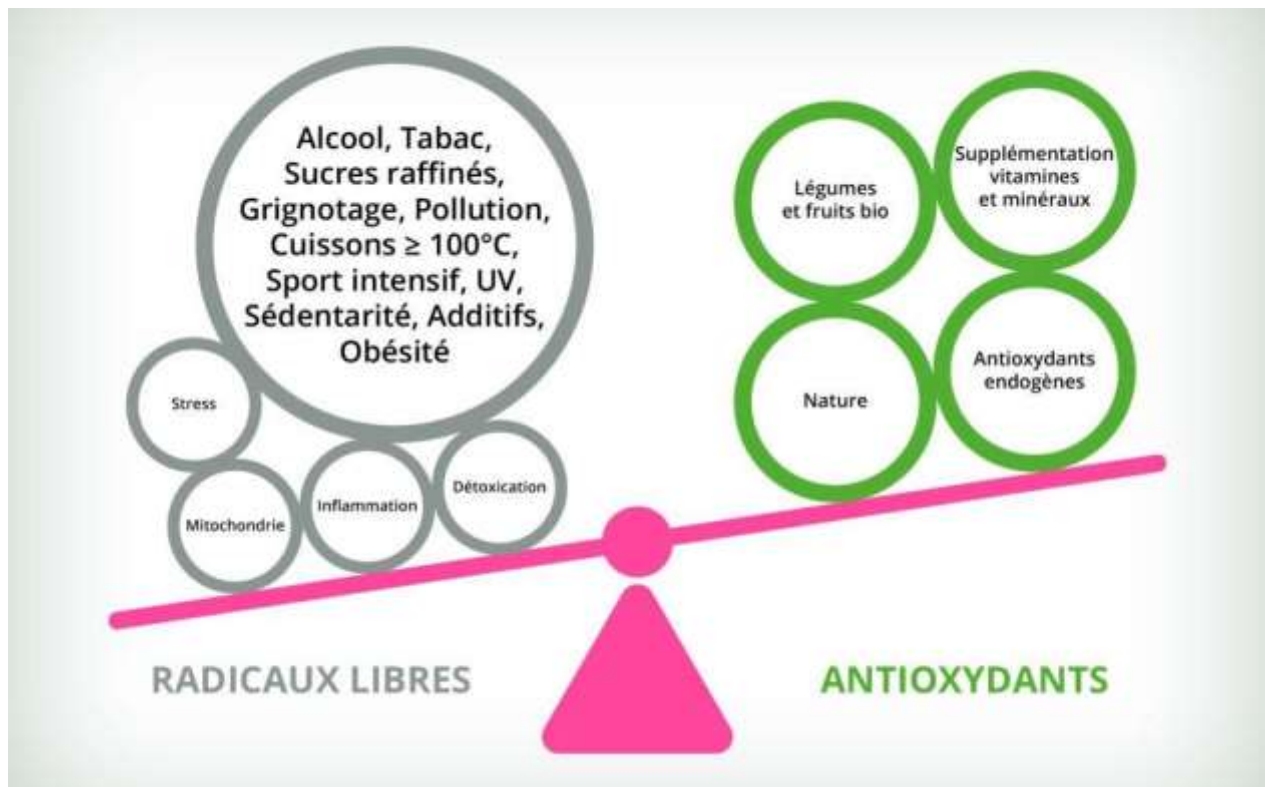


Figure 01 : Mécanisme provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule (bug, 2017).

2. Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des électrons uniques et libres en orbite dans l'espace de la coquille ou de la molécule de l'atome. Ces molécules contribuent à la liaison des atomes les uns avec les autres, car elles sont attirées les unes vers les autres, attirant ainsi les atomes également. Lorsque les molécules d'oxygène se séparent et deviennent uniques, elles se transforment en radicaux libres instables et recherchent d'autres molécules avec lesquelles se lier. Ce processus de recherche est appelé stress oxydatif. Le danger du stress oxydatif est que les atomes d'oxygène libres atteignent le matériel génétique des cellules (ADN) et affectent sa structure et provoquent une mutation dans la cellule, qui à son tour se transforme en cellules malades ou en cellules cancéreuses malignes qui peuvent se développer et augmenter.



Figure 2 : Electrons de valence de l'oxygène moléculaire Un point représente un électron et un trait un appariement entre deux électrons (Eddhima, 2019).

3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

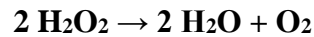
Les espèces oxygénées actives (EOA ou ROS (Reactive Oxygen Species) sont également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène. Les ROS incluent les radicaux libres (RL) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochloreux (HOCL), l'oxygène singulet, et l'ozone (O₃). Plus récemment les espèces azotées actives (EAA ou RNS Reactive Nitrogen Species) ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO). (Robertson *et al.*, 2007).

4. Le peroxyde d'hydrogène :

Le peroxyde d'hydrogène est un composé chimique de formule H₂O₂, non radicalaire et il n'est

Chapitre 01 : Stress oxydant

pas chargé, il diffuse facilement à travers les membranes, Il existe naturellement chez les êtres vivants comme sous-produit de la respiration cellulaire Les peroxydases catalysent la dismutation de H₂O₂ en H₂O et O₂ (**Barouki, 2006**).

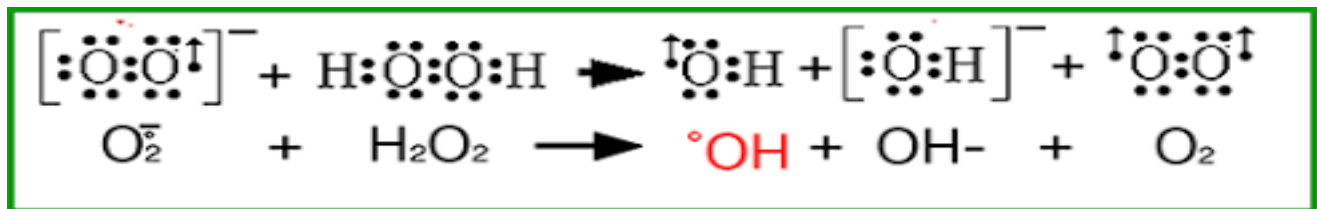


5. Les radical hydroxyle :

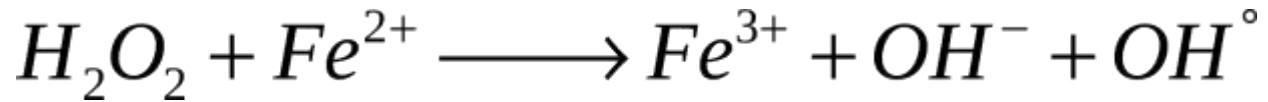
Le radical hydroxyle est le plus délétère des espèces radicalaires, il présente une extrême réactivité. Il est responsable de dommages oxydatifs de la plupart des macromolécules biologiques à travers trois modes d'action : il agit soit en arrachant un électron ou un atome d'hydrogène sur un substrat organique, soit en s'additionnant sur des doubles liaisons (**Migdal et Serres, 2011**).

Le radical OH• est produit via l'une des deux réactions suivantes :

- Via la réaction d'Haber-Weiss, le peroxyde d'hydrogène réagit avec le radical superoxyde, aboutissant à la production du radical hydroxyle (**Sorg, 2004**) :

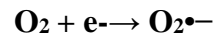


- Via la réaction de Fenton, en présence de métaux de transition (Fe²⁺, Cu²⁺), La dégradation de H₂O₂ conduit à la formation du radical hydroxyle (**Sorg, 2004**) :



- **L'anion superoxyde :**

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est un radical libre chargé négativement issu de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire :



$O_2^{\bullet-}$ est un déchet métabolique toxique produit naturellement dans les cellules respirant le dioxygène, en particulier au sein des mitochondries (par le complexe I et le complexe III), et par d'autres enzymes (exemple : la xanthine oxydase). Il est impliqué dans plusieurs fonctions cellulaires : la signalisation cellulaire, la réponse immunitaire et la prolifération cellulaire à des concentrations régulées, mais Il a un rôle dans la pathogenèse de nombreuses maladies. Sa production est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 (Fig.6) (Muller *et al.*, 2007 ; Migdal & serres, 2011; Zhang *et al.*, 2019).

6. Espèces réactives de l'azote :

Les ERN à savoir le radical mono-oxyde d'azote (NO \cdot) sont responsables d'une grande diversité d'effets sur l'organisme, tant bénéfiques que potentiellement délétères. La médiation des effets bénéfiques se fait par le NO \cdot lui-même dans un micro- environnement biochimique donné, lorsqu'il est généré en quantité régulé et transitoire par les monoxydes d'azote synthase (NOS).

Par contre, lorsque ce NO \cdot est engendré en grandes quantités non régulées et prolongées par la NOS inductible, le NO \cdot peut engendrer un stress nitrosant et un stress oxydant, par l'intermédiaire du peroxyde de nitrite (réactions d'oxydation, de nitration et de nitrosylation oxydative) et du trioxyde di-azoté (réaction de nitrosation), respectivement (Paul et Luc, 2003).

6.1 Peroxynitrite ONOO

Le peroxynitrite est un puissant oxydant formé à partir de superoxyde et d'oxyde nitrique. Il est plus réactif que ses précurseurs (NO^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$) (**Bartosz, 1996 ; Alvarez et Radi, 2003**). Le peroxynitrite réagit avec différentes biomolécules appropriées et provoque une scission des brins d'ADN, induit la peroxydation des lipides, oxyde la cystéine, les résidus de méthionine, de lysine et de l'histidine (**Koppenol et al., 1992 ; Kelm et al., 1997 ; Demiryürek et al., 1998**). Il est également impliqué dans plusieurs maladies tels que : les troubles neurodégénératifs, l'athérosclérose, etc (**Alvarez et Radi, 2003**).

6.2 Monoxyde (NO^\cdot) :

Le NO^\cdot est un radical réactif abondant qui agit comme unemolécule de signalisation biologique oxydante importante dans la neurotransmission, les mécanismes de défense, la relaxation des muscles lisses, etc (**Bergendi et al., 1999**). Il a des effets sur la transmission neuronale et sur la plasticité synaptique dans lesystème nerveux central (**Valko et al., 2007**). Leur production dans les tissus biologiques, est assurée par des NO synthases spécifiques qui assurent le métabolisme de l'arginine en citrulline avec la formation de NO^\cdot via une réaction oxydative à 5 électrons (**Ghafourifar et Cadenas, 2005**).

7. Les antioxydants :

Un antioxydant est défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006).

7.1 Les antioxydants enzymatique :

- **Glutathion peroxydase :**

Elle est l'un des principaux systèmes de protection capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol (**Ganther, 1999; Favier, 2003**), elle utilise le glutathionréduit comme cofacteur (**Vitoux et al., 1996**).

- **Superoxyde Dismutase (SOD) :**

La superoxyde dismutase (SOD) constitue la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (**Vergelyet al., 2003**). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de SOD se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir et al., 2005). Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2 \bullet^-$) en O_2 et peroxyde d'hydrogène (**Droillard etPaulin, 1990; Valko et al. 2006**).

- **Catalase :**

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Valko et al., 2006**).

7.2 Les antioxydant non enzymatique :

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydante (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux

enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (**Gardès- Albert et al., 2003**).

8. Les vitamines :

- **Vitamine E :**

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (**Bationo et al., 2015**).

- **Vitamine C ou acide L-ascorbique :**

L'acide L-ascorbique de formule $C_6H_8O_6$ présente deux carbones asymétriques, une fonction lactone, deux fonctions alcool puis une fonctionène-diol ($HO-C=C-OH$).

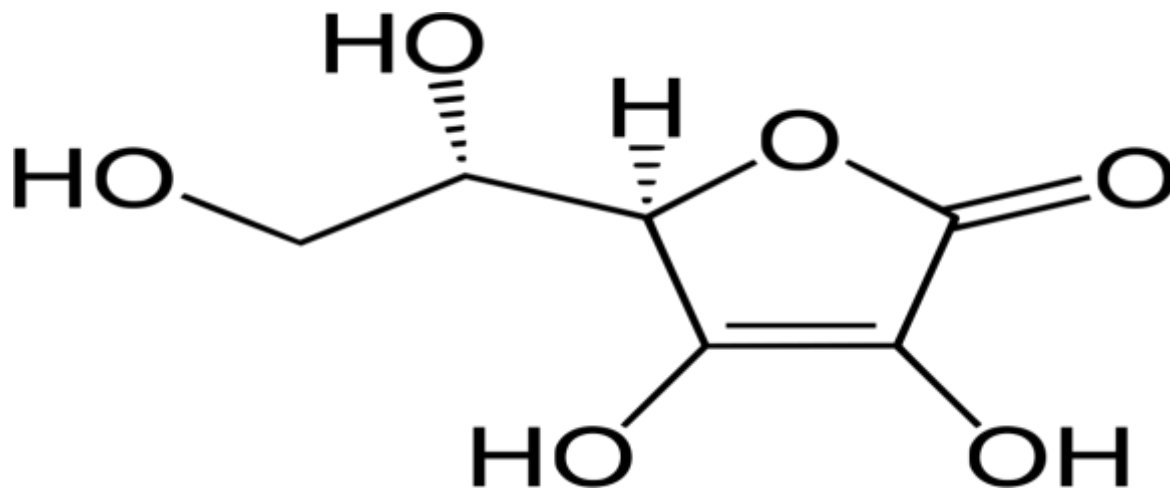


Figure 03 : Structure chimique de la vitamine C.

