

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة محمد بوضياف/المسيلة

UNIVERSITÉ MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE

MÉMOIRE : MASTER ACADÉMIQUE

FILIÈRE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUÉE

Présenté par :

DERRADJ Souaad & GHERBI Sara

Thème :

## Projet de recherche

**Caractérisation des extraits bruts de *Pelargonium graveolens* cultivé au Maader (région de Hodna, Algérie)**

DEVANT LE JURY :

Dr. FREIDJA Mohamed lamine

Dr. CHERIF Kamel

Mme. BOUAZIZ Samia

Mr. KHERBACHE Abdallah

Encadreur

Président

Examineur

Examineur

Année universitaire: 2019/2020

## *Remerciement*

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

*A notre encadreur Dr : FREIDJA Mohamed Lamine pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, et sa disponibilité pour l'accomplissement de ce travail.*

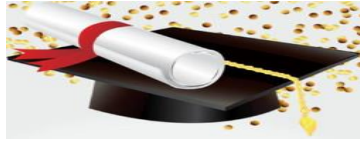
*A tous les membres du laboratoire du département de Biochimie et de Microbiologie, en particulier Mr. SGHIRI Kamel et les ingénieurs pour leur soutien et les facilités accordées dans la réalisation de ce travail.*

*Nous désirons vivement exprimer mes grands respects et mes remerciements à tous les membres du jury.*

*Nous tiens à remercier également tous les enseignants du département de sciences de la vie. Nous les remercies vivement pour leurs disponibilités, leurs gentillesse, conseils précieux et incessants et leurs apports scientifiques*

*Enfin, nous voudrions associer nos remerciements à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la contribution de ce travail.*





## Dédicace

*Je dédie ce travail*

*A mon grand cher père :*

*Elderradjí*

*A mes très chers parents :*

*Alí et Zohra; pour leurs tendresse, leurs aide, leurs confiance  
qui m'ont permis d'aller au bout de mes études et de réaliser  
ce mémoire ; qu'ils trouvent ici l'expression de toute mon  
affection et de ma reconnaissance.*

*A mes chers frères :*

*Walíd, íslam, íssa et Bítal*

*A mes sœurs:*

*Maríam, Hayat, Khadídja*

*A mes très chères:*

*Sara, Karíma et Chahíra*

*A tous mes amis et collègues A tout ce qui j'aime et j'ai  
connu de près ou de loin*

*Souad*



# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à ...*

*A mon très cher père*

*A l'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, À toi mon père Messaoud.*

*A ma très chère mère*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman Cherifa, Que j'adore.*

*A mes sœurs*

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*Mon cher frère Alilo*

*A mon seul frère pour son amour, son encouragement, son patience, et son confiance indéfectible en moi.*

*A tous mes amis Asma, Zahia, Radya,*

*Soulaf*

*A toute ma grande famille*

*Sara*



# Table des matières

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Partie 1: Synthèse bibliographique

### Chapitre I: Métabolites primaires et secondaires

I. Généralités..... 3

I.1. Plantes médicinales ..... 3

I.2. Plantes aromatiques..... 3

II. Définition des métabolites ..... 3

II.1. Métabolites primaires..... 4

II.2. Métabolites secondaires ..... 5

### Chapitre II: Activités biologiques

I. Activité antioxydante..... 10

I.1. Stress oxydatif ..... 10

I.2. Radicaux libres ..... 10

I.3. Pathologies liées au stress oxydant ..... 12

II. Antioxydants ..... 12

II.1. Antioxydants enzymatiques ..... 12

II.2. Antioxydants non enzymatiques ..... 13

II.3. Evaluation de l'activité antioxydant *in vitro*..... 15

III. Activité antibactérienne ..... 15

III.1. Généralités ..... 15

III.2. Culture des bactéries.....	16
III.3. Principales substances antibactériennes .....	16
III.4. Méthodes d'évaluation de l'activité bactérienne .....	16

### **Chapitre III: Méthodes d'extraction**

I. Définition d'extraction .....	17
I.1. Décoction .....	17
I.2. Extraction par Soxhlet.....	17
II. Filtration .....	18
II.1. Filtration gravitationnelle.....	18
II.2. Filtration sous vide.....	18
III. Evaporateur rotatif.....	18

### **Chapitre IV: La plante étudiée**

I. Présentation de la plante sélectionnée.....	19
I.1. Historique.....	19
II. Présentation de la famille des Géraniacées (Geraniaceae) .....	19
II.1. Géranium rosat ( <i>Pelargonium graveolens</i> ).....	19

## **Partie 2: Etude expérimentale**

### **Chapitre I: Matériels et Méthodes**

I. Situation géographique de la région d'étude .....	23
II. Récolte du matériel végétale.....	23
III. Séchage de la plante .....	23
IV. Broyage du matériel végétal .....	24
V. Préparation des extraits bruts.....	24
V.1. Méthodes d'extraction .....	24
V.2. Evaporation.....	25
V.3. Calcul de rendement .....	25
VI. Etude qualitative.....	26

VI.1. Tests phytochimiques .....	26
VII. Identification des composants par HPLC-SM .....	27
VIII. Etude quantitative .....	28
VIII.1. Dosage chimique .....	28
VIII.2. Dosage des sucres (glucides) .....	29
IX. Activité biologique .....	29
IX.1. Activité antioxydant .....	29
IX.2. Activité antibactérienne.....	30
X. Etude statistique.....	31

## **Chapitre II: Résultats préliminaires**

I. Etude comparative des techniques d'extractions des extraits de <i>P. graveolens</i> ... ..	32
I.1. Couleur et aspect des extraits .....	32
I.2. Détermination du rendement .....	32

## **Partie 3 :**

### **Etude financière du projet**

I. Estimation financière des besoins des expériences dans le laboratoire d'accueil.....	33
I.1. Matériels disponibles dans le laboratoire d'accueil .....	33
I.2. Produits chimiques spécifiques aux expériences réalisées dans le cadre de l'actuel projet de recherche.....	34
II. Estimation financière des expériences réalisées hors le laboratoire d'accueil... ..	36
Conclusion et perspectives .....	38
Références bibliographiques	

## Liste des abréviations

- **1O<sub>2</sub>** : Oxygène singlet
- **ABTS** : Acide 2,2'-azinobis 3-ethylbenzo-triazoline-6-sulphonate
- **AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium
- **ANOVA** : Analyse de la variance
- **ATCC** : Collection de culture de type American
- **CAT** : Catalase
- **CRBT** : centre de recherche en biotechnologie
- **DPPH** : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
- **FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer
- **GPx** : Glutathion peroxydases
- **GSH** : Glutathion
- **GSSG** : Glutathion oxydé
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène
- **H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique
- **HClO** : Acide hypochloreux
- **HO•** : Radical hydroxyle
- **HO<sub>2</sub>** : Hydroperoxyde
- **HPLC-SM** : Chromatographie liquide de haute performance couplé a la spectroscopie de masse
- **KOH** : Potassium hydroxyde
- **N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>** : Trioxyde de nitrogène
- **NADPH** : Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate
- **NO•** : Monoxyde d'azote
- **NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote
- **NO<sub>3</sub>** : Peroxynitrite
- **O<sub>2</sub><sup>-•</sup>** : Anion superoxyde
- **ORAC** : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)
- **R•** : Radical alkyles
- **RNS** : Reactive nitrogen species

- **RO<sup>•</sup>** : Radical alkoxyde
- **ROO<sup>•</sup>** : Radical peroxyde
- **ROOH** : Peroxydes organiques
- **ROS** : espèce réactif de l'oxygène
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **TEAC** : Capacité antioxydant équivalente Trolox
- **TRAP** : Potentiel antioxydant piégeant total des radicaux

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Classification des métabolites secondaires.....	05
<b>Figure 02</b> : Différentes classes des flavonoïdes.....	06
<b>Figure 03</b> : Structure chimique de base des coumarines.....	07
<b>Figure 04</b> : Structure chimique des anthocyanes.....	07
<b>Figure 05</b> :Structure de dérivés de l'acide-benzoïque (A) et l'acide cinnamique (B).....	08
<b>Figure 06</b> : Structure chimique des tanins.....	08
<b>Figure 07</b> : Déséquilibre entre l'espèce réactive de l'oxygène (ROS) et l'espèce réactive d'azote (RNS) et l'antioxydant.....	10
<b>Figure 08</b> : Formation des espèces de l'oxygène (ERO) et nitrogène (ERN).....	11
<b>Figure 09</b> : Structure chimique de tocophérol.....	14
<b>Figure 10</b> : Structure chimique de l'acide ascorbique.....	14
<b>Figure 11</b> : Structure chimique de bêta-carotène.....	15
<b>Figure 12</b> : Extracteur Soxhlet.....	17
<b>Figure 13</b> : Montage de base de filtration sous vide.....	18
<b>Figure 14</b> : Récolte de la plante <i>P.graveolens</i> .....	24
<b>Figure 15</b> : Schéma des différentes étapes de la préparation des extraits bruts de <i>P. graveolens</i> .....	26

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans <i>P.graveolens</i> par la technique d'HPLC-SM.....	21
<b>Tableau 02 :</b> Préparation de courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.....	29
<b>Tableau 03:</b> Couleur et l'aspect des deux extraits.....	32
<b>Tableau 04 :</b> Poids d'extrait sec et rendement correspondant des deux méthodes d'extraction des extraits à partir de la plante <i>P. graveolens</i> .....	32
<b>Tableau 05 :</b> Liste des matériels disponibles dans le laboratoire d'accueil.....	33-34
<b>Tableau 06 :</b> Produits chimiques spécifique utilisés aux expériences réalisées dans laboratoire d'accueil .....	34
<b>Tableau 07 :</b> Prix estimatif de la technique HPLC-SM.....	37

**RÉSUMÉ**

ملخص

**ABSTRACT**

## Résumé

*Pelargonium graveolens* (géranium rosat) est une plante qui appartient à la famille des Géraniacées (*Geraniaceae*). Originnaire de l'Afrique du Sud, elle est largement répandue dans d'autres pays comme l'Espagne, l'Italie, le Maroc et l'Égypte.

Notre projet de recherche portera sur la valorisation de cette plante médicinale, récemment cultivée avec succès dans la région de Maader (Wilaya de M'sila, Algérie).

Deux extraits bruts ont été préparés à partir de feuilles : l'extrait aqueux, obtenu par décoction et l'extrait méthanolique, obtenu par Soxhlet. Les rendements des deux extraits sont proches de l'ordre de 18%. Les deux extraits seront soumis à une série de tests : qualitatifs (caractérisation phytochimique) et quantitatifs (dosage des polyphénols et des sucres). Par la suite, nous allons évaluer *in vitro* l'action biologique des extraits de *P. graveolens*, à savoir l'activité antioxydante, par DPPH, et l'activité antimicrobienne qui sera déterminée vis à vis de plusieurs souches de référence dans notre laboratoire, par la méthode de diffusion sur disque. Un budget estimatif pour mener à terme cette étude a été déterminée sur la base des prix du matériel et des produits qui seront utilisés. Par ailleurs, nous aurons recours à la prestation de service auprès du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine afin de réaliser une analyse plus poussée des deux extraits à l'HPLC-SM.

