

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et
Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie : synthèse et activité biologique

MÉMOIRE

Présenté par

BELAID Zine Eddine

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

**Evaluation du pouvoir antioxydant de la partie aérienne
de *Pelargonium graveolens***

Soutenu le 19/06/2022 devant le jury composé de :

Président	AZZI .R	Pr	Université de Tlemcen
Encadrant	MEDJDOUB.H	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	MEZOUAR D.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

ملخص :

نبات العطرشة هو نبات ينتمي إلى عائلة إبرة الراعي. موطنها جنوب إفريقيا، ومنتشرة في بلدان أخرى مثل الجزائر. يتركز مشروعنا البحثي حول تثمين هذا النبات الطبي من خلال تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار إرجاع FRAP ، التي تم جمعها من منطقة عين فزة، ولاية تلمسان، الجزائر.

تم تحضير ثلاثة مستخلصات من الجزء العلوي : ماء أسيتون (70/30 ؛ ح/خ) الجزء المائي وجزء البيتانول وكانت نتائج المرودية من 1,3% و 2% و 0,9% على التوالي.

أظهر اختبار FRAP أن المستخلصات الثلاثة لها قدرة على تقليل الحديد وأن قيم EC_{50} توضح أن الجزء المائي ($EC_{50} = 0.446mg / ml$) له نشاط مضاد للأكسدة أعلى مقارنة بمستخلص الأسيتون المائي ($EC_{50} = 0.485mg / ml$) والبيوتانول ($EC_{50} = 0.50$ مجم / مل). هذا الاختلاف لا يزال طفيفا.

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، نستنتج أن الجزء الهوائي للعطرشة له نشاط كبير كمضاد للأكسدة ، وهذا من شأنه أن يفتح آفاقاً مثيرة للاهتمام لتطوير المنتجات المحلية ، لا سيما في الصناعات الطبية ومستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: عطرشة ، مستخلص الهيدروأسيون ، الجزء المائي ، جزء البيتانول ، النشاط المضاد للأكسدة

FRAP

Résumé

Pelargonium graveolens est une plante appartenant à la famille des Géraniacées originaire d'Afrique du Sud, répandue dans d'autres pays comme l'Algérie.

Notre projet de recherche porte sur la valorisation de cette plante médicinale par l'évaluation du pouvoir antioxydant en utilisant la méthode de FRAP. La plante a été récoltée dans la région d'Ain Fezza, Wilaya Tlemcen, Algérie.

Trois extraits ont été préparés à partir de la partie aérienne, eau acétone, fraction aqueuse et butanolique et les rendements obtenus sont de l'ordre 1,3 ; 2 et 0,9% respectivement.

Le test FRAP a montré que les trois extraits ont un pouvoir réducteur de fer et Les valeurs d' EC_{50} montrent que la fraction aqueuse ($EC_{50} = 0,446mg/ml$) a une activité antioxydant plus élevé par rapport a l'extrait eau acétone ($EC_{50} = 0,485mg/ml$) et butanolique ($EC_{50} = 0,50mg/ml$). Cette différence reste légère.

A partir des résultats obtenus, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Pelargonium graveolens* a une activité antioxydante importante. Cela ouvrirait des perspectives

intéressantes pour le développement de produits locaux, notamment dans les industries médicales et cosmétiques.

Mots clés : *Pelargonium graveolens*, FRAP, extrait eau-acétone, fraction aqueuse, fraction butanolique, stress oxydatif, activité antioxydant.

Abstract

Pelargonium graveolens is a plant belonging to the Geraniaceae family originating from South Africa, widespread in other countries such as Algeria.

Our research project focuses on the enhancement of this medicinal plant by evaluating its antioxidant power using the FRAP method. The plant was collected in the region of Ain Fezza, Wilaya Tlemcen, Algeria.

Three extracts were prepared from the aerial part, acetone water, aqueous and butanol fraction and the yields obtained are of the order of 1.3; 2 and 0.9% respectively.

The FRAP test showed that the three extracts have an iron reducing power and the EC_{50} values show that the aqueous fraction ($EC_{50} = 0.446\text{mg/ml}$) has a higher antioxidant activity compared to the water acetone extract ($EC_{50} = 0.485\text{mg/ml}$) and butanol ($EC_{50} = 0.50\text{mg/ml}$). This difference remains slight.

From the results obtained, we conclude that the aerial part of the plant *Pelargonium graveolens* has an important antioxidant activity. This would open up interesting prospects for the development of local products, particularly in the medical and cosmetic industries.

Key words: *Pelargonium graveolens*, FRAP, water-acetone extract, aqueous fraction, butanol fraction, oxidative stress, antioxidant activity.

Remerciement

Au terme de cet humble travail, nous tenons à exprimer nos remerciement et avant tout à Allah qui nous a donné le courage et la force pour mener à bien ce mémoire.

Je tiens à remercier mon encadreur Mme MEDJDOUB H Maitre de conférences B au Département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, et sa disponibilité pour l'accomplissement de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr Azzi R Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent à : Melle MEZOUAR D, Maitre de conférences A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Je tiens à remercier les personnels des laboratoires pédagogiques de la faculté SNV-STU pour leur aide et à toute personne qui a participé à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Tout d'abord, je tiens à remercier mon père et ma mère pour avoir versé ses encouragements incessants à son soutien moral aux moments difficiles tout au long de ma vie.

A tous les membres de mes familles, petites et grandes pour leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent.

Et aussi je tiens à remercier tous mes amis.

Liste d'abréviations

$1O_2$: Oxygène singulet

ADN : Acide désoxyribonucléique

Cat : Catalase

EC₅₀ : La concentration qui correspond a une absorbance de 0,5

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP : Ferric reducing antioxidant power (Pouvoir réducteur de fer).

GPx : Glutathions peroxydases

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

ISO: Organisation Internationale de Normalisation

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

NO: Monoxyde d'azote

NO₂: Dioxyde d'azote

OH• : Radical hydroxyle

pH : Potentiel hydrogène

RO• : Radical alkoxyles

ROOH : Hydroperoxydes organique

ROO• : Radical peroxy

SOD : Superoxyde dimustases

ROS : espèce réactif de l'oxygène

TCA: Acide trichloacétique

UV-VIS : Ultraviolet-Visible

Liste des figures

Figure 1: la plante <i>Pelargonium graveolens</i>	02
Figure 2 : genèse historique de <i>Pelargonium graveolens</i> dans le monde.....	03
Figure 3 : Déséquilibre entre l'espèce réactive de l'oxygène (ROS), et L'antioxydant ... (Amra, 2020)	07
Figure 4 : la plante après séchage(photo personnelle).....	12
Figure 5 : Les étapes de préparation de extrait eau acétone.....	13
Figure 6 : Les étapes de préparation fraction aqueuse.....	14
Figure 7: Les étapes de préparation fraction butanolique.....	14
Figure 8 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau acétone de la partie aérienne de <i>Pelargonium graveolens</i>	16
Figure 9 : Représentation du graphique du pouvoir réducteur du fer par Fraction aqueuse de la partie aérienne de <i>Pelargonium graveolens</i>	17
Figure 10 : Représentation du graphique du pouvoir réducteur du fer par Fraction butanolique de la partie aérienne de <i>Pelargonium graveolens</i>	18
Figure 11 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique..	18