Chapitre 01 : Stress oxydant

C'est cette dernière fonction qui est responsable de son activité biologique par ses propriétés réductrices. Après oxydation, l'acide ascorbique devient l'acide déhydroascorbique. C'est l'anion ascorbate qui est prédominant au pH physiologique. Il est présenté sous forme de cristaux blancs. Les apports en vitamine C se font principalement par les fruits frais (kiwi, agrumes) et par certains légumes comme les tomates, poivrons, brocolis (**Marc, et al, 2004**). C'est une vitamine très fragile qui peut facilement être dégradée lors des modes de cuisson par exemple (**Lemoine, A.2006**). En effet, plusieurs études rapportent un effet protecteur de la consommation de la vitamine C sur l'incidence des cancers, dont ceux de la cavité buccale, du pharynx, de l'œsophage, de l'estomac et du pancréas (**Marc et al., 2004**). L'effet antioxydant de l'acide ascorbique pourrait inhiber les processus d'oxydation et les radicaux libres qui jouent un rôle dans l'initiation et la promotion du processus néoplasique. (**Carrac et al.,1999**) (**Block., 1992**). La vitamine C ou ascorbate agit principalement en piégeant directement les ERO (majoritairement l'O₂[°]-et l'OH[°]) ou bien en régénérant l'α-tocophérol (**Bationo et al., 2015**).

• Les polyphénols :

Plusieurs études épidémiologiques ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (les fruits et les légumes) et le risque des maladies liées à l'âge comme les maladies neurodégénératives (**Hu, 2003; Bubonja- Sonje et al., 2011**). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités anti-oxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant

Chapitre 01 : Stress oxydant

d'éliminer les effets d'espèces réactives de l'oxygène (Ketsawatsakul et al., 2000) ainsi que de chélater les différents métaux de transition (Gulcin et al., 2010).

Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandhar et al., 2011). Leur capacité de donation d'hydrogène augmente avec l'augmentation de l'hydroxylation de leurs cycles phénoliques. Cette caractéristique structurale peut être observée dans les flavonoles comme le kaempférol, quercétine et myricétine ou l'activité antioxydante est croissante en fonction du nombre des groupements OH dans la molécule (figure 4) (Le et al., 2007).

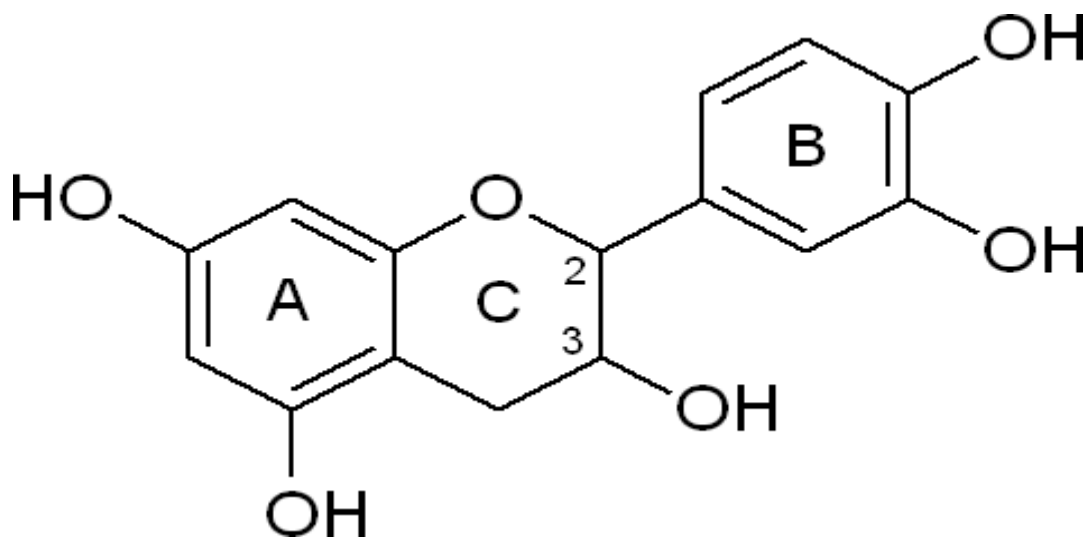


Figure 04 : Structures de quelques flavonoles. Kaempférol: 2R=OH, 1R =3R =H; Quercétine: 1R=2R=OH, 3R=H; Myricétine: 1R=2R=3R=OH .

Chapitre 01 : Stress oxydant

En outre, les polyphénols agissent contre la peroxydation lipidique de deux façons: par la protection des lipides cibles contre les initiateurs de l'oxydation ou par stabilisation de la phase de propagation. Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs entravent la formation des ERO ou éliminent les espèces réactives responsables de l'initiation de l'oxydation comme O_2 , $1O_2$ et $OH\cdot$. Dans le second cas, les antioxydants dits briseurs de chaîne perdent généralement un atome d'hydrogène en faveur des radicaux propagateurs de l'oxydation ($LOO\cdot$) pour stopper la propagation de la peroxydation (**Laguerre, 2007**) selon la réaction ci-dessous.

Les flavonoïdes exercent des effets antioxydants aussi par la chélation des ions métalliques. Il a été postulé par Verdan et ses collaborateurs (**2011**) que la quercétine et myricétine forment des complexes avec les différents métaux (Fe^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , etc.) via les groupements hydroxyle des trois cycles: les groupes hydroxyles du cycle B ainsi que les groupes 3-hydroxy-4-céto et 5-hydroxy-4-céto des cycles A et C. Néanmoins, les deux groupes 3-hydroxy et 5-hydroxy sont particulièrement intéressants car ils sont en compétition pour la fixation du métal (**figure 5**).

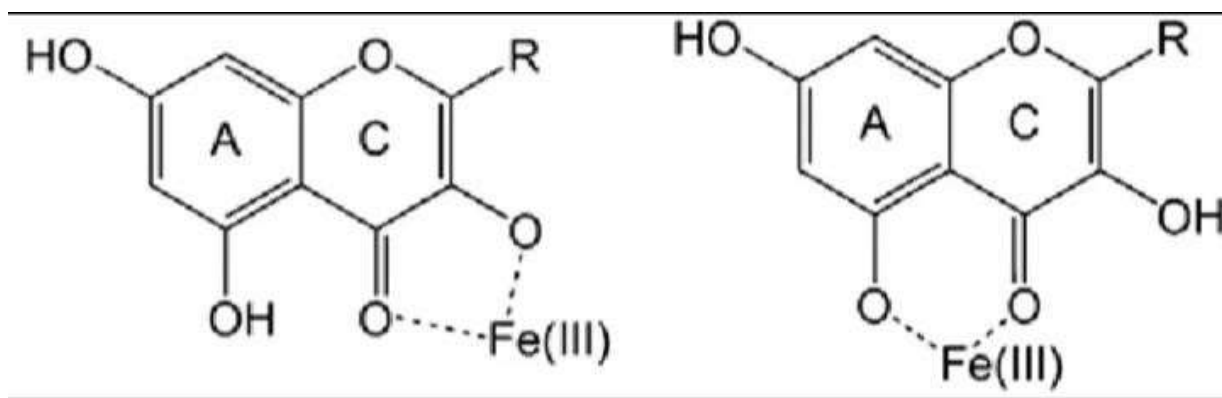


Figure 5. Sites possibles de la fixation de Fe^{3+} aux cycles A et C des flavonoles. Le métal peut se fixer à la position 3-hydroxy-4-céto (gauche) ou la position 5-hydroxy-4-céto (droite) (**Verdan et al., 2011**).

En plus, les flavonoïdes sont des inhibiteurs des enzymes impliquées dans la production des ERO. En effet, Sandhar et ses collaborateurs (2011) ont rapporté que les flavonoles quercétine, kaempferol et galangine, ainsi que le flavone apigénine sont des inhibiteurs des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans la production des ERO.

- **La lactoferrine :**

La lactoferrine est une protéine du lactosérum, capable de lier le fer. Elle a des propriétés biologiques importantes lui conférant de l'intérêt comme ingrédient dans les aliments fonctionnels et les nutraceutiques. Le but de ce travail était d'étudier la capacité du procédé d'électrodialyse avec membrane d'ultrafiltration (EDUF) à séparer la lactoferrine bovine à partir du lactosérum. Pour ce faire, la mobilité électrophorétique de la lactoferrine a été étudiée en fonction du pH. La mobilité électrophorétique de la LF a été optimale à pH3. Ensuite, nous avons démontré la faisabilité de la séparation de la lactoferrine par EDUF à partir d'une solution modèle: un taux de migration de 46% a été obtenu. Finalement, l'EDUF a été appliquée sur du lactosérum enrichi, en testant les pH 3, 4 et 5. Le plus haut taux de migration de la lactoferrine a été obtenu à pH3 avec 15% de migration.

• Les oligoéléments :

Les oligoéléments ou les éléments-trace (zinc, sélénium, cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (**figure 6**). D'autres constituants de l'alimentation, comme les vitamines du groupe B, le chrome ou le magnésium agissent comme des antioxydants indirects via la régulation de l'homocystéinémie (vitamines du groupe B), l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (chrome) ou la lutte contre l'inflammation (magnésium).

La synthèse du glutathion, un des antioxydants le plus important de l'organisme, dépend fortement de l'apport nutritionnel en acides aminés tels que la méthionine (**Roussel, 2009**).

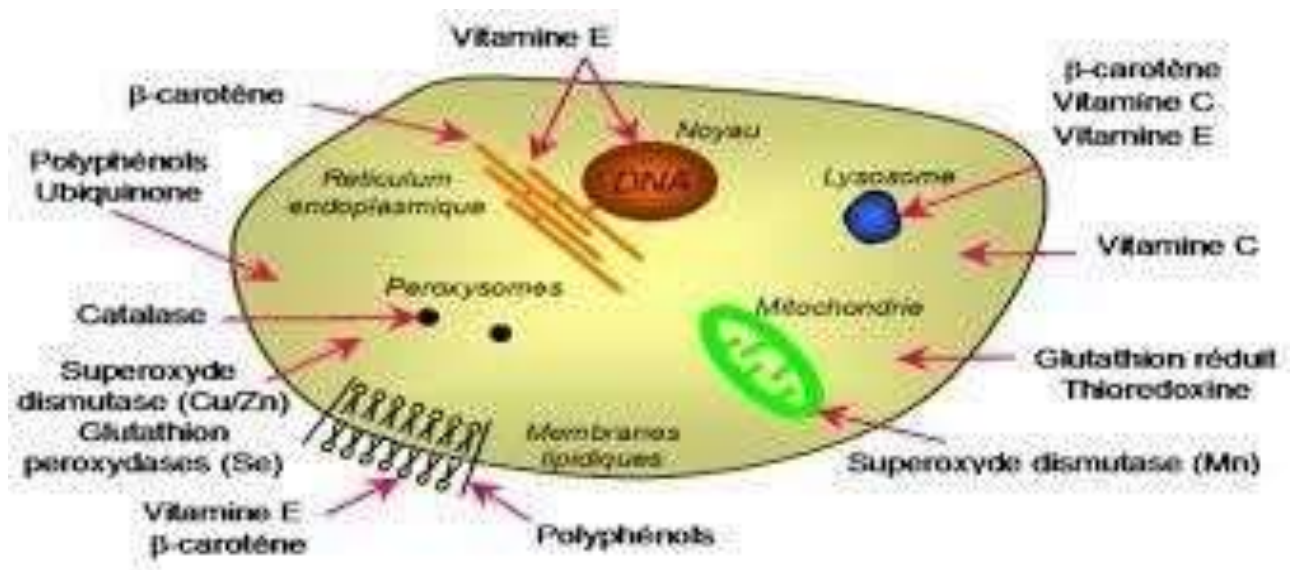


Figure 06. Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (Roussel, 2009).

Chapitre 2 :
Plantes médicinales et
géranium rosat

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

Introduction :

L'organisation mondiale de la santé a prévu que 80 % des habitants des pays en développement dépendent sur les plantes médicinales pour leurs besoins en soins de santé primaires. Le coût des substances synthétiques, leur disponibilité insuffisante, les effets secondaires associés à leur utilisation et la croyance que les plantes peuvent guérir de nombreuses maladies (notamment les troubles inflammatoires) ont suscité un regain d'intérêt pour l'utilisation des plantes et des extraits de plantes au cours des dernières années. Il est nécessaire de renforcer les recherches scientifiques sur les plantes médicinales, en particulier celles qui affirment avoir des effets bénéfiques sur des maladies graves. (Boukhatem, M. N., Kameli, A., Ferhat, M. A., Saidi, F., & Mekarnia, M. 2013)

1. Généralité :

1.1 Plantes médicinales :

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou plusieurs substances chimiques qui peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques. Elles sont utilisées comme matériel potentiel pour maintenir une bonne santé et de bonnes conditions et non seulement pour le traitement de maladies grâce à leurs constituants chimiques actifs présents dans différentes parties de ces plantes qui sont appelés « les métabolites secondaires » (Oladeji, 2016 ; Cordova *et al.*, 2019).