Ce projet devrait aboutir à la détermination de la composition des extraits de *P. graveolens* ainsi que leurs propriétés biologiques. Ceci permettrait d'ouvrir des perspectives intéressantes pour la valorisation d'une plante disponible localement, notamment dans l'industrie de la parfumerie-cosmétique.

**Les mots clés :** *Pelargonium graveolens*, polyphénols, sucres, activité antioxydante, activité antimicrobienne,

## ملخص

العطرشية هي نبات ينتمي إلى عائلة الغرنوقيات (Géraniacées). موطنها جنوب إفريقيا ، منتشرة على نطاق واسع في دول أخرى مثل إسبانيا وإيطاليا والمغرب ومصر.

سيركز مشروعنا البحثي على تثمين هذه النبتة الطبية ، التي تمت زراعتها مؤخرًا بنجاح في منطقة المعذر (ولاية المسيلة ، الجزائر). تم تحضير مستخلصين خامين من أوراقها : المستخلص المائي الذي تم الحصول عليه عن طريق الاستخلاص بالغلي والمستخلص الميثانولي الذي تم الحصول عليه بواسطة Soxhlet. تظهر النتائج الأولية أن مردود المستخلصين كان 18% على التوالي. سيخضع المستخلصان لسلسلة من الاختبارات: النوعية (المميزات الكيمونباتية) والكمية (تحديد البوليفينول والسكريات) بعد ذلك. سنقوم في المختبر بتقييم التأثير البيولوجي لمستخلصات العطرشية ، أي النشاط المضاد للأكسدة ، بواسطة اختبار DPPH والنشاط المضاد للميكروبات الذي سيتم تحديده ضد العديد من السلالات المرجعية في مختبرنا ، من خلال طريقة الانتشار القرصي.

تم تحديد الميزانية التقديرية لإكمال هذه الدراسة بناءً على أسعار المعدات والمنتجات التي سيتم استخدامها. بالإضافة إلى ذلك ، سوف نلجأ إلى مركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية (CRBT) في قسنطينة لطلب الخدمة من أجل إجراء تحليل أكثر عمقا للمستخلصين في الكروماتوجرافيا السائلة عالية الضغط مقرونا بالطيف الكتلي (HPLC-SM).

نتوقع ان يؤدي هذا المشروع إلى تحديد تركيبة مستخلصات العطرشية بالإضافة إلى خصائصها البيولوجية. هذا من شأنه أن يفتح آفاقاً مثيرة للاهتمام لتطوير منتجات محلية، لاسيما في مجال صناعة مستحضرات التجميل.

**الكلمات المفتاحية:** العطرشية، البوليفينول، السكريات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات ،

## Abstract

*Pelargonium graveolens* (rosat geranium) is a plant that belongs to the Geraniaceae (*Geraniaceae*) family. Native to South Africa, it is widely distributed in other countries such as Spain, Italy, Morocco and Egypt.

Our research project will focus on the valorization of a medicinal plant, recently cultivated with success in the region of Maader (wilaya of M'sila, Algeria).

Two crude extracts were prepared from its leaves: the aqueous extract, obtained by decoction and the methanolic extract, obtained by Soxhlet. Preliminary results show that their extraction yields are close to the order of 18%. The two extracts will be submitted to a several of tests: qualitative (phytochemical characterization) and quantitative (determination of polyphenols and sugars).

Furthermore, we will evaluate the biological action *in vitro* of these extracts namely the antioxidant activity, by DPPH, and the antimicrobial activity which will be determined against several strains of reference in our laboratory, by the method of distribution on disk. An estimated budget to complete this work has been determined based on the prices of the equipment and products used. In addition, we will need to ask the biotechnology research Centre (CRBT) of Constantine to carry out an identification with the HPLC-MS.

Our project should lead to the identification of the composition of *P.graveolens* extracts and their biological properties. This work will open up interesting perspectives for using local plants, particularly in the cosmetic industry.

**Key words:** *Pelargonium graveolens*, total phenols, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

# Introduction

## Introduction

Depuis le temps des grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonien, grecque, romaine), ils ont utilisé les plantes médicinales pour leur propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, agro-alimentaires et industrielles comme remède à divers maladies humaines (**Rhattas et al., 2015**).

Selon l'organisation mondiale de santé (OMS) plus de 80% de population dépend de la médecine traditionnelle à base des plantes pour fournir des soins de santé grâce à leur richesse en métabolites primaires et secondaires qui possèdent une très grande diversité des structures chimiques et un très large éventail d'activités biologiques. De nos jours, les plantes médicinales restent très utilisées dans différents industries pharmaceutiques (**Sompaga et al., 2016**).

Les plantes médicinales sont la source d'antioxydants naturels et agissent comme de bons agents antimicrobiens. Depuis la dernière décennie, la demande d'agents antimicrobiens dérivés des plantes médicinales augmente de jour en jour en raison de la résistance des souches microbiennes cliniques à de nombreux antibiotiques (**Sompaga et al., 2016**).

L'exploration d'éventuels traitements à partir de ces plantes est particulièrement intéressante en Algérie (**Rebbas et al., 2012**). Grâce à sa position géographique, elle jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives des plantes aromatiques et médicinales.

Le choix de notre travail est porté sur le *Pelargonium gravelons* pour lequel des essais de culture sont entamés par des agriculteurs de la région de Maader (35.290054, 4.270054), Wilaya de M'sila, Algérie.

Le *P. gravelons* est une plante très efficace pour soulager la douleur causée par les hémorroïdes, la dysenterie, l'inflammation ou le cancer. Elle est également utilisée dans l'industrie de parfumerie, de cosmétique et de l'aromathérapie. Elle possède ainsi d'intéressantes activités biologiques (antimicrobienne, anti-inflammatoire, hémostatique et cicatrisante) (**Saraswathi et al., 2011**).

Plusieurs études ont été réalisées dans le monde mais aussi dans différentes régions de l'Algérie sur les espèces de *Pelargonium*. Elles se sont concentrées sur la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles (**Boukhris et al., 2012**).

Ce projet a pour but de valoriser le *P. gravelons*, récemment cultivé dans notre région (Maader, Wilaya de M'sila), par l'intermédiaire de :

- Une caractérisation phytochimique des extraits du *P. gravelons*.
- Une évaluation de leurs propriétés biologiques, notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

Partie 1 :

Synthèse bibliographique

## Chapitre I :

# Les métabolites primaires et secondaires

## I. Généralités

### I.1. Plantes médicinales

#### I.1.1. Définition

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Elles ont des propriétés biologiques différentes que l'homme peut utiliser à son avantage (**Francesca González et al., 2019**).

Elles ont été largement utilisées dans les pratiques médicinales depuis les temps anciens. Les plantes médicinales se sont avérées être le principal remède du système de médecine traditionnelle grâce à leurs constituants chimiques actifs présents dans différentes parties de ces plantes qui sont appelés « les métabolites secondaires ». L'utilisation des plantes médicinales non seulement pour le traitement des maladies mais aussi comme un matériel potentiel pour maintenir une bonne santé et de bonnes conditions. (**Oladeji, 2016**).

### I.2. Plantes aromatiques

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, elles constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Benyagoub et al., 2014**).

## II. Définition des métabolites

Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules qui ont issues du métabolisme des végétaux, elles sont les produits intermédiaires du métabolisme qui possèdent des diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes (**Pradeepa et al., 2016**).

Chez les plantes, il existe deux grandes classes des métabolites :

## II.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des composés organiques synthétisés dans les plantes directement impliqués dans la croissance et le développement de la plante (**Pradeepa et al., 2016**).

### II.1.1. Classification des métabolites primaires

Les principaux métabolites sont : les amidons, les glucides, les lipides, les protéines et les chlorophylles qui sont synthétisés au cours de la photosynthèse (**Pradeepa et al., 2016**).

#### II.1.1.1. Glucides

Les glucides sont appelés hydrates de carbones ou polysaccharides. Ce sont également des composés organiques carbonylés (aldéhydiques, cétoniques), ces molécules sont caractérisées par leur formule de la forme  $(CH_2O)_n$  avec  $n > 3$ . Ce sont aussi des composés qui apparaissent les premiers lors de la photosynthèse (**Patrice, 2012**).

On distingue deux catégories :

- les molécules élémentaires non hydrolysables : les oses
- les composés hydrolysables : les osides

#### II.1.1.2. Amidon

L'amidon est la principale forme de réserve glucidique des végétaux. Il est présent dans toutes les parties de la plante, elle existe sous la forme d'une structure organisée correspondant à un homopolymère presque pur de D-glucose (**Patrice, 2012**).

#### II.1.1.3. Lipides

Les lipides sont des substances organiques caractérisés par une propriété physique c'est la solubilité, qui est nulle ou faible dans l'eau, mais par contre élevée dans les solvants organiques apolaires. Ce sont des molécules soit complètement apolaires (lipide neutre), soit bipolaires, avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire. Les lipides sont principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et ont une densité inférieure à la densité de l'eau (**Djadoun, 2012**).

#### II.1.1.4. Protéines

Les protéines sont des polymères linéaires d'acide aminés unis par une liaison amide, dite liaison peptidique établie entre le groupement  $\alpha$ -carboxyle de l'un d'acide aminé et le

groupement a-aminé d'acide aminée du suivant. Certains de ces acides aminés peuvent pas être fabriqués par l'organisme et doivent obligatoirement être apportés par l'alimentation, on les appelle les acide aminés indispensables (Chardigny et Walrand, 2016).

## II.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes au cours du développement, ils sont spécifiques au temps, aux tissus et aux organes (Pradeepa *et al.*, 2016).

Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents, selon les espèces. Ils jouent non seulement un rôle dans la défense contre les herbivores, et des autres défenses interspécifiques, ils sont utilisés également par l'homme dans plusieurs domaines pharmaceutiques, agrochimiques et alimentaires (Jamwal *et al.*, 2017).

### II.2.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont classés en quatre grandes catégories, selon la classification de fondation britannique de la nutrition (figure 01) (Ejaz *et al.*, 2017).