Liste de tableau

Tableau1: composition chimique d l'huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i> (Atailia, 2015)	05
Tableau 2 : Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait.....	16
Tableau3: Valeur des EC ₅₀ en mg/ml des trois extraits de <i>Pelargonium graveolens</i> et de l'acide ascorbique.....	19

SOMMAIRE

Introduction	01
Synthèse Bibliographique	
Chapitre 01 Présentation de la Plante étudiée	
1. Généralité.....	02
1.1 Plantes médicinale.....	02
1.2 Plantes aromatiques.....	02
2. Le <i>Pélargoniums graveolens</i>	02
2.1 Définition.....	02
2.2 Les principaux caractères morphologiques.....	03
2.3 Nomenclature.....	04
2.4 Classification.....	04
2.5 Culture.....	04
2.5.1 Conditions climatiques.....	04
2.5.2 Période de culture.....	04
2.6 Huiles essentielles du genre Pélargonium.....	05
2.7 Utilisations.....	06
Chapitre 02 Stress oxydant	
1. Stress Oxydatif.....	07
1.1 Définition.....	07
2. Radicaux libres.....	07
2.1 Les maladies qui sont liées à stress oxydatif.....	08
3. Antioxydants.....	08
3.1 Antioxydants enzymatiques.....	08
3.1.1. Superoxyde dismutase.....	09
3.1.2. Catalase.....	09
3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	09
3.2 Antioxydants non enzymatiques.....	09
3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes.....	09
3.2.2. les antioxydants non enzymatiques exogènes.....	10
3.2.2.1 La vitamine E.....	10
3.2.2.2 Vitamine C.....	10
3.2.2.3 β -carotène.....	10
3.2.2.4 Polyphénols.....	11
3.2.2.5 Sélénium.....	11
Partie expérimentale	
Matériels et méthodes	
1. Objectif.....	12
2. Matériel végétal.....	12
2.1 Récolte du matériel végétale.....	12
2.2 Séchage de la plante.....	12
3. Matériel de laboratoire.....	12
4. Préparation des extraits.....	13
4.1 Eau acétone.....	13
4.2 Fraction aqueuse.....	14
4.3 Fraction butanolique.....	14
5. Calcul du rendement.....	15
6. Principe de FRAP.....	15

6.1. Solutions à préparer.....	15
6.2. Mode opératoire.....	15
Résultats et interprétation	
1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait.....	16
2. Effet des extraits.....	16
2.1 Eau acétone.....	16
2.2 Fraction aqueuse.....	17
2.3 Fraction butanolique.....	18
3. Effet d'acide ascorbique.....	18
Discussion	20
Conclusion	22
Références Bibliographiques	23

Introduction

Depuis longtemps, les extraits de plantes médicinales sont utilisés par l'homme pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, agro-alimentaires et industrielles (**Rhattas et al., 2015**).

Ces dernières années les recherches se sont augmenté sur ces plantes pour d'obtenir des extraits de haute qualité à partir de ces plantes car les plantes médicinales sont la source d'antioxydants et lutte antimicrobiens (**Sompaga et al., 2016**).

La plantes que nous avons choisie est *Pelargonium graveolens* de la région de Tlemcen commune d'Ain Fezza. Géranium, également connu sous le nom de géranium rosat. C'est une plante aromatique de la famille des Géraniacées (**Janin, 2006**).

Elle est originaire d'Afrique de Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales introduite en Algérie en 1847. Le *Pelargonium graveolens* est cultivé principalement dans la plaine de la Mitidja, dans les jardins (**Boukhatem et al., 2010**).

La plante le *Pelargonium graveolens* est utilisée en médecine traditionnelle pour les hémorroïdes, l'inflammation ou le cancer. Elle est également utilisée dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique (**Saraswathi et al., 2011**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antioxydante de *Pelargonium graveolens*, premièrement, par la préparation trois extraits (eau acétone, fraction aqueuse et fraction butanolique) puis par la méthode de FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique).

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire biochimie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers Abou-Bekr Belkaïd Tlemcen.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre 01:

Présentation de la Plante étudiée

Chapitre 01 : Présentation de la plante

1. Généralité

1.1 Plantes médicinales :

Ils ont été largement utilisés dans la pratique médicale depuis l'Antiquité. Elles contiennent une ou plusieurs substances chimiques pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Elles ont des propriétés biologiques différentes (Oladeji, 2016).

1.2 Plantes aromatiques :

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont l'évaluation nécessite une connaissance approfondie des propriétés qui doivent être mises en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence de nombreux agents biologiquement actifs appartenant à différentes classes chimiques ; elles constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels (Asgarpanah et Ramezanloo, 2015).

2. Le *Pelargonium graveolens* :

2.1 Définition :

Est une plante aromatique médicinale. Elle porte différents noms dont les plus connus sont : géranium rosat (nom à l'île de la Réunion), géranium odorant, pelargonium x asperum Ehrh (Janin, 2006).

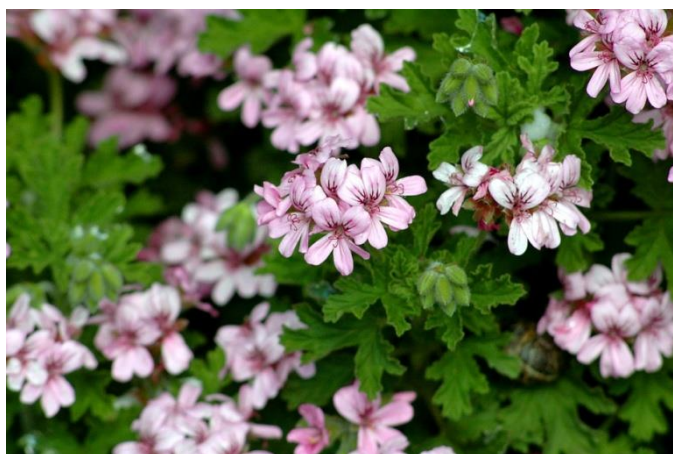


Figure 1 : la plante *Pelargonium graveolens*

Son nom «Pélargoniums» vient du grec “Pélargos“ qui signifie cigogne, à cause de la forme de son fruit qui ressemble au bec des cigognes droit et pointu. 280 espèces de

Chapitre 01 : Présentation de la plante

Pelargonium sauvages ont été répertoriées, dont la plupart (71 %) vivent en Afrique du Sud (Miller, 2002).

La plante est originaire de l'Afrique du Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales. Elle a été introduite en Algérie au 19ème siècle. *Pelargonium graveolens* est cultivé principalement dans les jardins et cimetières de la plaine de la Mitidja en Algérie (Boukhatem *et al.*, 2010).