L'Homme a toujours apprécié les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (Iserin, 2016). Leur utilisation à des fins de remèdes remonte aux environs de 7000 ans av. J.-C selon de nombreuses études. De nos jours, les scientifiques isolent les principes actifs des plantes, responsables des effets sur la santé, et élaborent des médicaments plus actifs et mieux dosés grâce aux progrès de la chimie. La médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels est désignée par le mot phytothérapie créé par les Grecs de *phuton* « plante » et *thérapeia* « traitement » (Boyrie, 2014).

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

L'Algérie par la richesse et la diversité floristique d'espèces végétales constitue un véritable territoire de recherche des nouvelles extraits actifs. Ceux-ci contribuent activement au développement des nouveaux traitements de plusieurs maladies (Hamel, 2018).

1.2 plantes aromatiques :

Une plante aromatique est un aromate utilisé en cuisine ou en préparation médicinale, par exemple pour un miel, un vinaigre ou une huile. Les plantes aromatiques sont celles qui contiennent des composés aromatiques.

Les plantes aromatiques contiennent essentiellement des huiles essentielles qui sont volatiles à température ambiante. Ces huiles essentielles ont des composés odorants, volatils, hydrophobes et très concentrés. Ils peuvent être obtenus à partir de fleurs, de bourgeons, de graines, de feuilles, de brindilles, d'écorce, de bois, de fruits et de racines.

En jardinage, la plantation de plantes vivaces aromatiques et parfumées ajoute une expérience sensorielle pour compléter les éléments visuels de couleur et de texture. Il existe des différences entre plantes aromatiques et plantes parfumées :

- Les plantes aromatiques, comme les herbes culinaires vivaces (romarin et lavande) et de nombreuses autres plantes, produisent des huiles essentielles qui sont libérées au contact du feuillage et des fleurs. Les plantes aromatiques sont résistantes aux lapins et aux cerfs car les huiles aromatiques sont très amères.
- Les plantes parfumées (plantes odorantes) ont des fleurs qui libèrent un parfum dans l'air.

2. Plant étudiée :

Les Pelargonium du groupe rosat ou Géraniums rosats sont le complexe de tous les cultivars de Pelargonium, cultivés en vue d'en extraire une huile essentielle au parfum de rose (appelée « huile de géranium »), utilisée en parfumerie .



Figure 7 : Photographie de les pelargonium du groupe rosat

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

2.1 Les caractéristique de géranium rosat :

Les géraniums sont des plantes herbacées qui se divisent en plus de 400 espèces. Le géranium Robert possède une tige rouge et velue qui peut atteindre 50 cm de hauteur. Ses feuilles palmées se composent de 3 ou 5 lobes, ses fleurs de 5 pétales roses.

Son fruit particulier, doté de 5 stigmates, s'apparente à un lustre à 5 lampes. La tige du géranium rosat peut mesurer jusqu'à 1,40 m de haut. Ses feuilles dégagent un parfum de rose et ses fleurs sont violettes.

2.2 Historique :

La région de Grasse en Provence est connue pour sa longue tradition de culture de plantes à parfum (roses, jasmin, lavande, etc.) et d'extraction de leur huile essentielle. Ce savoir-faire développé . depuis le xvie siècle a été mobilisé pour mettre en place une culture commerciale de pélargoniums à odeur de rose au xixe siècle

2.3 Nomenclature et étymologie :

Les géraniacées importées d'Afrique du Sud, dès les années 1600, furent appelées par des termes latins commençant par *Geranium Africanum* (ou *Geranium Indicum*). Lorsque Linné établit la nomenclature binomiale en 1753, il range ceux-ci sous le genre *Geranium* avec les géraniums européens. Avec le développement de la passion pour la culture ornementale de ces plantes sudafricaines en Europe, l'usage du terme de « géranium » s'implante durablement dans la langue commune, à une époque où les botanistes peinent à s'entendre sur la terminologie savante [2]. Actuellement, la plupart des jardiniers ou des fleuristes, savent parfaitement que les botanistes classent les géraniums des balcons dans le genre *Pelargonium* mais sont réticents à employer ce terme marqué encore comme trop savant. L'adjectif français rosat est dérivé du latin *rosatus* « à la rose » (le t final de rosat vient de la flexion en -atus du latin *rosa* « rose »).

2.4 Présentation de la famille des Géraniacées (Geraniaceae) :

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

La famille des Géraniacées, assez restreinte, génère toute une industrie horticole, notamment avec les *Geranium* et les *Pelargonium*, ornementaux, mais aussi producteurs d'huiles essentielles. Les *Geraniaceae* comprennent des plantes vivaces robustes et très appréciées.

2.5 Les plantes populaires :

Géranium des Balcons (genre *Pelargonium*), géranium vivace (genre *Geranium*), érodium (genre *Erodium*)

Les *Geraniaceae* sont des plantes dicotylédones appartenant à l'ordre des Géraiales. Si cette famille ne représente que peu de genres, elle est relativement diversifiée par l'étendue des milieux qu'elle occupe humide à sec, riche à désertique... ; elle est représentée par des plantes herbacées, annuelles ou vivaces, mais aussi des plantes arbustives. L'homme est en relation étroite avec les Géraniacées : il les cultive, les collectionne, et les désherbe aussi parfois, bien que de nos jours les géraniums annuels passent du statut d'adventice à auxiliaire de culture.

2.6 La différence entre le géranium et le pélargonium

Le but de cette vidéo est de nous aider à distinguer le géranium tel qu'il est nommé dans le commerce. Autrement dit, choisir un géranium droit ou retombant.

Les géraniums sont associés aux rois des balcons ainsi qu'aux potées de fleurs qui passent les hivers à l'abri du gel. On peut ensuite les ressortir au printemps pour la plus grande joie des jardinières. Il faut savoir qu'un géranium au balcon appartient au genre pélargonium.

2.7 Propriétés médicinales de géranium rosat :

Si ses fleurs le destinent à un usage cosmétique, le géranium rosat a aussi des vertus antibactériennes, anti-fongiques et calmantes pour le système nerveux. Ce qui fait de son huile essentielle un excellent remède familial.

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

2.8 Culture de géraniums rosat :

Ils trouvent leur origine dans les cultivars qui ont été cultivés longtemps dans la région de Grasse en Provence et qui ont été ensuite distribués de là en Afrique du Nord et à La Réunion puis ces dernières décennies, dans de nombreuses autres parties du monde. Ils sont issus de croisements entre les espèces sauvages de pélargoniums introduites d'Afrique du Sud.

La culture de Pelargonium du groupe rosat prit de l'importance en Algérie, au Maroc et à la Réunion, sur la base de plantes sélectionnées à Grasse[1]. Mais après une production croissante pendant quelque temps, la production a commencé à décliner avec l'arrivée de nouveaux concurrents.

Le succès économique de ces premières cultures incitèrent d'autres pays comme l'Italie, la Tunisie, l'Égypte, le Congo, le Kenya, Madagascar, l'Inde, les Comores, l'Afrique du Sud, l'Espagne, le Portugal , etc., et finalement la Chine, à se lancer aussi dans la culture.

3. Huil essentielle :

3.1 D'où provient l'huile essentielle de géranium rosat:

Il s'agit d'une plante originaire d'Afrique du Sud, mais le géranium rosat est cultivé dans toutes les régions du monde. Elle est reconnaissable par ses feuilles vertes découpées et ses fleurs roses, rouges ou blanches. Ses composantes principales sont les cétones monoterpéniques et les alcools monoterpéniques.

3.2 Les propriétés de l'huile essentielle de géranium rosat :

- Cicatrisante
- Hémostatique
- Antalgique

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

- Anti-inflammatoire
- Antispasmodique
- Tonique
- Relaxante
- Antibactérienne
- Antioxydante et cancéreuse (à vérifier)

3.3 Les maladies traitées par l'huile essentielle de géranium rosat :

Cette huile essentielle est très utile pour apaiser les dermatoses comme l'herpès, le psoriasis ou la rosacée. Grâce à ses propriétés relaxantes, elle permet de calmer l'anxiété et le stress. L'huile essentielle de géranium rosat est applicable sur l'acné, les brûlures, l'eczéma, les plaies et l'impétigo. Il est possible de l'utiliser afin de soulager l'arthrite, les tendinites et les rhumatismes, car l'essence de géranium rosat est également antalgique. Enfin, elle peut s'appliquer sur une coupure pour qu'elle cicatrise plus rapidement.

3.4 l'huile essentielle de géranium utilisée par :

L'huile essentielle de géranium rosat est autorisée chez les adultes et les adolescents. Cependant, elle reste déconseillée chez les enfants de moins de trois ans, les femmes enceintes et les mères qui allaitent. Une précaution est à prendre concernant les risques allergiques. Testez toujours l'huile essentielle dans le creux de votre coude pour vérifier que vous n'allez pas faire une réaction allergique. Faites également attention à la diluer dans de l'huile végétale avant une application cutanée, car cette essence est très irritante pour la peau.

3.5 Les Modes d'application de l'huile de géranium rosat :

L'essence de géranium rosat peut être prise par voie orale, appliquée par voie cutanée, inhalée en mettant quelques gouttes sur un mouchoir ou diffusée. Il n'y a aucune contre-indication concernant les modes d'applications.

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

3.6 Comment bien utiliser l'huile de géranium rosat :

Après une petite coupure, vous pouvez appliquer une goutte de géranium rosat sur la plaie.

Renouvelez ce geste, trois fois par jour jusqu'à ce que la blessure disparaisse.

Si vous avez une peau acnéique, l'huile essentielle de géranium rosat va également vous soulager.

Matin et soir, après avoir nettoyé votre visage, appliquez sur chaque bouton une goutte de géranium rosat. Après trois semaines d'utilisation, faites une petite semaine de pose pour éviter d'irriter votre peau.

3.6.1 En usage interne :

3.6.1.1 Contre le diabète.

Infusion :

- Mélanger 50 g de géranium Robert (tiges et feuilles), d'aigremoine (tiges et feuilles), d'olivier (feuilles), d'ortie piquante (feuilles) et de myrtilles (feuilles).
- Faire bouillir 1 cuillère à soupe du mélange pour 1 tasse d'eau pendant 3 minutes.
- Laisser infuser 10 minutes.
- Boire 2 à 3 tasses par jour.

3.6.2 En usage externe :

3.6.2.1 Pour activer la micro-circulation du cuir chevelu.

Massage :

- Mélanger 5 ml d'huile essentielle de géranium, de genévrier, de cyprès, de romarin et d'ylang-ylang dans 100 ml d'huile d'amande douce.
- Appliquer sur le cuir chevelu et masser environ une heure avant de faire un shampoing.
- Réaliser 1 massage par semaine pendant 3 mois.
-

3.6.2.2 Pour traiter les fissures anales.

Massage :

Chapitre 2 : Plantes médicinales et géranium rosat

- Mélanger 50 gouttes d'huile essentielle de géranium rosat, d'arbre à thé, de lavande et d'hélichryse dans 50 ml d'huile de millepertuis.
- Appliquer sur la lésion après les selles et masser doucement (3 fois par jour).

3.6.2.3 Pour atténuer les cicatrices.

Massage :

- Mélanger 5 ml d'huile essentielle de géranium rosat, d'arbre à thé et de lavande dans 100 ml d'huile de rosier muscat.
- Appliquer sur la cicatrice.
- Masser profondément sur et autour de la lésion.
- Masser doucement si la cicatrice résulte d'une opération qui a été réalisée il y a moins d'un mois.
- Répéter les massages jusqu'à l'amélioration de l'apparence de la cicatrice.

3.6.2.4 Pour traiter la rosacée.

Huile de soin :

- Mélanger 50 gouttes de ciste, 50 gouttes d'arbre à thé, 30 gouttes de géranium rosat, 30 gouttes de cyprès et 30 gouttes d'hélichryse dans 100 ml d'huile de calendula ou de souci.
- Appliquer directement sur les lésions 2 fois par jour (matin et soir).

3.6.2.5 Pour prévenir les piqûres de moustiques.

Application locale :

- Appliquer de l'huile essentielle de géranium rosat sur les parties du corps exposées aux piqûres (bras, jambes, cou).

Méthodologie

1. Présentation

Nous avons traité deux articles qui parlent du *Pelargonium graveolens*

Article 1 : Phenolic profile, antibacterial and antioxidant activity of *pelargonium graveolens* leaves' extracts

Article 2 : Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* l'herq

Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, Vol. XIX, 2015
ISSN 2285-1364, CD-ROM ISSN 2285-5521, ISSN Online 2285-1372, ISSN-L 2285-1364

PHENOLIC PROFILE, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* LEAVES' EXTRACTS

Maria Dimitrova¹, Dasha Mihaylova², Aneta Popova¹, Jordanka Alexieva¹,
Tana Sapundzhieva¹, Hafize Fidan¹

¹Dep. of Catering and Tourism, University of Food Technologies,
26 Maritza Blvd., Plovdiv, Bulgaria

²Dep. of Biotechnology, University of Food Technologies, 26 Maritza Blvd., Plovdiv, Bulgaria

Corresponding author: popova_aneta@abv.bg

Abstract

Pelargonium graveolens, commonly known as rose geranium, is an aromatic and medicinal plant belonging to the Geraniaceae family. The aim of the present study was to evaluate the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Pelargonium graveolens*, as well as to determine the total phenolic content of the studied extracts. Four spectrophotometric assays were used for the radical scavenging ability analysis, namely ABTS, DPPH, CUPRAC, and FRAP. The inhibitory activity of the leaves' extracts was tested against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *Salmonella*.