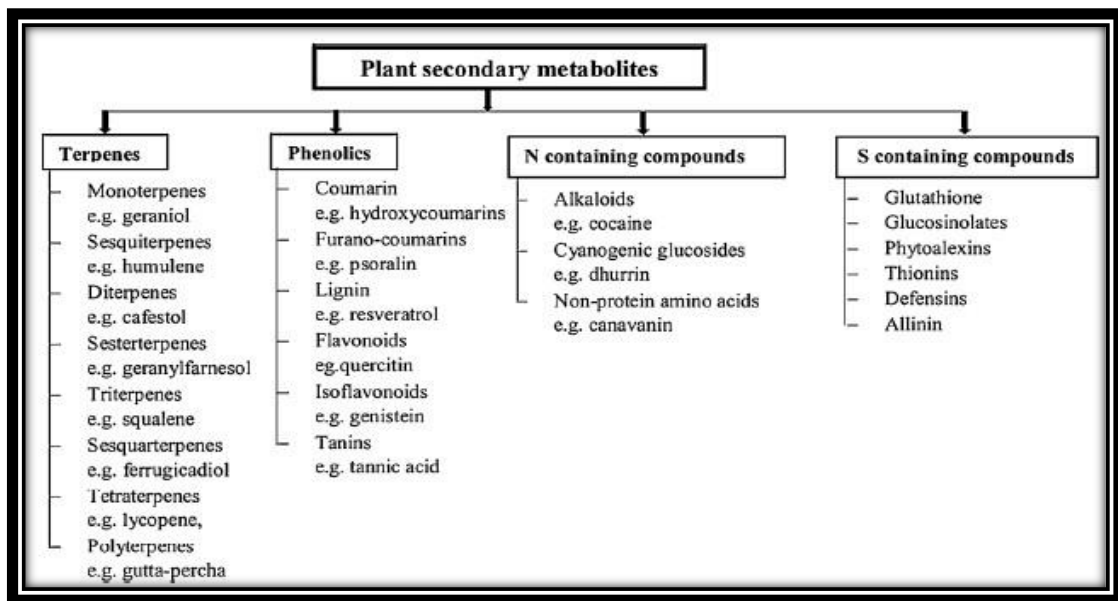


Figure 01 : Classification des métabolites secondaires (Jamwal *et al.*, 2017).

Ces quatre catégories comprennent :

- ✓ les composés phénoliques.
- ✓ les terpènes.

- ✓ les composés azotés et les alcaloïdes.
- ✓ les composés soufrés.

## II.2.1.1. Composés phénoliques

Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, sont des métabolites secondaires très largement répandus dans le règne végétal. Ces composés phénoliques constitués d'au moins un cycle aromatique liés par un ou plusieurs groupes hydroxyle (Ejaz *et al.*, 2017).

Certains composés phénoliques protègent les plantes contre les herbivores, les attaques d'agents pathogènes, les parasites et les prédateurs des plantes, ils offrent une protection contre les espèces réactives de l'oxygène et l'azote, la lumière UV (Ejaz *et al.*, 2017).

### II.2.1.1.1. Principales classes des composés phénoliques

Plus de 8000 composés phénoliques, sur la base de leur structure, ont été divisés en deux catégories principales :

#### 1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, contenant 15 atomes de carbones avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à 3 carbones (figure 02) (Ejaz *et al.*, 2017).

Les flavonoïdes sont des substances naturelles, à structure phénolique variable, présentes dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs. Ils jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes (Panche *et al.*, 2016).

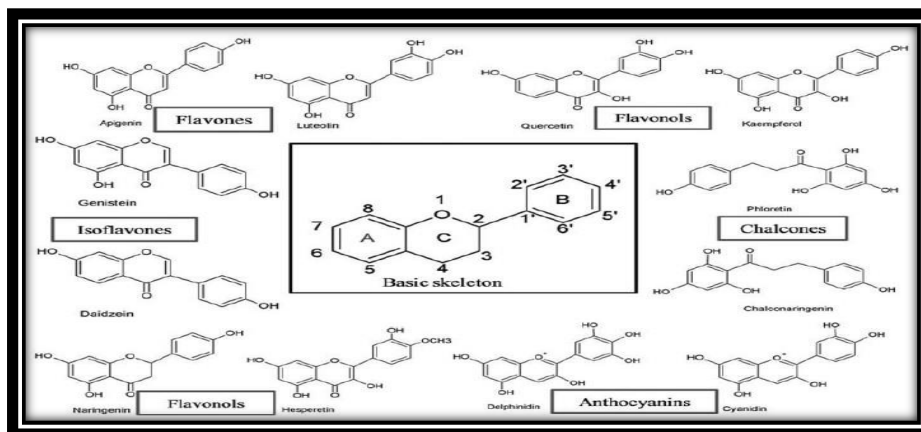
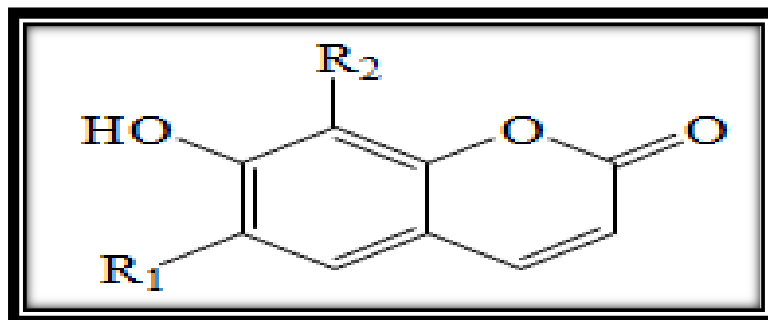


Figure 02: Différentes classes des flavonoïdes (Ejaz *et al.*, 2017).

## 1.1. Coumarines

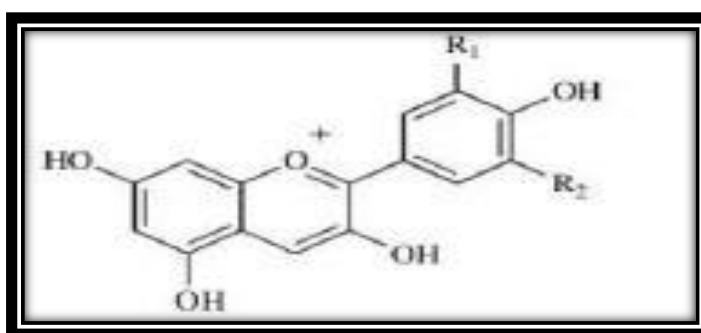
Les coumarines connues sous le nom de 1,2-benzopyrones, constituées deux noyaux de benzène et de pyrone fusionnés (figure 03), elles constituent un groupe important de composés phénoliques de bas poids moléculaire (**Jennifer et al., 2017**).



**Figure03** : Structure chimique de base des coumarines (**Ejaz et al., 2017**).

## 1.2. Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *Athos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycolyses (figure 04). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes, elles sont capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence, dans les plantes, est donc détectable à l'œil nu (**Mojzer et al., 2016**).



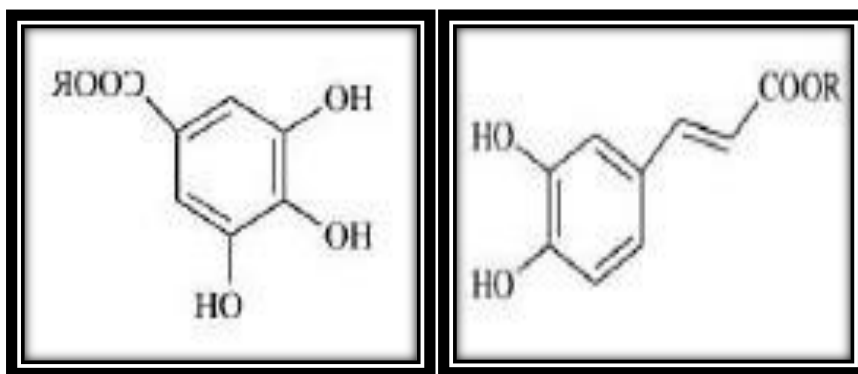
**Figure04** : Structure chimique des anthocyanes (**Mojzer et al., 2016**).

## 2. Non flavonoïdes

Elles comprennent les acides phénoliques, les tannins, les hydroxycinnammates et les dérivés de stilbènes (**Ejaz et al., 2017**).

## 2.1. Acides phénoliques

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (figure 05) (Francesca González *et al.*, 2019).



(A)

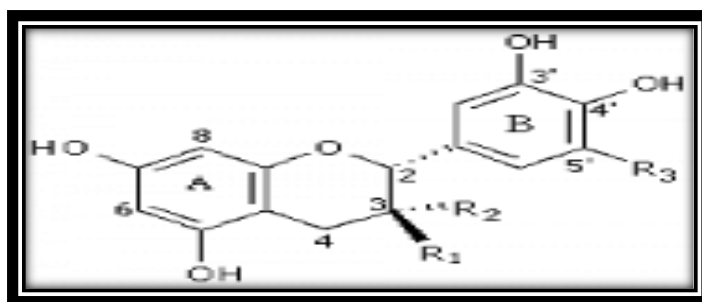
(B)

**Figure05 :** Structure des dérivés de l'acide benzoïque (A) et de l'acide cinnamique(B) (Mojzer *et al.*, 2016).

## 2.2. Tanins

Les tanins, ou l'acides tanniques sont des composés organiques complexes les plus abondants et présents pratiquement dans toutes les plantes à des concentrations diverses (Jamwal *et al.*, 2017).

Les tanins peuvent être divisés en deux groupes, les tanins hydrolysables et les tanins condensés, ils ont un grand potentiel pour former des liaisons oxydantes avec d'autres molécules végétales (figure 06) (Mojzer *et al.*, 2016).



**Figure 06:** Structure chimique des tanins (Mojzer *et al.*, 2016).

### ***II.2.1.2. Alcaloïdes et composés azotés***

Les alcaloïdes et composés azotés sont des substances organique, basique, azotés, généralement hétérocyclique d'origine végétale (rarement animal), dérivés d'acides aminés comme la tyrosine, la lysine, le tryptophane et l'acide aspartique. Ils sont confèrent un rôle défensif contre les herbivores et les attaque des pathogènes (**Francesca González et al., 2019**).

### ***II.2.1.3. Composés terpéniques***

Les terpénoïdes sont la classe structurellement la plus diversifiée de métabolites secondaires. Ils contiennent plus de 40000 composés structurellement divers, ils forment la plus grande classe de métabolites végétaux. Tous les terpénoïdes sont dérivés d'un squelette iso pentane ramifié répété, généralement appelé unités isoprène (**Francesca González et al., 2019**).

Ils ont une distribution beaucoup plus délimités que les métabolites primaires dans le règne végétal, c'est-à-dire qu'ils ne se trouvent fréquemment que dans une espèce végétal ou un groupes d'espèces taxonomiquement apparenté (**Jamwal et al., 2017**).

### ***II.2.1.4. Composés soufrés***

Ces métabolites secondaires sont de deux types dérivés de deux voies importantes. Un groupe formé à partir d'un substrat glycosinolate hydrolysé par l'enzyme myrosinase, cette voie est présente dans les membres des familles de la crucifère. L'autre groupe, formé à partir d'alliine hydrolysée par l'enzyme alliinase trouvée dans les membres du genre allium.

Ces deux systèmes glycosinolate-myrosinase et alliine-alliinase semblent avoir évolué pour la défense des herbivores. (**Ejaz et al., 2017**).