Figure 2 : genèse historique de *Pelargonium graveolens* dans le monde

2.2 Les principaux caractères morphologiques

- c'est un arbrisseau très ramifié plus ou moins érigé, jusqu'à 1,4 m de haut et 1 m de diamètre au niveau de la cime, à parfum de rose prononcé.
- Les tiges sont molles, vert grisâtre, poilues, foncées avec l'âge et deviennent ligneuses.
- Feuilles opposées ou alternes, molles, parfumées, hirsutes avec des poils glandulaires et non glandulaires.
- Inflorescence terminale, en tête, avec 5–10 fleurs dans une petite pseudo-ombelle compacte et Dix étamines. (Fornet, 2016)

2.3 Nomenclature :

- * Français : géranium rosat
- * Anglais: geranium, scented Pelargonium, rose geranium.
- * Arabe: atterchya, العطرشية،

(Boukhatem *et al.*, 2011).

2.4 Classification:

- Règne : Plantae Superdivision : Embryophyta
- Division : Magnoliophyta
- Subdivision : Spermatophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Superordre : Rosanae
- Ordre : Geraniales
- Famille : Geraniaceae
- Genre : *Pelargonium* L'Hér. Ex Aiton
- Espèce : *Pelargonium graveolens* L'Hér.

(Ghedira et Goetz, 2015).

2.5 Culture:

2.5.1 Conditions climatiques :

Pelargonium graveolens demande un climat chaud, sec. La température doit rester supérieure ou égale à 35°C Surtout parce que les plantes sont jeunes, on craint les gelées légères (Rivière, 1889).

2.5.2 Période de culture :

La culture spéciale des pélargoniums en trois sections. Ces sections comprennent le traitement des Géraniums en hiver, leur traitement en été, et enfin leur multiplication, soit par semis ou par marcottes ou par greffes (Lemaire et Chauvière, 1842).

Chapitre 01 : Présentation de la plante

Tableau1: composition chimique d l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* (Atilia, 2015).

Composés (%)		
Citronellol : 19,22	Butyrate de citronellyle 1,68	α -Caryophyllène 0,3
Géranol : 14,03	β -Germacrène 1,03	Acétate de citronellyle 0,3
Formiate de citronellyle 10,02	Hexanoate de géranyle 0,97	Tiglate de citronellyle 0,29
10-épi- γ -eudesmol 7,15	γ -Cubébène 0,92	α -Copaène 0,27
Acétate de géranyle 6,45	α -Cadinène 0,9	Cis- β -Ocimène 0,26
Linalol 5,6	β -Cubébène 0,81	Myrcène 0,23
Butyrate de géranyle 4,65	Cis Oxyde de rose 0,74	Limonène 0,2
Longifolène 3,25	Isobutyrate de géranyle 0,73	Guaiadiène-6,9 0,18
Isomenthone 3,08	α -Pinène 0,69	Spathuléol 0,16
β -Bourbonène 2,75	Alloaromadendrène 0,62	Trans- β -Ocimène 0,14
D-Germacrène 2,23	Propionate de citronellyle 0,56	α -Phellandrène 0,06
Formiate de géranyle 2	Menthone 0,39	Cis Oxyde de linalol 0,06
Tiglate de phénylethyle 1,89	Trans Oxyde de rose 0,31	Trans Oxyde de linalol 0,03
β -Caryophyllène 1,71		
Total = 96,86%		

2.6 Huiles essentielles du genre *Pélargonium* :

L'huile de géranium « Geranium oil » commerciale est en fait obtenue par Hydrodistillation des feuilles de plusieurs espèces L'huile essentielle de feuille de pélargonium se trouve généralement dans les trichomes glandulaires des deux côtés de la feuille (Williams et Harborne, 2002) .

2.7 Utilisations :

Pelargonium graveolens est utilisé dans la médecine traditionnelle, notamment pour le soulagement des hémorroïdes, dysenterie, l'inflammation, cancer, antalgique l'industrie de parfumerie, dans les domaines de la cosmétique et de l'aromathérapie (**Hart et Lis-Balchin, 2002 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

Les extraits de Pélargonium peuvent potentiellement être utilisés comme antioxydants, antimicrobiens, antifongiques et insecticides (**Saraswathi et al., 2011**).

Chapitre 02 : **Stress oxydant**

1. Stress Oxydatif

1.1 Définition :

Le stress oxydatif est une série des agressions causées par des molécules dérivant de l'oxygène aux cellules de notre corps. Les plus connues de ces substances néfastes aux constituants de nos cellules sont les radicaux libres et pourraient être associés à certaines maladies. C'est le résultat d'un déséquilibre dans « antioxydant » qui révèle une augmentation continue de la production d'espèces réactives de l'oxygène ROS. Ce déséquilibre peut être dû à une carence d'antioxydant ou d'une surproduction (Amra, 2020).

Balance oxydative

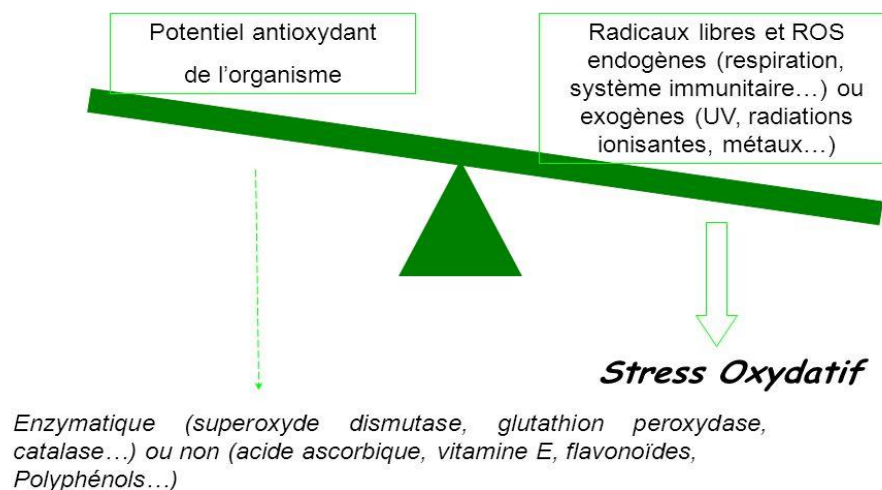


Figure 3 : Déséquilibre entre l'espèce réactive de l'oxygène (ROS), des et l'antioxydants (Amra, 2020).

2. Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, qui contient un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité, donc une demi-vie très courte. Les radicaux libres participent à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, au fonctionnement de certaines enzymes et certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la différenciation cellulaire, au cycle cellulaire, à la fécondation de ovule, à la régulation de la dilatation

capillaire, phénomène appelé contrôle redox des gènes et à la régulation des gènes. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Système redox). Parmi les espèces radicalaires les plus actives se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les ROS regroupent non seulement des radicaux libres le monoxyde d'azote NO. Et les radicaux secondaires tels que les radicaux peroxydes RO₂, les hydroperoxydes ROOH et les radicaux alkoxyles RO. Comme il existe d'autres substances réactives dérivées de l'oxygène, ne sont pas des radicaux libres, mais elles peuvent être leurs précurseurs comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, le nitroperoxyde ONOO⁻ et l'oxygène singulet 1O₂ (**Favier, 2003 ; Chiha ,2016 ; Matou, 2019 ; Eddhima, 2019 ; Adwas ,2019**).

2.1 Les maladies qui sont liées au stress oxydatif :

La production excessive de radicaux libres provoquant des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), où il y a grande variété de maladies humaines, y compris les troubles neurodégénératifs, sclérose en plaques, maladies cardio-vasculaires, cancer, diabète, athérosclérose, l'arthrite rhumatoïde, la mutation, , la malformation des fœtus, le dépôt de protéines anormales, la fibrose, et l'immunosuppression (**Pincemail *et al.*, 1999 ; Favier, 2006**).

3. Antioxydants :

Les antioxydants sont des molécules de la défense contre le stress oxydative induit par les radicaux libres. Dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations de ROS (**Favier, 2003**).

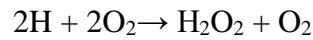
Les cellules ont des systèmes de défense antioxydants qui sont classés comme antioxydants enzymatiques ou non enzymatiques

3.1 Antioxydants enzymatiques :

Ce sont des enzymes qui agissent directement dans le piégeage des ROS.

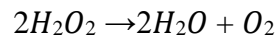
3.1.1. Superoxyde dismutase :

La SOD est une enzyme métallique contenant du cuivre et du zinc présent dans le cytosol. Elle se caractérise par la capacité de convertir le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (**Singh *et al.*, 2017**).



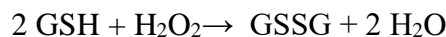
3.1.2. Catalase:

L'enzyme catalase (CAT) est un tétramère, il empêche l'agrégation du peroxyde d'hydrogène nocif, de sorte qu'il convertit le H_2O_2 en O_2 (**AL-Aloosy *et al.*, 2019**).



3.1.3. Glutathion peroxydase (GPx) :

GPx est une oxydoréductase dépendante du sélénium, se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Il agit en conjonction avec le tripeptide glutathion(GSH), le substrat pour la réaction catalytique de GPx est H_2O_2 ou un peroxyde organique ROOH. GPx décompose les peroxydes en eau tout en oxydant simultanément le GSH (**Cardoso *et al.*, 2017**).



3.2 Antioxydants non enzymatiques :

Molécules chimiques de faible poids moléculaire peuvent également agir directement comme antioxydants (**Sharifi-Rad *et al.*, 2020**).

3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes :

Ils existent de nombreux participant à la protection de l'organisme contre les ROS, les plus importants étant le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoiique (**Sharifi *et al.*, 2020**).

3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes :

Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à le supprimer où la nutrition joue un rôle central pour préserver notre santé.

Dans les aliments riches en antioxydants on retrouve :

a-Fruits : oranges, pommes, fraises, kiwi, abricot...

b- Légumes : artichaut, épinards, brocoli, carotte.

Et aussi le cacao, le café, le thé, les oléagineux sont aussi des aliments chargés en antioxydants (**Haida et Hakimian, 2019**).

3.2.2.1 La vitamine E :

Est une molécule possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. Son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où il joue un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxy ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Amra, 2020**).

3.2.2.2 Vitamine C :

La vitamine C « acide ascorbique » est une vitamine hydrosoluble. La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : il contribue au bon fonctionnement du système immunitaire, participe à la synthèse du collagène et les globules rouges, et participe au mécanisme du métabolisme du fer (**Ravetti et al., 2019**).

3.2.2.3 β -carotène :

Précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation qui se lie aux radicaux peroxy ($\text{ROO}\cdot$) (**Shankaranarayanan et al., 2018**).

3.2.2.4 Polyphénols :

Les Polyphénols sont des composés naturels. Ils agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (**Haida et Hakimian, 2019**).

3.2.2.5 Sélénium:

Le sélénium est un antioxydant qui intervient dans l'activité du système enzymatique protecteur (**Galan *et al.*, 1997**).

Partie
expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif:

L'objectif de ce travail est l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pelargonium graveolens*.

Ce travail est effectué au sein du laboratoire biochimie de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers Abou-Bekr Belkaïd Tlemcen.

Il se compose de deux parties :

a- préparation de 3 extraits (eau acétone, fractions aqueuse et butanolique).

b- évaluation de l'activité antioxydant par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

2. Matériel végétal :

2.1 Récolte du matériel végétale :

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de *P. graveolens*. qui a été récoltée au mois de mars 2022 à Tizi, willaya de Tlemcen, commune d'Ain Fezza.

2.2 Séchage de la plante :

Après la récolte, la plante a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière à température ambiante puis stockées soigneusement à température ambiante et à l'ombre jusqu'à son utilisation.



Figure 4 : la plante après séchage (photo personnelle)

3. Matériel de laboratoire :

Balance, bécher, boîte de pétri, erlenmeyer, ballon à fond plat, ampoule à décanté, étuve, tubes, cuvette et spectrophotométrie sont utilisés.

4. Préparation des extraits :

4.1 Eau acétone :

- chauffer 100 ml de solvant eau acétone (30ml eau distillée + 70ml acétone) et mélanger avec 10g de plante sèche.
- Le mélange repose pendant 30 min (Extraction par infusion).
- Filtration et récupération du filtrat.
- le filtrat est évaporé par rotavapor, 40°C pour concentrer l'extrait et mettre sur boîte de pétri.
- Séchage à l'étuve à 50°C pendant 24h.
- Récupération de produit.



[1]



[2]



[3]



[4]



[5]



[6]

Figures 5 : Les étapes de préparation de extrait eau acétone

4.2 Fraction aqueuse :

-Cet extrait est récupéré à partir de l'extrait eau-acétone après concentration au rotavapeur. Le fractionnement liquide-liquide se fait par ajout du butanol à l'extrait concentré. Un volume de butanol égal à celui de l'extrait est ajouté. L'opération est répétée trois fois et permet d'avoir deux phases, aqueuse et organique (butanolique).

Les fractions obtenues sont évaporées au rotavapeur.