The total phenolics ranged from 1.65 to 8.23 mg GAE/g FW. Antibacterial activity, whose zone of inhibition varied from 15 mm to 19 mm depending on the extract quantity, was shown only against *L. monocytogenes*.

Key words: *Pelargonium graveolens*, antioxidants, antimicrobial activity, phenolics.

INTRODUCTION

Antioxidants are compounds that can delay or prevent the oxidation of lipids or other molecules by inhibiting the initiation or propagation of oxidative chain reactions (Velioglu et al., 1998). There are two basic categories of antioxidants, namely, synthetic and natural. Natural antioxidants are more readily acceptable than synthetic ones. They inhibit the oxidative damage of food products and may prevent inflammatory conditions and neurodegenerative disease (Mahdich et al., 2013). The antioxidant activity is a fundamental property important for life. Many of the biological functions, such as anti-mutagenicity, anticarcinogenicity, and anti-aging, among others, originate from this property (Cook and Samman, 1996; Huang et al., 1992).

Plants are potential sources of natural antioxidants, and certain species are particularly significant because they may be used for the production of raw materials or preparations containing phytochemicals with significant antioxidant capacities and health benefits (Exarchou et al., 2002). The

antioxidative effect is mainly due to phenolic compounds, such as flavonoids, phenolic acids, tannins, and phenolic diterpenes (Shahidi et al., 1992; Chung et al., 1998; Pietta, 2000). Flavonoids and other polyphenolic compounds are a much investigated group of antioxidants in plants exerting bio-protective effects and having strongly positive influence on human health. Many studies have reported that phenolic compounds in spices and herbs significantly contributed to their antioxidant and pharmaceutical properties (Cai et al., 2004; Shan et al., 2005; Wu et al., 2006). Their effect in reducing many chronic, cardiovascular and carcinogenic diseases is remarkable (Slezák et al., 2007). Some studies claim that the phenolic compounds present in spices and herbs might also play a major role in their antimicrobial effects (Hara-Kudo et al., 2004).

The demand of producing high-quality, safe (pathogen-free) food relies increasingly on natural sources of antimicrobials to inhibit food-spoilage organisms and food-borne pathogens and toxins. The discovery and development of new antimicrobials from natural sources for a wide range of applications requires that knowledge of traditional sources



Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont

Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her[☆]

Sanja Čavar^{*}, Milka Maksimović

University of Sarajevo, Faculty of Science, Department of Chemistry, Zrinjski od Bosph 33-35, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

ARTICLE INFO

Article history:
Received 18 May 2011
Received in revised form
20 July 2011
Accepted 26 July 2011

Keywords:
Pelargonium graveolens L'Her.
GC/MS
Total phenolics
Antioxidant activity

ABSTRACT

Pelargonium graveolens L'Her is an aromatic, rose-scented herb which is indigenous to various parts of southern Africa, and nowadays cultivated worldwide. This work presents the first phytochemical investigation of *P. graveolens* cultivated in Bosnia. The volatile profile of odorous parts of the plant was analysed by GC/MS. More than eighty compounds were identified in essential oils obtained from the leaves and stems, representing 92.3% and 96.3% in total, respectively. The major compounds in essential oils were oxygenated monoterpenes (64.3–74.2%), with geraniol (27.5–50.2%) and citronellol (14.2–19.0%) as the main representatives. The content of phenolic compounds in corresponding hydrosols as 34.88 ± 2.00 mg GAE/g in leaves and 102.44 ± 1.63 mg GAE/g in stems including flavonoid compounds of 32.35 ± 0.81 mg GAE/g to 101.87 ± 1.03 mg GAE/g. The radical-scavenging activity was measured by the DPPH method and IC₅₀ values ranged from 0.19 ± 0.05 mg/mL (stems) to 0.39 ± 0.04 mg/mL (leaves) for hydrosols, and from 63.70 ± 1.56 mg/mL (leaves) to 64.88 ± 1.12 mg/mL (stems) for essential oils.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Among various kinds of natural substances, essential oils from aromatic and medicinal plants receive particular attention as potential natural agents for food preservation. Thus the importance of conducting studies on essential oils lies not only in the chemical characterisation but also in the possibility of linking the chemical contents with particular bioactive functional properties. The capacity of spices and flavours to minimise disease risk, within the context of culinary use, has not been completely evaluated. There is a strong need to understand the preventive effect of spices and natural flavours for counter acting oxidative damages.

In recent years the general public has shown an increased interest in the use of herbal medicines in preference to synthetic drugs. This is based on the belief that natural products are intrinsically less dangerous to humans and can be obtained at a lower cost. According to the modern theory of free radical biology and medicine, reactive oxygen species are involved in several disorders, such as cardiovascular diseases and cancers. This kind of risk can be

reduced by an appropriate dietary pattern including natural antioxidants (Balasundram, Sundram, & Samma, 2006).

The genus *Pelargonium* that belongs to the Geraniaceae family comprises about 270 distinct species. *Pelargonium graveolens* L'Her., commonly known as the rose geranium, is an undershrub that originated around the southern tip of Africa and was introduced to Europe through spice trade and medicinal plant collection by sailors in the early seventeenth century (Miller, 2002). Nowadays it grows throughout the world and is cultivated in the herb gardens of many countries, mostly for its repellent activity against mosquitoes (Pohlit, Lopes, Gama, Tadei, & Neto, 2011). The essential oil fraction of this plant is widely and extensively used in cosmetic industry, in aromatherapy, and as flavouring for foods due to its unique strong rose-like fragrance (Miller, 2002). It is one of the best skincare oils because it is good in opening skin pores and cleaning oily complexions. This plant is traditionally used in Western Balkan region as a flavouring agent in most major categories, alcoholic, soft drinks and especially with pink-coloured food products. Other uses of geranium essential oil that are becoming increasingly popular include the treatment of dysentery, haemorrhoids, inflammation, heavy menstrual flows, and even cancer (Lis-Balchin, 2002; Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010).

There are significant variations in the composition of the oil of *P. graveolens* depending on cultivars and culture conditions; all of essential oils of this specimen are rich in monoterpene alcohol geraniol and/or ketone menthone (Lalli, Viljoen, Baser, Demirci, &

[☆] Part of this study was presented at 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product, 28th August–2nd September 2010, Berlin, Germany.

^{*} Corresponding author. fax: +387 33 649 359.

E-mail addresses: sanja.cavar@ymf.unsa.ba, sanja.cavar@yahoo.com (S. Čavar).

2. Données des articles

Quelques grandes différences entre les deux travaux sont résumées sur le tableau ci-dessous (Tableau 01)

Tableau 01 : comparaison entre les deux travaux publiés sur les deux articles

	Article 1	Article 2
Plante étudiée	<i>Pelargonium graveolens</i>	<i>Pelargonium graveolens</i>
Origine de la plante	Bulgaria	Bosnie
Partie de la plante	La partie aérienne	La partie aérienne (tiges et feuilles)
Extractions	3 extraits : Macéré ; Décocté ; Infusé	Hydro-distillation (huile essentielle)
Activités recherchées	Antioxydante et anti- microbienne	Antioxydante

Techniques d'évaluation du pouvoir antioxydant choisies	Réduction du DPPH et ABTS Réduction de Fer (FRAP) CUPRAC	Réduction du DPPH
---	---	-------------------

3. Résultats

3.1. Article 1

Sur le tableau ci-dessous (tableau 1), nous résumons les résultats de l'activité antioxydante des extraits (décocté, infusé et macéré) de géranium rosat.

Tableau 2 : Résultats de l'activité antioxydante des extraits (décocté, infusé et macéré) de géranium rosat (Article 1). Les valeurs représentent les IC 50 et EC50 en mg/ml.

	DPPH (IC50)	ABTS DPPH (IC50)	FRAP(EC50)	CUPRAC (EC50)
Décocté	120,26	198,91	218,16	122,96
Infusé	36,81	23,15	55,77	166,74
Macéré	123,26	223,76	231,64	176,98

Le tableau montre trois échantillons de différentes extractions (macération ; décoction ; infusion) avec différents techniques d'évaluation du pouvoir antioxydantes (DPPH ; ABTS ; FRAP ; CUPRAC).

Les résultats sont variables d'une technique à l'autre et montrent que pour les trois premières méthodes (DPPH ; ABTS ; FRAP), l'infusé a donné les meilleures activités.

Pour la technique de CUPRAC, le décocté a montré un pouvoir réducteur intéressant.

3.2. Article 2

L'article 2 s'intéresse à l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et l'hydrolat du géranium rosat. Les résultats sont résumés sur le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de l'activité antioxydante des huiles essentielles et hydrolats de géranium rosat (Article 2). Les valeurs représentent les IC 50 en mg/ml.

Echantillon	HE (tiges)	HE (feuilles)	Hydrolat (tiges)	Hydrolat (feuilles)	Thymol
DPPH	64,88	63,7	0,19	0,39	1,90

Ce tableau montre les résultats de la technique de " DPPH " sur quatre échantillons, le thymol comme molécule de référence, les hydrolats des tiges et des feuilles, et les huiles essentielles des feuilles et tiges) .

Nous remarquons que le valeur de l'IC50 des hydrolats des tiges et feuilles (0,19 et 0,39 respectivement) étaient faibles que les huiles essentielles et aussi même par rapport au témoin (thymol).

- Nous concluons que les hydrolats de *Pelargonium graveolens* sont plus efficaces que les huiles essentielles et le thymol.

Conclusion

A travers une analyse de deux articles et suite aux résultats obtenus nous concluons que :
L'hydrolat présente une activité très élevée, suivie de l'huile essentielle.

L'extrait éthanolique possède la plus faible activité antioxydante. L'ensemble des résultats obtenus sur la mise en évidence de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait éthanolique ne constituent qu'une première ébauche dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives de cette plante. D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises.

Plusieurs perspectives prouvent être proposées ;

- Réalisation d'autres méthodes d'extractions, et utilisations des solvants différents.
- Changement de la région et la période de récolte.
- Réalisation des tests différents pour une meilleure évaluation du pouvoir antioxydant de la plante étudiée.
- Réalisation d'autres tests pour évaluer l'activité antimicrobienne, antifongique, antidiabétique, antitumorale et d'autres activités biologiques.
- Faire des études sur la toxicité de la plante.

Références bibliographiques

- 1- **Bongende P.L, (2003).** Effets de certaines plantes médicinales sur la normalisation de la forme des globules rouges drepanocytoses. TFC inédite fac des sc. Unikis.
- 2- **Wome, B. (1985).** Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani (Haut Zaïre) ; thèse inédite, fac des Sc., WLB, tome I, 561 p.
- 3- **Ghédira, K., & Goetz, P. (2016).** *Malva sylvestris L. (Malvaceae) : Mauve.* *Phytothérapie*, 14(1), 68-72.
- 4- **Oladeji, O. (2016).** The Characteristics and roles of medicinal plants: Some important medicinal plants in Nigeria. *Nat Prod Ind J*, 12(3), 102.
- 5- **Boyrie, F. R. (2014).** *Créer son jardin Mandala - Les plantes médicinales.* Escalquens: Editions Dangles .
- 6- **Hamel T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir S., Boulemtafes, A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, n°59.
- 7- **Flores, M. (2011).** *Malva sylvestris L. et autres mauves de France ;* Diplôme d'état de docteur en pharmacie ; Université de Nantes ; France ; p.74-157.
- 8- **Ait youcef, M. (2006).** *Plantes médicinales de Kabylie.* Ibis press, Paris ; p199-202.
- 9- **Merlin, B. (2022, 04 04).** jardiner malin. Récupéré sur jardiner malin nature et jardin: <https://www.jardiner-malin.fr/sante/geranium-bienfaits->

[vertus.html?fbclid=IwAR2vBP-nweGUP8TsfPBl8N-5srP-NuHEZU7OxVKaT-PDh0XhbdV-oPCdWQ8](https://www.researchgate.net/publication/332111111/figure/fig/1/figure-pdf/1466-1472-vertus.html?fbclid=IwAR2vBP-nweGUP8TsfPBl8N-5srP-NuHEZU7OxVKaT-PDh0XhbdV-oPCdWQ8)

- 10- **Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2010).** Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1466-1472.

- 11- **Hussain L., Ikram J., Rehman K., Tariq M., Ibrahim M. & Akash M. S. H. (2014).** Hepatoprotective effects of *Malva sylvestris* L. against paracetamol induced hepatotoxicity. *Turk J Biol*38, 396-402.

- 12- **Mera, I. F. G., Falconí, D. E. G., & Córdova, V. M. (2019).** Secondary metabolites in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Rev Bionatura*, 4, 1000-9.

- 13- **El Kalamouni, C. (2010).** *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation).