Chapitre : II  
Activités biologiques

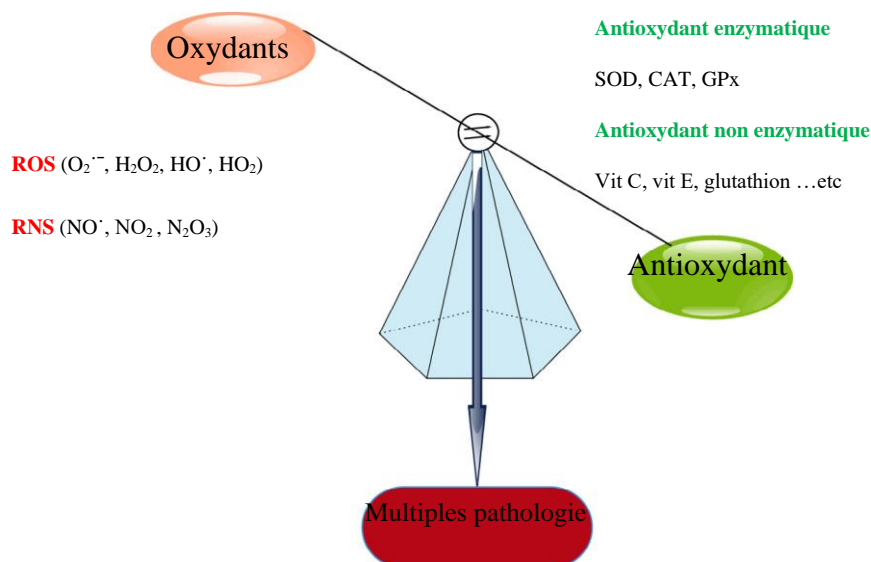
## I. Activité antioxydante

Stress oxydant, Radicaux libres, espèces réactives d'oxygène (ERO) et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels et même pour tout le monde (Favier, 2003).

### I.1. Stress oxydatif

#### I.1.1. Définition

Le stress oxydatif / nitrosatif est le résultat d'un déséquilibre dans l'oxydant / antioxydant qui révèle une augmentation continue de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des espèces réactives de l'azote (RNS) (figure 07). Ce déséquilibre peut être dû à une carence d'apport et/ou d'une altération d'antioxydant, d'une surproduction endogène ou à une exposition environnementale à des agents oxydants (Amra, 2020).

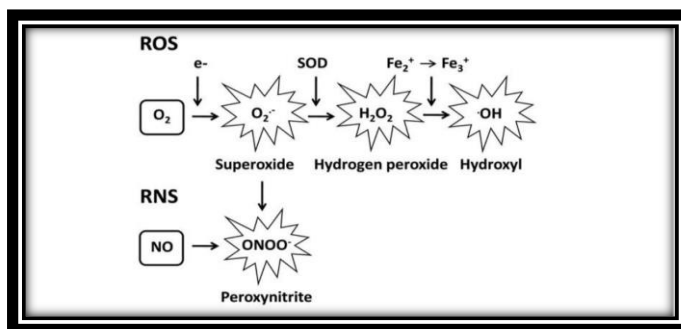


**Figure 07 :** Déséquilibre entre l'espèce réactive de l'oxygène (ROS), des (RNS) et l'antioxydant (Amra, 2020).

### I.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui contiennent des électrons non appariés dans les orbitales externes, cela qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation. Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelques nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (exemple :  $OH^{\cdot}$ ) (Adwas *et al.*, 2019).

Les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, que l'on peut trouver sous forme de dérivé d'azote (RNS) ou de dérivé d'oxygène (ROS) (figure08), ont une réactivité assez élevée. Les composants qui sont présents sous forme de radicaux libres dans les ROS sont  $O_2^{\cdot-}$  (superoxyde),  $OH^{\cdot}$  (Hydroxyle),  $HO_2$  (hydroperoxyde),  $ROO^{\cdot}$  (peroxyde) et  $RO^{\cdot}$  (alkoxyde), tandis que les non-radicaux font référence  $H_2O_2$  (peroxyde d'hydrogène),  $HClO$  (acide hypochloreux),  $O_3$  (ozone) et  $^1O_2$  (oxygène singlet). Pendant ce temps,  $NO^{\cdot}$  (oxyde nitrique),  $NO_2$  (dioxyde d'azote),  $N_2O_3$  (trioxyde de nitrogène) et  $ONOO^-$  (peroxynitrite), le monoxyde d'azote (NO) sont les radicaux libres dérivés du (RNS) (**Haida et Hakiman, 2019**).



**Figure 08** : Formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et nitrogène (RNS)  
(Codorner-Franch *et al.*, 2011).

### I.2.1. Origine des radicaux libres

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- ✓ Toutefois, au contact entre l'oxygène et certain électron du système de la respiration, une production d'anions superoxyde se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Favier, 2003**).
- ✓ les mécanismes d'inflammatoires et l'activation des cellules immunitaires, l'ischémie, le stress de l'activité mentale. L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents exogènes capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres, Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Adwas *et al.*, 2019**).
- ✓ La consommation d'alcool, tabagisme, de certains drogues, les métaux lourdes, est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également de certains médicaments (cyclosporine), des radiations, et des certains solvants comme le benzène (**Adwas *et al.*, 2019**).

- ✓ D'autres systèmes sont capables de produire les ROS, citons par exemple : les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leucotriènes, et prostaglandines (**Katerji et al., 2019**).

### **I.2.2. Cibles des radicaux libres**

Les ROS peuvent également endommager de manière irréversible des cibles macromoléculaires essentielles telles que l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides (**Adwas et al., 2019**).

### **I.3. Pathologies liées au stress oxydant**

Au cours des dernières années, des recherches considérables ont démontrés que le stress oxydatif est impliqué dans le processus naturel du vieillissement ainsi que dans une grande variété de maladies humaines, y compris les troubles neurodégénératifs, sclérose en plaques, maladies cardio-vasculaires, polyarthrite rhumatoïde, cancer, diabète, athérosclérose, les maladies d'Alzheimer, maladie de parkinson, l'asthme et l'état de mal épileptique(**Katerji et al., 2019 ;Singh et Devasahayam, 2020**).

## **II. Antioxydants**

Les antioxydants sont les facteurs principaux de la défense contre le stress oxydative induit par les radicaux libres. Ils peuvent être définis comme étant toutes substances capables de neutraliser ou d'empêcher les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Qui agissent comme donneurs d'hydrogène vis-à-vis d'un radical hydroperoxyde, interrompent la réaction en chaîne de formation des peroxydes (**Favier, 2003**).

Les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classées en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques.

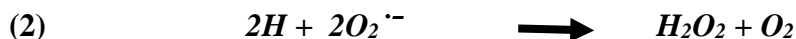
### **II.1. Antioxydants enzymatiques**

Ce sont des enzymes qui agissent directement dans le piégeage des ROS, elles élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Ces enzymes présentent SOD (superoxyde dismutase), CAT (catalase) et GPx (glutathion peroxydase)(**Sharifi-Rad et al., 2020**).

#### **II.1.1. Superoxyde dismutase**

La SOD est une métallo enzyme, Elle se caractérise par la capacité de convertir le radical

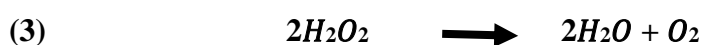
superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en oxygène comme indiqué dans la réaction (2) (Singh *et al.*, 2017).



Elle est classée en tant que SOD contenant du cuivre et du zinc est situé dans le cytosol, le Mn SOD est dans la matrice des mitochondries et des peroxysomes (Amra, 2020).

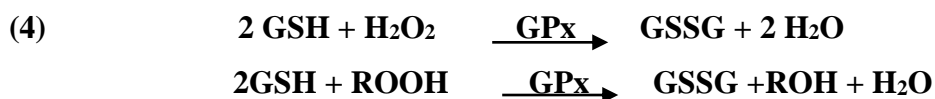
### II.1.2. Catalase

L'enzyme catalase (CAT) est une ferrihème oxydoréduction tétramère, il empêche l'agrégation du peroxyde d'hydrogène nocif, de sorte qu'il convertit le  $H_2O_2$  en  $O_2$  comme le montre la réaction (3) (AL-Aloosy *et al.*, 2019).



### II.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 comme montre dans la réaction (4). GPx décompose les peroxydes en eau tout en oxydant simultanément le GSH (donneur d'électrons) (Cardoso *et al.*, 2017).



## II.2. Antioxydants non enzymatiques

Certaines molécules chimiques de faible poids moléculaire peuvent également agir directement comme antioxydants. Dans ce cas, leur action n'est pas catalytique, nécessitent toujours une régénération antioxydant ou son apport par l'alimentation. Les antioxydants non enzymatiques peuvent donc être divisées en endogènes (si la cellule eucaryote est capable de le synthétiser) et exogène (si l'antioxydant doit être obligatoirement ingéré par l'alimentation)(Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

### II.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ils existent de nombreux réducteurs endogènes (synthétisés dans les cellules) 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 lipoiue (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

## II.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Les antioxydants exogènes doivent être complétés en permanence par l'alimentation, car leurs voies de synthèse ne sont généralement présentés que dans les microbiennes ou végétales. (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

### II.2.2.1. Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. Elle compose de quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , qui contiennent des chaînes latérales cotées (figure 09). L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus biologiquement active qui localisé dans la membrane cellulaire. Elle piègeant les radicaux hydroperoxyde dans le milieu lipidique (Amra, 2020).

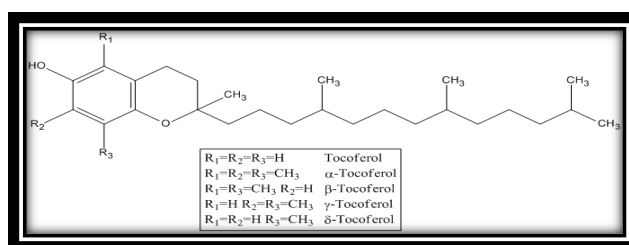


Figure 09 : Structure chimique du tocophérol (Amra, 2020).

### II.2.2.2. Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique (figure 10), est une vitamine hydrosoluble, appartient au groupe des antioxydants non enzymatiques qui agissent en protégeant contre les espèces réactives de l'oxygène, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène n'est pas synthétisée par l'organisme (Ravetti *et al.*, 2019).

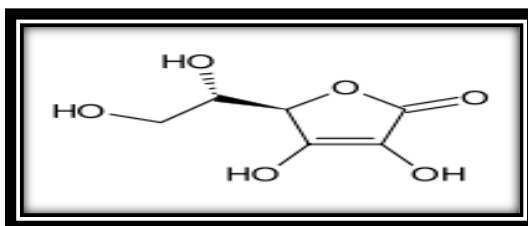
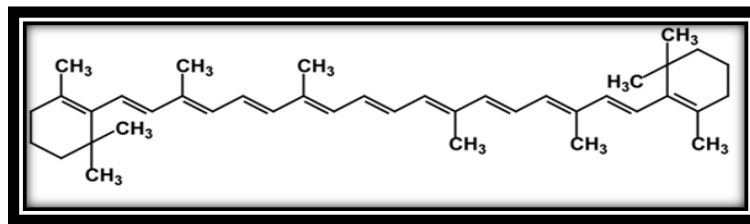


Figure 10 : Structure chimique de l'acide ascorbique (Ravetti *et al.*, 2019).

### II.2.2.3. $\beta$ -carotène

Le  $\beta$ -carotène (figure 11), précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation. Elle fixe les radicaux peroxydes ROO $\cdot$  en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical (radical stable), ou sera régénéré en vitamine A (Shankaranarayanan *et al.*, 2018).