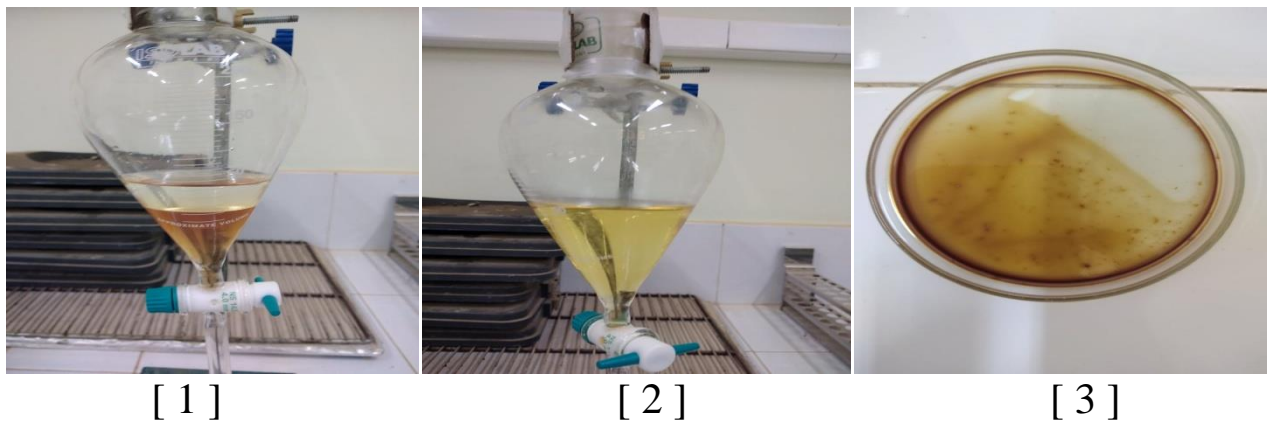


Figure 6 : Les étapes de préparation fraction aqueuse

4.3 Fraction butanolique :

C'est la phase organique récupérée et conservée jusqu'à usage

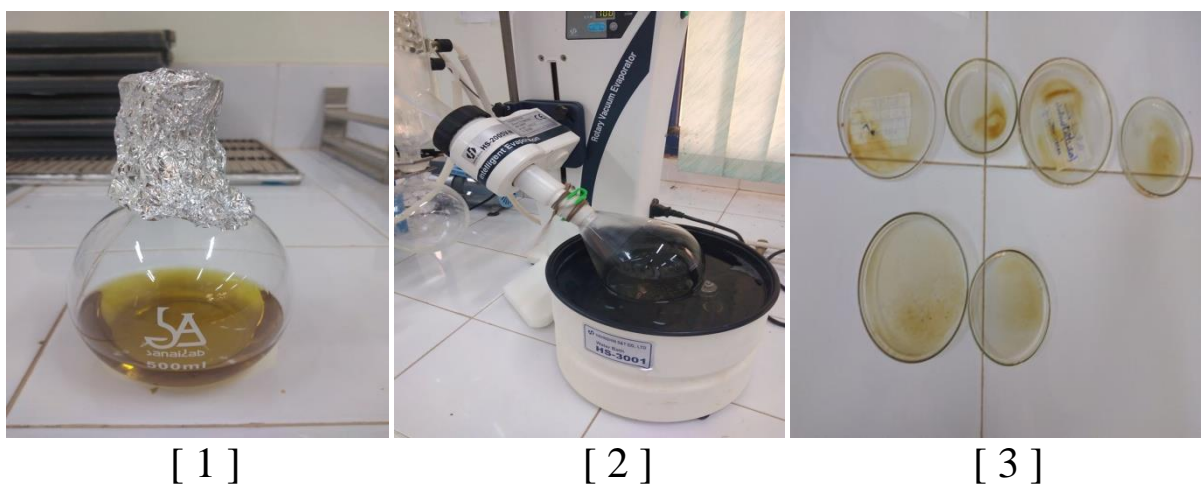


Figure 7: Les étapes de préparation fraction butanolique

5. Calcul du rendement :

Après l'extraction, les extraits séchés sont récupérés et les rendements sont calculés par la formule suivante :

$$R = [(M2-M1)/P] \times 100$$

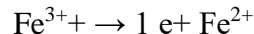
Ou :

- R : rendement en pourcentage %.
- M2 : la masse de la boîte pétrie après séchage (contient l'extrait) en gramme.
- M1 : la masse de la boîte pétrie vide en gramme.
- P : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai).

6. Principe de FRAP :

La méthode de FRAP (ferric reducing antioxidant power) est fondée sur la réduction du fer (Fe^{3+}) (OYAIZ, 1986). C'est une réduction de l'ion ferrique (Fe^{+++}) en ion ferreux (Fe^{++}) par les antioxydants qui donnent la couleur bleu ou vert.

Coloration du jaune au bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydant a faible ph.



6.1. Solutions à préparer :

- *Solution tampon phosphate 0,2M ; pH = 6,6.
- *Solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- *Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.
- *Solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 0,1%.

6.2. Mode opératoire :

1ml de l'extrait à différentes concentrations (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1mg/ml) est mélangé avec 2,5ml de la solution tampon phosphate et 2,5ml de ferricyanure de potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20min.

Après l'incubation 2,5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (centrifugation peut ne pas être nécessaire).

2,5ml de surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml de Chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif de la réaction.

Résultats et interprétation

1. Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait :

Les résultats de l'extraction sont résumés sur le tableau 2.

Tableau 2 : Les caractéristiques et le rendement de chaque extrait :

Caractéristique	Aspect	couleur	Solubilité	Rendement %
Eau acétone	Poudre	marron	Soluble	1,3%
Fraction aqueux	Poudre	marron	Soluble	2%
Fraction butanolique	Pate	marron	Soluble	0,9%

Les résultats obtenus montrent que les trois extraits possèdent une couleur marron et sont récupérés sous forme de poudre pour les 2 premiers extraits et pate pour troisième avec des rendements variables, l'extrait eau-acétone récupéré a donné un rendement appréciable 1,3%, fraction aqueux 2 % et butanolique 0,9 %.