- 14- **Pradeepa, M., Kalidas, V., & Geetha, N. (2016).** Qualitative and quantitative phytochemical analysis and bactericidal activity of *Pelargonium graveolens* L'Her. *Int J Appl Pharm*, 8(3), 7-11.

- 15- **Rédaction Medisite. (2016, 09 26).** Medisite. Récupéré sur Medisite: <https://www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinales-geranium-rosat-robert.1188634.8.html?fbclid=IwAR2xDK7Le8cEf4Z3freOvIqRZllpIH6fh5OE-6JH400aUobArMR9MMtIhu0>

- 16- **Asgarpanah, J., & Ramezanloo, F. (2015).** An overview on phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L.

- 17- **Xu, Z., Deng, M. (2017).** Geraniaceae. *Identification and Control of Common Weeds*, 2, 629–637.
- 18- **Janin, J. (2006).** Intoxication volontaire par l'ingestion d'huile essentielle de Géranium Bourbon (*Pelargonium Graveolens*) : à propos d'un cas réunionnais (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- 19- **Ćavar, S., & Maksimović, M. (2012).** Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. *Food control*, 23(1), 263-267.
- 20- **Aquaportail. (2022).** Récupéré sur aquaportail: <https://www.aquaportail.com/>
- 21- **Atailia, I., & Djahoudi, A. (2015).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivé en Algérie. *Phytothérapie*, 13(3), 156-162.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/279834912>

PHENOLIC PROFILE, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PELARGONIUM GRAVEOLENS LEAVES' EXTRACTS

Conference Paper · June 2015

DOI: 10.13140/RG.2.1.1.2368.7128

CITATIONS

4

READS

847

6 authors, including:



Aneta Popova

University Of Food Technology - Plovdiv

63 PUBLICATIONS 281 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Maria Dimitrova-Dimova

University Of Food Technology - Plovdiv

6 PUBLICATIONS 21 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Dasha Mihaylova

University Of Food Technology - Plovdiv

123 PUBLICATIONS 653 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Iordanka Alexieva

University Of Food Technology - Plovdiv

46 PUBLICATIONS 193 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Healthy nutrition through biological activity [View project](#)



Salvia candidissima Vahl. ssp. occidentalis [View project](#)

PHENOLIC PROFILE, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* LEAVES' EXTRACTS

Maria Dimitrova¹, Dasha Mihaylova², Aneta Popova¹, Jordanka Alexieva¹,
Tana Sapundzhieva¹, Hafize Fidan¹

¹Dep. of Catering and Tourism, University of Food Technologies,
26 Maritza Blvd., Plovdiv, Bulgaria

²Dep. of Biotechnology, University of Food Technologies, 26 Maritza Blvd., Plovdiv, Bulgaria

Corresponding author: popova_aneta@abv.bg

Abstract

Pelargonium graveolens, commonly known as rose geranium, is an aromatic and medicinal plant belonging to the Geraniaceae family. The aim of the present study was to evaluate the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Pelargonium graveolens*, as well as to determine the total phenolic content of the studied extracts. Four spectrophotometric assays were used for the radical scavenging ability analysis, namely ABTS, DPPH, CUPRAC, and FRAP. The inhibitory activity of the leaves' extracts was tested against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *Salmonella*.

The total phenolics ranged from 1.65 to 8.23 mg GAE/g FW. Antibacterial activity, whose zone of inhibition varied from 15 mm to 19 mm depending on the extract quantity, was shown only against *L. monocytogenes*.

Key words: *Pelargonium graveolens*, antioxidants, antimicrobial activity, phenolics.

INTRODUCTION

Antioxidants are compounds that can delay or prevent the oxidation of lipids or other molecules by inhibiting the initiation or propagation of oxidative chain reactions (Velioglu et al., 1998). There are two basic categories of antioxidants, namely, synthetic and natural. Natural antioxidants are more readily acceptable than synthetic ones. They inhibit the oxidative damage of food products and may prevent inflammatory conditions and neurodegenerative disease (Mahdieh et al., 2013). The antioxidant activity is a fundamental property important for life. Many of the biological functions, such as anti-mutagenicity, anticarcinogenicity, and anti-aging, among others, originate from this property (Cook and Samman, 1996; Huang et al., 1992).

Plants are potential sources of natural antioxidants, and certain species are particularly significant because they may be used for the production of raw materials or preparations containing phytochemicals with significant antioxidant capacities and health benefits (Exarchou et al., 2002). The

antioxidative effect is mainly due to phenolic compounds, such as flavonoids, phenolic acids, tannins, and phenolic diterpenes (Shahidi et al., 1992; Chung et al., 1998; Pietta, 2000). Flavonoids and other polyphenolic compounds are a much investigated group of antioxidants in plants exerting bio-protective effects and having strongly positive influence on human health. Many studies have reported that phenolic compounds in spices and herbs significantly contributed to their antioxidant and pharmaceutical properties (Cai et al., 2004; Shan et al., 2005; Wu et al., 2006). Their effect in reducing many chronic, cardiovascular and carcinogenic diseases is remarkable (Slezák et al., 2007). Some studies claim that the phenolic compounds present in spices and herbs might also play a major role in their antimicrobial effects (Hara-Kudo et al., 2004).

The demand of producing high-quality, safe (pathogen-free) food relies increasingly on natural sources of antimicrobials to inhibit food-spoilage organisms and food-borne pathogens and toxins. The discovery and development of new antimicrobials from natural sources for a wide range of applications requires that knowledge of traditional sources

for food antimicrobials is combined with the latest technologies in identification, characterization and application.

Some plants have been added to food since ancient times, not only as flavoring agents, but also as folk medicine and food preservatives (Beuchat, 1994; Nakatani, 1994; Cutler, 1995). Spices and herbs are well known for their antimicrobial and antioxidant properties and have the ability to produce multidimensional flavors in food (Uhl, 2000).

Rose geranium is a species which belongs to the *Pelargonium* genus, *Geraniaceae* family. It has a woody, straight stem with branches; its leaves are usually alternate, palmately lobed or pinnate, often on long stalks, and sometimes with light or dark pattern; covered with short, rough hairs, which give the plant a strong, pleasant rose-like scent (Balchin et al., 1995).

It had been brought in Europe from South Africa in the beginning of the eighteenth century (Miller, 2002). At present days, it grows in different parts of the world and is cultivated, mostly for its repellent activity against mosquitoes (Pohlit et al., 2011). It is also widely used in cosmetic industry and as flavoring for foods (Lis-balchin, 2006). Rose-scented geranium (*P. graveolens* L'Hér.) is also widely known as one of the medicinal herbs with the highest antioxidant activity (Newman et al., 2007). In herbal medicine its leaves are used for the treatment of gastrointestinal diseases, throat infections, and bleeding (Saraswathi et al., 2011).

According to the data on chemical composition the dominant volatiles of the *P. graveolens* essential oil were citronellol, geraniol and citronellyl formate (Verma et al., 2010; Ghannadi et al., 2012).

Through several studies it was shown that extracts of *Pelargonium graveolens* possess antibacterial and antifungal activity (Baratta et al., 1998; Dorman and Deans, 2000). The antimicrobial and antimalarial activity of *P. graveolens* extracts was also studied by Lalli (2006). In addition to that, antioxidant and antitermitic activity of *P. graveolens* has also been reported (Zheng and Wang, 2001; Fayed, 2009; Seo et al., 2009; Čavar and Maksimović, 2012).

The objective of the present work is to provide much needed information concerning the antioxidant and antimicrobial activity of

extracts of Bulgarian *Pelargonium graveolens* which have not yet been extensively studied and evaluated.

MATERIALS AND METHODS

Extract preparation

Fresh plant material of *Pelargonium graveolens* was subjected of three different types of extractions:

- *decoction* – extraction by boiling of the plant material for 30min with distilled water;

- *infusion* - extraction by boiling water and then pouring it over the herb, which is then allowed to steep in the liquid for 30 min

- *heat reflux extraction* - alcoholic extraction (70 % ethanol as solvent) for 30min;

The resulting extracts solutions were filtered before analyzed.

Determination of total phenolics

A modified Kujala et al. (2010) method with Folin - Ciocalteu's reagent was used for the determination of the total polyphenolic content (TPC). Gallic acid was employed as a calibration standard and the results were expressed as mg gallic acid equivalents (mg GAE) per gram of plant fresh weight.

Determination of antioxidant activity

DPPH radical scavenging activity

The ability of the extracts to donate an electron and scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical was determined by the slightly modified method of Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995). Freshly prepared 4×10^{-4} M methanolic solution of DPPH was mixed with the samples and a standard solution in a ratio of 2:0.5 (v/v). The light absorption was measured at 515 nm and the percentage of inhibition of DPPH[•] by the obtained extracts was calculated for each sample using the following formula:

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

Where: A_B = absorbance of the control without sample; A_E = absorbance of the test sample with DPPH[•]

The DPPH radical scavenging activity was presented as a function of the concentration of Trolox. The unit of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) was defined by the concentration of Trolox having equivalent antioxidant activity expressed as $\mu\text{M TE/g FW}$.

ABTS radical scavenging assay

The radicals scavenging activity of the extracts against radical caption (ABTS^{•+}) was estimated according to Re et al. (1999) with some modifications. ABTS^{•+} was produced by reacting 7 mM of ABTS solution with 2.45 mM potassium persulphate, and the mixture was kept in the dark at room temperature (20 - 22°C) for 12-16 h. At the moment of use, the ABTS solution was diluted with ethanol to an absorbance of 0.7 ± 0.02 at 734 nm and equilibrated at 30°C. Each sample (0.01 ml) was added to 1 ml of ABTS diluted (working) solution and mixed vigorously. After reaction at 30°C for 6 min, the absorbance at 734 nm was measured. The percentage of inhibition of ABTS^{•+} by the obtained extracts was calculated for each sample using the following formula:

$$\% \text{ Inhibition} = [(AB-AE)/AB] \times 100,$$

Where: A_B = absorbance of the control without sample; A_E = absorbance of the test sample with ABTS^{•+}.

The TEAC value was defined as the concentration of Trolox having equivalent antioxidant activity expressed as $\mu\text{M TE}$ per gram fresh weight ($\mu\text{M TE/g FW}$).

CUPRAC assay

The CUPRAC assay was carried out according to the procedure of Apak et al., 2008. To a test tube were added 1 mL of CuCl_2 solution ($1.0 \times 10^{-2}\text{M}$), 1 mL of neocuproine methanolic solution ($7.5 \times 10^{-3}\text{M}$), and 1 mL NH_4Ac buffer solution (pH 7.0), and mixed; 0.1 mL of herbal extract (sample) followed by 1 mL of water were added (total volume = 4.1 mL), and mixed well. Absorbance against a blank reagent was measured at 450 nm after 30 min. Trolox was used as standard and total antioxidant capacity of extracts was expressed as $\mu\text{M TE/g FW}$.

FRAP assay

The FRAP assay was carried out according to the procedure of Benzie & Strain (1996) with slight modification. FRAP assay measures the change in absorbance at 593 nm owing to the formation of a blue coloured Fe (II)-tripyridyltriazine compound from colourless oxidized Fe (III) form by the action of electron donating antioxidants. Briefly, the FRAP reagent was prepared from 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ solution in 40 mM HCl, and 20 mM iron (III) chloride solution in proportions of 10:1:1 (v/v),

respectively. The FRAP reagent was prepared fresh daily and was warmed to 37°C in a water bath prior to use. One hundred and fifty microliters of plant extracts were allowed to react with 2850 μl of the FRAP reagent solution for 4 min at 37°C. The absorbance of the reaction mixture was recorded at 593 nm. The results were expressed as $\mu\text{M TE/g FW}$.

Antimicrobial analysis

Antibacterial activity was tested against Gram-positive bacteria - *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25093, and Gram-negative bacteria – *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Abony* NCTC 6017. The selective growth media, used in the analyses respectively were: *Listeria* Oxford Agar Base with cicloheximide supplement /Biolife/; ENDO agar /Merck/; LEIFSON Agar /Merck/; Baird Parker Agar Base with Egg Yolk Tellurite emulsion supplement /Biolife/. The media were inoculated with 24-hour suspension of the corresponding bacterial species.

For the microbial analyses a crude extract of rose geranium leaves was obtained under aseptic surroundings by mashing fresh leaves after preliminary washing under tap water, sterilized distilled water and soaking for 5 min with ethanol and exposing under the influence of ultraviolet illumination for 20 min.

Antimicrobial assay by agar diffusion method

The agar diffusion test was used to determine the antibacterial activity of crude extract of *P. graveolens*. Melted and cooled to the temperature at about 45°C selective media were inoculated with the tested microorganisms and after setting of media, small amount of crude extract, respectively 0.05; 0.10 and 0.15 cm^3 , was placed into sterile metal rings (Ø 6 mm). Plates were incubated at 37°C for required incubation periods (24h or 48h) according to the strain type and then the distinct zone of growth inhibition around the rings was measured.