**Figure 11:** Structure chimique de bêta carotène (Shankaranarayanan *et al.*, 2018).

#### II.2.2.4. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Vue leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (Haida et Hakiman, 2019).

### II.3. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Plusieurs méthodes sont utilisés pour déterminer l'activité antioxydante *in vitro* parmi lesquelles, on cite (Katerji *et al.*, 2019).

- La méthode de l'ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity).
- Piégeage du radical 2,2 diphényle-1-picryl-hydrazyl (DPPH•).
- Test de blanchiment de β-carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique.
- La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants).
- La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate).
- La méthode TRAP (Potentiel antioxydant piégeant total des radicaux) (Katerji *et al.*, 2019).

## III. Activité antibactérienne

### III.1. Généralités

Les bactéries sont des êtres vivants micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea).

Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être, bâtonnet (bacilles), en sphérique (cocci), spiralée (spirochètes) ou incurvée (vibrions)(Nauciel et Vildé, 2005).

### III.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé., 2005).

### III.3. Principales substances antibactériennes

#### III.3.1. Antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : Antibiotiques. Un antibiotique est défini comme une substance naturelle d'origine biologique, chimique ou semi synthétique, il possède une activité antibactérienne en milieu organique, une bonne absorption et une bonne diffusion dans l'organisme. Son action étant spécifique et dirigée contre les bactéries, soit détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Yala *et al.*, 2001).

#### III.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

La détermination *in vitro* de l'activité antimicrobienne utilise la méthode de diffusion sur disque sur un milieu solide ou la méthode de diffusion par puits.

L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits (ou des disques) après 24 h d'incubation à la température adéquate. Ainsi, les souches bactériennes seront qualifiées de sensibles, très sensibles, extrêmement sensibles, ou résistantes (Bendif, 2017).

## Chapitre: III

### Les méthodes d'extraction

## I. Définition d'extraction

L'extraction est l'une des étapes cruciales de la recherche et du développement des métabolites secondaires des plantes. C'est une étape vitale pour extraire les composants chimiques désirés dans les matières végétales à l'aide des solvants polaire et non polaire (Pradeepa *et al.*, 2016).

Dans le but de préparer des extraits à partir des plantes, plusieurs méthodes ont été décrites dans la littérature. Parmi lesquelles :

### I.1. Décoction

La décoction est une méthode plus pratique pour extraire des principes actifs et / ou d'arômes d'une préparation généralement végétale par dissolution dans l'eau bouillante. Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, et bois. (Francesca González *et al.*, 2019).

### I.2. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet (figure 12) est l'une des plus simples et la plus répandue des méthodes d'extraction de matières végétales, c'est une technique standard et la référence principale pour évaluer la performance d'autres méthodes d'extraction solide-liquide. C'est une méthode nous permet de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (Penchev, 2010).

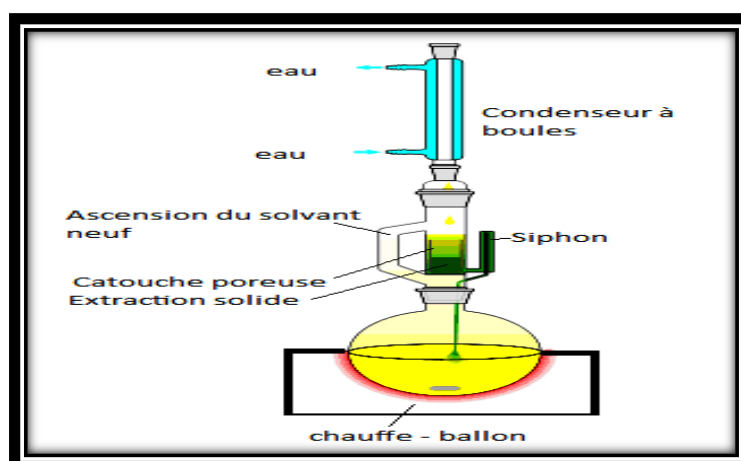


Figure 12: Extracteur Soxhlet (Swetman, 2008).

## I. Filtration

Filtration est un procédé de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux (**Wakeman et Tarleton, 1999**). La filtration porte différents noms selon la source de la pression : La filtration simple sous pression atmosphérique que l'on appelle filtration gravitationnelle et filtration par aspiration sous pression réduite ou filtration sous vide (**Sartorius, 2008**).

### II.1. Filtration gravitationnelle

La filtration gravitationnelle utilise la force de gravité pour pousser le liquide à travers le milieu filtrant. Cette technique appliquée aux fluides particuliers contenant une grande charge en particules nécessite un temps de traitement très long (**Wakeman et Tarleton, 1999**).

### II.2. Filtration sous vide

La filtration sous vide utilise la dépression créée par le système d'aspiration sous l'entonnoir porte filtre ou l'entonnoir filtre afin d'accélérer la filtration (**Sartorius, 2008**).

#### II.2.1. Montage

Le montage de base est constitué d'une fiole à vide et d'un flacon de garde, le tout maintenu sur un support. La fiole à vide est branchée sur une trompe à eau qui permet d'obtenir un vide relatif (figure 13).



**Figure 13** : Montage de base de filtration sous vide (**Sartorius, 2008**).

## I. Évaporateur rotatif

L'étape qui suit l'extraction est l'élimination du solvant par l'évaporateur rotatif. C'est un appareil couramment utilisé pour éliminer un solvant d'un mélange, appelé souvent (rotavapor) (**Sartorius, 2008**).

## Chapitre : IV

La plante étudiée

## I. Présentation de la plante sélectionnée

### I.1. Historique

Le *Pelargonium graveolens* provient du Cap de Bonne Esperance en Afrique du Sud. Il a été introduit en Europe à la fin du 17<sup>ème</sup> siècle dans les jardins botaniques (Peyron, 2013).

Au milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, la véritable Rose du Levant (*Rosa damascena* Mill.) devenant rare et le prix de son huile essentielle très élevé, contraignit les parfumeurs de l'époque de rechercher de nouvelles sources d'essences à odeur de rose, d'où les essais de culture de Géranium rosat par D'Emerson et les premières plantations dans la région de Grasse en France pour la production d'huile essentielle. Cependant, la culture s'accommodait mal aux contraintes climatiques et économiques du Sud de la France. Très rapidement, de nouvelles plantations furent développées en Algérie et à la Réunion (Peyron, 2013).

Dès le début du 20<sup>ème</sup> siècle, la culture du Géranium rosat est apparue dans d'autres régions : Corse (France), Italie, Espagne, Portugal, Maroc, Tunisie, Egypte, Russie, Comores, Afrique du Sud, Congo, Inde, Brésil, Chine (Ghedira et Goetz, 2015 ; Peyron, 2013).

## II. Présentation de la famille des Géraniacées (Geraniaceae)

La famille des *Geraniaceae* (communément appelées *Géraniacées*) est une famille de plantes dicotylédones vraies qui comprennent 5–7 genres et 650–800 espèces (Simpson, 2010).

Cette famille est constituée d'arbustes, parfois à tiges lignées (Kubitzki, 2007). Les genres *Géranium* et *Pélargonium* sont classés dans la famille des *Geraniaceae* et possèdent un fruit allongé similaire, composé de 5 méricarpes, chacun contenant une seule graine (Miller, 2002).

### II.1. Géranium rosat (*Pelargonium graveolens*)

#### II.1.1. Description botanique

Le terme de latin scientifique Géranium est dérivé du grec geranion/ qui vient de geranos « grue », en raison des fruits allongés comme le bec des grues. *Pelargonium* vient de « pelargos » qui signifie cigogne, en raison d'un fruit en forme de bec de cigogne

(Ghedira et Goetz, 2015). Le genre *Pelargonium* comprend environ 270 espèces distinctes (Miller, 2002).

Le géranium rosat est un arbrisseau très ramifié ligneux qui se présente en grosse touffe arrondie et peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur et 1 m de diamètres au niveau de la cime (Ghedira et Goetz, 2015).

### II.1.2. Nomenclature

Le *P. graveolens* porte différents noms dont les plus connus sont : géranium rosat (nom à l'île de la Réunion), géranium odorant, pélargonium x asperum, *Pelargonium roseum* Willd...etc. (Miller, 2002).

- Nom scientifique : *Pelargonium graveolens*
- Nom commun : Géranium rosat
- Nom local : laàtarchya (ElOuadiet al., 2017)
- Anglais : Sweet-scented geranium, scented pelargonium, rose geranium
- Arab: عطرشبية-عطر نبات- لفاقشديد الرائحة-دلورالغرنوقي (Ghedira et Goetz, 2015).

### II.1.3. Classification

Classification classique du *P. graveolens* (Ghedira et Goetz, 2015).

- ❖ Règne : *Plantae* (Plantes)
- ❖ Sous-règne : *Tracheobionta* (Trachéophytes)
- ❖ Super division: *Spermatophyta* (plantes à graines)
- ❖ Division : *Magnoliophyta* (ou angiospermes), plantes à fleurs
- ❖ Classe : *Magnoliopsida* (ou dicotylédones)
- ❖ Sous-classe : *Rosidae*
- ❖ Ordre : *Geraniales*
- ❖ Famille : *Geraniaceae*
- ❖ Genre : *Pelargonium*
- ❖ Espèce : *Pelargonium graveolens*

### II.1.4. Conditions climatiques

Les conditions climatiques ont une forte influence sur le développement du *Pélargonium graveolens*, qui demande un climat chaud, sec, sans vent nuisible. La température doit rester supérieure ou égale à 35°C. Les faibles gelées sont à craindre d'autant que les plantes soient plus jeunes (Peyron, 2013).

## II.1.5. Période de culture

*P. graveolens* est multiplié par bouturage, soit au printemps, ou en fin d'été. La récolte des feuilles et des tiges se fait à partir de 6 mois puis tous les 3 mois. La coupe se fait manuellement ou mécaniquement à 15–20 cm au-dessus du sol (Ghedira et Goetz, 2015).

## II.1.6. Composition chimique de l'extrait de *P. graveolens*

Il existe plusieurs variétés d'origines différentes qui se distinguent par la teneur en constituants chimiques de leurs huiles essentielles et leurs extraits (Ghedira et Goetz, 2015).

Les études sur les espèces de *P. graveolens* se sont concentrées sur la composition chimique des huiles essentielles. Les trichomes des feuilles de *Pélargonium* contiennent d'autres composés chimiques, notamment des flavonoïdes (Boukhris et al., 2012).

Les compositions chimiques des extraits du *P. graveolens* est représentée dans le Tableau 01.

**Tableau 01:** Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanolique dans *P. graveolens* par la technique d'HPLC-SM (Boukhris et al., 2012).