2. Effet des extraits :

2.1 Eau acétone

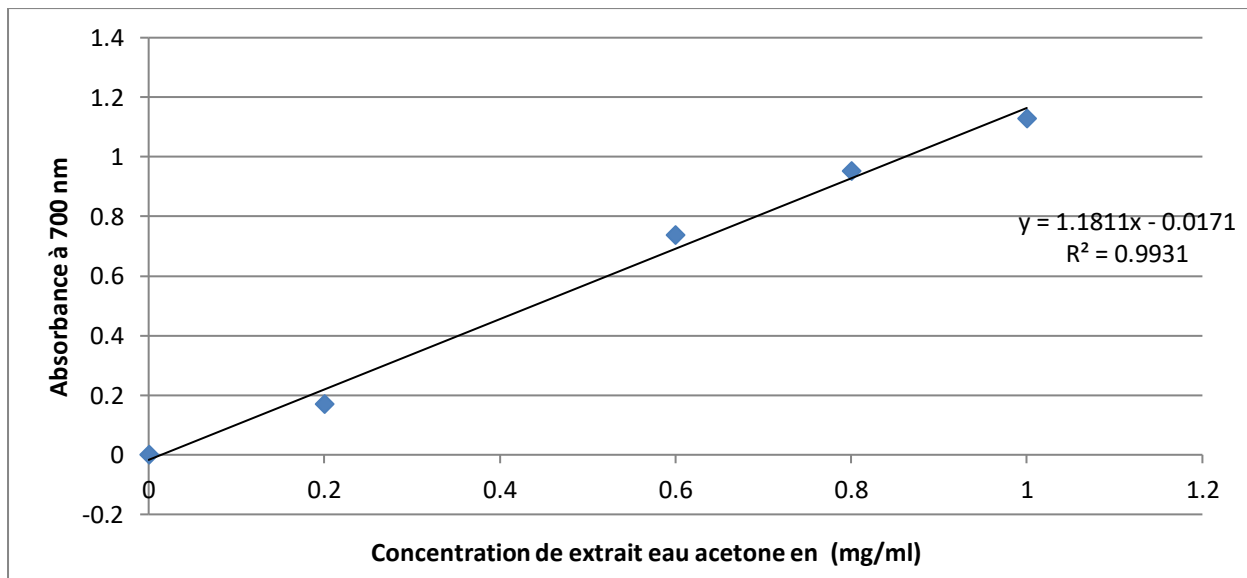


Figure 8 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau acétone de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

D'après figure 8 le graphe représente le résultat de la capacité de l'extrait eau-acétone à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en fonction de la concentration on observe

Résultats et interprétation

augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait.

2.2 Fraction aqueuse :

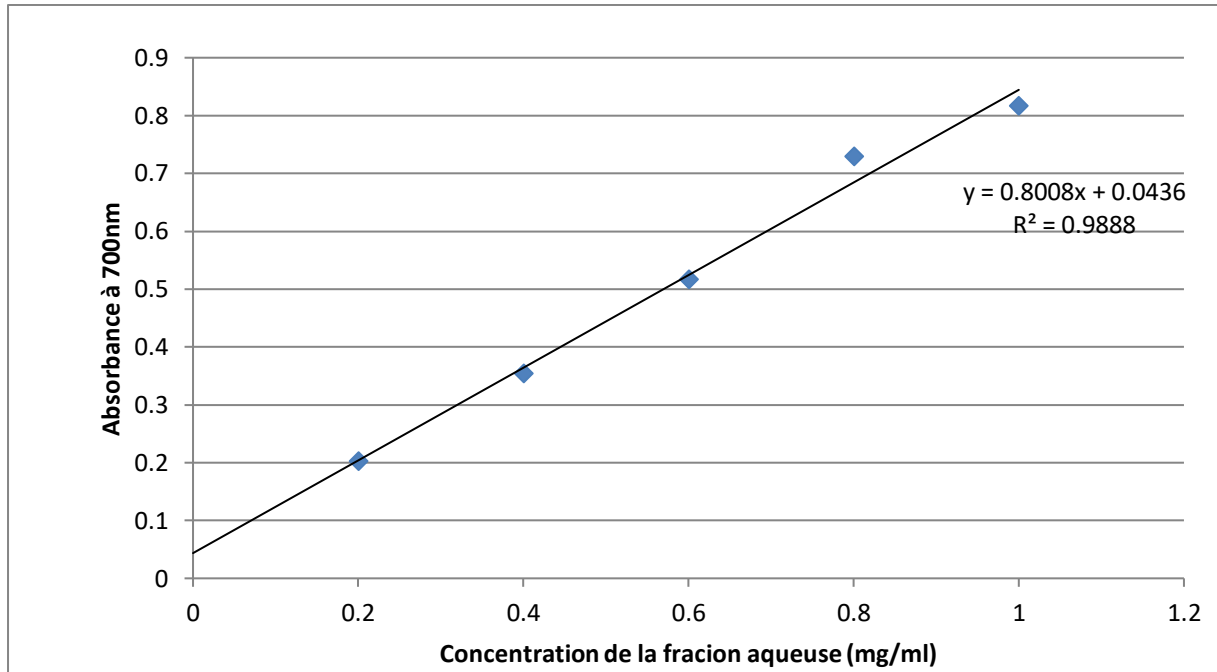


Figure 9 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par la fraction aqueuse de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

D'après figure 9 le graphe représente le résultat de la capacité de fraction aqueuse à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en fonction de la concentration on observe augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait.

2.3 Fraction butanolique :

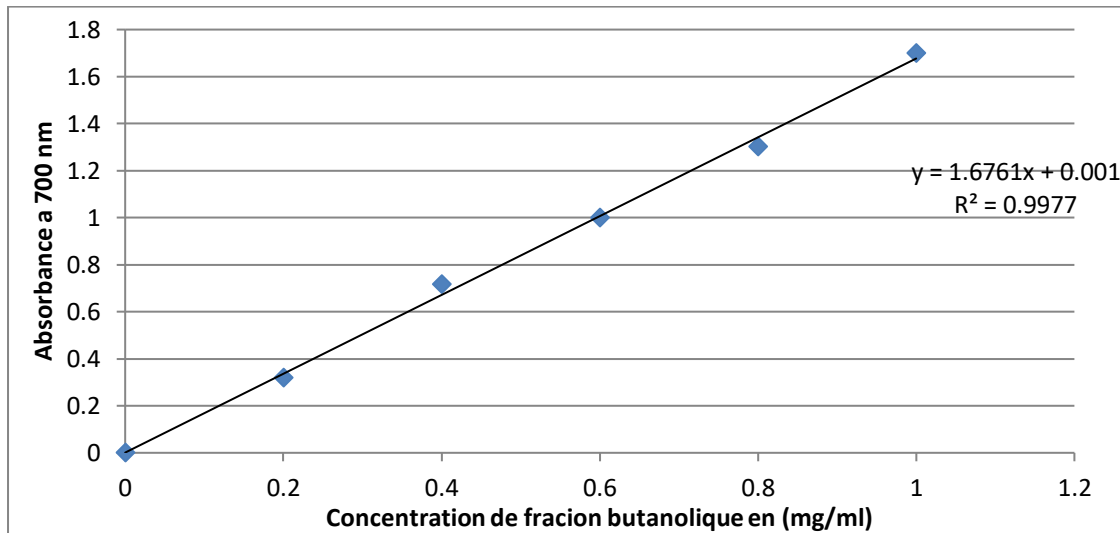


Figure 10 : Représentation du graphique du pouvoir réducteur du fer par la Fraction butanolique de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

D'après la figure 10 le graphe représente le résultat de la capacité de la fraction butanolique à réduire le fer ferrique (Fe_{3+}) en fer ferreux (Fe_{2+}) en fonction de la concentration on observe une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait.