Statistical analysis

All measurements were carried out triplicates. The results were expressed as mean \pm SD and statistically analysed using MS-Excel software.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Since there have been numerous studies suggesting a direct correlation between phenolic substances and antioxidant activity, the estimation of the total phenolics is very important. The phenolic content could be an indicator of the antioxidant capacity of the studied extracts. The total content of phenolics was determined using the FC reagent, which is sensitive to many classes of phenolic compounds. The results are given on Fig. 1.

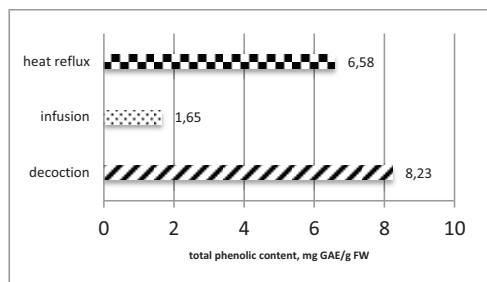


Figure 1. Total phenolic content of extracts of fresh *R. graveolens* leaves, mg GAE/g FW

The decoction extract contained 1.2 times more phenolic substances than the heat reflux extract, while the infusion led to the lowest phenolic values. Water was also proven to be more suitable in other herb extracts (Alexieva et al., 2014). Bichra et al. (2013) reported significantly lower TPC values (0.12 mg/g EGA) from an aqueous extract.

Measuring the antioxidant activity of food products such as natural compounds began to present a great interest in recent years. There are several methods to determine the antioxidant capacity of plant extracts. However, the chemical complexity of extracts could lead to scattered results obtained from different techniques, depending on the test employed. Therefore, an approach with multiple assays in the screening work is highly advisable.

Antioxidant activity was measured by four different assays DPPH, ABTS, FRAP and CUPRAC using Trolox equivalents to express the results. The systems DPPH and ABTS are excellent tools for determining the antioxidant activity of hydrogen donating and chain breaking antioxidants (Thaipong et al., 2006). The FRAP and CUPRAC methods are based on the measurement of the ferric and cupric

reducing ability. Both methods are based on electron transfer and are considered to be a good indicator for total antioxidant power because total reducing power is the sum of the reducing powers of individual compounds presented in a sample (Tezcan et al., 2011).

The antioxidant activity of the tested samples is given in Table 1.

Table 1. *In vitro* antioxidant activity ($\mu\text{M TE/g FW}$) of *P. graveolens* extracts

Method/ Plant sample	Decoction	Infusion	Heat reflux
TEAC _{ABTS}	198.91 \pm 10.71	23.15 \pm 0.59	223.76 \pm 1.26
TEAC _{DPPH}	120.26 \pm 1.37	36.81 \pm 0.46	121.26 \pm 1.10
TEAC _{FRAP}	218.16 \pm 0.71	55.77 \pm 0.46	231.64 \pm 3.57
TEAC _{CUPRAC}	122.96 \pm 7.67	166.74 \pm 7.82	176.98 \pm 0.01

The ABTS scavenging capacity ranged from 23.15 (infusion) to 223.76 (heat reflux) $\mu\text{M TE/g FW}$. The highest DPPH values were found to be 121.26 $\mu\text{M TE/g FW}$. Čavar and Maksimović (2012) published the radical scavenging activity of extracts and essential oils of *P. graveolens*. They measured the DPPH antioxidant capacity and reported values of 63.70 mg/ml for the leaves. In another study the antiradical activity of the geraniol oil was found to be ranging from 14.49 mg/ml to 66.45 $\mu\text{g/ml EC}_{50}$ value (Fayed, 2009). Džamić et al. (2014) reported that the oil exhibited antioxidant activity and reduced DPPH to 50% at EC_{50} value of 0.802 mg/ml of oil solution.

Significant FRAP activity was evident in the heat reflux extract of *P. graveolens* leaves. In accordance with the FRAP, ABTS and DPPH assays, the highest values in the CUPRAC assay were also found in the heat reflux extract. Ethanol appeared to be a better extractant as far as antioxidant activity is being measured. This is in disagreement with the TPC values, where water was the most suitable medium, and is probably due to the different mechanism of contribution of each individual component to the total radical scavenging activity of the studied samples.

Many herbs and plants are known to have therapeutic and antimicrobial properties, and their biological activity is currently the subject of renewed interest (Okigbo et al., 2008).

However, only few of them have been characterized for their antibacterial activities (Halcon and Milkus, 2004). The antimicrobial activity of the crude extract of *Pelargonium graveolens* leaves were evaluated against four bacteria species. The results of the antibacterial activity are presented in Table 2.

Table 2. Zones of growth inhibition (mm) of tested pathogenic bacteria by crude extract of *Pelargonium graveolens* leaves

Plant sample / Bacteria	<i>P. graveolens</i>		
	0.05cm ³	0.10cm ³	0.15cm ³
St. aureus	0,6	0,6	0,6
L. monocytogenes	1,5	1,7	1,9
E. coli	0,6	0,6	0,6
S. enterica	0,6	0,6	0,6

The tested extract possessed antibacterial activity against Gram (+) bacteria - *Listeria monocytogenes* NCTC 11994. On the basis of inhibition zone diameters, *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 was more sensitive to the extract than the other bacterial species. Recent research on *P. graveolens* oil revealed that it manifests a strong inhibitory effect on Gram-positive bacterial the extract than the other bacterial species. Recent research on *P. graveolens* oil revealed that it manifests a strong inhibitory effect on Gram-positive bacterial strains such as *Staphylococcus aureus* (Silva and Fernandes, 2010).

CONCLUSIONS

The outcomes of the current investigation prompt the necessity for further studies of the *P. graveolens*, focusing on the isolation and structure elucidation of its antioxidant compounds, since they have potential use as therapeutic agents in managing diseases associated with free radicals and also have the potential to be employed as additives in the food industry.

REFERENCES

Alexieva J., Mihaylova D, Popova A., 2013, Evaluation of the antioxidant capacity of aqueous extracts of fresh *Chrysanthemum balsamita* L. leaves growing in Bulgaria, University of Ruse Proceedings, 52 (10.2), 89-91

Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of

neocuproine: CUPRAC method, JAgricFoodChem, 52, 7970-7981

Balchin-Lis M., Hart S.L., Deans S.G., Eaglesham E., 1995, Potential agrochemical and medicinal usage of essential oils of *Pelargonium* species, J Herbs Spices Med Plants, 3:11-22

Baratta M.T., Dorman H.J., Deans S.G., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Ruberto G., 1998, Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils, FlavFragJ, 13:235-244

Benzie I.F.F., Strain J.J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239, p. 70-76, PMID: 8660627. Biol. Med., 23(2): 302-313.

Beuchat, L.R., 1994, Antimicrobial properties of spices and their essential oils, Dillon, Y.M., Board, R.G. (Eds.), Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation, CAB International, Oxon, 167-179

Bichra M., Cherkaoui M., Abdelilah A., Hafida B., Fatiha B., 2013, Antioxidant activities and phenolic profile of six Moroccan selected herbs, JMBFS, 2(4)2320-2338

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, FoodSciTechnol, 28, 25-30

Cai Y.Z., Luo Q., Sun M., Corke H., 2004, Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, LifeSci., 74, 2157-2184

Čavar S., Maksimović M., 2012, Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her., Food Control, 23:263-267

Chung K.T., Wong T.Y., Huang Y.W., Lin Y., 1998, Tannins and human health: A review, Crit. Rev.Food Sci.Nutr., 38, 421-464

Cook N.C., Samman S., 1996, Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, Nutr. Biochem., 7, 66-76

Cutler H.G., 1995, Natural product flavor compounds as potential antimicrobials, insecticides, and medicinals, Agro-Food-Industry Hi-Tech, 6, 19-23

Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000, Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plants volatile oils, JApMicrobiol., 88: 308-316

Džamić A.M., Soković M.D., Ristić M.S., Grujić S.M., Mileski K.S., Marin P.D., 2014, Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil, J App Pharm Sci, 4(03):001-005

Exarchou V., Nenadis N., Tsimidou M., Gerothanassis I.P., Troganis A., Boskou D., 2002, Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory, J. Agric. Food Chem., 50, 5294-5299

Fayed S.A., 2009, Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulatae* (Petitgrain mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oil, ResJ.Agric.Biol. Sci., 5:740-747

Ghannadi A., Bagherinejad M.R., Abedi D., Jalali M., Absalan B., Sadeghi N., 2012, Antibacterial activity and composition of oils from *Pelargonium graveolens*

- L'Her and Vitex agnus-castus L., *IranianJMicrobiol*, 4:171–176
- Halcon L., Milkus K., 2004, *Staphylococcus aureus* and wounds: a review of tea tree oil as a promising antimicrobial, *Am.J.Infect.Control*, 32:402–408
- Hara-Kudo Y., Kobayashi A., Sugita-Konishi Y., Kondo K., 2004, Antibacterial activity of plants used in cooking for aroma and taste, *JFoodProtection*, 67, 2820–2824
- Huang M.-T., Ho C.-T., Lee C.Y., 1992, Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants and cancer prevention, ACS 507, American Chemical Society: Washington, DC
- Kujala T.S., Loponen J.M., Klika K.D., Pihlaja K., 2000, Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds, *J.Agric.FoodChem.*, 48, 5338–5342
- Lalli J.Y.Y., 2006, In vitro pharmacological properties and composition of leaf essential oils and extracts of selected indigenous *Pelargonium* (*Geraniaceae*) species, MPharm Thesis, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa
- Lis-balchin M., 2006, *Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals*, London: Pharmaceutical Press
- Mahdieh M., Yazdani M., Mahdieh S., 2003, The high potential of *Pelargonium roseum* plant for phytoremediation of heavy metals, *Environ Monit Assess*, 185(9):7877–81
- Miller D.M., 2002, The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild. *Geranium and Pelargoniums: The genera Geranium and Pelargonium*, In M. Lis-Balchin (Ed.), *Medicinal and aromatic plants-industrial profiles*, London: Taylor and Francis
- Nakatani N., 1994, Antioxidative and antimicrobial constituents of herbs and spices, Charalambous, G. (Ed.), *Spices, Herbs and Edible Fungi*, Elsevier Science, New York, 251–271
- Newman D.J., Cragg G.M., 2007, Natural products as sources of new drugs over the last 25 years, *J Nat Prod*, 70:477
- Okigbo R.N., Eme U.E., Ogbogu S., 2008, Biodiversity and conservation of medicinal and aromatic plants in Africa, *Biotechnol.Mol.Biol.Rev.*, 3(6):127–134
- Pietta P.G., 2000, Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.*, 63, 1035–1042
- Pohlit A.M., Lopes N.P., Gama R.A., Tadei W.P., Neto V.F.D., 2011, Patent literature on mosquito repellent inventions which contain plant essential oils - A review, *Planta Medica*, 77, 598–617
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *FreeRadBiol.Med.*, 26, 1231–1237
- Saraswathi J., Venkatesh K., Baburao N., Hilal M.H., Roja Rani A., 2011, Phytopharmacological importance of *pelargonium* species, *J. Med. Plants Res.*, 5:2587–2598
- Seo S.M., Kim J., Lee S.G., Shin C.H., Shin S.C., Park I.K., 2009, Fumigant antitermitic activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*), caraway (*Carumcarvi*), dill (*Anethum graveolens*), geranium (*Pelargonium graveolens*), and litsea (*Litsea cubeba*) oils against Japanese termite, *JAgricFChem*, 57:6596–6602
- Shahidi F., Janitha P.K., Wanasundara P.D., 1992, Phenolic antioxidants, *Crit.Rev.Food Sci. Nutr.*, 32, 67–103
- Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H., 2005, Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents, *JAgricFoodChem*, 53, 7749–7759
- Silva N.C.C., Fernandes A.J., 2010, Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity, *J.Ven.An.Tox.incl.Trop.Dis.*, 16:402–413
- Slezák F., 2007, Conservation of the antioxidant elements in wines occurring Little Carpatian region: research report. Modra: Biocentrum Modra a VÚP Bratislava
- Tezcan F., Kolaylı S., Sahin H., Ulusoy E., Erim B.F., 2011, Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys, *J. Food Nutr.Res.*, 50:33–40
- Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H., 2006, Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *J.FoodComp.Anal.*, 19, 669–675
- Uhl S.R., 2000, *Handbook of spices, seasonings, and flavorings*, Boca Raton, FL: CRC Press
- Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B. D., 1998, Antioxidant activities and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain product, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4113–4117
- Verma R.S., Verma R.K., Yadav A.K., Chauhan A., 2010, Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit. ex Ait) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand, *IndianJNatProdRes*, 1:367–370
- Wu C.Q., Chen F., Wang X., Kim H.J., He G.Q., Haley-Zitlin V., Huang G., 2006, Antioxidant constituents in feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification, *FoodChem*, 96, 220–227
- Zheng W., Wang S.Y., 2001, Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, *JAgricFChem*, 49(11), 5165–5170

Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her

Milka Maksimović


Food Control

Cite this paper

Downloaded from [Academia.edu](#) 

[Get the citation in MLA, APA, or Chicago styles](#)

Related papers

[Download a PDF Pack](#) of the best related papers 



[Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil](#)
Marina Soković

[PHENOLIC PROFILE, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* L'HER](#)
Dasha Mihaylova, Aneta Popova

[Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle \(*Myrtus communis* var. ...\)](#)
Wisssem Wannas



Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her[☆]

Sanja Ćavar*, Milka Maksimović

University of Sarajevo, Faculty of Science, Department of Chemistry, Zmaja od Bosne 33-35, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 May 2011

Received in revised form

20 July 2011

Accepted 26 July 2011

Keywords:

Pelargonium graveolens L'Her.