Solvant	Composés
Méthanol	Myrisetine 3-O-glu-rha
	Quercetine 3-O-pent-glu
	Quercetine 3-O-rha-glu (Rutin)
	Kaempferol 3-O-glu
L'eau	Kaempferol 3,7-di-O-glu
	Isorhamnetine aglycone
	Quercetine 3-O-glu
	Quercetine 3-O-pent
	Kaempferol 3-O- rha-glu

## II.1.7. Répartition géographique du géranium rosat

### II.1.7.1. Dans le monde

*P. graveolens* provient d'Afrique du Sud. C'est une plante largement répandue et cultivée en Espagne, en Italie, au Maroc, à l'île de la Réunion, en Egypte et en Chine (ces deux derniers pays étant les plus gros producteurs) (Ghedira et Goetz, 2015).

### **II.1.7.2.En Algérie**

Le *P. graveolens* est introduit en Algérie au 19<sup>ème</sup> siècle (**Boukhatem et al, 2010**). Elle est cultivée en Algérie, principalement dans la plaine de Mitidja, dans les jardins et dans les cimetières (**Boukhatem et al, 2011**).

### **II.1.8.Utilisations thérapeutique de *P. graveolens***

La plante *P. graveolens* a été utilisée en médecine traditionnelle depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés médicinales. A titre d'exemple, elle a été utilisée pour le traitement des plaies et les brûlures superficielles, pour les massages, en cas de grande fatigue ou de stress et pour le soulagement des hémorroïdes, de l'inflammation et du cancer (**Saraswathi et al., 2011; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

Le *P. graveolens* est capable de produire des métabolites aromatiques sécrétés par la plante qui sont référencés par la médecine traditionnelle, avec d'intéressantes activités biologiques (antimicrobienne, anti-inflammatoire, hémostatique et cicatrisante). C'est donc une source potentielle de substances actives pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Boukhatem et al., 2010**).

Partie 2 :  
Partie expérimentale

# Chapitre I :

## Matériels et méthodes

Ce travail sera effectué au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoires de microbiologie et biochimie appliquée de l'université Mohamed BOUDIAF de Msila.
- Centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine.

L'identité et la systématique de la plante sera confirmée par **Dr. SARI Djamel**, un enseignant-chercheur à l'université de Mohamed BOUDIAF de Msila.

### **I. Situation géographique de la région d'étude**

La Daïra de Boussaâda se trouve à environ 234Km au Sud-Est d'Alger, et à 13 Km au sud-ouest de chott El-Hodna, avec une latitude de 35°13° Nord, une longitude de 4°10° Est et une altitude de 611 mètres. Bureau statistique de la commune Boussaâda (B.S.B, 2008).

La zone d'étude, Maader, fait partie de la commune de Boussaâda s'étendant sur une superficie de 2984 Ha au Nord-Est et représente 80% des terres agricoles totales de la région (selon Subdivision Agricole de Boussaâda(S.A.B) et cadastre M'sila, 2018).

### **II. Récolte du matériel végétale**

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *P. graveolens* récolté en Novembre 2019 dans la région de Maader (Wilaya de M'sila, région de Hodna, Algérie). Cette plante a été reproduite par bouturage dans une pépinière à Tipaza puis ramenée et cultivée localement en Mai 2019 (figure 14).

### **III. Séchage de la plante**

Les feuilles de *P. graveolens* sont séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité à température ambiante puis stockées soigneusement au laboratoire à température ambiante et à l'ombre jusqu'à son utilisation (**Hammoudi et al., 2009**).



**Figure 14:** Récolte de plante *P. graveolens* (Novembre, 2019).

#### **IV. Broyage du matériel végétal**

Le broyage des feuilles est réalisé dans un broyeur mécanique à lames. La poudre fine ainsi obtenue est soumise à différentes conditions d'extraction.

### **V. Préparation des extraits bruts**

#### **V.1. Méthodes d'extraction**

Selon la bibliographie consultée, il nous a paru plus intéressant d'adopter deux méthodes jugées plus adéquates et plus efficaces pour extraire les substances présentes dans le *P. graveolens* ; ils s'agissent de la méthode d'extraction par Soxhlet et la décoction (figure 15).

##### **V.1.1. Préparation de l'extrait brut méthanolique par Soxhlet (ESox)**

Le montage de Soxhlet permet de faire l'extraction en continue sur la poudre végétale en utilisant un solvant adapté ; il s'agit du méthanol pour notre étude.

### V.1.1.1. Mode opératoire

Nous mettons une quantité de 20g de poudre de *P. graveolens* dans une cartouche de cellulose et le solvant (méthanol 500 ml) dans un ballon ; après l'ébullition du méthanol à 65°C, les vapeurs de ce dernier montent par le tube et sont condensées dans le réfrigérant et retombent sur la matière solide, le processus d'extraction se fait en 6 cycles, pendant 8 heures.

Après refroidissement complet du ballon, l'extrait est filtré sur un papier filtre monté dans un entonnoir Buchner, puis il a été concentré sous vide dans un évaporateur rotatif qui permet de récupérer une grande partie du solvant. L'extrait concentré est séché dans l'étuve à 40°C pour l'obtention d'une poudre qui est stocké à 4 °C dans un réfrigérateur jusqu'à son utilisation. (Sompaga *et al.*, 2016).

### V.1.2. Préparation de l'extrait brut aqueux par décoction (EDéc)

Nous mettons une quantité de 20g de poudre de *P. graveolens* à bouillir dans 200 ml eau distillée (le rapport eau/matière végétale était de 1:10 (g/ml)) tandis que la température de l'eau était maintenue à T°=78°C pendant 30 minutes.

Le bécher est ensuite refroidi et le mélange est filtré sur un entonnoir avec une papier filtre et séché dans l'étuve à 40°C, puis conservée à 4 °C dans un réfrigérateur jusqu'à son utilisation (Ennaifer *et al.*, 2018).

## V.3. Calcul de rendement

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (contient l'extrait après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Falleh *et al.*, 2007).

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

Où :

R : le rendement en (%)

Masse extrait sec : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

Masse de la matière végétale : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g)

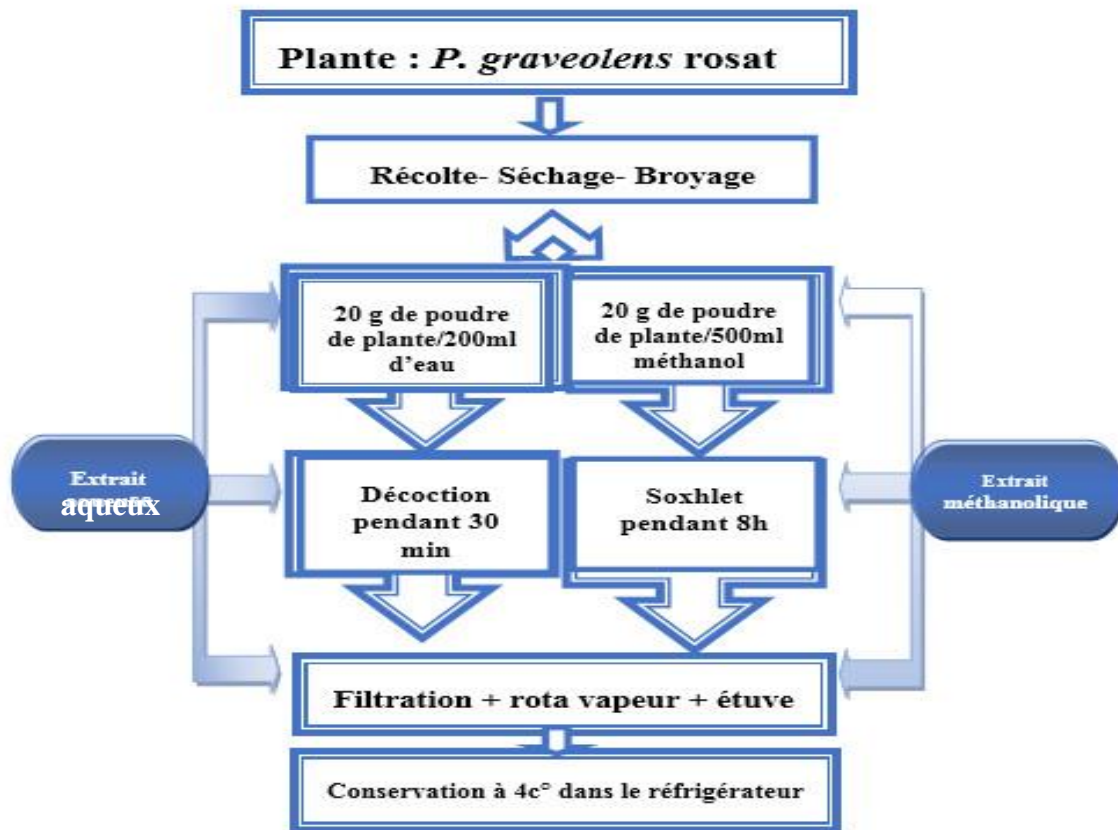


Figure 15: Schéma de différentes étapes de la préparation des extraits bruts de *P. graveolens*.

## VI. Etude qualitative

### VI.1. Tests phytochimiques

Dans le but de rechercher des molécules responsables des activités biologiques intéressantes, il est préférable de déterminer la composition chimique des extraits végétaux. Une étude phytochimique sera menée afin de détecter les classes des composés que contient la plante étudiée.

Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette (Bouterfas *et al.*, 2014).

### VI.1.1. Différentes classes recherchées

#### 1. Flavonoïdes

Quelque goutte d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0,5 ml de chaque extrait. La coloration rose-rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Hadouchi et al., 2016**).

#### 2. Tanins

Quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (1%) sont ajoutées à l'extrait. L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence des tanins cathéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (**Hadouchi et al., 2016**).

#### 3. Anthraquinones

2 ml de KOH (10%) est ajouté à 1 ml de l'extrait. Une coloration vire au rouge indique la présence des anthraquinones (**Jennifer et al., 2017**).

#### 4. Terpénoïdes

5 ml d'extrait est mélangé avec 2 ml de chloroforme, puis 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré est ajouté. L'apparition d'une interphase entre deux phases indique la présence des terpénoïdes (**Jennifer et al., 2017**).

#### 5. Coumarines

Un gramme de poudre végétale est placé dans un tube, on lui additionne quelques gouttes d'eau, le tube est recouvert de papier imbibé de NaOH dilué, puis porté à l'ébullition. Toute fluorescence jaune indique la présence des coumarines après l'examen sous l'UV (**Jennifer et al., 2017**).

## VII. Identification des composants par HPLC-SM

La chromatographie liquide haute performance est la plus puissante de toutes les techniques chromatographiques. Elle possède de nombreuses applications surtout au niveau de la chimie des substances naturelles. Elle est souvent couplée avec la spectrométrie de masse ou la spectrométrie UV-visible. Elle est également utilisée pour l'identification, la séparation et la quantification de certaines familles de molécules dans l'extrait végétal (**Chandra et al., 2001**).

### VIII. Etude quantitative

Les extraits obtenus seront soumis à une série de dosages afin de quantifier leur taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en sucres.

#### VIII.1. Dosage chimique

##### VIII.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

###### *Principe*

Cette recherche est fondée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif Folin-ciocalteu, qui est un mélange de complexe d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents (**Dimitrova et al., 2015**).