3. Effet de l'acide ascorbique :

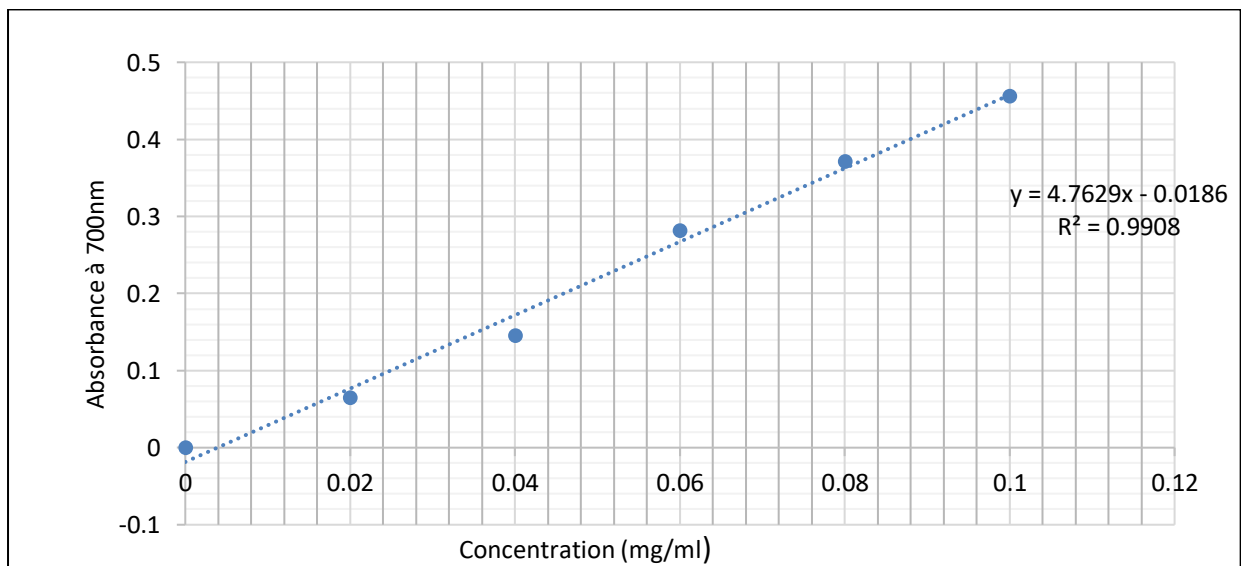


Figure 11 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.

Résultats et interprétation

D'après figure 11 le graphe observe augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique qui a été mesuré dans les mêmes conditions que les autres extraits.

La fraction butanolique présente l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec une absorbance $A=1,7$ à une concentration de 1mg/ml comparé à l'extrait eau-acétone $A=1,128$ et avec fraction aqueux $A=0,816$.

Les trois extraits étudiés ont la capacité de réduire le fer, mais l'acide ascorbique employé dans cette méthode comme un contrôle positif, a montré un pouvoir réducteur très proche.

Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs d' EC_{50} (la concentration qui correspond à une absorbance de $0,5$ à 700nm).

Tableau 3: Valeur des EC_{50} en mg/ml des trois extraits de *Pelargonium graveolens* et de l'acide ascorbique.

	Eau acétone	F. aqueuse	F. butanolique	A. Ascorbique
EC_{50} (mg/ml)	0,485	0,446	0,50	0,101

L'étude de l'activité réductrice du fer a montré que EC_{50} de la fraction aqueuse est la plus faible ($0,446\text{mg/ml}$), suivi par l'extrait eau acétone ($0,485\text{ mg/ml}$), et fraction butanolique qui a la valeur d' EC_{50} la plus élevée ($0,50\text{ mg/ml}$).et acide ascorbique c'est facteur control positif ($0,101\text{ mg/ml}$). La déférence reste légère.

Discussion

Parmi les centaines espèces répertoriées, le géranium rosat est très connu pour ses facultés odorantes mais pas seulement. Il a aussi également de nombreuses vertus thérapeutiques et médicinales.

L'objectif de ce travail est porté sur l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits : eau-acétone, fraction aqueux et butanolique de la partie aérienne de *Pelargonium graveolens*.

Au début nous avons commencé par la préparation de l'extrait eau acétone par la méthode d'extraction par infusion et fraction aqueux et butanolique, où nous avons déterminé les rendements de chaque extrait.

Pour atteindre notre objectif, nous avons choisi la technique de FRAP pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits préparés.

Le rendement le plus élevé a été obtenu dans fraction aqueuse (2%) puis vient l'extrait eau acétone (1,3%) et le rendement le plus faible de la fraction butanolique (0,9%). Cette différence du rendement peut être due aux solvants utilisés dans la méthode d'extraction. L'extraction consiste à séparer les composés chimiques d'un organisme végétal à l'aide de solvants sélectifs et se fera toujours par un solvant de même polarité.

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits de *Pelargonium graveolens*. et de l'acide ascorbique (employé dans cette méthode comme un control positif). Le test de réduction du fer ferrique dépend de la capacité de réduction qui converti le fer ferrique Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{2+} , ce test sert d'un indicateur de l'activité antioxydant (**Angel et al., 2013**).

L'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700nm est due à la réduction de Fe^{3+} à la forme ferreuse (**Chung et al., 2002**).

En comparant avec d'autres travaux par exemple, celui réalisé sur les feuilles de *Prunus persica*, nos extraits présente une meilleure activité par rapport à celle obtenue lors de ce travail où on a enregistré avec un extrait acétone/méthanol une EC_{50} égale à 1,82 mg/ ml (**Baba Ahmed, 2019**).

D'autres résultats sur la même plante avec la méthode FRAP, montrent que l'extrait eau/acétone de la première variété présente une meilleure activité avec une EC_{50} égale à 3,18 mg/ml par rapport à l'extrait eau/acétone de la deuxième variété, qui a présenté une EC_{50} égale à 2,16 mg/ml (**Mezouar et al., 2020**).

D'après les résultats obtenus par (**Bensallah *et al.*, 2012**) pour la méthode FRAP, l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier des différentes variétés en Tunisie, a montré une activité importante pour réduire le fer selon l'ordre suivant : l'extrait des feuilles de la variété de Chemlali suivi par Gerboua et Sévillane.

Selon (**Bouabdellah , 2014**) et (**Sghir ,2019**), les résultats de la méthode de réduction de fer FRAP ont montré une activité très élevée pour les extraits hydrométhanoliques des feuilles de l'olivier sauvage, ce qui confirme nos résultats.

Donc En utilisant ces résultats des mémoires comme références de comparaison, nous concluons que nos résultats sont meilleurs par rapport à d'autres plantes.

Conclusion

L'objectif de ce travail, réalisé sur la partie aérienne de la plante géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) est d'évaluer son pouvoir antioxydant.

Dans la première partie, on a préparé et récupéré les rendements des extraits (eau acétone 1,3%, aqueux 2%, butanolique 0,9%).

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué l'activité antioxydante par la méthode de dosage FRAP. Nos résultats montrent que les extraits ont une capacité à réduire le fer qui augmente avec l'augmentation de la concentration.

Les valeurs d' EC_{50} montrent que la fraction aqueuse ($EC_{50} = 0,446\text{mg/ml}$) a une activité antioxydante plus élevée par rapport à l'extrait eau acétone ($EC_{50} = 0,485\text{mg/ml}$) et butanolique ($EC_{50} = 0,50\text{mg/ml}$). Cette différence reste légère.