GC/MS

Total phenolics

Antioxidant activity

ABSTRACT

Pelargonium graveolens L'Her is an aromatic, rose-scented herb which is indigenous to various parts of southern Africa, and nowadays cultivated worldwide. This work presents the first phytochemical investigation of *P. graveolens* cultivated in Bosnia. The volatile profile of odorous parts of the plant was analysed by GC/MS. More than eighty compounds were identified in essential oils obtained from the leaves and stems, representing 92.3% and 96.3% in total, respectively. The major compounds in essential oils were oxygenated monoterpenes (64.3–74.2%), with geraniol (27.5–50.2%) and citronellol (14.2–19.0%) as the main representatives. The content of phenolic compounds in corresponding hydrosols as 34.88 ± 2.00 mg GAE/g in leaves and 102.44 ± 1.63 mg GAE/g in stems including flavonoid compounds of 32.35 ± 0.81 mg GAE/g to 101.87 ± 1.03 mg GAE/g. The radical-scavenging activity was measured by the DPPH method and IC₅₀ values ranged from 0.19 ± 0.05 mg/mL (stems) to 0.39 ± 0.04 mg/mL (leaves) for hydrosols, and from 63.70 ± 1.56 mg/mL (leaves) to 64.88 ± 1.12 mg/mL (stems) for essential oils.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Among various kinds of natural substances, essential oils from aromatic and medicinal plants receive particular attention as potential natural agents for food preservation. Thus the importance of conducting studies on essential oils lies not only in the chemical characterisation but also in the possibility of linking the chemical contents with particular bioactive functional properties. The capacity of spices and flavours to minimise disease risk, within the context of culinary use, has not been completely evaluated. There is a strong need to understand the preventive effect of spices and natural flavours for counter acting oxidative damages.

In recent years the general public has shown an increased interest in the use of herbal medicines in preference to synthetic drugs. This is based on the belief that natural products are intrinsically less dangerous to humans and can be obtained at a lower cost. According to the modern theory of free radical biology and medicine, reactive oxygen species are involved in several disorders, such as cardiovascular diseases and cancers. This kind of risk can be

reduced by an appropriate dietary pattern including natural antioxidants (Balasundram, Sundram, & Samma, 2006).

The genus *Pelargonium* that belongs to the Geraniaceae family comprises about 270 distinct species. *Pelargonium graveolens* L'Her., commonly known as the rose geranium, is an undershrub that originated around the southern tip of Africa and was introduced to Europe through spice trade and medicinal plant collection by sailors in the early seventeenth century (Miller, 2002). Nowadays it grows throughout the world and is cultivated in the herb gardens of many countries, mostly for its repellent activity against mosquitoes (Pohlit, Lopes, Gama, Tadei, & Neto, 2011). The essential oil fraction of this plant is widely and extensively used in cosmetic industry, in aromatherapy, and as flavouring for foods due to its unique strong rose-like fragrance (Miller, 2002). It is one of the best skincare oils because it is good in opening skin pores and cleaning oily complexions. This plant is traditionally used in Western Balkan region as a flavouring agent in most major categories, alcoholic, soft drinks and especially with pink-coloured food products. Other uses of geranium essential oil that are becoming increasingly popular include the treatment of dysentery, haemorrhoids, inflammation, heavy menstrual flows, and even cancer (Lis-Balchin, 2002; Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010).

There are significant variations in the composition of the oil of *P. graveolens* depending on cultivars and culture conditions; all of essential oils of this specimen are rich in monoterpene alcohol geraniol and/or ketone menthone (Lalli, Viljoen, Baser, Demirci, &

[☆] Part of this study was presented at 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product, 28th August–2nd September 2010, Berlin, Germany.

* Corresponding author. fax: +387 33 649 359.

E-mail addresses: sanja.cavar@pmf.unsa.ba, sanja_cavar@yahoo.com (S. Ćavar).

Ozek, 2006; Lalli, Viljoen, & Van Vuuren, 2010; Lis-Balchin, 1991; Misra & Srivastava, 2010; Prasad, Chattopadhyay, Chand, Naqvi, & Yadav, 2006; Rajeswara Rao, 2009; Shellie & Marriott, 2003). Literature survey revealed that there is no report on essential oil composition of *P. graveolens* essential oil cultivated in Bosnia. Therefore, in paucity of such valuable information present investigation was undertaken. Moreover, there have been a number of flavonoid surveys of *Pelargonium* species (Asen, & Griesbach, 1983; Bate-Smith, 1973; Katagi, Takahashi, Nakao, & Inui, 1986; Lis-Balchin, 1997; Mitchell, Markham, & Boase, 1998; Williams, Harborne, Newman, Greenham, & Eagles, 1997; Williams, Newman, & Gibby, 2000). Thus, there is a considerable research interest in the assay of content of phenolic compounds of *P. graveolens* cultivated in Bosnia. In addition, the aim of this study was to determine the antioxidant activity of the isolated essential oil and waste water after hydrodistillation that has not been reported to date.

2. Materials and methods

2.1. Plant material and reagents

Plant material of *P. graveolens* L'Her. cultivated indoors, was collected in August 2010. Leaves were separated from stems, and dried at room temperature without sun exposure. A voucher specimen is deposited at the Faculty of Science, University of Sarajevo.

All applied reagents were of the highest purity available and purchased from the Sigma–Aldrich Chemical Company.

2.2. Sample preparation

Air-dried plant material of leaves and stems were subjected to hydrodistillation for 2 h. The essential oils were extracted with dichloromethane and dried over anhydrous sodium sulphate. For the GC/MS analysis samples of essential oil were dissolved in dichloromethane, and for antioxidant assay samples were dissolved in dimethylsulfoxide in concentration of 10.0 mg/mL. Samples of hydrosols obtained after distillation were prepared in concentration of 1.0 mg/mL in distilled water. Thymol was used as positive probe for antioxidant assay, and it was also prepared in the same way as tested samples.

2.3. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of essential oil

Volatile compounds from the aerial parts of the plants were analysed by GC/MS using Hewlett–Packard GC/MS system (GC 6890 series II; MSD 6890 series II). The GC conditions were: the fused silica HP-5 column, carriers gas He (flow 1.1 mL/min), temperature program: 3 °C/min from 60 °C to 240 °C; the injection port temperature was 250 °C; detector temperature 280 °C. Ionisation of the sample components was performed in the EI mode, (70 eV).

The linear retention indices, RI, for all compounds were determined by injection of the sample with a solution containing the homologous series of C₈–C₂₆ *n*-alkanes (Van Del Dool & Kratz, 1963). The identification of the essential oil constituents was accomplished by comparing their retention indices and mass spectra with literature data (Adams, 2007), by computer library search (HP Chemstation computer library NBS75K.L, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 2.0 and Mass Finder 4 Computer Software and Terpenoids Library), and in the laboratory own database.

2.4. Total phenolic and flavonoid content

The total content of phenolic compounds was determined using the Folin–Ciocalteu method, based on the reduction of phosphor-wolframate–phosphomolybdate complex by phenolics to a blue reaction product (Singleton & Rossi, 1965). A 1.0 mL of sample solution was diluted with 60 mL of distilled water, and the 5 mL of Folin–Ciocalteu reagent, previously diluted 2 times, was mixed. After 5–10 min, a 15 mL of 20% solution of sodium carbonate was added, and obtained solution was diluted to 100 mL. Prepared samples were kept for 2h at room temperature, and the absorbance was measured at 765 nm. The data were calculated according to standard curve of gallic acid (0.01–0.20 mg/mL), and they were expressed as gallic acid equivalents (GAE) per gram of dry extract.

The total content of flavonoid compounds was analysed after precipitation with formaldehyde (Kramling & Singleton, 1969). The flavonoid fraction was obtained by mixing 1.0 mL of the sample with 0.5 mL of diluted HCl (1:3) and 5 mL of an 8 mg/mL formaldehyde solution. Flavonoids were separated by centrifugation (3000 rmp, 10 min) and the supernatant, containing all phenolic compounds except flavonoids (non-flavonoid phenolics), was collected. The non-flavonoid phenolics content was determined in the filtrate using Folin–Ciocalteu reagent. The flavonoids content represents difference between total phenols and non-flavonoids content.

2.5. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activity

The ability of the extracts to donate an electron and scavenge 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (Magalhaes, Segundo, Reis, & Lima, 2008) was determined by the slightly modified method of Brand-Williams (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995). A portion of sample solution (100 µL) was mixed with 1 mL of 5.25 × 10⁻⁵ M DPPH• in methanol. Decrease of absorbance of tested mixtures was monitored every 1 min for 30 min at 516 nm using a Perkin–Elmer Lambda 25 UV/Vis spectrophotometer. Methanol was used to zero the spectrophotometer; DPPH• solution was used as blank sample, and thymol was used as positive probe. The DPPH• solution was freshly prepared daily, stored in a flask covered with aluminium foil, and kept in the dark at 4 °C between measurements.

The radical-scavenging activity of the tested samples, expressed as percentage inhibition of DPPH, was calculated according to the formula IC (%) = [(A₀ - A_t)/A₀] × 100, where A₀ and A_t are the absorbance values of the blank sample and the test sample, at particular times, respectively. Percent inhibition after 30 min was plotted against concentration, and the equation for the line was used to obtain the IC₅₀ value. A lower IC₅₀ value indicates greater antioxidant activity.

3. Results and discussion

3.1. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of essential oil

The essential oils obtained from aerial parts (leaves and stems) of *P. graveolens* were subjected to detailed GC/MS analysis. The yield of oils ranged from 0.1 to 0.7%, for stems (Sample 1a) and leaves (Sample 2a), respectively. Exactly eighty-four compounds were identified in two samples (Table 1).

In Sample 1a (stems) sixty-four compounds were identified, representing 96.3% of the total oil. The most abundant components were oxygenated monoterpenes (74.2%), with geraniol (50.2%) and citronellol (14.2%) as the main representatives. The next most abundant class of volatiles were oxygenated sesquiterpenes

Table 1
Essential oil composition of *P. graveolens*.

RI	Compound	Sample 1a RA %	Sample 2a RA%
957	Camphene	tr	–
998	<i>m</i> -Cymene	–	tr
1002	α -Phellandrene	–	tr
1011	β -Phellandrene	–	tr
1022	Benzene acetaldehyde	–	tr
1051	<i>cis</i> -Linalool oxide (furanoid)	tr	0.1
1069	<i>trans</i> -Linalool oxide	–	0.1
1089	Linalool	0.4	3.6
1092	<i>n</i> -Undecane	tr	–
1097	<i>cis</i> -Rose oxide	tr	0.1
1113	<i>trans</i> -Rose oxide	tr	0.1
1138	Citronellal	tr	0.2
1145	Menthone	2.0	5.2
1155	Sabina ketone	tr	–
1164	Menthol	tr	0.3
1173	α -Terpineol	tr	0.2
1200	<i>n</i> -Dodecane	tr	–
1214	Citronellol	14.2	19.0
1225	Neral	0.3	–
1247	Geraniol	50.2	27.5
1258	Geranial	0.8	–
1271	Neryl formate	tr	–
1295	Geranyl formate	–	0.1
1300	<i>n</i> -Tridecane	tr	–
1314	Methyl citronellate	1.0	–
1328	3-Methyl-2-butenyl 2-methyl-butanoate	–	0.3
1347	Citronellyl butyrate	–	0.1
1355	Ethyl geranate	0.2	–
1360	α -Copaene	tr	0.5
1371	β -Bourbonene	–	0.1
1373	Decanoic acid	1.2	3.4
1377	Geranyl acetate	0.1	–
1379	β -Elemene	0.2	0.6
1386	Isobutyl phenylacetate	tr	–
1390	Phenyl ethyl isobutanoate	–	0.5
1400	<i>n</i> -Tetradecane	tr	–
1405	β -Caryophyllene	0.1	1.2
1416	2- <i>epi</i> - β -Funebrene	tr	–
1423	γ -Elemene	0.2	–
1427	α -Guaiane	0.1	0.5
1431	6,9-Guaiadiene	1.4	4.6
1436	Aromadendrene	0.1	–
1438	Citronellyl propanoate	0.2	–
1440	γ -Gurjunene	tr	0.9
1443	α -Humulene	–	0.3
1469	γ -Muurolene	0.8	–
1471	Geranyl propanoate	0.6	–
1473	<i>trans</i> -Cadina-1(6),4-diene	–	1.4
1475	Geranyl propanoate	–	1.6
1486	Bicyclogermacrene	tr	0.2
1491	α -Amorphene	tr	–
1493	α -Muurolene	–	0.2
1496	Germacrene A	–	0.1
1500	<i>n</i> -Pentadecane	tr	–
1498	δ -Amorphene	tr	–
1504	γ -Cadinene	0.2	0.3
1511	Geranyl isobutanoate	tr	0.3
1515	δ -Cadinene	0.2	0.5
1526	Citronellyl butanoate	tr	–
1531	Selina-3,7(11)-diene	–	0.1
1534	α -Agarofuran	tr	0.2
1543	Elemol	0.2	–
1546	Germacrene B	0.4	–
1560	Geranyl butanoate	0.3	0.7
1564	<i>E</i> -Nerolidol	–	0.1
1573	Spathulenol	–	0.2
1579	Globulol	tr	0.2
1584	2-Phenyl ethyl tiglate	1.3	2.3
1600	<i>trans</i> - β -Elemenone	0.8	0.1
1608	1,10- <i>di-epi</i> -Cubebol	0.2	0.2
1612	10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	4.5	5.0
1626	γ -Eudesmol	0.4	0.2
1629	Hinesol	0.4	0.3
1636	<i>epi</i> - α -Cadinol	1.1	0.5

Table 1 (continued)

RI	Compound	Sample 1a RA %	Sample 2a RA%
1640	α -Muurolol	–	1.0
1643	β -Eudesmol	0.6	0.4
1647	Valerianol	0.8	0.4
1654	α -Cadinol	–	0.3
1659	Geranyl valerate	0.3	0.4
1667	<i>E</i> -Citronellyl tiglate	0.4	0.5
1690	Germacrene	6.1	0.1
1704	Geranyl tiglate	3.2	3.9
1720	2Z,6E-Farnesol	0.6	1.0
1782	<i>n</i> -Pentadecanol	0.2	0.1
	Aliphatic compounds	1.4	3.5
	Aromatic compounds	1.4	2.8
	Oxygenated monoterpenes	74.2	64.3
	Sesquiterpene hydrocarbons	3.7	11.5
	Oxygenated sesquiterpenes	15.7	10.2
	Total identified	96.3	92.3

RI, retention index on HP-5 column; RA, relative area; t, traces (<0.1%), –, not detected. Sample 1a, essential oil from stems; Sample 2a, essential oil from leaves.