###### *Mode opératoire*

1 ml de réactif Folin-ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée) est ajouté à 200 µl d'échantillon (EDéc/ESox) ou d'étalon (l'acide gallique), après 4 min, 800 µl de solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés au milieu réactionnel, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 45 min. l'absorbance de la solution résultante est mesurée à 760 nm. La concentration des polyphénols totaux exprimée en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, est calculée selon la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Toutes les expériences seront effectuées en trois répétitions et les valeurs équivalentes d'acide gallique sont rapportées (**Dimitrova et al., 2015**).

##### VIII.1.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

###### *Principe*

La quantification des flavonoïdes dans les extraits bruts de *P. graveolens* est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium (**El Ouadiet et al., 2017**).

###### *Mode opératoire*

1 ml d' $\text{AlCl}_3$  (2 % dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de l'échantillon (EDéc/ESox) ou d'étalon contenant différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est faite à 415 nm.

Les concentrations des composés flavonoïdes exprimées en µg équivalent quercétine par mg d'extrait ont été calculées selon la courbe d'étalonnage (**El Ouadi et al., 2017**).

### VIII.2.dosage des sucres (glucides)

Les glucides totaux sont dosés quantitativement par la méthode de (Dubois *et al.*, 1956). Qui utilise l'acide sulfurique concentré 95 % et le phénol (5 %) comme réactif et une solution mère de glucose (0,05mg/ml) comme standard (Ennaifer *et al.*, 2018).

#### VIII.2.1. Préparation de gamme d'étalonnage des glucides

La solution mère des glucides est préparée par 5 mg du glucose avec 100 ml d'eau distillée dans le tableau suivant (Tableau 02) :

**Tableau 02** : Préparation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides

Tube	01	02	03	04	05	06
Solution mère (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Acide sulfurique (µl)	2	2	2	2	2	2
Phénol (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

#### VIII.2.2. Teneur en glucides dans les deux extraits

- La solution des extraits est préparée par 5 mg de la poudre d'extrait avec 100 ml d'eau distillée.
- 2 ml d'acide sulfurique (95 %) est ajouté aux deux extraits. Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie (25-30°C, 15min) ensuite 500 µl de phénol (5%) sont additionnés dans chaque tube.
- Après 30 min à l'obscurité, la lecture se fait à une longueur d'onde de 490 nm contre un blanc de gamme.

## IX. Activité biologique

### IX.1. Activité antioxydante

#### IX.1.1. Estimation du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH

### Mode opératoire

- Différentes concentrations de l'échantillon et l'étalon sont préparées dans l'éthanol.
- On ajoute 3,9 ml d'une solution radicalaire DPPH, dissous dans l'éthanol.
- Le mélange est fortement mélangé et laissé au repos à température ambiante pendant 30 min dans l'obscurité.
- L'absorbance sera mesurée à 517nm contre au blanc.

L'activité d'élimination des radicaux libres est exprimée en pourcentage d'inhibition (%) selon la formule suivants :

**Pourcentage d'inhibition (%) = (Abs contrôle-Abs échantillon /Abs contrôle)\*100**

Abs **contrôle**: absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.

Abs **échantillon** : absorbance d'échantillon à 517 nm.

Les résultats seront exprimés par la moyenne de trois mesures  $\pm$  écart type.

La concentration d'échantillon fournissant 50% d'inhibition **IC<sub>50</sub>**est calculée à partir de la courbe d'étalonnage. L'acide ascorbique sera utilisé comme témoin positif (**Dimitrova et al., 2015**).

### IX.2. Activité antibactérienne

Afin de tester l'activité antibactérienne des extraits du *P. graveolens* sont, des souches de références du laboratoire de microbiologie dans notre département seront utilisées; il s'agit de :

- Bactérie à Gram - « *Escherichia coli* ATCC 8739 ».
- Bactérie à Gram + « *Bacillus subtilus* ATCC 6633 » (**Pullagummi et al., 2014**).

#### IX.2.1. Repiquage et enrichissement

Les souches bactériennes sont repiquées 02 fois successives dans le bouillon nutritive et incubées à 37 °C, pendant 24h. Chaque souche est isolée par la méthode des stries dans la gélose nutritive et incubée à 37°C, pendant 24h. Une ou plusieurs colonies identiques sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité optique de la suspension bactérienne entre 0,08 et 0,1 à 620 nm (**Barchan et al., 2016**).

#### IX.2.2. Technique de diffusion des disques

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits, nous allons utiliser la méthode de diffusion des disques, 10 ml de milieu Muller Hinton sont coulés dans les boîtes de Pétri

stériles. Après solidification du milieu, un prélèvement d'inoculum sert à ensemercer dans les boîtes par la technique d'inondation. Des disques de 06 mm de diamètre sont réalisés ensuite remplis par 50 µl de l'extrait (150 mg/ml, 300 mg/ml) à tester, ou de l'eau distillée comme contrôle négative. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C, pendant 24 h. L'activité antibactérienne des extraits est révélée par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques. Les résultats sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues des diamètres de la zone d'inhibition en millimètre  $\pm$  l'écart type (**Pullagummi *et al.*, 2014**).

### **IX.2.3. Coloration de Gram**

Une coloration est réalisée afin de vérifier la forme et le genre de chaque souche (**Barchan *et al.*, 2016**).

### **IX.2.4. Antibiogramme**

Pour détecter la sensibilité des souches bactériennes utilisées dans notre expérience, nous allons tester 04 antibiotiques synthétiques qui est : Ampicilline, Triméthoprim, Oxacilline et Amoxicilline par la méthode de diffusion dans la gélose.

## **X. Etude statistique**

Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écarte type à trois répétitions (**Sompaga *et al.*, 2016**). L'analyse statistique sera réalisée par le test One-way ANOVA, en utilisant le logiciel Graph Pad Prism.

## Chapitre II :

### Résultats préliminaires

## I. Etude comparative des techniques d'extractions des extraits de *P. graveolens*

L'étude comparative des ces deux méthodes d'extraction se porte sur :

- Le rendement d'extraction des composés bioactifs.
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes.
- l'activité antioxydant et l'activité antimicrobienne entre les deux extraits.

### I.1. Couleur et aspect des extraits

Dans notre travail, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction : extraction par Soxhlet(méthanol) et extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction dans l'eau, 30min).

Les deux extraits obtenus à partir de l'extraction dans deux solvants possèdent des caractéristiques différentes, les résultats de la couleur et l'aspect sont indiqués dans le tableau 03.

**Tableau 03:** Couleur et aspect des deux extraits.

L'extrait	Couleur	L'aspect
Méthanolique(soxhlet)	Vert	poudre
Aqueuse (décoction)	Marron	Patte

### I.2. Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement de l'extrait sec est déterminé par rapport à 20 g de la matière végétale (broyat ou feuilles sèches).

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le tableau04 :

**Tableau 04 :** Poids d'extrait sec et rendement correspondant des deux méthodes d'extraction des extraits à partir de la plante *P.graveolens*.

Méthode d'extraction	Poids d'extrait sec (g)	Rendement (%)
Décoction (eau bouillante, 30 min)	3.64	18.2 %
Soxhlet	3.7	18.5%

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que :

La méthode d'extraction soxhlet avec le méthanol donne un rendement comparable par rapport à l'extraction par décoction.

Partie 3 :

Etude financière du projet

## **I. Estimation financière des besoins des expériences dans le laboratoire d'accueil**

### **I.1. Matériels disponibles dans le laboratoire d'accueil**

**Tableau 05** : Liste des matériels disponible dans le laboratoire d'accueil

- La plante a été récupérée d'un agriculteur de la région Maader.

Matériel	Quantité
Bécher	3 (10 ml-50ml- 100ml )
Baro magnétique	1
Pipette graduée	10 – 20ml
Erlen Meyer	6 (100ml)
Entonnoir	6 (200ml)
Papier wattman	30 Papier
Boite pétri	15 Boite
Eprouvette	3 (10 - 50 – 500 ml)
Fiole jaugée	3 (5-10- 25ml)
Buchner	125ml
Tube à essai	80tube
Râteau	2
pince stérile	2
Disque	20 Disque
Micropipette	2 (10 - 1000 µl)
Pipette Pasteur	30 pipette
Platine	5
Règle graduée	1 Règle
Pompe sous vide	1
Plaque chauffante	1
Balance magnétique	1
Réfrigérateur	1
Evaporateur rotatif	1
Appareil Soxhlet	1

Etuve	1
Broyeur	1
Spectrophotomètre	1
Agitateur magnétique	1
Bain-marie	1
Bec benzène	2

### I.2. Produits chimiques spécifiques aux expériences réalisées dans le cadre de l'actuel projet de recherche

Les produits listés ci-dessous (Tableau 06) seront acquis sur les fonds alloués à notre projet par la tutelle. Le budget estimatif est calculé sur la base de trois répétitions pour chaque expérience.

**Tableau 06** : Produits chimiques spécifique utilisés aux expériences réalisées dans le laboratoire d'accueil

Références	Produits	Volume /masse	conditionnement	Marque	Prix (D.A.)
91MP015	Eau distillé	10 L	5 L	RIEDEL	1097,00
24229-2,5L	Méthanol	1 L	2,5L	RIEDEL	890,00
Totale					1987

#### • Test phytochimique

Référence	Produits	Volume /masse	Conditionnement	Marque	Prix (D.A.)
35328-1L	Acide chlorhydrique	6ml	1L	RIEDEL	1450,00
*	tournures de magnésium	3mg	*	*	2980,00
44939-1KG	FeCL <sub>3</sub>	0,06mg	1Kg	FLUKA	8050,00
06005-1KG	KOH	1,5mg	1Kg	RIEDEL	2160,00

## *Etude financière du projet*

32211-2.5 L	chloroforme	15ml	2,5L	RIEDEL	3500,00
06203- 1KG	NaOH	1,5mg	1Kg	RIEDEL	1400,00
Total					19540

### • Dosage chimique

Référence	Produits	Volume /masse	Conditionnement	Marque	Prix(D.A.)
47742- 100ML	Folin-ciocalteu	4mg	100 ml	FLUKA	2400,00
*	Acide gallique	1,8mg	1Kg	SIGMA	2700,00
13418- 1KG	Carbonate de sodium	1mg	1Kg	RIEDEL	1900,00
11028- 1GK	Alcl <sub>3</sub>	0.3mg	1Kg	RIEDEL	3950,0
*	Quercétine	6mg	500 g	*	2320,00
Total					13270

### • Dosage des sucres

Référence	Produits	Volume /masse	Conditionnement	Marque	Prix(D.A.)
07208-2.5L	Acide sulfurique	110ml	2,5L	SIGMA	1800,00
16301- 1GK	Glucose	0.1mg	1Kg	RIEDEL	2000,00
16016- 1GK	phénol	15.25mg	1Kg	FLUKA	4450,00
Totale					8250,00

- **Les activités biologique**

Référence	Produits	Volume /masse	Conditionnement	Marque	Prix (D.A.)
24103-2,5L	Ethanol	200ml	2,5L	RIEDEL	1800,00
*	L'acide ascorbique	1mg	500g	*	4700
MCK300267- 50	DPPH	12mg	50 mg	*	13928,70
*	Souches bactériennes	- <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739  - <i>Bacillus subtillus</i> ATCC 6633	*	*	*
080300-500G	Bouillon nutritive	20 ml	500 g	ALT	11675,00
A9539- 100GR	Gélose	2 Boite	100g	SIGMA	18800,00
W4502-1L	Eau physiologie	50ml	1L	SIGMA	11700,00
211438-500G	Muller Hinton	10ml	500 g	BD- DIFCO	16757,00
*	Antibiotique	*	*	*	*
Totale					79360,7

## II. Estimation financière des expériences réalisées hors le laboratoire d'accueil

Nous aurons recours à la prestation de service auprès du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine afin de réaliser une analyse plus poussée des deux extraits à l'HPLC-SM, en raison de la non disponibilité de cette technique au sein de l'université d'accueil. Le prix de cette technique est présenté dans le tableau 7.