A la lumière de ce travail nous proposons :

- Réalisation d'autres tests pour une meilleure évaluation du pouvoir antioxydant de la plante étudiée.
- Utiliser d'autres solvants pour mieux fractionner les molécules contenues dans l'extrait eau-acétone
- l'utilisation de cette plante notamment dans le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement dans la lutte contre la contamination bactérienne.
- Changement de la région et la période de récolte.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

-- **Adwas A.A., Elsayed A.S.I., Azab A.E., et al. (2019).** Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng.*6 (1):43–47. Doi: 10.15406/jabb.2019.06.00173.

-- **Al-Aloosy, Y.A.M., AL-Tameemi, A.J.H., Jumaa, S.S. (2019).** The role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in facing the environmental stresses on plant: a review. *plant Archives* Vol. 19, Supplement 1, pp. 1057-1060.

-- **Amra, B. (2020).** "Antioxidant Enzymes and their Role in Preventing Cell Damage". *Acta Scientific Nutritional Health*, 4.3: 01-07.

-- **Angel GR, Vimala B, Nambisan B, Phytopharm. (2013).**4(1), 96-105.

-- **Asgarpanah, J, Ramezanloo. (2015).** An overview of Phytopharmacology of *Pelargonium graveolens*. *Indian Journal of dr* Knowledge 14: 558-563.

-- **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.

B

-- **Baba Ahmed, F. (2019).** Contribution à l'étude photochimique et l'activité antioxydant des feuilles de *Prunus persica* L. (Région de Nedroma) .

-- **Ben Salah, M., Abdelmelek, H., & Abderraba, M. (2012).** Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Medicinal chemistry*, 2(5), 107-111.

-- **Bouabdallah, A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier Sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Références bibliographiques

-- **Boukhatem, M. N., Saidi, F., Hamaidi, M. S., Hakim, Y., & Mekarnia, M. (2011).**

Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie: état des lieux et perspectives. *Phytothérapie*, 9(5), 304-309.

C

-- **Cardoso, B. R., Hare, D. J., Bush, A. I., and Roberts, B. R. (2017).** Glutathione peroxidase 4: A new player in neurodegeneration? *Mol. Psychiatry* 22, 328–335. Doi: 10.1038/mp.2016.196.

-- **Chiha, F., Benkara, Y., Sellami, A., & Karouche, S. (2016).** Stress oxydant: influence d'une complementation nutritionnelle en antioxydantset adaptation a l'exercice physique.

-- **Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST., (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. pp 2454–2458.

E

-- **Eddhima, Z. (2019).** *Les radicaux libres: effets, mécanismes et approches thérapeutiques* (Doctoral dissertation).

F

-- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

-- **FORNET. N. (2016).** Le GÉRANIUM ROSAT BOURBON. Mémoire de fin d'études «Conseil en aromathérapie» HIPPOCRATUS. Île de La Réunion.

G

-- **Galan P, Preziosi P, Triol I. (1997).** Antioxydant et prévention cahiers de nutrition et de diététique. 359-370.

Références bibliographiques

-- Ghedira, K., & Goetz, P. (2015). Géranium rosat: *Pelargonium graveolens* L'Hér.(Géraniaceae). *Phytothérapie*, 13(3), 197-201.

H

-- Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). *A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and no enzymatic antioxidant activities. Food Science & Nutrition.* doi:10.1002/fsn3.1012.

-- Hart. S et Lis-Balchin. M .2002). Geranium and Pelargonium. Pharmacology of Pelargonium essential oils and extracts in vitro and in vivo (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 116-131.

J

-- Janin, J. (2006). Intoxication volontaire par l'ingestion d'huile essentielle de Géranium Bourbon (*pélargonium Graveolens*) : à propos d'un cas réunionnais (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

L

--LEMAIRE C., CHAUVIÈRE A.(1842). Traité de la culture des Géraniums, des calcéolaires, des verveines et des cinéraires. Paris: Cousin, 1842, p.36.

M

-- Matou, M. (2019). Composition et propriétés biologiques d'extrait de *Phyllanthus amarus* Sehumacher et thonong (1827) utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles (Doctoral dissertation).

--Mezouar, D., Azzi, R., M.,Lahfa F. B. (2020). activity antioxidant effect of *Prunus persica*. . Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Références bibliographiques

-- **Miller, M .(2002)**. Geranium and Pelargonium. The taxonomy of Geraniumspecies and cultivars, their origins and growth in the wild (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 49-79.

N

--**Norme ISO**. Matière premières d'origine naturelle. ISO 9235. 1997

O

-- **Oladeji, O. (2016)**. The Characteristics and roles of medicinal plants: Some important medicinal plants in Nigeria. *Nat Prod Ind J*, 12(3), 102.

P

-- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999)**. Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.

R

--**Ravetti, S., Clemente, C., Brignone, S., Hergert, L., Allemandi, D., & Palma. (2019)**.Ascorbic Acid in Skin Health. *Cosmetics*, 6(4), 58.doi:10.3390/cosmetics6040058

-- **Rhattas, M., Allal, D., Lahcen, Z. (2015)**. Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemrane (Rif occidental du Maroc), *Journal of Applied*

-- **RIVIERE, C.(1889)**. Algérie: horticulture générale, végétation, cultures spéciales, acclimatation.Paris : Hachette, p.67.

S

-- **SaraswathiJ, VenkateshK, BaburaoN, Hill MH, RojaRA, et al .(2011)**.Phytopharmacological importance of Pelargonium species. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 2587-2598.

Sghir, A. (2019). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'Olea europaea sylvestris. Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Références bibliographiques

--Shankaranarayanan, J., Arunkanth, K., Dinesh, K. C. (2018). Beta Carotene Therapeutic Potential and Strategies to Enhance Its Bioavailability. *Nutri Food Sci IntJ*.7 (4): 555716. DOI: 10.19080/NFSIJ.2018.07.555716

--Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N.V., Zucca, P., Varoni, E.M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P.V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M.E., Polito, L., Iriti, M. (2011).

-- Singh, Y. P., Patel, R. N., Singh, Y., Butcher, R. J., Vishakarma, P. K., and Singh, R. K. B. (2017). Structure and antioxidant superoxide dismutase activity of copper (II) hydrazone complexes. *Polyhedron* 122, 1–15. Doi: 10.1016/j.poly. 2016.11.013.

-- Sompaga, S., Jyothi, B. A., Chekuri, S., Baburao, N., & Anupalli, R. R. (2016). Organic Extracts of *Pelargonium graveolens*: Phenol Content, Anti-oxidant and Anti-bacterial Activities. *European Journal of Medicinal Plants*, 17(1), 1-8.

W

-- Williams CA, Harborne JB .(2002). Phytochemistry of the genus *Pelargonium*. In : Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium*. London : Taylor and Francis, p. 172-205.