(15.7%), with germacrene (6.1%) and 10-*epi*- γ -eudesmol (4.5%) as major components.

Fifty-nine components were identified in the Sample 2a (leaves), representing 92.3% of the total oil. Similarly with Sample 1a, this sample was rich in oxygenated monoterpenes (64.3%), again with alcohols geraniol (27.5%) and citronellol (19.0%) as the major representatives. This oil also have 10-*epi*- γ -eudesmol (5.0%), as the major representative of oxygenated sesquiterpenes, following sesquiterpenoid 6,9-guaiadiene (4.6%).

Generally, as it was indicated above, the essential oil of *P. graveolens* cultivated in Bosnia was characterised as geraniol chemotype. Similar results were obtained from analysis of essential oil of *P. graveolens* from Asia (Shaw, Kumar, Chisthi, & Shabir, 2006; Verma, Verma, Yadav, & Chauhan, 2010) with significantly lower content of geraniol (up to 25% of oil), while *P. graveolens* of African origin have isomenthone (Lalli et al., 2006; Lalli et al., 2010; Prasad et al., 2006), and linalool as the major constituents of essential oil (Misra & Srivastava, 2010).

3.2. Total phenolic and flavonoid content

The content of total phenolic and flavonoid compounds of hydrosol of stems (Sample 1b) and leaves (Sample 2b) of *P. graveolens*, measured using the Folin-Ciocalteu method, is shown in Table 2.

Folin-Ciocalteu spectrophotometric assay is based on a chemical reduction of a reagent, a mixture of tungsten and molybdenum oxides. The colour development is due to the transfer of electrons at basic pH to reduce the phosphomolybdic/phosphotungstic acid complexes to form chromogens in which the metals have lower valence. The products of metal oxides reduction have a blue colour that exhibits a broad light absorption with a maximum at 765 nm. The intensity of light absorption at that wavelength is proportional to the concentration of phenols (Singleton & Rossi, 1965). The content of total phenolic compounds in hydrosols of stems of *P. graveolens* was relatively high (102.44 ± 1.63 mg GAE/g of dry

Table 2
Total phenolics and flavonoids content of *P. graveolens*.

Sample	TP mg GAE/g	NF mg GAE/g	F mg GAE/g
Sample 1b	34.88 \pm 2.00	2.53 \pm 0.69	32.35 \pm 0.81
Sample 2b	102.44 \pm 1.63	0.57 \pm 0.23	101.87 \pm 1.03

TP, total phenolics; NF, non-flavonoid compounds; F, flavonoids; GAE, gallic acid equivalents. Sample 1b, hydrosol from stems; Sample 2b, hydrosol from leaves.

extract), while hydrosol of leaves had almost three times lower content of phenolics (34.88 ± 2.00 mg GAE/g of dry extract).

Formaldehyde react with 6- or 8-position on the 5,7-dihydroxy flavonoids forming a methyl derivative that will attach to another 6- or 8-position on another flavonoid and so on. These condensed molecules can be removed by filtration, and the residual non-flavonoid phenolic tannin can be analysed by Folin–Ciocalteu method. The amount of flavonoids is calculated as difference between total phenols and non-flavonoids (Kramling & Singleton, 1969). The content of flavonoid compounds in these samples was extremely high in comparison with total content of phenolic compounds. Aqueous extract of stems contained 32.35 ± 0.81 mg GAE/g, while hydrosol of leaves of *P. graveolens* had 101.87 ± 1.03 mg GAE/g of dry extract. Presented results are in agreement with those found in the literature, concerning *Pelargonium* plant species, with myricetin, quercetin, and kaempferol as the main representatives (Asen, & Griesbach, 1983; Bate-Smith, 1973; Katagi et al., 1986; Lis-Balchin, 1997; Mitchell et al., 1998; Williams et al., 1997; Williams et al., 2000).

3.3. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activity

The antioxidant activity of *P. graveolens* essential oils and hydrosols has been evaluated by DPPH radical-scavenging test. Assessed samples were able to reduce the stable violet DPPH radical to the yellow DPPH-H reaching 50% of reduction with an IC_{50} values ranged from 0.19 ± 0.05 mg/mL, for Sample 1b, to 64.88 ± 1.12 mg/mL, for Sample 1a (Table 3). These values are comparable to thymol ($IC_{50} = 1.90 \pm 0.04$ mg/mL), which possess good antioxidant properties (Yanishlieva, Marinova, Gordon, & Raneva, 1999).

The essential oils of aerial parts of *P. graveolens* showed relatively weak reactivity in scavenging of DPPH radical. Our findings are similar to those reported earlier (Dorman, Deans, Noble, & Surai, 1995; Fayed, 2009). The effectiveness in reducing of stable DPPH radical of *P. graveolens* essential oil is probably due to the significant content of geraniol and citronellol (46.5–64.4%), that are previously identified as a potential antioxidants (Choi, Song, Ukeda, & Sawamura, 2000). Essential oil obtained from stems showed higher antioxidant activity than essential oil obtained from leaves of *P. graveolens*. This is probably due to the higher content of these allylic alcohols in the Sample 1a.

Hydrosols of stems and leaves of *P. graveolens* showed significant antioxidant activity, even ten times higher than thymol that was used as positive probe. This is probably due to the high content of phenolic compounds in these samples. It has been reported that phenolic compounds have important role in preventing lipid peroxidation, and as higher their amounts in the extracts, antioxidant activity increases (Zheng & Wang, 2001). Presented results on antioxidant activity of hydrosols investigated are in agreement with this fact.

Table 3
DPPH radical-scavenging activity of *P. graveolens*.

Sample	IC_{50} (mg/mL)
Sample 1b	0.19 ± 0.05
Sample 2b	0.39 ± 0.04
Thymol	1.90 ± 0.04
Sample 2b	63.70 ± 1.56
Sample 1a	64.88 ± 1.12

IC_{50} , the concentration required to inhibit radical formation by 50%. Sample 1a, essential oil from stems; Sample 1b, hydrosol from stems; Sample 2a, essential oil from leaves; Sample 2b, hydrosol from leaves.

4. Conclusion

The present study shows that essential oils and hydrosols of *P. graveolens* may be potentially used as good sources of antioxidants. The overall results on antioxidant activity obtained for hydrosols were better than those obtained for essential oils, and even ten times higher than thymol that was used as positive probe.

Consumption of foods prepared with *P. graveolens* or its essential oil may have significant health benefits. The observed antioxidant properties of this species may have useful implications for detailed studies of their natural antimicrobial and antiviral agents, as well as further chemical analysis of phenolics that might be responsible for its effective antioxidant activity.

Our work suggests that essential oil and its corresponding hydrosols, obtained after distillation from *P. graveolens* leaves and stems can be considered as a promising future candidate food supplement. Our data showed that antioxidant activity determined by the use of the DPPH method was related to the chemical composition of essential oil and in particular to a high content of phenolics and flavonoids in aqueous extracts of this plant.

Acknowledgements

We are thankful to Dr. Franci Kovač, University of Ljubljana, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, for providing us facility for GC–MS analysis.

References

- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential Oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4th ed.). Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation.
- Asen, S., & Griesbach, R. (1983). High pressure liquid chromatographic analysis of flavonols in Geranium florets as an adjunct for cultivar identification. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 108, 845–850.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samma, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Bate-Smith, E. C. (1973). Chemotaxonomy of Geranium. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 67, 347–359.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- Choi, H.-S., Song, H. S., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2000). Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 4156–4161.
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Noble, R. C., & Surai, P. (1995). Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. *Journal of Essential Oil Research*, 7, 645–651.
- Fayed, S. A. (2009). Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulata* (Petal-grain Mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oils. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5, 740–747.
- Katagi, H., Takahashi, E., Nakao, K., & Inui, M. (1986). Shoot-forming cultures of *Pelargonium graveolens* by jar fermentation. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 60, 15–17.
- Kramling, T. E., & Singleton, C. L. (1969). An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, 86–92.
- Lalli, J. Y., Viljoen, A. M., Baser, K. H. C., Demirci, B., & Ozek, T. (2006). The essential oil composition and chemotaxonomical appraisal of South African Pelargoniums (Geraniaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 18, 89–105.
- Lalli, J. Y., Viljoen, A. M., & Van Vuuren, S. F. (2010). Potential interaction between the volatile and non-volatile fractions on the in vitro antimicrobial activity of three South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species. *Natural Product Communications*, 5, 1395–1400.
- Lis-Balchin, M. (1991). Essential oil profiles and their possible use in hybridization of some common scented Geraniums. *Journal of Essential Oil Research*, 3, 99–195.
- Lis-Balchin, M. (1997). A chemotaxonomic study of the *Pelargonium* (Geraniaceae) species and their modern cultivars. *Journal of Horticultural Science*, 72, 791–795.
- Miller, D. M. (2002). The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild. Geranium and Pelargoniums: The genera Geranium and Pelargonium. In M. Lis-Balchin (Ed.), *Medicinal and aromatic plants-industrial profiles* (pp. 49–79). London: Taylor and Francis.
- Lis-Balchin, M. (2002). Geranium oil and its use in aromatherapy. In M. Lis-Balchin (Ed.), *Medicinal and aromatic plants-industrial profiles* (pp. 234–246). London: Taylor and Francis.

- Magalhaes, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613, 1–19.
- Misra, A., & Srivastava, N. K. (2010). Value addition of essential monoterpene oil(s) in Geranium (*Pelargonium graveolens*) on leaf positions for commercial exploitation. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 2077–2079.
- Mitchell, K. A., Markham, K. R., & Boase, M. R. (1998). Pigment chemistry and color of *Pelargonium* flowers. *Phytochemistry*, 47, 355–361.
- Pohlit, A. M., Lopes, N. P., Gama, R. A., Tadei, W. P., & Neto, V. F. D. (2011). Patent literature on mosquito repellent inventions which contain plant essential oils - A review. *Planta Medica*, 77, 598–617.
- Prasad, A., Chattopadhyay, A., Chand, S., Naqvi, A. A., & Yadav, A. (2006). Effect of soil sodicity on growth, yield, essential oil composition, and cation accumulation in rose-scented geranium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37, 1805–1817.
- Rajeswara Rao, B. R. (2009). Chemical composition and uses of Indian rose-scented Geranium (*Pelargonium* species) essential oil - A review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12, 381–394.
- Shawl, A. S., Kumar, T., Chisthi, N., & Shabir, S. (2006). Cultivation of rose scented Geranium (*Pelargonium* sp.) as a cash crop in Kashmir Valley. *Asian Journal of Plant Science*, 5, 673–675.
- Shellie, R. A., & Marriott, P. J. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry analysis of *Pelargonium graveolens* essential oil using rapid scanning quadrupole mass spectrometry. *Analyst*, 128, 879–883.
- Singleton, C. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199–1218.
- Van Del Dool, H., & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463–471.
- Verma, R. S., Verma, R. K., Yadav, A. K., & Chauhan, A. (2010). Changes in the essential oil composition of rose-scented Geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1, 367–370.
- Williams, C. A., Harborne, J. B., Newman, M., Greenham, J., & Eagles, J. (1997). Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium*. *Phytochemistry*, 46, 1349–1353.
- Williams, C. A., Newman, M., & Gibby, M. (2000). The application of leaf phenolic evidence for systematic studies within the genus *Pelargonium* (Geraniaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 119–132.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., & Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64, 59–66.
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5165–5170.