**Tableau 7** : Prix estimatif de la technique HPLC-SM.

## *Etude financière du projet*

---

Technique	Prix (D.A)
HPLC-SM	5000,00

### Conclusion et perspectives

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales dans l'industrie de la parfumerie-cosmétique a reçu un grand intérêt aussi bien chez les grands groupes industriels que chez les petits producteurs artisans. Ce regain d'intérêt vient, d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source importante de substances naturelles bioactives, riches en polyphénols et terpènes, connus pour leur action protectrice vis-à-vis du stress oxydant. D'autre part, les métabolites secondaires sont utiles pour la recherche d'ingrédients avec le moins d'effets secondaires possibles.

Notre projet devrait permettre la mise en évidence de la présence des polyphénols, notamment les flavonoïdes, dans les extraits bruts de *P.graveolens* à travers un criblage phytochimique complet. Par ailleurs, les propriétés antioxydants et antibactériennes des extraits méthanolique et aqueux de cette plante seront déterminées.

Enfin, ce travail s'inscrit dans une démarche écologique qui a pour objectif principale d'encourager une culture locale et biologique des plantes médicinales participant ainsi au développement de notre région.

### Référence bibliographique

- **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.
- **Asgarpanah, J., Ramezanloo, F. (2015).** An overview of Phytopharmacology of *Pelargonium graveolens* L. *Indian Journal of draesoznaũknowledge* 14: 558-563.
- **Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Laglaoui, A. (2016).** Effet antibactérien et anti biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *phytothérapie*, 14(2):88-96.
- **Bendif, H., Boudjeniba, M., Djamel Miara, M., Biqiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., Lupidi, G., Quassinti, L., Sagratini, G., Vitali, L.A., Vittori, S., Maggi, F. (2017).** *rosmarinus eriocalyx*: an alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*. 218: 78–88.
- **Benyagoub, E. Nabbou, N., Sirat, M., et Dahlis, Z. (2014).** Propriétés antibactériennes et constituants phytochimique des extraits de la lavande de la région de Tlemcen et leurs effets sur quelques espèces bactériennes responsables d’infection alimentaire. *Revue des Bio Ressources*. Vol .4, N° .2, pp.18-28.
- **Boukhatem, M.N., Hamaidi, M. S., Saidi, F (1), Hakim, Y., Benomier, K. (2010).** Extraction, composition et valorisation de l'eau aromatique de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) dans la dermopharmacie. *Nature et Technologie*° 02, pp.50-55.
- **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: 304–305.
- **Boukhris, M., Simmonds, M. S. J., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2012).** Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of Rose-

- scented Geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1206–1213. doi:10.1002/ptr.4853.
- **Bouterfas, K., Chenafa, A., Achori, M., Aoued., L. (2014).** Activité antioxydante et antibactérienne des feuilles de vitis vinifera L *Journal Microbiol Biotech* Vol.2691, pp.21.
  - **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.
  - **Chandra, A, Rana, J., Li, Y., (2001).** Separation, identification, quantification, and Method validation of Anthocyanin in botanical supplement Raw Materials by HPLC and HPLC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 49.3515-3521. <https://doi.org/10.1021/jf010389p>.
  - **Chardigny, J.M., Walrand, S., (2016).** Plant protein for food: opportunities and bottlenecks. *OCL*.23 (4) D404.
  - **Codorñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., Arilla- Codoñer, A., Alonso-Iglesias, E. (2011).** Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Transnational Res.*, 158(6): 369-384.
  - **Dimitrova, M., Mihaylova, D., Popova, A., Alexieva, J. (2015).** Phenolic profile, antibacterial and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* leaves. *Extracts*. XIX: 130–135.
  - **Djadoun, S., (2012).** Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. pp. 4-13.
  - **Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P., Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. University of MINNESOTA, MARCH. *Division of biochemistry*: 350-356.
  - **Ejzaz, A., Arshad, M., Khan, M .Z., Amjad, M.S., Sadaf, H.M., Riaz I., Sabir S., Ahmad , N and Sabaoon. (2017).** Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol.6 (2), p.p.205-214.

- **El Ouadi, Y., Bendaif, H., Mrabti, H., Elmsellem, H., Kadmi, Y., Shariati, M.A., Abdel-Rahman, I. Hammouti, B., Bouyanzer, A. (2017).**Antioxidant activity of phenols and flavonoids contents of aqueous extract of pelargonium graveolens origin in the north-east morocco. *Journal Microbiol Biotech Food Sci* .6.5.1218-1220.
- **Ennaifer, M., Bouzaiene, T., Chouaibi, M, and Hamdi, M. (2018).**Pelargonium graveolens Aqueous Decoction: A New Water-Soluble Polysaccharide and Antioxidant-Rich Extract.*Hindawi BioMed Research International*. Vol.2691513, pp.11.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2007).**-Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.*, 331: 372-379.
- **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.
- **Francesca Gonzalez, I.M., Gonzalez falconi, D.E., Cordova, V.M., (2019).**Secondary metabolites in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Revista bionatura*. Vol.4, No.4.
- **Ghedira, K., & Goetz, P. (2015).***Géranium rosat : Pelargonium graveolens L'Her. (Géraniaceae)*. *Phytothérapie*, 13(3), 197–201. doi:10.1007/s10298-015-0955-x.
- **Hadouchi, F., Chaouche, T. M., et Halla, N. (2016).**Screening phytochimique, activités antioxydants et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes, d'Algérie.*Phytothérapie*.1-9.
- **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.
- **Hammoudi, R. (2009).**Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la région Tamanrasset. Diplôme de magister. Université d'Ouargla. 130 p.

- **Jamwal, K., Bhattacharya, S., Puri, S., (2017).**plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Jarmap*. <https://doi.org/10.1016/12.003>.
- **Jennifer, C.P., Justin, V.D. and Cynthia, C. D. (2017).**Phytochemical Analysis, Larvicidal Activity and Cytotoxic Properties of Malvarosa (*pelargonium graveolens*) Leaf Extract.*International Journal of Agricultural Technology*. Vol. 13(7.3): 2281.
- **Katerji, M., Filippova, M., & Duerksen-Hughes, P.(2019).**Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–29. doi:10.1155/2019/1279250.
- **Kubitzki, K. (2007).** The Families and Genera of Vascular Plants. IX Flowering Plants. Eudicots. Springer Berlin Heidelberg New York: 503 p.
- **Miller, M.(2002).** Geranium and Pelargonium. The taxonomy of Geranium species and cultivars, their origins and growth in the wild (Ed) Taylor&Francis. South Bank University, London, UK, 49-79.
- **Mojzer, E.B., Masa, K.H., Mojca, S., Zeljko, K., and Urban, B. (2016).** Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*.Vol. 21, pp.901.
- **Nauciel,C and Vildé,J.L. (2005).** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. pp: 10.
- **Oladeji, O.(2016).** The Characteristics and Roles of Medicinal Plants: Some Important Medicinal Plants in Nigeria. *Nat Prod Ind J.* ; 12(3):102.
- **Panche, A.N., Susan, A.D., Chandra, S.R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Jns*. 5(47):1-15.
- **Patrice, F.,(2011/2012).** Biochimie métabolique. Structure des glucides. La Faculté de Médecine et de Pharmacie de Grenoble (Université Joseph Fourier – Grenoble), 1, 05, 07.

## Référence bibliographique

---

- **Penchev, P.I., (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Thèse de doctorat, l'université de Toulouse : 129-130.
- **Peyron, L. (2013).** Histoire du « Géranium rosat pour parfumerie » dans le pays de Grasse. Association historique du pays de Grasse. France. Vol. 6, pp.5-15.
- **Pradeepa, M., Kalidas, V., Geetha, N. (2016).** Qualitative and quantitative phytochemical analyses and bactericidal activity of *pelargonium graveolens* l'her. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. Vol. 8, Issue. 3, pp. 7-11.
- **Pullagummi, C., Babu Rao, N.B., Sekhar Singh, C., Bheemagani, A.J., Venkatesh, K and Anupalli, R.R. (2014).** Comparatives studies on antibacterial activity of patchouli (*pogostemon cablin* (Blanco) benth) and geranium (*pelargonium graviolens*) aromatic medicinal plants. *African journal of biochemistry*.vol.13 (23), pp.2379-2384.
- **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.
- **Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D. (2012).** *Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie)*. *Phytothérapie*, 10(2), 131–142. doi:10.1007/s10298-012-0701-6.
- **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 biosciences*. p9200.
- **Saraswathi, J., Venkatesh, K., Baburao, N., Hill, M.H., Roja, R.A., et al. (2011).** Phytoparmacological importance of *Pelargonium* species. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 2587-2598.
- **Sartorius., (2008).** Mode d'emploi : appareil de filtration, pp.50.
- **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.,**

## Référence bibliographique

---

- Martins,N.,Martorell, M., Docea ,A.O, Setzer, W.N., Calina, D., Cho, W.C and Sharifi-Rad, J. (2020).** Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the pathophysiology of Chronic Diseases. *Front. Physiol.* 11:694. Doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
- **Simpson, M. G. (2010).** *Plant Systematics*, Second Edition, Academic Press is an imprint of Elsevier: 428-432.
  - **Singh, E., & Devasahayam, G. (2020).**Neurodegeneration by oxidative stress: a review on prospective use of small molecules for neuroprotection. *Molecular Biology Reports*.doi:10.1007/s11033-020-05354-1.
  - **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., Arun Jyothi, B., Chekuri, S., Baburao, N.,and Anupalli, R.R. (2016).**Organic Extracts of *Pelargonium graveolens*: Phenol Content, Anti-oxidant and Anti-bacterial Activities. *European Journal of Medicinal Plants* .Vol.17 (1): 1-8, no. 29040.
  - **Swetman, T., (2008).**Extraction de l'huile: Practical Action the Schumacher Centre Bourton Dunsmore Rugby, Warwickshire, CV23 9QZ Royaume-Uni.
  - **Wakeman, R.J., Tarleton, E.S. (2009).**Filtration - Equipment selection modelling and process simulation, Great Britain: *Elsevier Advanced Technology*. 446.
  - **Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D., Ouar Korich, M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*; 91: 5-12.